



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 199071312-004 号

依頼者 株式会社 ニッショー

検体 aPIZAS(W・OK・DS・OJ・ON・7)

試験項目 マウスを用いた急性経口毒性試験

平成 11 年 07 月 13 日 当センターに提出された
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

平成 11 年 09 月 21 日

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区代々木町52番1号
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206-8025 東京都多摩市永山6丁目11番10号

マウスを用いた急性経口毒性試験

要 約

aPIZAS(W・OK・DS・OJ・ON・7)を検体として、OECD化学物質毒性試験指針(1987)に準拠し、マウスを用いた急性経口毒性試験を行った。

50 mL/kgを上限として、公比1.2で9用量の検体を雌雄マウスに単回経口投与した。その結果、LD50値は雄では31.3 mL/kg(95 %信頼限界29.8～32.8 mL/kg)、雌では34.3 mL/kg(95 %信頼限界32.9～35.8 mL/kg)と計算された。

検体投与による臨床症状として、すべての群において自発運動の低下が認められた。また、高用量投与群で体姿勢の異常(腹臥位)が見られた。また、発声がほぼすべての群において散見され、呼吸の速迫が認められる例もあった。さらに、投与後1日に下痢が認められる例もあった。

死亡例の剖検では、雌雄ともにすべての例において腺胃粘膜皺が一部～全面消失していた。投与後1日に死亡した例では前記の所見に加えて胃壁が菲薄になっていた。生存例では、雌雄ともにすべての例において主要臓器に異常は認められなかった。

依 頼 者

株式会社 ニッショー

検 体

aPIZAS(W・OK・DS・OJ・ON・7)

試験実施期間

平成11年7月15日～平成11年9月21日

試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
東京都多摩市永山6丁目11番10号

試験担当責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
安全性試験部 安全性試験課
佐藤 秀隆

試験実施者

服部 秀樹 , 深井 純 , 嶋崎 智子 , 梅園 祥子 , 福田 祥子 ,
西森 未来 , 久保 千代美

1 試験目的

検体について、OECD化学物質毒性試験指針(1987)に準拠し、マウスにおける急性経口毒性を調べる。

2 検 体

aPIZAS(W・OK・DS・OJ・ON・7)

性状：無色透明液体

3 試験動物

4週齢のICR系雌雄マウスを日本エスエルシー株式会社から購入し、約1週間の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はポリカーボネート製ケージに各5匹収容し、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料[マウス、ラット用固型飼料；ラボMRストック、日本農産工業株式会社]及び飲料水(水道水)は自由に摂取させた。

4 試験方法

1用量につき雌雄それぞれ10匹を用いた。

投与前に約4時間試験動物を絶食させた。体重を測定した後、試験群には雌雄ともに検体投与量として50, 42, 35, 29, 24, 20, 17, 14及び12 mL/kgの9用量(公比1.2)を設定し、胃ゾンデを用いて強制単回経口投与した。対照群には雄では1.5 mL、雌では1.4 mLの精製水を同様に投与した。

観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日から1日1回の観察を行った。投与後7及び14日に体重測定を行った。死亡例及び観察期間終了時の生存例をすべて剖検した。死亡率からVan der Waerden法によりLD50値を計算した。

5 試験結果

1) 死亡例及びLD50値(表-1及び2)

死亡例は、ほとんどが投与後約30分以内に見られた。

LD50値は雄では31.3 mL/kg(95 %信頼限界29.8~32.8 mL/kg), 雌では34.3 mL/kg(95 %信頼限界32.9~35.8 mL/kg)と計算された。

対照群では、雌雄ともに観察期間中に死亡例は見られなかった。

2) 臨床症状(表-3~6)

試験群では、投与直後から自発運動の低下が雌雄ともにすべての群で認められ、投与後約1分から体姿勢の異常(腹臥位)が雌雄ともに17 mL/kg以上の投与群で見られた。また、投与後約5分から発声が42 mL/kgを除くほぼすべての群において1~2例に認められ、投与後1時間以内に雄の35 mL/kg及び雌の29 mL/kgの各1例で呼吸の速迫が認められた。さらに、投与後1日に下痢が雌雄ともに35~24 mL/kgの1~3例で認められた。生存例においては、自発運動の低下は投与後3日、体姿勢の異常は5時間、発声は1日、下痢は2日までに回復した。

対照群では、雌雄ともに観察期間中に異常は見られなかった。

3) 体重変化(表-7及び8)

試験群では、投与後7日の体重測定において、雌の42 mL/kg投与群で体重増加抑制が認められた。投与後14日の体重測定においては、雌雄ともに体重増加に異常は認められなかった。

対照群では、雌雄ともに体重増加に異常は認められなかった。

4) 剖検所見

死亡例の剖検では、雌雄ともにすべての例において腺胃粘膜襞が一部~全面消失していた。投与後1日に死亡した例では前記の所見に加えて胃壁が菲薄になっていた。生存例では、雌雄ともにすべての例において主要臓器に異常は認められなかった。

対照群では、雌雄ともに主要臓器に異常は認められなかった。

表-1 死亡例及び死亡率(雄)

投与量 (mL/kg)	投与日(時間)		投与後(日)														死亡率
	<1	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
50	9	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10/10
42	9	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10/10
35	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
29	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
24	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
対照群*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10

<1: 投与後1時間以内を示す。

—: 全例死亡のため記録せず。

* 対照群には精製水を投与した。

表-2 死亡例及び死亡率(雌)

投与量 (mL/kg)	投与日(時間)		投与後(日)														死亡率
	<1	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
50	9	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10/10
42	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10
35	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
29	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
24	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
対照群*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10

<1: 投与後1時間以内を示す。

—: 全例死亡のため記録せず。

* 対照群には精製水を投与した。

表-3 臨床症状(雄)；自発運動の低下

投与量 (mL/kg)	投与日(時間)		投与後(日)													
	<1	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
50	10	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
42	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	10	6	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
29	10	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
24	10	7	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
20	10	6	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
17	9	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
14	7	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
12	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
対照群*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

<1：投与後1時間以内を示す。

上段：有症例数，下段：生存例数

—：全例死亡のため記録せず。

* 対照群には精製水を投与した。

表-1 眼障害の評価

(1) 角 膜

(A) 混濁の程度(最も濃い領域を判定する)

透明, 混濁なし	0
散在性及びび慢性混濁, 虹彩細部は明瞭に認める	1
半透明で容易に識別可, 虹彩細部はやや不明瞭	2
乳濁, 虹彩紋理認めず, 瞳孔の大きさをやっと認める	3
白濁, 虹彩は認めない	4

(B) 角膜混濁部の面積(S)

$0 < S \leq 1/4$	1
$1/4 < S \leq 1/2$	2
$1/2 < S \leq 3/4$	3
$3/4 < S \leq 4/4$	4

[評点 = $A \times B \times 5$ 最高評点 80]

(2) 虹 彩

(A) 正 常 0

正常以上のひだ, うっ血, 腫脹, 角膜周囲充血の1つ

又はいくつかを認めるが, 多少とも対光反射はある 1

対光反射なし, 出血, 著しい組織破壊の1つ又は

いくつかを認める 2

[評点 = $A \times 5$ 最高評点 10]

(3) 結 膜

(A) 眼瞼結膜及び眼球結膜の発赤

血管は正常 0

明らかに血管充血 1

び慢性, 深紅色で個々の血管は識別しにくい 2

び慢性の牛肉様の赤色 3

(B) 結膜の浮腫

腫脹なし 0

いくぶん腫脹(瞬膜を含む) 1

明らかな腫脹, 眼瞼が少し外反 2

腫脹, 眼瞼半分閉じる 3

腫脹, 眼瞼半分以上閉じる 4

(C) 分泌物

認めない 0

少し認める 1

分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす 2

分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす 3

[評点 = $(A + B + C) \times 2$ 最高評点 20]

表-2 合計評点の算出方法

部 位	計算式	最高評点
(1) 角 膜	$A \times B \times 5$	80
(2) 虹 彩	$A \times 5$	10
(3) 結 膜	$(A + B + C) \times 2$	20
(1) + (2) + (3) = 合計評点*		110

A, B及びCは、表-1における(A), (B)及び(C)の採点値を示す。

* 各観察時間ごとに算出する。

表-3 眼刺激性の評価

平均合計評点の最高値	区 分
0 ~ 5.0	無刺激物
5.1 ~ 15.0	軽度刺激物
15.1 ~ 30.0	刺激物
30.1 ~ 60.0	中等度刺激物
60.1 ~ 80.0	中～強度刺激物
80.1 ~ 110.0	強度刺激物

表-4 非洗眼群の体重(試験開始時)

試験動物	体重(kg)
①	3.47
②	3.15
③	3.14

表-5 洗眼群の体重(試験開始時)

試験動物	体重(kg)
④	3.02
⑤	3.09
⑥	3.26

表-6 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価(非洗眼)

試験動物	各観察時間における合計評点			
	1時間	24時間	48時間	72時間
①	10 (0)	4* (0)	2 (0)	0 (0)
②	8 (0)	2 (0)	2 (0)	0 (0)
③	8* (0)	4* (0)	2* (0)	0 (0)
平均合計評点	8.7 (0)	3.3 (0)	2.0 (0)	0 (0)
眼刺激性の評価	軽度刺激物			

括弧内に対照眼の結果を示した。

* 角膜表面が粗造であった。

表-7 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価(洗眼)

試験動物	各観察時間における合計評点					
	1時間	24時間	48時間	72時間	6日	7日
④	6* (2)	4* (2)	2* (0)	0* (0)	0 (0)	—
⑤	10* (2)	2* (0)	0* (0)	2* (0)	0* (0)	0 (0)
⑥	8* (2)	2* (2)	2* (0)	0 (0)	—	—
平均合計評点	8.0 (2.0)	2.7 (1.3)	1.3 (0)	0.7 (0)	0 (0)	0 (0)
眼刺激性の評価	軽度刺激物					

括弧内に対照眼の結果を示した。

* 角膜表面が粗造であった。

—：観察せず

すでに刺激反応が消失し観察しなかった動物の合計評点は0点として計算した。

表-8-1 試験動物①の採点結果(非洗眼)

観察部位		採点結果(評点)			
		1時間	24時間	48時間	72時間
(1)角膜	混濁の程度(A)	0(0)	0*(0)	0(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発 赤 (A)	1(0)	1(0)	1(0)	0(0)
	浮 腫 (B)	2(0)	1(0)	0(0)	0(0)
	分 泌 物 (C)	2(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		10(0)	4(0)	2(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		10(0)	4(0)	2(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

-: 判定せず

* 角膜表面が粗造であった。

表-8-2 試験動物②の採点結果(非洗眼)

観察部位		採点結果(評点)			
		1時間	24時間	48時間	72時間
(1)角膜	混濁の程度(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発 赤 (A)	1(0)	1(0)	1(0)	0(0)
	浮 腫 (B)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	分 泌 物 (C)	2(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		8(0)	2(0)	2(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		8(0)	2(0)	2(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

-: 判定せず

表-8-3 試験動物③の採点結果(非洗眼)

観察部位		採点結果(評点)			
		1時間	24時間	48時間	72時間
(1)角膜	混濁の程度(A)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発赤(A)	1(0)	1(0)	1(0)	0(0)
	浮腫(B)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	分泌物(C)	2(0)	1(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		8(0)	4(0)	2(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		8(0)	4(0)	2(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

* 角膜表面が粗造であった。

表-9-1 試験動物④の採点結果(洗眼)

観察部位		採点結果(評点)				
		1時間	24時間	48時間	72時間	6日
(1)角膜	混濁の程度(A)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発赤(A)	1(1)	1(1)	1(0)	0(0)	0(0)
	浮腫(B)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	分泌物(C)	1(0)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		6(2)	4(2)	2(0)	0(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		6(2)	4(2)	2(0)	0(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

* 角膜表面が粗造であった。

表-9-2 試験動物⑤の採点結果(洗眼)

観察部位		採点結果(評点)					
		1時間	24時間	48時間	72時間	6日	7日
(1)角膜	混濁の程度(A)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発赤(A)	2(1)	1(0)	0(0)	1(0)	0(0)	0(0)
	浮腫(B)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	分泌物(C)	2(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		10(2)	2(0)	0(0)	2(0)	0(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		10(2)	2(0)	0(0)	2(0)	0(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

-: 判定せず

* 角膜表面が粗造であった。

表-9-3 試験動物⑥の採点結果(洗眼)

観察部位		採点結果(評点)			
		1時間	24時間	48時間	72時間
(1)角膜	混濁の程度(A)	0*(0)	0*(0)	0*(0)	0(0)
	混濁部面積(B)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)
(2)虹彩	(A)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
(3)結膜	発赤(A)	1(1)	1(1)	1(0)	0(0)
	浮腫(B)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	分泌物(C)	2(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(1)=A×B×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(2)=A×5		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
評点(3)=(A+B+C)×2		8(2)	2(2)	2(0)	0(0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		8(2)	2(2)	2(0)	0(0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

-: 判定せず

* 角膜表面が粗造であった。

以 上