

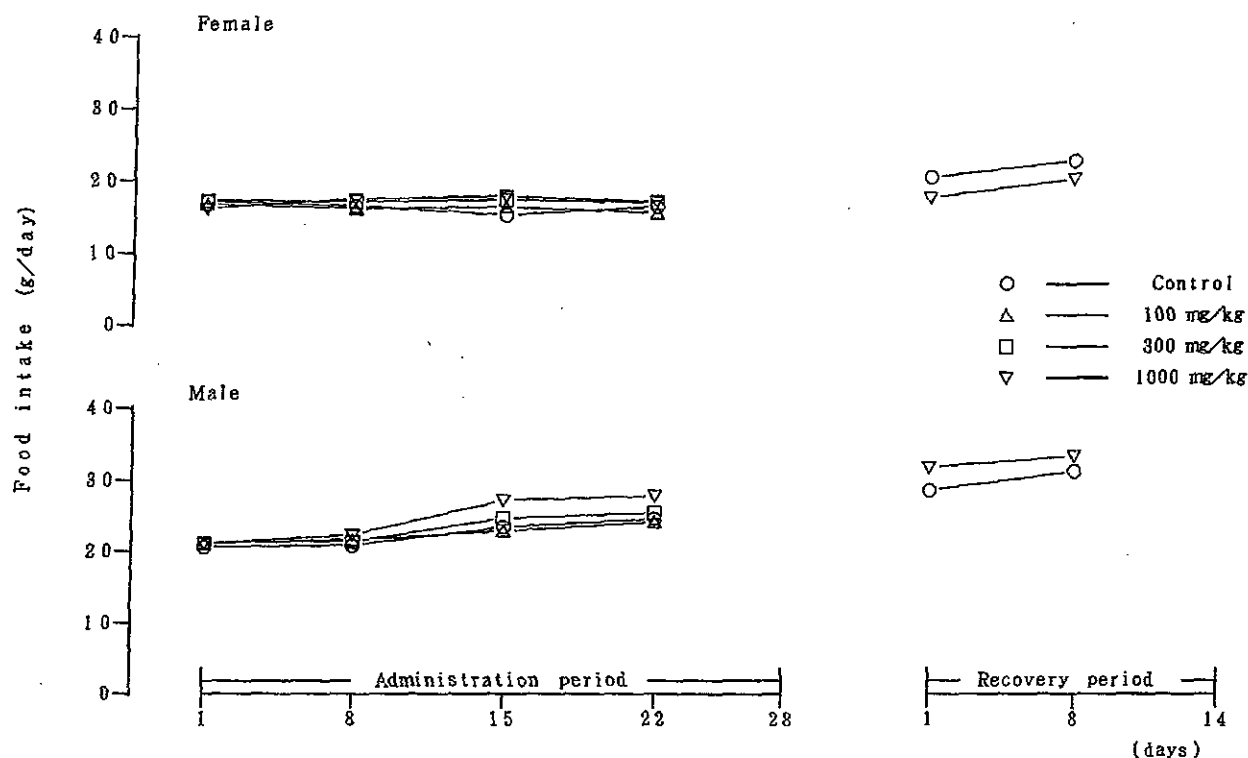


Fig 2 Food intake in rats administered with 2, 2, 4, 4, 6, 8, 8-heptamethylnonane for 28 days

4. 尿検査

投与期間終了週の検査では、100 mg/kg投与群の雌および300 mg/kg投与群の雄の各1例でビリルビンが陽性であり、また、300 mg/kg投与群の雌および1000 mg/kg投与群の雄の各1例では尿沈渣中に上皮細胞がみられた。その他、一部の例で蛋白、ケトン体、ウロビリノーゲンが陽性であり、尿沈渣中に結晶の認められる例もあったが、いずれも、その出現例数あるいは程度に溶媒対照群と被験物質投与群の間で用量に依存した差はみられなかった。なお、尿量、比重、混濁度、色調、pHには溶媒対照群と被験物質投与群の間に著しい差はなく、いずれの個体においても、糖、潜血、赤血球、円柱および白血球は検出されなかった。

回復試験期間終了週の検査では、1000 mg/kg投与群の雄の1例で糖および潜血反応が陽性であったほか、雄の他の1例で潜血反応が陽性となった。一方、溶媒対照群と1000 mg/kg投与群の間で、尿量、比重、混濁度、色調、pHに著しい差はなく、また、蛋白、ケトン体、ウロビリノーゲン、結晶および上皮細胞の出現頻度あるいは程度にも両群間で差は認められなかった。なお、いずれの個体においても、赤血球、円柱および白血球は観察されなかった。

5. 血液学的検査 (Table 1-1~1-3)

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg投与群の雄の網状赤血球比率が有意に減少し、1000 mg/kg投与群の雄では、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間に有意な延長が認められた。その他の検査項目では、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意な差は認められなかった。

回復試験期間終了時の検査では、1000 mg/kg投与群の雄のプロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間に有意な延長がみられたが、投与期間終了時に比較すると、その程度は軽減される傾向にあった。さらに、血小板数が有意に増加したが、その他の検査項目では、溶媒対照群と1000 mg/kg投与群の間に有意な差は認められなかった。

6. 血液生化学的検査 (Table 2-1~2-3)

投与期間終了時の検査では、溶媒対照群と比較すると、トリグリセライド濃度が100 mg/kg投与群の雌で有意に増加し、300および1000 mg/kg投与群の雄では有意に低下した。また、無機リン濃度は、300 mg/kg投与群の雌で有意に増加し、100および300 mg/kg投与群の雄では有意に低下した。さらに、GPT活性は、1000 mg/kg投与群の雌で有意に上昇し、カリウム濃度および塩素濃度は、1000 mg/kg投与群の雄でいずれも有意に低下した。その他の項目では、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時の検査では、1000 mg/kg投与群の雌でA/G比が有意に低下し、1000 mg/kg投与群の雄でLDH活性が有意に上昇したが、その他の項目では、溶媒対照群と1000 mg/kg投与群の間に有意差は認められなかった。

Table 1-1 Hematological findings in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Red blood cells						
		Count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)
Female	Control	(5) 638 ± 34	(5) 13.4 ± 0.7	(5) 37.7 ± 1.9	(5) 59.2 ± 1.3	(5) 21.0 ± 0.5	(5) 35.4 ± 0.6	(5) 2.1 ± 0.7
	100 mg/kg	(4) 657 ± 54	(4) 13.8 ± 1.0	(4) 38.4 ± 2.7	(4) 58.5 ± 1.5	(4) 21.0 ± 0.5	(4) 35.9 ± 0.1	(5) 1.9 ± 0.7
	300 mg/kg	(5) 608 ± 29	(5) 13.0 ± 0.7	(5) 36.0 ± 1.7	(5) 59.2 ± 1.0	(5) 21.4 ± 0.5	(5) 36.1 ± 0.6	(5) 2.2 ± 0.9
	1000 mg/kg	(5) 638 ± 59	(5) 13.6 ± 1.1	(5) 37.7 ± 3.4	(5) 59.1 ± 1.2	(5) 21.3 ± 0.6	(5) 36.0 ± 0.4	(5) 1.7 ± 0.6
Male	Control	(5) 683 ± 41	(5) 14.3 ± 1.2	(5) 41.4 ± 2.8	(5) 60.6 ± 0.6	(5) 20.9 ± 0.5	(5) 34.4 ± 0.7	(5) 3.1 ± 0.3
	100 mg/kg	(5) 662 ± 40	(5) 14.1 ± 0.9	(5) 40.1 ± 1.8	(5) 60.6 ± 1.6	(5) 21.3 ± 0.7	(5) 35.2 ± 0.9	(5) 2.4 ± 0.3
	300 mg/kg	(5) 635 ± 24	(5) 13.5 ± 0.6	(5) 38.9 ± 1.2	(5) 61.3 ± 0.5	(5) 21.3 ± 0.3	(5) 34.8 ± 0.7	(5) 2.2* ± 0.2
	1000 mg/kg	(5) 630 ± 12	(5) 13.4 ± 0.6	(5) 38.4 ± 0.7	(5) 61.0 ± 1.4	(5) 21.3 ± 0.8	(5) 34.9 ± 0.8	(5) 2.8 ± 0.9

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N* : Significantly different from control, $p < 0.05$

Table 1-2 Hematological findings in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	White blood cells							Platelet Count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	PT (sec)	APTT (sec)
		Count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Band	Segs.	Eos.	Baso.	Mono.	Lymph.			
Female	Control	(5) 50 ± 20	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 10	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 87 ± 11	(5) 114.9 ± 14.7	(5) 15.4 ± 1.1	(5) 21.8 ± 1.9
	100 mg/kg	(4) 45 ± 13	(5) 0 ± 0	(5) 8 ± 6	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 0	(5) 90 ± 5	(4) 106.9 ± 21.5	(5) 15.2 ± 0.8	(5) 21.3 ± 0.7
	300 mg/kg	(5) 47 ± 12	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 1	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 92 ± 3	(5) 106.6 ± 4.7	(5) 15.8 ± 1.7	(5) 22.1 ± 2.0
	1000 mg/kg	(5) 44 ± 17	(5) 0 ± 0	(5) 11 ± 6	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 87 ± 7	(5) 105.9 ± 10.1	(5) 17.0 ± 2.5	(5) 23.4 ± 1.3
Male	Control	(5) 69 ± 10	(5) 0 ± 0	(5) 8 ± 5	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 2	(5) 90 ± 5	(5) 110.5 ± 15.3	(5) 22.0 ± 1.7	(5) 27.8 ± 1.5
	100 mg/kg	(5) 64 ± 27	(5) 0 ± 0	(5) 10 ± 6	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 88 ± 7	(5) 106.7 ± 12.5	(5) 26.3 ± 3.2	(5) 29.7 ± 1.6
	300 mg/kg	(5) 79 ± 27	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 93 ± 2	(5) 125.5 ± 16.7	(5) 25.9 ± 3.8	(5) 30.2 ± 2.2
	1000 mg/kg	(5) 84 ± 23	(5) 0 ± 0	(5) 20 ± 28	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 79 ± 27	(5) 121.0 ± 6.6	(5) 37.3** ± 6.6	(5) 34.5** ± 4.1

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 1-3 Hematological findings in rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Red blood cells							PT (sec)	APTT (sec)
		Count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)		
Female	Control	(5) 746 ± 48	(5) 15.0 ± 1.0	(5) 43.5 ± 3.1	(5) 58.3 ± 2.0	(5) 20.2 ± 0.6	(5) 34.6 ± 0.7	(5) 1.9 ± 0.4		
	1000 mg/kg	(5) 720 ± 15	(5) 14.7 ± 0.4	(5) 42.7 ± 1.4	(5) 59.2 ± 1.2	(5) 20.5 ± 0.5	(5) 34.6 ± 0.7	(5) 1.6 ± 0.4		
Male	Control	(5) 739 ± 40	(5) 15.1 ± 0.7	(5) 43.6 ± 2.0	(5) 59.0 ± 1.8	(5) 20.4 ± 0.8	(5) 34.6 ± 0.4	(5) 1.7 ± 0.4		
	1000 mg/kg	(5) 731 ± 44	(5) 14.9 ± 0.5	(5) 43.6 ± 1.4	(5) 59.8 ± 2.0	(5) 20.4 ± 0.5	(5) 34.1 ± 0.4	(5) 1.9 ± 0.7		

Sex	Group	White blood cells							Platelet		PT (sec)	APTT (sec)
		Count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Band	Segs.	Eos.	Baso.	Mono.	Lymph.	Count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)			
Female	Control ± 33	(5) 81 ± 0	(5) 0 ± 2	(5) 7 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 1	(5) 1 ± 2	(5) 92 ± 11.0	(5) 108.7 ± 0.9		(5) 16.0 ± 1.5	(5) 23.0
	1000 mg/kg	(5) 68 ± 24	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 5	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 91 ± 6	(5) 108.4 ± 8.0		(5) 15.1 ± 0.5	(5) 22.1 ± 1.2
Male	Control	(5) 77 ± 29	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 3	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 90 ± 4	(5) 102.7 ± 9.3		(5) 22.5 ± 1.7	(5) 28.4 ± 1.2
	1000 mg/kg	(5) 85 ± 19	(5) 0 ± 0	(5) 9 ± 5	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 89 ± 6	(5) 118.3* ± 5.0		(5) 26.4** ± 1.5	(5) 31.7* ± 2.9

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$
** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 2-1 Biochemical findings in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)
Female	Control	(5) 5.3 ± 0.3	(5) 3.1 ± 0.2	(5) 1.38 ± 0.23	(5) 20 ± 3	(5) 0.7 ± 0.0	(5) 112 ± 17	(5) 48 ± 9	(5) 29 ± 4	(5) 6.3 ± 0.5
	100 mg/kg	(5) 5.4 ± 0.2	(5) 3.2 ± 0.1	(5) 1.52 ± 0.16	(5) 19 ± 2	(5) 0.7 ± 0.1	(5) 115 ± 21	(5) 61 ± 5	(5) 41* ± 9	(5) 7.4 ± 0.6
	300 mg/kg	(5) 5.3 ± 0.3	(5) 3.0 ± 0.2	(5) 1.34 ± 0.08	(5) 17 ± 2	(5) 0.6 ± 0.0	(5) 110 ± 12	(5) 58 ± 5	(5) 34 ± 10	(5) 7.8* ± 0.6
	1000 mg/kg	(5) 5.1 ± 0.3	(5) 3.1 ± 0.2	(5) 1.49 ± 0.23	(5) 18 ± 3	(5) 0.7 ± 0.1	(5) 100 ± 11	(5) 54 ± 16	(5) 26 ± 6	(5) 6.9 ± 1.1
Male	Control	(5) 5.2 ± 0.2	(5) 2.9 ± 0.2	(5) 1.21 ± 0.09	(5) 14 ± 2	(5) 0.6 ± 0.0	(5) 128 ± 8	(5) 49 ± 11	(5) 64 ± 18	(5) 8.2 ± 0.6
	100 mg/kg	(5) 4.8 ± 0.8	(5) 2.8 ± 0.7	(5) 1.33 ± 0.31	(5) 13 ± 4	(5) 0.5 ± 0.1	(5) 119 ± 26	(5) 41 ± 6	(5) 44 ± 5	(5) 6.9* ± 0.9
	300 mg/kg	(5) 5.1 ± 0.1	(5) 2.9 ± 0.1	(5) 1.33 ± 0.07	(5) 15 ± 2	(5) 0.6 ± 0.0	(5) 128 ± 20	(5) 45 ± 11	(5) 39* ± 5	(5) 6.8** ± 0.6
	1000 mg/kg	(5) 5.2 ± 0.3	(5) 2.9 ± 0.2	(5) 1.25 ± 0.08	(5) 11 ± 4	(5) 0.6 ± 0.0	(5) 113 ± 21	(5) 38 ± 6	(5) 37** ± 5	(5) 7.1 ± 0.3

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$
** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 2-2 Biochemical findings in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Ca (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Alkaline phosphatase (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ -GTP (U/l)
Female	Control	(5) 8.8 ± 0.4	(5) 139.7 ± 1.5	(5) 4.11 ± 0.27	(5) 104.7 ± 2.3	(5) 239 ± 42	(5) 136 ± 14	(5) 20 ± 4	(5) 69 ± 22	(5) 0 ± 1
	100 mg/kg	(5) 8.9 ± 0.1	(5) 138.2 ± 2.4	(5) 4.99 ± 1.55	(5) 102.6 ± 0.7	(5) 210 ± 51	(5) 178 ± 58	(5) 21 ± 3	(5) 61 ± 9	(5) 0 ± 1
	300 mg/kg	(5) 9.0 ± 0.2	(5) 140.4 ± 1.1	(5) 4.01 ± 0.28	(5) 103.8 ± 0.9	(5) 196 ± 22	(5) 100 ± 16	(5) 16 ± 3	(5) 53 ± 7	(5) 1 ± 1
	1000 mg/kg	(5) 8.8 ± 0.5	(5) 139.8 ± 1.8	(5) 3.88 ± 0.60	(5) 102.9 ± 1.7	(5) 215 ± 43	(5) 158 ± 32	(5) 30** ± 4	(5) 67 ± 5	(5) 1 ± 1
Male	Control	(5) 8.8 ± 0.1	(5) 141.3 ± 0.9	(5) 3.93 ± 0.49	(5) 103.3 ± 1.0	(5) 371 ± 82	(5) 128 ± 23	(5) 26 ± 7	(5) 59 ± 6	(5) 0 ± 0
	100 mg/kg	(5) 8.4 ± 1.5	(5) 138.4 ± 7.0	(5) 3.83 ± 0.27	(5) 100.5 ± 4.3	(5) 357 ± 77	(5) 136 ± 76	(5) 22 ± 4	(5) 55 ± 5	(5) 0 ± 0
	300 mg/kg	(5) 8.9 ± 0.2	(5) 140.6 ± 0.9	(5) 3.67 ± 0.07	(5) 102.4 ± 0.5	(5) 357 ± 67	(5) 127 ± 16	(5) 25 ± 4	(5) 60 ± 4	(5) 0 ± 0
	1000 mg/kg	(5) 9.0 ± 0.3	(5) 141.1 ± 0.6	(5) 3.51** ± 0.09	(5) 100.8* ± 0.6	(5) 347 ± 53	(5) 193 ± 83	(5) 30 ± 1	(5) 59 ± 2	(5) 0 ± 0

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$
** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 2-3 Biochemical findings in rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri- glyceride (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)
Female	Control	(5) 5.6 ± 0.2	(5) 3.2 ± 0.1	(5) 1.35 ± 0.05	(5) 17 ± 2	(5) 0.7 ± 0.1	(5) 125 ± 18	(5) 59 ± 7	(5) 59 ± 33	(5) 5.7 ± 0.6
	1000 mg/kg	(5) 5.4 ± 0.4	(5) 3.0 ± 0.2	(5) 1.25* ± 0.05	(5) 19 ± 2	(5) 0.6 ± 0.1	(5) 119 ± 23	(5) 57 ± 11	(5) 40 ± 21	(5) 6.0 ± 0.7
Male	Control	(5) 5.4 ± 0.2	(5) 2.8 ± 0.2	(5) 1.04 ± 0.14	(5) 18 ± 2	(5) 0.6 ± 0.1	(5) 130 ± 14	(5) 48 ± 10	(5) 64 ± 21	(5) 7.1 ± 0.8
	1000 mg/kg	(5) 5.5 ± 0.3	(5) 2.7 ± 0.1	(5) 0.97 ± 0.04	(5) 19 ± 2	(5) 0.7 ± 0.0	(5) 146 ± 12	(5) 60 ± 20	(5) 59 ± 17	(5) 7.3 ± 0.8

Sex	Group	Ca (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Alkaline phosphatase (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ -GTP (U/l)
Female	Control	(5) 8.7 ± 0.2	(5) 139.2 ± 0.9	(5) 3.99 ± 0.22	(5) 103.7 ± 0.7	(5) 132 ± 20	(5) 114 ± 13	(5) 18 ± 1	(5) 51 ± 5	(5) 0 ± 0
	1000 mg/kg	(5) 8.8 ± 0.3	(5) 139.7 ± 1.0	(5) 3.86 ± 0.39	(5) 104.1 ± 1.4	(5) 165 ± 31	(5) 112 ± 14	(5) 21 ± 5	(5) 55 ± 6	(5) 0 ± 1
Male	Control	(5) 8.9 ± 0.2	(5) 141.8 ± 0.6	(5) 3.88 ± 0.17	(5) 104.7 ± 1.8	(5) 260 ± 29	(5) 132 ± 36	(5) 32 ± 6	(5) 64 ± 9	(5) 1 ± 1
	1000 mg/kg	(5) 9.0 ± 0.2	(5) 141.7 ± 0.8	(5) 3.83 ± 0.17	(5) 104.2 ± 1.0	(5) 258 ± 41	(5) 313* ± 134	(5) 49 ± 39	(5) 83 ± 24	(5) 0 ± 1

Parameter : Mean $\pm$ S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$

7. 病理学的検査

1) 器官重量 (Table 3-1~3-3)

投与期間終了時の剖検例では、100および300 mg/kg投与群の雌で脳の絶対重量が有意に増加した。また、300 mg/kg投与群の雌では、肝臓の絶対重量が、300 mg/kg投与群の雄では、肝臓の相対重量がそれぞれ増加し、1000 mg/kg投与群の雌雄とも、肝臓の絶対重量および相対重量が有意に増加した。その他の器官については、溶媒対照群と被験物質投与群の間に絶対重量および相対重量とも有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時の剖検例では、1000 mg/kg投与群の雄で脳の絶対重量と肝臓の相対重量が有意に増加した。その他の器官については、溶媒対照群と1000 mg/kg投与群の間に絶対重量および相対重量とも有意差は認められなかった。

2) 剖検所見

投与期間終了時および回復試験期間終了時剖検例ともに、被験物質投与に起因すると思われる肉眼的変化は認められなかった。

3) 組織学的所見 (Table 4-1~4-3)

投与期間終了時屠殺例では、1000 mg/kg投与群の雌雄各4例と300 mg/kg投与群の雄の1例の肝臓に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられ、1000 mg/kg投与群の雄の1例では、肝細胞の壊死巣が認められた。また、溶媒対照群を含む各群で主に小葉周辺部肝細胞の脂肪変性、小肉芽巣の形成がみられたが、その発生頻度あるいは変化の程度に用量依存性は認められなかった。その他、肝臓の変化として、300 mg/kg投与群の雄の1例に限局性の肝細胞の脂肪変性があり、100 mg/kg投与群の雄の1例に出血が認められた。心臓では、1000 mg/kg投与群の雄の1例に心筋細胞の変性が認められた。腎臓では、溶媒対照群の雌雄および1000 mg/kg投与群の雌の1ないし3例に再生尿細管が、溶媒対照群の雌の1例に腎盂の拡張が、1000 mg/kg投与群の雌の3例に結石の形成が、溶媒対照群および1000 mg/kg投与群の雄の1ないし2例にeosinophilic bodyがそれぞれ認められた。脾臓では、溶媒対照群および1000 mg/kg投与群の雌雄全例に髄外造血がみられ、両群とも雌の全例には褐色色素の沈着が認められたが、両群間に程度の差はみられなかった。副腎では、溶媒対照群および1000 mg/kg投与群とも異常はみられなかった。

Table 3-1 Organ weights in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Body weight (g)	Absolute organ weight				
			Brain (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenals (mg)	Ovaries/Testes (mg)
Female	Control	(5) 203.9 ±8.9	(5) 1722.4 ±74.5	(5) 6381.4 ±478.2	(5) 1654.0 ±78.9	(5) 60.8 ±2.5	(5) 83.7 ±16.2
	100 mg/kg	(5) 205.2 ±19.7	(5) 1816.4* ±68.8	(5) 6915.8 ±735.0	(5) 1696.1 ±174.5	(5) 67.7 ±0.9	(5) 89.6 ±9.6
	300 mg/kg	(5) 218.2 ±19.0	(5) 1825.7* ±24.8	(5) 7760.5* ±1191.4	(5) 1845.5 ±258.9	(5) 67.9 ±5.7	(5) 93.9 ±10.5
	1000 mg/kg	(5) 204.1 ±9.9	(5) 1783.2 ±28.4	(5) 7790.5* ±395.0	(5) 1793.8 ±91.4	(5) 65.4 ±6.6	(5) 81.5 ±13.1
Male	Control	(5) 344.0 ±27.7	(5) 1914.9 ±26.0	(5) 11535.0 ±830.6	(5) 2605.2 ±147.1	(5) 50.7 ±7.0	(5) 2868.7 ±260.4
	100 mg/kg	(5) 328.5 ±36.8	(5) 1934.6 ±61.9	(5) 11983.9 ±2312.7	(5) 2622.3 ±255.6	(5) 47.5 ±5.0	(5) 3002.8 ±25.2
	300 mg/kg	(5) 337.0 ±20.9	(5) 1950.8 ±108.9	(5) 13437.5 ±1144.4	(5) 2688.1 ±222.0	(5) 46.6 ±6.2	(5) 2789.0 ±148.5
	1000 mg/kg	(5) 337.8 ±28.6	(5) 1903.3 ±73.1	(5) 15083.3* ±2148.3	(5) 2790.6 ±155.6	(5) 49.0 ±4.3	(5) 2847.6 ±182.1

Parameter : Mean ± S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$

Table 3-2 Organ weights in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Body weight (g)	Relative organ weight				
			Brain (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Adrenals (mg/g)	Ovaries/Testes (mg/g)
Female	Control	(5) 203.9 ±8.9	(5) 8.450 ±0.264	(5) 31.312 ±2.250	(5) 8.115 ±0.299	(5) 0.299 ±0.017	(5) 0.413 ±0.088
	100 mg/kg	(5) 205.2 ±19.7	(5) 8.897 ±0.654	(5) 33.764 ±2.842	(5) 8.269 ±0.438	(5) 0.332 ±0.031	(5) 0.439 ±0.050
	300 mg/kg	(5) 218.2 ±19.0	(5) 8.413 ±0.642	(5) 35.469 ±3.547	(5) 8.427 ±0.484	(5) 0.312 ±0.018	(5) 0.432 ±0.049
	1000 mg/kg	(5) 204.1 ±9.9	(5) 8.753 ±0.484	(5) 38.192** ±1.784	(5) 8.804 ±0.620	(5) 0.321 ±0.026	(5) 0.399 ±0.054
Male	Control	(5) 344.0 ±27.7	(5) 5.598 ±0.485	(5) 33.573 ±1.201	(5) 7.612 ±0.721	(5) 0.148 ±0.017	(5) 8.335 ±0.170
	100 mg/kg	(5) 328.5 ±36.8	(5) 5.936 ±0.551	(5) 36.320 ±4.254	(5) 8.012 ±0.672	(5) 0.145 ±0.016	(5) 9.226 ±0.969
	300 mg/kg	(5) 337.0 ±20.9	(5) 5.802 ±0.435	(5) 39.842* ±1.753	(5) 7.972 ±0.351	(5) 0.139 ±0.016	(5) 8.302 ±0.714
	1000 mg/kg	(5) 337.8 ±28.6	(5) 5.653 ±0.277	(5) 44.540** ±3.701	(5) 8.293 ±0.622	(5) 0.146 ±0.024	(5) 8.458 ±0.616

Parameter : Mean ± S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$
** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 3-3 Organ weights in rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Body weight (g)	Absolute organ weight				
			Brain (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenals (mg)	Ovaries/Testes (mg)
Female	Control	(5) 237.2 ±9.5	(5) 1775.5 ±81.6	(5) 6953.8 ±628.5	(5) 1723.6 ±110.0	(5) 70.9 ±12.3	(5) 86.7 ±11.6
	1000 mg/kg	(5) 228.3 ±14.7	(5) 1843.4 ±22.3	(5) 6776.0 ±737.5	(5) 1809.5 ±52.3	(5) 66.1 ±5.9	(5) 88.1 ±4.7
Male	Control	(5) 398.0 ±41.3	(5) 2006.9 ±70.3	(5) 12042.3 ±2074.7	(5) 2892.2 ±283.4	(5) 48.8 ±6.6	(5) 3314.8 ±238.5
	1000 mg/kg	(5) 424.3 ±24.4	(5) 2138.1** ±43.8	(5) 14821.0 ±2153.3	(5) 3034.0 ±243.5	(5) 50.2 ±6.9	(5) 3114.0 ±177.3

Sex	Group	Body weight (g)	Relative organ weight				
			Brain (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Adrenals (mg/g)	Ovaries/Testes (mg/g)
Female	Control	(5) 237.2 ±9.5	(5) 7.493 ±0.406	(5) 29.290 ±1.890	(5) 7.278 ±0.576	(5) 0.299 ±0.047	(5) 0.366 ±0.049
	1000 mg/kg	(5) 228.3 ±14.7	(5) 8.099 ±0.470	(5) 29.635 ±1.665	(5) 7.951 ±0.521	(5) 0.290 ±0.029	(5) 0.386 ±0.009
Male	Control	(5) 398.0 ±41.3	(5) 5.075 ±0.398	(5) 30.093 ±2.214	(5) 7.290 ±0.595	(5) 0.125 ±0.025	(5) 8.434 ±1.334
	1000 mg/kg	(5) 424.3 ±24.4	(5) 5.052 ±0.297	(5) 34.852* ±3.918	(5) 7.148 ±0.360	(5) 0.118 ±0.010	(5) 7.356 ±0.542

Parameter : Mean ± S.D.
() : N

* : Significantly different from control, $p < 0.05$
** : Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 4-1 Histopathological findings in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control (n=5)					100 mg/kg (n=5)					300 mg/kg (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Heart)																				
myocardial degeneration	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Liver)																				
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	4	0	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
fatty change in peripheral zone	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0
fatty change in central zone	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
microgranuloma	0	2	3	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
(Kidneys)																				
regenerated tubule	3	2	0	0	0											4	1	0	0	0
dilated pelvis	4	0	1	0	0											5	0	0	0	0
calculi	5	0	0	0	0											2	1	2	0	0
eosinophilic body	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Spleen)																				
brown pigment	0	5	0	0	0											0	5	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	3	2	0	0											0	4	1	0	0
(Adrenals)																				
abnormality	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0

- Negative, ± Slight, + Moderate, ++ Marked, +++ Severe

Table 4-2 Histopathological findings in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control (n=5)					100 mg/kg (n=5)					300 mg/kg (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Heart)																				
myocardial degeneration	5	0	0	0	0											4	1	0	0	0
(Liver)																				
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	1	3	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0
fatty change in peripheral zone	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	1	4	0	0	0	1	4	0	0	0
fatty change in central zone	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0
microgranuloma	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	1	3	1	0	0	1	4	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
(Kidneys)																				
regenerated tubule	2	3	0	0	0											5	0	0	0	0
dilated pelvis	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
calculi	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
eosinophilic body	4	0	0	1	0											3	0	2	0	0
(Spleen)																				
brown pigment	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	0	5	0	0											0	0	4	1	0
(Adrenals)																				
abnormality	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0

- Negative, ± Slight, + Moderate, ++ Marked, +++ Severe

Table 4-3 Histopathological findings in rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Female										Male									
	Control (n=5)					1000 mg/kg (n=5)					Control (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
Group Grade	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Liver)																				
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0		0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
fatty change in peripheral zone	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0	1	4	0	0
fatty change in central zone	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
microgranuloma	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
scar and pigmentation	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0

- Negative, ± Slight, + Moderate, ++ Marked, +++ Severe

その他、投与期間終了時屠殺例のうち剖検時に肉眼的変化がみられた例について、各器官の主な組織所見を以下に示す。皮膚から皮下にかけては、潰瘍あるいは痂皮形成に伴う細胞浸潤のほか、毛根の変性がみられ、顎下リンパ節では胚中心のリンパ球の増加があり、胸腺では、出血あるいは嚢胞形成が認められた。また、胃では、腺胃における前胃粘膜の異所形成あるいは毛細血管の拡張がみられ、子宮では管腔の拡張があり、精巣では間質の出血が認められた。さらに、肺では、出血あるいは出血および水腫に伴う細胞浸潤、泡沫状細胞の集簇、異物周囲の線維化と色素沈着、炎症巣、肺動脈領域の血管内の細胞数の増加が認められた。

回復試験期間終了時屠殺例では、1000 mg/kg投与群の雄の1例の肝臓に色素沈着を伴う瘢痕の形成がみられたが、投与期間終了時屠殺例にみられた肝細胞の腫脹は認められなかった。

その他、回復試験期間終了時屠殺例のうち剖検時に肉眼的変化がみられた例について組織学的検査を行った結果、腺胃における前胃粘膜の異所形成、肺の出血あるいは出血を伴う炎症巣、腎臓の再生尿細管と管腔内の出血および胸腺における出血が認められた。

考察

2, 2, 4, 4, 6, 8, 8-ヘプタメチルノナン100, 300および1000 mg/kgを、雌雄のSprague-Dawley系 (Crj:CD) ラットに1日1回、28日間にわたって反復経口投与し、さらに14日間の回復試験を行った。

その結果、一般状態の変化として、雌雄とも1000 mg/kg投与群の全例と溶媒対照群を含む他の投与群の1ないし3例に、投与直後の一過性の流涎がみられ、被験物質投与群では、まれに投与時に保定するだけで認められる例もあった。溶媒対照群の流涎は、連続的にみられることなく、28日間の投与期間中、1ないし4回であったのに対し、被験物質投与群の特に1000 mg/kg投与群では、その多くが投与第2週以降に連続的にみられる傾向にあり、投与時に保定するだけで認められる例もあったことから、溶媒対照群の流涎の成因とは異なり、被験物質の何らかの刺激によって成立した条件反射によるものと考えられる。

尿検査では、投与期間終了週において、被験物質投与群で散発的にビリルビンの陽性例が認められたが、その出現頻度および程度に用量依存性はなく、偶発的な所見と判断した。また、回復試験期間終了週の尿検査では、1000 mg/kg投与群の雄の1例が糖と潜血反応が陽性であり、他の1例でも潜血反応が陽性であったが、いずれも投与期間終了週の検査では認められなかったことから、これらの所見も偶発的なものと判断した。

投与期間終了時の血液学的あるいは血液生化学的検査では、1000 mg/kg投与群の雄において、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。また、300および1000 mg/kg投与群の雄では、トリグリセライド濃度が低下し、1000 mg/kg投与群の雌では、GPT活性が上昇したほか、雄では、カリウムおよび塩素濃度が、いずれも低下した。さらに、回復試験期間終了時の検査でも、1000 mg/kg投与群の雄において、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。しかし、これらの血液学的あ

るいは血液生化学的検査所見と関連があると考えられる病理学的変化は認められず、今回の試験においては、これらの変化の発生機序を明らかにすることは出来なかった。その他、投与期間終了時および回復試験期間終了時の検査で、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差が認められる項目があったが、いずれも生理的変動範囲を著しく越えるものではなく、また、用量相関も認められなかったため、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

投与期間終了時の病理学的検査では、雌雄とも、300 mg/kg以上の投与群の肝臓の絶対重量あるいは相対重量が増加し、組織学的には、1000 mg/kg投与群の雌雄と300 mg/kg投与群の雄に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられる例があり、1000 mg/kg投与群の雄の1例では、肝細胞の壊死巣も認められた。また、回復試験期間終了時の病理学的検査では、1000 mg/kg投与群の雄において、肝臓の相対重量が増加し、組織所見では、1000 mg/kg投与群の雄の1例に色素沈着を伴う瘢痕の形成がみられたが、投与期間終了時屠殺例にみられた肝細胞の腫脹は認められなかった。これらの肝臓の変化は、溶媒対照群および100 mg/kg投与群で認められなかったことから、被験物質投与に起因したものと考えられるが、今回の試験では、その成因を明らかにすることは出来なかった。なお、その他の器官の変化については、いずれも用量依存性はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

以上のことから、本試験条件下における2, 2, 4, 4, 6, 8, 8-ヘプタメチルノナン100の無影響量は、雌雄とも100 mg/kg以下と考えられる。

文献

- 1) 今井清 他、本書、p.461.

連絡先：試験責任者 今井清

(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所

〒257 神奈川県秦野市落合 729-5

Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence : Imai, Kiyoshi

Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257, Japan

Tel 81-463-82-4751 Fax 81-463-82-9627

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの細菌を用いる復帰変異試験

Reverse Mutation Test of 2,2,4,4,6,8,8-Heptamethylnonane on Bacteria

要約

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの変異原性の有無について、細菌を用いる復帰変異試験を実施することにより検討した。

検定菌として *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用い、直接試験および代謝活性化試験のいずれも、用量設定試験は 50～5000 μg /プレート の用量で、本試験は 312.5～5000 μg /プレート の用量で試験を行った。

その結果、2回の本試験とも、用いた5種類の検定菌について、いずれの用量でも復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンは、用いた試験系において変異原性を有しない（陰性）と判定された。

緒言

OECD 既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、日本が独自に選定した既存化学物質の1つである、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンについて、細菌を用いる復帰変異試験をプレート法により実施した。

この試験は、サルモネラ（ネズミチフス菌）におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰変異¹⁾、ならびに大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰変異²⁾を指標とした変異原の検出系である。

試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる直接試験と、哺乳動物のもつ薬物代謝酵素（S9混液）によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する代謝活性化試験とからなっている。

本試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号）およびOECD化学品試験法ガイドライン：471、472に準拠し、化学物質GLP（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に基づいて実施した。

方法

〔検定菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

Salmonella typhimurium TA100、*Salmonella typhimurium* TA1535、*Salmonella typhimurium* TA98、*Salmonella typhimurium* TA1537の4菌株は1975年10月31日にアメリカ合衆国、カリフォルニア大学のB. N. Ames博士から分与を受けた。

Escherichia coli WP2 *uvrA* 株は1979年5月9日に国立遺伝学研究所の賀田恒夫博士から分与を受けた。

検定菌は、 -80°C 以下で凍結保存した。試験に際して、0.5%塩化ナトリウム添加ニュートリエントブロス（Difco）を入れたL字型試験管に種菌を接種し、 37°C 、10時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被験物質〕

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナン（CAS No. 4390-04-9、2,2,4,4,6,8,8-Heptamethylnonane）は、分子量226.45、比重0.78、沸点 240°C 、無色透明の液体である。純度99.9%のもの（ロット番号：AU02、東京化成工業株式会社製造）を（社）日本化学工業協会から供与された。被験物質は、使用時まで室温で遮光して保存した。

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンは、アセトン（ロット番号：DSR 3251、和光純薬工業（株））を用いて50 mg/ml になるように調製した後、同溶媒で更に公比2ないし3で希釈したものを、速やかに試験に用いた。

試験の開始に先立って、秦野研究所において2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのアセトン溶液中での安定性試験を行った。安定性試験における溶媒は当研究所で実施される、培養細胞を用いる染色体異常試験と共通なことから、両試験における最高濃度（460 mg/ml）および最低濃度（3 mg/ml）の2濃度について室温、遮光条件下で実施した。その結果、調製後3時間における各3サンプルの平均含量は、それぞれ初期値の平均（0時間）に対して、104%および100%であった。これらの値は、当研究所の標準操作手順書の基準（初回の測定平均値の90%以上）を満たしていた。

また、本試験に用いた調製検体について、含量測定試験を行った結果、50 mg/ml溶液の含量は既定濃度に対し、101～102%、3.125 mg/ml溶液については、97.8～99.9%であった。サンプル間のばらつきは平均値の2%以下であった。これらの値も、当研究所の標準操作手順書の基準（平均含量は添加量の85%以上）を満たしていた。

以上の結果から、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンはアセトン溶液中では安定であり、また調製液中の被験物質の含量は所定の値の範囲内にあることが確認された。