

Table 8-5 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (Week 2 of recovery)
 Male

Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	
									No.
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	435	2.06	432	1.32	12.77	0.75	3.05
		S.D.	46	0.08	126	0.17	2.11	0.16	0.25
	1000	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	421	2.12	495	1.29	12.29	0.72	2.93
		S.D.	43	0.07	110	0.17	2.26	0.12	0.33
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.48	99	0.30	2.92	0.17	0.71	14
		S.D.	0.04	27	0.02	0.19	0.03	0.06	2
	1000	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.51	118	0.31	2.90	0.17	0.70	15
		S.D.	0.04	25	0.06	0.23	0.02	0.05	2

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-6 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (Week 2 of recovery)
 Male

Dose mg/kg	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)			
			No.	Mean	
Absolute	0	6	6	No.	6
				Mean	3.20
				S.D.	0.27
	1000	6	6	No.	6
				Mean	3.23
				S.D.	0.25
Relative	0	6	6	No.	6
				Mean	0.74
				S.D.	0.11
	1000	6	6	No.	6
				Mean	0.77
				S.D.	0.08

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-7 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (Week 2 of recovery)
 Female

Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	
									No.
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	258	1.96	374	0.84	6.96	0.56	1.79
		S.D.	33	0.05	61	0.07	1.00	0.08	0.15
	1000	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	242	1.94	353	0.84	6.67	0.45*	1.83
		S.D.	16	0.07	82	0.07	0.57	0.06T	0.14
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	
		Mean	0.77	147	0.33	2.70	0.22	0.70	26
		S.D.	0.09	26	0.02	0.07	0.02	0.05	5
	1000	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.81	146	0.35	2.76	0.19*	0.76	29
		S.D.	0.07	30	0.02	0.09	0.02T	0.05	5

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
 T : Student's t-test

Table 8-8 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (Week 2 of recovery)
 Female

	Dose mg/kg		Ovary	Uterus
			(R+L) mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	85.3	476
		S.D.	8.8	155
	1000	No.	6	6
		Mean	76.6	418
		S.D.	15.4	106
Relative	0	No.	6	6
		Mean	33.4	186
		S.D.	4.1	59
	1000	No.	6	6
		Mean	31.6	173
		S.D.	5.1	45

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Gross pathological findings (Day 28)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	100 6	300 6	1000 6	0 6	100 6	300 6	1000 6
Kidney									
Focus,depressed		0	0	0	0	0	0	1	0
Cyst		0	0	0	1	0	0	0	0
Lung(bronchus)									
Focus,dark red		0	0	1	1	0	0	0	0
Uterus									
Cyst		-	-	-	-	0	1	0	0

- : Not applicable

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Gross pathological findings (Week 2 of recovery)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg):	0	1000	0	1000
	Number:	6	6	6	6
All tissues					
Not remarkable		6	6	6	6

Table 10-1 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Histopathological findings (Day 28)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M	M	M	M	F	F	F	F
		0 6	100 6	300 6	1000 6	0 6	100 6	300 6	1000 6
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Bone+Bone marrow,femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Bone+Bone marrow,sternal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Cardiomyopathy		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Intestine,duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,jejenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,ileum(Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Cell infiltration,mucosal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Intestine,colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine,rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Kidney									
Number examined		6	0	0	6	6	0	1	6
Not remarkable		5	0	0	3	6	0	0	5

- : Not applicable

Table 10-2 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Histopathological findings (Day 28)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M	M	M	M	F	F	F	F
		0 6	100 6	300 6	1000 6	0 6	100 6	300 6	1000 6
Kidney (continued)									
Cyst		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Regeneration, tubular		1	0	0	2	0	0	1	1
minimal		1	0	0	2	0	0	0	1
mild		0	0	0	0	0	0	1	0
Eosinophilic body, tubular cell		1	0	0	2	0	0	0	0
minimal		1	0	0	2	0	0	0	0
Liver									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		0	1	3	0	0	1	1	1
Vacuolation, hepatocyte, periportal		6	4	2	1	5	3	4	4
minimal		5	4	2	1	3	3	3	3
mild		1	0	0	0	2	0	1	1
Microgranuloma		1	1	0	2	4	4	4	4
minimal		1	1	0	2	3	4	4	4
mild		0	0	0	0	1	0	0	0
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	0	1	5	0	0	0	3
minimal		0	0	1	2	0	0	0	3
mild		0	0	0	3	0	0	0	0
Lung (bronchus)									
Number examined		6	0	1	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	4	6	0	0	6
Hemorrhage, focal		0	0	1	1	0	0	0	0
mild		0	0	1	1	0	0	0	0
Accumulation, foamy cell		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Parathyroid									
Number examined		5	0	0	6	6	0	0	5
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	5
No sample		1	0	0	0	0	0	0	1
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Cyst		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		2	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, interstitial		4	0	0	2	-	-	-	-
minimal		3	0	0	2	-	-	-	-
mild		1	0	0	0	-	-	-	-
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

- : Not applicable

Table 10-3

A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (Day 28)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M	M	M	M	F	F	F	F
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
Findings		6	6	6	6	6	6	6	6
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spleen									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		2	0	0	3	5	0	0	6
Hematopoiesis, extramedullary		4	0	0	3	1	0	0	0
minimal		4	0	0	3	1	0	0	0
Stomach									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	6	6	4	6	6	6	4
Erosion		0	0	0	1	0	0	0	0
minimal		0	0	0	1	0	0	0	0
Thickening, limiting ridge		0	0	0	1	0	0	0	2
minimal		0	0	0	1	0	0	0	2
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Thymus									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thyroid									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	5	4	0	0	4
Ectopic thymus		1	0	0	1	0	0	0	0
minimal		1	0	0	1	0	0	0	0
Cyst, ultimobranchial		0	0	0	0	2	0	0	2
minimal		0	0	0	0	2	0	0	2
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	1	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Cyst		-	-	-	-	0	1	0	0
minimal		-	-	-	-	0	1	0	0

- : Not applicable

Table 10-4 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (Week 2 of recovery)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 1000 6	F 0 6	F 1000 6
Liver					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		2	3	3	1
Vacuolation, hepatocyte, periportal		2	1	3	2
minimal		2	1	3	2
Microgranuloma		2	2	2	5
minimal		2	2	2	5
Stomach					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		6	6	6	6

要 約

2,3,4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノンの遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため、復帰突然変異試験を指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用い、S9 mix 非存在（直接法）および存在（代謝活性化法）下でプレインキュベーション法により行った。

用量は、用量設定試験（予備試験）の結果、菌の生育阻害が認められる用量を最高用量とし、直接法においては TA100 および TA1535 で 31.3~1000 μ g/プレート、TA98 および TA1537 で 1.56~50 μ g/プレート、WP2uvrA では 62.5~2000 μ g/プレートの範囲（公比 2）、また、代謝活性化法ではいずれの菌株とも 156~5000 μ g/プレートの範囲（公比 2）で設定した。

試験は 2 回実施した。その結果、全ての菌株において代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。菌の生育阻害については、直接法では TA100 の 1000 μ g/プレート、TA1535 の 500 μ g/プレート以上、TA98 および TA1537 の 25 μ g/プレート以上、および WP2uvrA の 2000 μ g/プレートの用量で、また、代謝活性化法では TA100, TA1535 および WP2uvrA の 2500 μ g/プレート以上、TA98 および TA1537 の 5000 μ g/プレートの用量で認められた。

以上の成績から、本実験条件下では、2,3,4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノンの細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

- (2) 被験物質用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する（用量依存性）。
- (3) 2回にわたる本試験の結果から復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。
- 但し、明確な用量依存性が認められない場合においても、陽性値を示す試験結果に再現性が認められれば陽性と判定する。

結 果

試験を2回実施した結果（表 2-1-1, 2-1-2, 2-2, 3-1-1, 3-1-2, 3-2 および図 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5）, 直接法および代謝活性化法のいずれの場合も、供試したすべての菌株において復帰変異コロニー数は、陰性対照値の2倍を超えることはなかった。菌の生育阻害については、直接法では TA100 の 1000 μ g/プレート, TA1535 の 500 μ g/プレート以上, TA98 および TA1537 の 25 μ g/プレート以上, および WP2 *uvrA* の 2000 μ g/プレートの用量で、また、代謝活性化法では TA100, TA1535 および WP2 *uvrA* の 2500 μ g/プレート以上, TA98 および TA1537 の 5000 μ g/プレートの用量で認められた。

陰性対照群では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められた。陽性対照群においては明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められ、その程度は、それぞれ背景データ（添付資料）の範囲内の陽性値を示すものであった。また、試験に用いた菌液、溶媒、被験物質の供試液および S9 mix などには、雑菌の混入は認められなかった。その他、実験中被験物質の析出等、特記すべき変化は認められなかった。

結 論

2,3,4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノンについて遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、全ての指標菌株で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

試験の有効性については、2回にわたる本試験ともに有効であることが確認された。

したがって、本実験条件下では 2,3,4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノンの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。