

図1 細胞増殖抑制試験結果

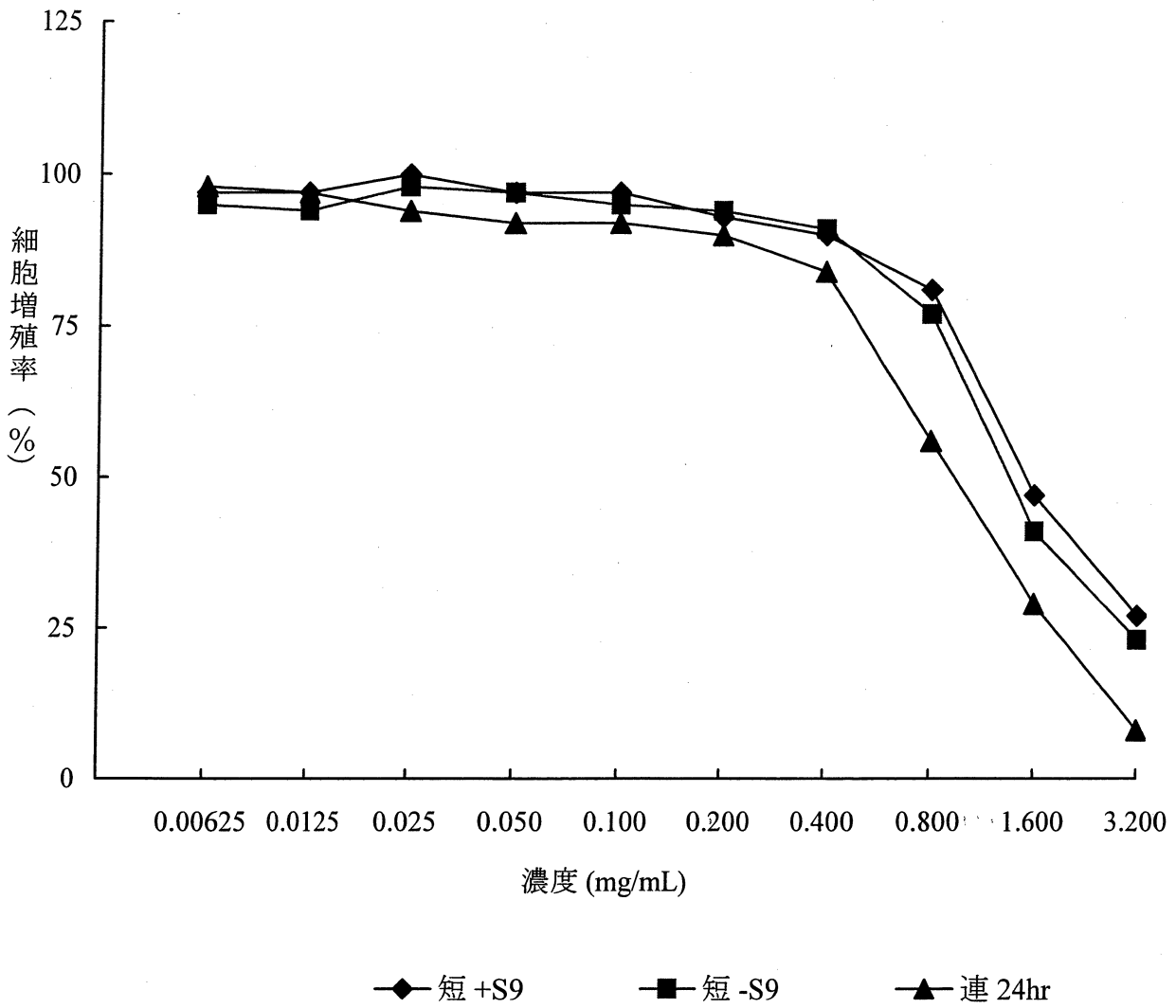
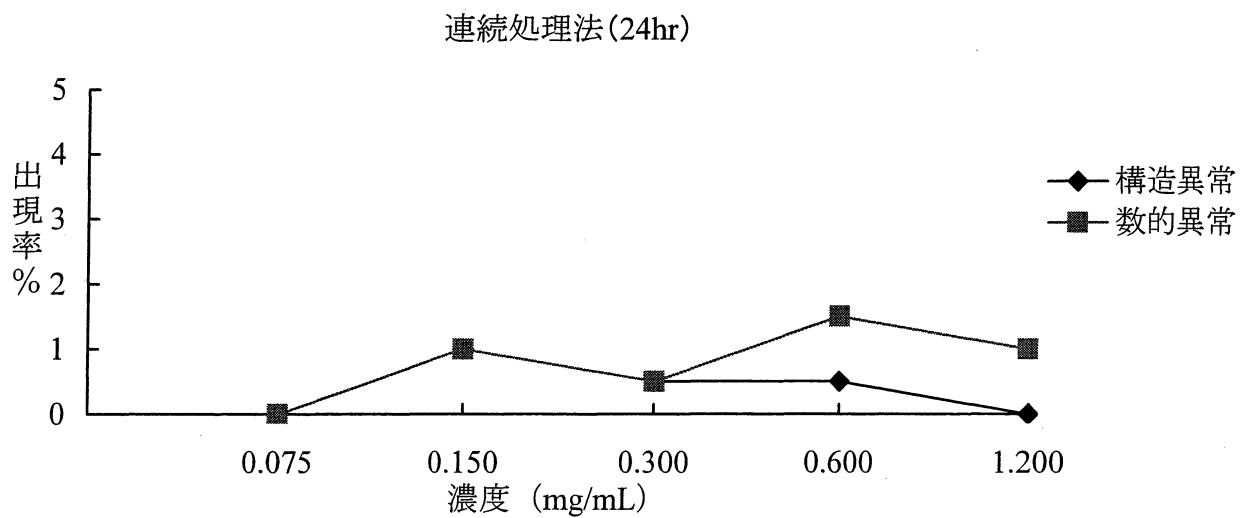
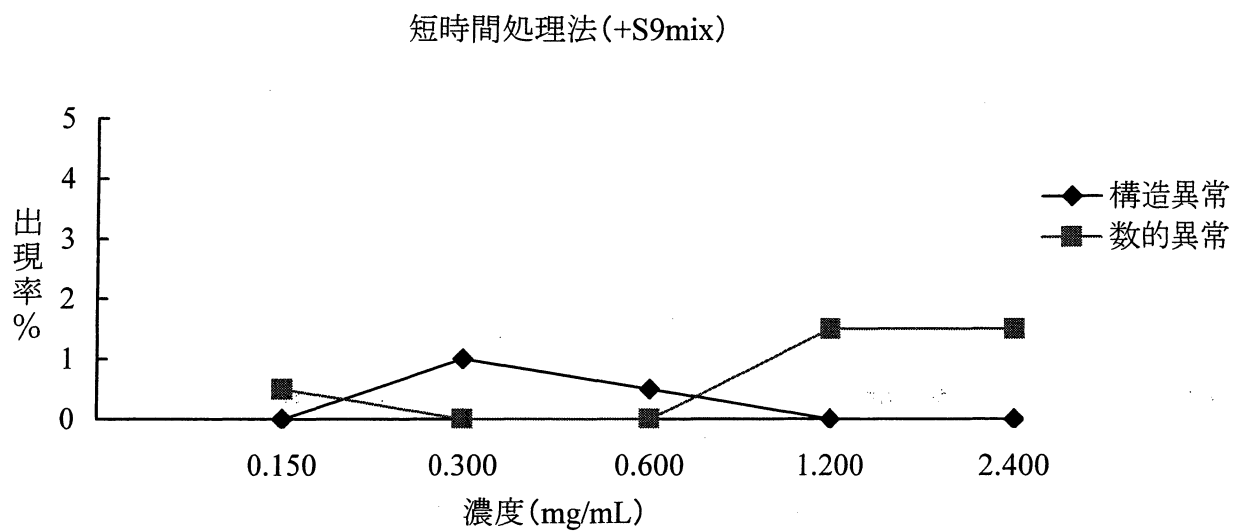
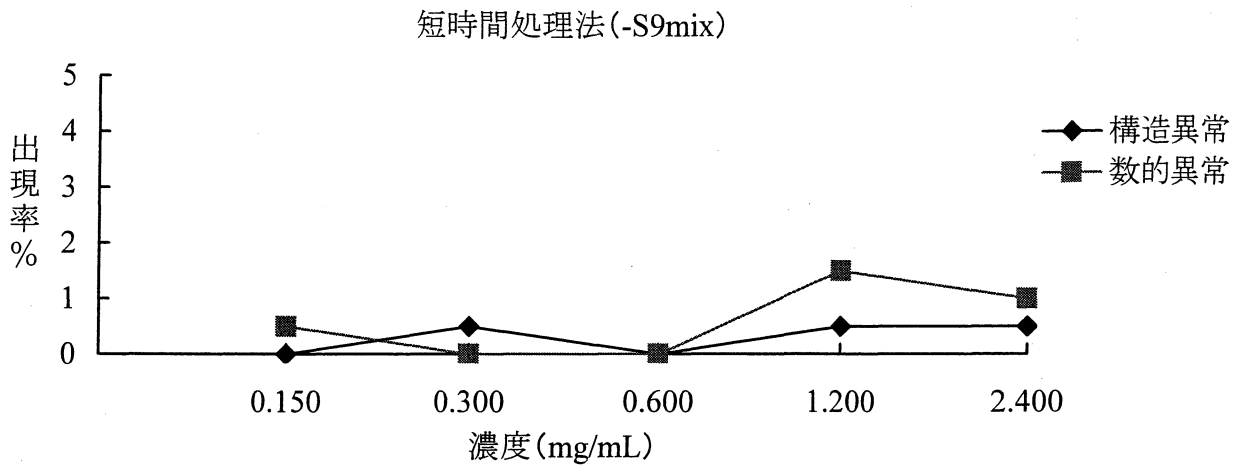


圖2 用量反應曲線

Study No. 971124



被験物質名：ブメトリゾール (CAS No.3896-11-5)

試験系：チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株 (CHL/IU細胞)

試験委託者：厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

試験施設：株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地

試験目的：ブメトリゾールのほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験を行い、その染色体異常誘発性の有無について検討した。

準拠したガイドライン：

「OECD化学品テストガイドライン, 473 In vitro 哺乳類動物細胞を用いる染色体異常試験」(1997年7月21日採択), 平成15年11月21日付(薬食発第1121002号：厚生労働省医薬食品局長, 平成15・11・13製局第2号：経済産業省製造産業局長, 環保企発第031121002号：環境省総合環境政策局長連名通知)「新規化学物質等に係る試験の方法について」の別添「化学物質の慢性毒性試験, 生殖能及び後世代に及ぼす影響に関する試験, 催奇形性試験, 変異原性試験, がん原性試験, 生体内運命に関する試験及び薬理学的試験」

遵守したGLP：新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準(平成15年11月21日, 薬食発第1121003号, 平成15・11・17製局第3号, 環保企発第031121004号) 並びにOECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (OECD化学物質の安全性試験の実施に関する基準)

試験開始日：2005年 4月 1日

試験終了日：2006年 11月 13日

試験実施日：試験系細胞の再培養実施日 (実験開始日)	2005年 4月 15日
細胞増殖抑制試験	
細胞播種日	2005年 4月 22日
検体液添加日	2005年 4月 25日
細胞数計測日	2005年 4月 26日
染色体異常試験	
1) 短時間処理法	
細胞播種日	2005年 5月 6日
検体液添加日	2005年 5月 9日
標本作製及び細胞数計測日	2005年 5月 10日

要 約

ブメトリゾールの染色体異常誘発性の有無を、ほ乳類の培養細胞(CHL/TU細胞)を用い、短時間処理法(6時間処理のS9 mix添加及びS9 mix無添加)と連続処理法(24時間処理)で検討した。

ブメトリゾールの試験濃度は、細胞増殖抑制試験の結果から、50%細胞増殖抑制濃度及び細胞の生存率を指標に、短時間処理法(S9 mix添加及びS9 mix無添加)では150, 300, 600, 1200及び2400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、連続処理法(24時間処理)では75, 150, 300, 600及び1200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の公比2, 5段階を設定した。

試験の結果、連続処理法及び短時間処理法とも、数的及び構造的異常細胞の出現率は5%未満であった。

各試験系列で用いた陽性対照物質は、明らかな陽性結果を示し、陰性対照及び陽性対照における染色体異常誘発率は、当試験施設のバックグラウンドデータの範囲内であった。

以上の結果、本試験条件下において、ブメトリゾールに染色体異常誘発性はないと判定する。

Table 1. Cell growth inhibition test of bumetrizole in cultured CHL cells
-The short treatment method-

Test Substance	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Treated for 6 hr with S9 mix			Treated for 6 hr without S9 mix		
		No. of cells ($\times 10^4/\text{plate}$)	Survival ratio ^{a)} (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	No. of cells ($\times 10^4/\text{plate}$)	Survival ratio ^{a)} (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Negative control (Dimethyl sulfoxide)	—	70	100	—	64	100	—
bumrtrizole	6.25	68	97	2020.9	61	95	1864.9
	12.5	68	97		60	94	
	25	70	100		63	98	
	50*	68	97		62	97	
	100*	68	97		61	95	
	200*	65	93		60	94	
	400*	63	90		58	91	
	800*	57	81		49	77	
	1600*	33	47		26	41	
	3200*	19	27		15	23	

a): (bumetrizole treated group / negative control) $\times 100$.

*: White oily membrane-like precipitations and white fine precipitations were noted in culture fluid.

Table 2. Cell growth inhibition test of bumetrizole in cultured CHL cells
-The continuous treatment method-

Test Substance	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Treated for 24 hr		
		No. of cells ($\times 10^4/\text{plate}$)	Survival ratio ^{a)} (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Negative control (Dimethyl sulfoxide)	—	63	100	—
bumetrizole	6.25	62	98	836.6
	12.5	61	97	
	25	59	94	
	50*	58	92	
	100*	58	92	
	200*	57	90	
	400*	53	84	
	800*	35	56	
	1600*	18	29	
	3200*	5	8	

a): (bumetrizole treated group / negative control) $\times 100$.

*: White oily membrane-like precipitations and white fine precipitations were noted in culture fluid.

Table 3. Chromosomal aberration test of bumetrizole in cultured CHL cells
— The short treatment method —

Test substance	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	With (+) or without (-) S9 mix	No. of metaphase examined	Numerical aberration				Structural aberrations								Survival ratio ^{e)} (%)				
				No. of Polyploid cells	No. of endoreduplication cells	Incidence ^{a)} (%)	Judgement ^{b)}	Types ^{c)} and numbers (cumulative)						No. of cells with chromosome aberration			Incidence ^{d)} (%)	Judgement ^{b)}		
								gap	ctb	csb	cte	cse	fig	(+g)	(-g)				(+g)	(-g)
Negative control	—	+	200	1	0	0.5	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	100
bumetrizole	150*	+	200	1	0	0.5	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	96
	300*	+	200	0	0	0	—	0	1	0	1	0	0	2	2	1.0	1.0	—	91	
	600*	+	200	0	0	0	—	0	1	0	0	0	0	1	1	0.5	0.5	—	85	
	1200*	+	200	3	0	1.5	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	51	
	2400*	+	200	3	0	1.5	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	34	
	Dimethylnitrosamine	500	+	200	0	0	0	—	0	66	0	124	2	0	145	145	72.5	72.5	+	85
Negative control	—	—	200	0	0	0	—	0	1	0	0	0	0	1	1	0.5	0.5	—	100	
bumetrizole	150*	—	200	1	0	0.5	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	95	
	300*	—	200	0	0	0	—	0	1	0	0	0	0	1	1	0.5	0.5	—	95	
	600*	—	200	0	0	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	89	
	1200*	—	200	3	0	1.5	—	0	1	0	0	0	0	1	1	0.5	0.5	—	48	
	2400*	—	200	2	0	1.0	—	0	0	0	1	0	0	1	1	0.5	0.5	—	34	
	Mitomycin C	0.1	—	200	0	0	0	—	0	53	0	75	0	0	105	105	52.5	52.5	+	88

Negative control: Dimethyl sulfoxide.

a): (Numerical aberration cells / observed metaphase cells) \times 100.

b): Judged on the basis of incidence as; —: negative (less than 5.0%) ; \pm : equivocal (5.0% or higher to less than 10.0%) ; +: positive (10.0% or higher) .

c): ctb: chromatid break; csb: chromosome break; cte: chromatid exchange; cse: chromosome exchange; fig: fragmentation.

d): (Cells with structural chromosome aberration / observed metaphase cells) \times 100.

e): (bumetrizole treated group or positive control / negative control) \times 100.

(+g): Total aberrant cells including the gap; (-g): total aberrant cells excluding the gap.

*: White oily membrane-like precipitations and white fine precipitations were noted in culture fluid.

Table 4. Chromosomal aberration test of bumetrizole in cultured CHL cells
 — The continuous treatment method —

Test substance	Concentration (µg/mL)	Time of treatment (hr)	No. of metaphase examined	Numerical aberration				Structural aberrations										Survival ratio ^{e)} (%)	
				No. of Polyploid cells	No. of endoreduplication cells	Incidence ^{a)} (%)	Judgement ^{b)}	Types ^{c)} and numbers (cumulative)						No. of cells with chromosome aberration		Incidence ^{d)} (%)			Judgement ^{b)}
								gap	ctb	csb	cte	cse	frg	(+g)	(-g)	(+g)	(-g)		
Negative control	—	24	200	0	0	0	—	0	0	0	1	0	0	1	1	0.5	0.5	—	100
bumetrizole	75*	24	200	0	0	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	97
	150*	24	200	2	0	1.0	—	0	1	0	0	1	0	2	2	1.0	1.0	—	92
	300*	24	200	1	0	0.5	—	0	0	0	1	0	0	1	1	0.5	0.5	—	88
	600*	24	200	3	0	1.5	—	0	1	0	0	0	0	1	1	0.5	0.5	—	62
	1200*	24	200	2	0	1.0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	34
	Mitomycin C	0.05	24	200	0	0	0	—	0	40	0	56	0	0	87	87	43.5	43.5	+

Negative control: Dimethyl sulfoxide.

a): (Numerical aberration cells / observed metaphase cells) × 100.

b): Judged on the basis of incidence as; —: negative (less than 5.0%) ; ±: equivocal (5.0% or higher to less than 10.0%) ; +: positive (10.0% or higher) .

c): ctb: chromatid break; csb: chromosome break; cte: chromatid exchange; cse: chromosome exchange; frg: fragmentation.

d): (Cells with structural chromosome aberration / observed metaphase cells) × 100.

e): (bumetrizole treated group or positive control / negative control) × 100.

(+g): Total aberrant cells including the gap; (-g): total aberrant cells excluding the gap.

*: White oily membrane-like precipitations and white fine precipitations were noted in culture fluid.

被験物質名：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン(CAS No. 6362-80-7)

試験系：Crj:CD(SD)IGS 雌ラット(SPF)

試験委託者：厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

試験施設：株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地

試験目的：当試験は、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンが人に摂取された場合の健康への影響を推定するために2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンを雌ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。

準拠したガイドライン：

OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)

遵守した GLP：

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成15年11月21日：薬食発第1121003号，平成15・11・17製局第3号，環企発第031121004号)及びOECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE(OECD化学物質の安全性試験の実施に関する基準)

遵守した動物の福祉に関する法令など：

「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和48年10月1日法律第105号，平成11年12月22日改正)，「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年3月27日総理府告示第6号，平成14年5月28日一部改正)，「動物実験に関する指針」(昭和62年5月22日社団法人日本実験動物学会)及び株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所「動物実験倫理委員会規則」

試験開始日：2005年2月16日

試験終了日：2007年1月30日

要約

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンを雌ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は、第1回試験及び第2回試験を2000 mg/kg、第3回試験及び第4回試験を300 mg/kgとした。媒体にはトウモロコシ油を用いた。使用動物数は各3例とした。

1. 死亡状況及び一般状態

死亡例は、第1回試験の2000 mg/kg投与で投与後1日に1例と第2回試験の2000 mg/kg投与で投与後1日に2例に認められた。

一般状態において、第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与で振戦、間代性痙攣、下腹部の汚れあるいは下痢がみられた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、異常はみられなかった。

2. 体重

第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与では、投与後1日に体重増加の抑制がみられた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、体重推移に異常はみられなかった。

3. 剖検

第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与では、死亡例及び生存例とも剖検所見に異常はみられなかった。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、剖検所見に異常はみられなかった。

以上の結果から、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのLD₅₀値は、300 mg/kgと2000 mg/kgの間にあると推定される。

<第4回試験>

試験群	投与量(含量)	動物数(動物番号)
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン	300 mg/kg(30 mg/mL)	3(F01451~F01453)

第3回試験の300 mg/kg 投与で死亡例が認められなかったため、300 mg/kg を第4回試験の投与量とした。

5. 観察及び検査項目

5.1. 観察期間

投与後14日間とした。

5.2. 一般状態

投与日は投与後6時間(投与直後～投与後30分、投与後2、4及び6時間)まで、投与翌日からの観察期間中は1日1回、一般状態及び死亡の有無を観察した。

5.3. 体重測定

投与日(投与直前)並びに投与後1、3、7、10及び14日に測定した(電子天秤:PG2002-S, メトラー・トレド株式会社)。

5.4. 剖検

死亡動物は、速やかに剖検した。

生存動物は、観察期間終了時にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

6. 統計解析

LD₅₀値は概略の範囲を推定した。

体重は、各群で平均値及び標準偏差を算出した。

結果

1. 死亡状況、LD₅₀値及び一般状態 (Table 1~2, Appendix 1-1~1-4)

死亡例は、第1回試験の2000 mg/kg 投与で投与後1日に1例と第2回試験の2000 mg/kg 投与で投与後1日に2例に認められた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg 投与では、死亡例は認められなかった。以上の結果から、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのLD₅₀値は、300 mg/kg と2000 mg/kg の間にあると推定される。

一般状態において、第1回試験の2000 mg/kg 投与で投与後4時間に振戦が1例、投与後6時間に振戦及び間代性痙攣が1例、投与後1日に下腹部の汚れが2例と間代性痙攣が1例にみられた。第2回試験の2000 mg/kg 投与で投与後2時間に下痢が1例、投与後4時間に下痢が2例、

投与後 6 時間に下腹部の汚れが 2 例、振戦及び間代性痙攣が 1 例、投与後 1 日に下腹部の汚れが 1 例にみられた。第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与では、異常はみられなかった。

2. 体重 (Table 3, Appendix 2-1~2-4)

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与では、投与後 1 日に体重増加の抑制がみられたが、投与後 3 日以降の体重は順調に推移した。第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与では、体重は順調に推移した。

3. 剖検 (Table 4, Appendix 3-1~3-6)

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与による死亡例では、剖検所見に異常はみられなかった。

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与による生存例並びに第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与による生存例では、剖検所見に異常はみられなかった。

考察

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの LD₅₀ 値は、300 mg/kg と 2000 mg/kg の間と考えられる。

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの 2000 mg/kg 投与により、振戦及び間代性痙攣が認められたことから、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンによる呼吸麻痺あるいは中枢神経の異常により死に至ったと考えられる。

文献

- 1) 旭化成ファインケム株式会社; MSDS
- 2) 渡邊ゆかりほか: 2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン調製液の安定性確認試験(試験番号: 401924P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene

Group	mg/kg	Number of females	Number of deaths																Total number of deaths	LD ₅₀ (mg/kg)					
			Hours after administration				Days after administration																		
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			13	14			
Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	2000	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	>300 <2000
Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	2000	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 2 General signs of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Hours after administration				Days after administration																					
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14								
Test group 1 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	2000	Number of females	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2			
		Normal	3	3	2	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
		Tremor	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Clonic convulsions	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Soiled perineal region	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Test group 2 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	2000	Number of females	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
		Normal	3	2	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		Diarrhea	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Tremor	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Clonic convulsions	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Death	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Test group 3 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Test group 4 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Table 3 Body weights of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene
mg/kg	2000	2000	300	300
Number of females	3	3	3	3
Days after administration				
0	181 ± 1	179 ± 4	185 ± 2	181 ± 4
1	187 (2)	186 (1)	205 ± 8	201 ± 3
3	212 (2)	199 (1)	218 ± 5	207 ± 3
7	221 (2)	207 (1)	227 ± 5	217 ± 10
10	232 (2)	212 (1)	236 ± 10	221 ± 14
14	237 (2)	217 (1)	246 ± 13	234 ± 19

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 4 Necropsy findings of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene
mg/kg	2000	2000	300	300
Number of surviving females	2	1	3	3
Findings Normal	2	1	3	3
Number of dead females	1	2	0	0
Findings Normal	1	2	-	-