

4-エチルビフェニルのラットを用いる単回経口投与毒性試験

Single Dose Oral Toxicity Test of 4-Ethylbiphenyl in Rats

要約

4-エチルビフェニルの0(コーンオイル), 250, 500, 1000および2000 mg/kgを1群5匹からなる5週齢の雌雄Sprague-Dawley系(Crj:CD)ラットに単回経口投与し、以下の結果を得た。

雄では死亡例はなかったが、雌では、1000 mg/kg投与群で1例、2000 mg/kg投与群で4例が死亡した。

雄の500 mg/kg, 雌の1000 mg/kg以上の投与群で鎮静あるいは活動性の低下が、雄の1000 mg/kg以上および雌の2000 mg/kgの投与群で腹臥位姿勢が観察され、一部の例では半眼もみられた。観察第2日には、1000および2000 mg/kg投与群の雌雄で排便量の減少または無排便が観察され、2000 mg/kg投与群の雌では活動性低下等の症状が観察された。2000 mg/kg投与群の雌では、これらの症状が観察第3日以降も持続し、貧血様蒼白も観察されたが、第7日以降回復した。体重推移では、500 mg/kg以上の投与群の雄および1000 mg/kg投与群の雌で観察第4日まで用量に依存した体重増加抑制がみられたが、その後回復傾向が認められた。

死亡例の剖検所見では、脾臓の小型化および淡色化、腎乳頭部の暗赤色化、腎盂の拡張、心臓の淡色化、消化管粘膜の黒色点、褐色斑等がみられ、循環障害あるいは消化管障害が疑われた。

以上のことより、4-エチルビフェニルの本試験条件下におけるLD₅₀値は、雌では1000~2000 mg/kgの間であり、雄では2000 mg/kgを上回ると推定された。

方法

1. 被験物質および投与検体の調製法

被験物質として、新日鐵化学(株)(東京)より提供された4-エチルビフェニル(ロット番号:1-GOH, 純度:97.998%, 不純物:9-メチルフルオレン, 白色固体)を使用した。被験物質は常温で固体のため、検体調製にあたっては秤量後40℃の水浴中で加温融解させ、コーンオイル(ロット番号:V7R2020, ナカライテスク(株))を加えて各必要濃度に調製した。なお、2.00および200 mg/mLのコーンオイル溶液中における被験物質は、室温・遮光の条件下で5日間安定であり、また、各投与検体中の平均含量は、所定濃度内であることを確認した。

2. 投与量の設定および投与方法

本試験における投与量は、予備試験の結果を基に決定

した。すなわち、被験物質の8, 30, 125, 500および2000 mg/kgを5週齢の雌雄ラット各群3匹に単回経口投与した結果、2000 mg/kgは致死量であり、500 mg/kgは一過性に自発運動の低下を招く軽度毒性量であることが推定された。そこで本試験では250, 500, 1000および2000 mg/kg(公比2)投与群を設けた。また、溶媒がコーンオイルであることから、溶媒を被験物質投与群と同じ容量を投与する溶媒対照群を設定した。

投与容量は、体重1 kg当たり10 mLとし、投与量は投与前約18時間絶食させた後、投与直前に測定した体重を基に算出し、ラット用胃管を用いて強制的に単回経口投与した。給餌は投与後約3時間に再開した。

3. 動物および飼育方法

4週齢のSprague-Dawley系(Crj:CD,SPF)雌雄ラットを、日本チャールス・リバー厚木飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて7日間飼育した。全飼育期間を通じ、動物を金属製金網床ケージに1匹ずつ収容し、温度23.5~25.0℃, 湿度54~66%, 換気回数約15回/時, 照明12時間(7時~19時点灯)に制御された飼育室で、固型飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水(秦野市水道局給水)を自由に摂取させて飼育した。

4. 群構成

試験には予備飼育中の一般状態に異常が認められなかった雌雄各25匹の動物を用いた。投与前日の体重を基に雌雄ともに体重別層化無作為抽出法により1群5匹からなる5群に分け、5週齢で使用した。

5. 観察および検査

一般状態の観察は、投与日においては投与直後から1時間まで連続して行い、以降は約1時間間隔で投与後6時間まで実施した。観察第2日から15日までは毎日1回行った。体重は、投与直前、観察2, 4, 8, 11および15日に測定した。投与後の死亡例は、発見次第体重を測定した後、速やかに剖検した。また、観察第15日に生存例全例をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血屠殺して剖検した。

結果

1. 死亡動物(Table 1)

雄では、全被験物質投与群で死亡は認められなかった。雌では、1000 mg/kg投与群で観察第4日に1例が死亡し、

2000 mg/kg 投与群で観察第2, 3, 4および5日に各々1例が死亡した。

2. 一般状態の観察

雌雄の対照群では溶媒の影響と考えられる下痢便が散見された。被験物質投与群の雄においては、500 mg/kg 投与後、活動性の低下、腹臥位姿勢がみられた。1000 mg/kg 投与群では、活動性の低下、半眼および腹臥位姿勢みられたが、投与後6時間には異常所見は認められなかった。観察第2日には排便量の減少または無排便がみられたが、観察3日以降は回復した。2000 mg/kg 投与群では、活動性の低下や腹臥位姿勢がみられ、時間が経過すると鎮静状態となったが、投与後6時間の観察では異常所見はみられなかった。観察第2日には、排便量の減少または無排便が全例でみられた。

雌においては、250 mg/kg 投与後下痢便が観察された。1000 mg/kg 投与群では、投与後鎮静がみられた。観察第2日には、排便量の減少または無排便がみられた。2000 mg/kg 投与群では、投与後鎮静が観察され、半眼および腹臥姿勢もみられた。観察第2日には、活動性の低下、排便量の減少あるいは無排便が全例で観察された。観察第3日以降も活動性の低下および排便量の減少あるいは無排便が持続し、貧血様蒼白も観察され、観察第3, 4および5日に各1例が死亡した。

3. 体重測定

雄では、500 mg/kg 以上の投与群の体重は、溶媒対照群と比較して観察第4日まで用量依存的に低値を示したが、観察第8日以降増加量は溶媒対照群と同等あるいはそれ以上となる傾向がみられた。

雌においては、1000 mg/kg 投与群の体重増加はわずかであったが、第4日以降回復傾向が認められた。

4. 病理学検査

死亡例では、1000 mg/kg 投与群で腺胃粘膜に黒色点がみられ、2000 mg/kg 投与群では腺胃粘膜への暗色物の付着、前胃粘膜に褐色斑散在、空~回腸内腔に暗色液状物が観察された。脾臓の小型化や淡色化が2000 mg/kg 投与群に認められた。腎臓では、乳頭部の暗赤色化が1000および2000 mg/kg 投与群に認められ、1000 mg/kg 投与群では腎盂の拡張もみられた。さらに、心臓の淡色化および胸腺の暗赤色あるいは赤色化が1000および2000 mg/kg 投与群に、肺の気腫様変化(退縮不全)が2000 mg/kg 投与群に観察された。

観察期間終了時解剖例では、腺胃粘膜の白濁肥厚部が2000 mg/kg 投与群の雌に、前胃粘膜の白色あるいは白濁肥厚部が1000 mg/kg 投与群の雌雄と500 mg/kg 投与群の雌に観察され、500および1000 mg/kg 投与群の雌では、前胃漿膜面と肝臓の癒着も認められた。また、胸腺の多数の白色領域が2000 mg/kg 投与群の雄に、肺の暗色部が1000 mg/kg 投与群の雄にみられた。

考察

4-エチルピフェニルの250, 500, 1000および2000 mg/kgを1群5匹からなる5週齢のSprague-Dawley系(Crj:CD)雌雄ラットに単回強制経口投与した。

その結果、雄では死亡例はみられなかったが、雌では2000 mg/kg 投与群で観察第2~5日に計4例が死亡し、1000 mg/kg 投与群でも観察第4日に1例が死亡した。

雌雄の体重増加は、投与後4日頃まで抑制される傾向がみられた。雄における中毒症状は、500 mg/kg 以上の投与群で活動性の低下や腹臥位姿勢がみられ、雌においては、1000 mg/kg 以上の投与群で鎮静がみられた。雌雄とも観察第2日に排便量の減少または無排便がみられた。2000 mg/kg 投与群では、観察第2日以降も活動性の低下および排便量の減少あるいは無排便が持続し、貧血様蒼白も観察されて4例が死亡した。

死亡例では、腺胃粘膜に黒色点あるいは暗色物の付着、前胃粘膜に褐色斑散在、腎臓では、乳頭部の暗赤色化、腎盂の拡張、心臓の淡色化および胸腺の暗赤色等が観察され、これらの所見から、消化管障害あるいは循環障害が疑われたが、直接の死因を特定することは出来なかった。

これらのことより、4-エチルピフェニルの本試験条件下におけるLD₅₀値は、雌では1000~2000 mg/kgの間にあり、雄では2000 mg/kgを上回ると推定された。

連絡先

試験責任者：大原直樹

試験担当者：勝村英夫、高島宏昌、松本浩孝、
一原佐知子、稲田浩子、永田伴子、
畔上二郎、安生孝子、三枝克彦

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所
〒257-8523 神奈川県秦野市落合729-5
Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors: Naoki Ohara (Study director)
Hideo Katsumura, Hiromasa Takashima,
Hirotaka Matsumoto, Sachiko Ichihara,
Hiroko Inada, Tomoko Nagata,
Jiro Azegami, Takako Anjo,
Katsuhiko Saegusa

Hatano Research Institute, Food and Drug Safety
Center
729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257-8523,
Japan
Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627

Table 1 Mortality and LD₅₀ values in rats after a single oral administration of 4-ethylbiphenyl

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Number of dead animals days after administration										Mortality ^{a)}	LD ₅₀ values (mg/kg)		
			1			2	3	4	5	6	7	8~15				
			~1 hr.	~3 hr.	~6 hr.											
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	>2000
	250	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	1000-2000
	250	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1000	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1/5		
	2000	5	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	4/5		

a) : number of dead animals/number of animals examined