

既存化学物質の人健康影響に関する情報

(平成21年10月23日開催)

官報公示 整理番号	CAS No.	物質名称	試験名 / 評価文書名	頁
2-483	123-63-7	パラアセトアルデヒド	復帰突然変異試験	1
			染色体異常試験	7
			28日間反復投与毒性試験	14
4-1531	31127-54-5	2,3,4,4-テトラヒドロキシベンゾフェノン	復帰突然変異試験	82
			染色体異常試験	92
			反復投与・生殖発生毒性併合試験	116
5-1037	108-80-5	イソシアヌル酸	染色体異常試験	215
			反復投与・生殖発生毒性併合試験	219
			OECD/HPVプログラム初期評価文書 (SIDS Initial Assessment Report)	250
3-442	88-73-3	o-クロロニトロベンゼン	OECD/HPVプログラム初期評価文書 (SIDS Initial Assessment Report)	308
2-163	112-24-3	トリエチレンテトラミン	OECD/HPVプログラム初期評価文書 (SIDS Initial Assessment Report)	414

要約

パラアセトアルデヒドの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、陰性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用い、プレインキュベーション法により、S9 mix 非存在下および存在下で試験を行った。

用量設定試験を 50.0、150、500、1500 および 5000 µg/plate の 5 用量に設定して行ったところ、S9 mix 非存在下および存在下とも、用いたいずれの検定菌においても生育阻害は認められなかった。変異コロニー数は、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められなかった。

これらの結果に基づき、すべての検定菌で最高用量を 5000 µg/plate とし公比 2 で 5 用量(313～5000 µg/plate)を設定して本試験 I および本試験 II を行った。その結果、用いたすべての検定菌において、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、パラアセトアルデヒドは、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有しない(陰性)と判定した。

試験目的

パラアセトアルデヒドの遺伝子突然変異誘発性(変異原性)の有無を検討し、安全性評価の資料とするために、パラアセトアルデヒドについて細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法¹⁾により実施した。

試験ガイドラインと GLP

この試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 15 年 11 月 21 日 薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、一部改正 平成 17 年 4 月 1 日)および「OECD 化学物質試験法ガイドライン 471/細菌を用いる復帰突然変異試験」(1997 年 7 月 21 日採択)に準拠し、「化学物質 GLP」(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、最終改正 平成 17 年 4 月 1 日)を遵守して実施した。

用することとした。なお、背景データは、2005 年度に実施した各試験の陰性対照値および陽性対照値とした(Appendix 3)。

7. 結果の表示

結果の表示は、各々の平板における変異コロニー数の実測値とその平均値および標準偏差を示した。また、平均値を用いて用量-反応曲線を作成した。また、被験物質に由来する沈澱および生育阻害が認められた場合は、その旨表示することとした。

8. 判定

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の S9 mix 非存在下あるいは S9 mix 存在下において、被験物質を含有する平板上における変異コロニー数の平均値が、陰性対照値の2倍以上に増加し、かつ、その増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に、本試験系において遺伝子突然変異誘発性を有する(陽性)と判定することとした。なお、結果の判定に統計学的手法は用いなかった。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

試験期間中に、「予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと」はなかった。

結果と考察

1. 用量設定試験

パラアセトアルデヒドについて、50.0、150、500、1500 および 5000 µg/plate の5段階の用量を設定して用量設定試験を行った(Table 1)。その結果、用いたいずれの検定菌においても生育阻害は認められなかった。被験物質に由来する沈澱は、S9 mix 非存在下および存在下ともに、用いたいずれの用量においても認められなかった。

変異コロニー数は、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の2倍以上となる増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最高用量を、すべての検定菌で 5000 µg/plate とした。

2. 本試験

最高用量を 5000 µg/plate とし、公比 2 で 5 用量 (313~5000 µg/plate) を設定して 2 回の本試験 (本試験 I および本試験 II) を行った (Tables 2, 3 および Figures 1, 2)。その結果、2 回の本試験ともに、用いたいずれの検定菌においても生育阻害は認められなかった。被験物質に由来する沈澱は、S9 mix 非存在下および存在下ともに、用いたいずれの用量においても認められなかった。

変異コロニー数は、2 回の本試験ともに、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められなかった。

すべての試験において、最高用量の被験物質調製液および S9 mix への雑菌の混入は認められなかった。また、いずれの検定菌においても陽性対照物質の遺伝子突然変異誘発性が検出され、陽性対照値および陰性対照値は、ともに背景データの変動範囲内 (平均値 $\pm 3 \times$ 標準偏差) であったことから、本試験系の有効性が確認された。

パラアセトアルデヒドについては、当研究所で実施したチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (試験番号: G-05-087) で、構造異常陽性の結果が得られている。また、関連物質である 1,3,5-trimethylbenzene については復帰突然変異試験、染色体異常試験共に陰性の結果が報告されている¹⁾。

以上の結果に基づき、パラアセトアルデヒドは、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有しない (陰性) と判定した。

参考文献

- 1) Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A., Sawamura, M.: Factors modulating mutagenicity in microbial tests. in "Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens" Norpoth, K. H., Garner, R. C. eds., Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1980) pp. 273-285
- 2) Maron, D. M., Ames, B. N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research 113: 173-215 (1983)
- 3) Green, M. H. L.: Mutagen testing using Trp⁺ reversion in *Escherichia coli*. In "Handbook of

Table 1 Cytotoxicity of 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane in bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg/ plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	148	126	124	9	10	6	21	32	38	17	27	15	9	4	8
		(133 ± 13)			(8 ± 2)			(30 ± 9)			(20 ± 6)			(7 ± 3)		
	50.0	156			14			25			17			9		
	150	133			5			19			19			3		
	500	149			7			24			22			5		
	1500	160			14			18			20			7		
5000	146			12			31			13			3			
S9 mix (+)	0	152	121	127	9	12	10	36	43	43	23	22	20	17	19	11
		(133 ± 16)			(10 ± 2)			(41 ± 4)			(22 ± 2)			(16 ± 4)		
	50.0	157			11			36			34			20		
	150	167			10			26			26			10		
	500	156			11			32			27			20		
	1500	143			10			38			24			13		
5000	155			18			45			27			16			
Positive control	Chemical	AF-2			SA			AF-2			AF-2			9AA		
	Dose (µg / plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
S9 mix (-)	Number of colonies / plate	437	439	417	561	598	561	130	102	127	317	401	400	542	449	309
		(431 ± 12)			(573 ± 21)			(120 ± 15)			(373 ± 48)			(433 ± 117)		
Positive control	Chemical	B[a]P			2AA			2AA			B[a]P			B[a]P		
	Dose (µg / plate)	5			2			10			5			5		
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	1281	1086	1099	277	289	306	562	573	551	294	284	276	170	170	132
		(1155 ± 109)			(291 ± 15)			(562 ± 11)			(285 ± 9)			(157 ± 22)		

Negative control, Water for injection JP

As the purity of the test substance was 88.5%, dose levels were adjusted for purity.

This test substance contained 11.2% acetaldehyde as impurity.

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

Table 2 Mutagenicity of 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane in bacteria (I)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	114	131	126	9	12	12	28	28	24	35	22	24	7	5	5
		(124 \pm 9)			(11 \pm 2)			(27 \pm 2)			(27 \pm 7)			(6 \pm 1)		
	313	118	100	110	14	8	14	29	19	29	23	21	27	14	5	8
		(109 \pm 9)			(12 \pm 3)			(26 \pm 6)			(24 \pm 3)			(9 \pm 5)		
	625	94	109	118	12	11	16	27	24	24	33	22	30	10	7	5
		(107 \pm 12)			(13 \pm 3)			(25 \pm 2)			(28 \pm 6)			(7 \pm 3)		
S9 mix (+)	1250	108	105	92	13	13	15	30	26	24	33	30	19	7	11	8
		(102 \pm 9)			(14 \pm 1)			(27 \pm 3)			(27 \pm 7)			(9 \pm 2)		
	2500	123	121	129	8	13	13	30	24	24	28	28	29	4	7	4
		(124 \pm 4)			(11 \pm 3)			(26 \pm 3)			(28 \pm 1)			(5 \pm 2)		
S9 mix (+)	5000	127	132	130	14	13	16	23	29	27	18	20	27	10	6	5
		(130 \pm 3)			(14 \pm 2)			(26 \pm 3)			(22 \pm 5)			(7 \pm 3)		
	0	134	122	107	12	15	8	31	38	28	30	27	30	15	13	9
		(121 \pm 14)			(12 \pm 4)			(32 \pm 5)			(29 \pm 2)			(12 \pm 3)		
	313	152	135	139	9	13	14	30	29	26	29	28	33	14	6	10
		(142 \pm 9)			(12 \pm 3)			(28 \pm 2)			(30 \pm 3)			(10 \pm 4)		
S9 mix (+)	625	134	150	146	8	8	9	19	25	29	30	39	26	13	19	14
		(143 \pm 8)			(8 \pm 1)			(24 \pm 5)			(32 \pm 7)			(15 \pm 3)		
	1250	138	160	125	7	7	10	35	26	33	34	33	34	13	14	12
		(141 \pm 18)			(8 \pm 2)			(31 \pm 5)			(34 \pm 1)			(13 \pm 1)		
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF-2			SA			AF-2			AF-2			9AA		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	B[a]P			2AA			2AA			B[a]P			B[a]P		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5			2			10			5			5		
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	443	449	457	443	445	451	95	91	84	468	453	495	226	314	266
		(450 \pm 7)			(446 \pm 4)			(90 \pm 6)			(472 \pm 21)			(269 \pm 44)		
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	1148	1083	1069	297	300	259	510	573	529	296	321	298	116	137	136
		(1100 \pm 42)			(285 \pm 23)			(537 \pm 32)			(305 \pm 14)			(130 \pm 12)		

Negative control, Water for injection JP

As the purity of the test substance was 88.5%, dose levels were adjusted for purity.

This test substance contained 11.2% acetaldehyde as impurity.

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

Table 3 Mutagenicity of 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane in bacteria (II)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	137	134	138	5	15	8	40	37	39	22	16	27	8	7	6
		(136 \pm 2)			(9 \pm 5)			(39 \pm 2)			(22 \pm 6)			(7 \pm 1)		
	313	123	150	123	10	12	12	33	22	34	20	25	22	7	7	10
		(132 \pm 16)			(11 \pm 1)			(30 \pm 7)			(22 \pm 3)			(8 \pm 2)		
	625	145	134	145	8	8	17	36	42	44	28	17	32	6	6	11
		(141 \pm 6)			(11 \pm 5)			(41 \pm 4)			(26 \pm 8)			(8 \pm 3)		
S9 mix (+)	1250	140	107	118	11	7	5	43	36	36	22	20	27	6	9	6
		(122 \pm 17)			(8 \pm 3)			(38 \pm 4)			(23 \pm 4)			(7 \pm 2)		
	2500	134	120	108	16	12	10	38	43	36	23	16	22	2	4	8
		(121 \pm 13)			(13 \pm 3)			(39 \pm 4)			(20 \pm 4)			(5 \pm 3)		
S9 mix (+)	5000	122	121	123	9	11	10	47	49	45	30	27	26	11	9	11
		(122 \pm 1)			(10 \pm 1)			(47 \pm 2)			(28 \pm 2)			(10 \pm 1)		
	0	137	148	148	16	13	8	47	36	38	28	32	25	15	14	14
		(144 \pm 6)			(12 \pm 4)			(40 \pm 6)			(28 \pm 4)			(14 \pm 1)		
	313	165	141	142	5	12	21	36	24	39	34	32	34	8	18	20
		(149 \pm 14)			(13 \pm 8)			(33 \pm 8)			(33 \pm 1)			(15 \pm 6)		
S9 mix (+)	625	130	139	126	8	9	7	37	31	46	18	25	32	12	12	13
		(132 \pm 7)			(8 \pm 1)			(38 \pm 8)			(25 \pm 7)			(12 \pm 1)		
	1250	126	163	124	15	14	14	32	30	44	34	22	32	8	16	12
		(138 \pm 22)			(14 \pm 1)			(35 \pm 8)			(29 \pm 6)			(12 \pm 4)		
S9 mix (+)	2500	141	153	128	4	10	10	43	39	42	33	22	33	10	14	17
		(141 \pm 13)			(8 \pm 3)			(41 \pm 2)			(29 \pm 6)			(14 \pm 4)		
S9 mix (+)	5000	152	118	112	11	12	18	49	33	36	28	26	31	16	16	13
		(127 \pm 22)			(14 \pm 4)			(39 \pm 9)			(28 \pm 3)			(15 \pm 2)		
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF-2			SA			AF-2			AF-2			9AA		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	B[a]P			2AA			2AA			B[a]P			B[a]P		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5			2			10			5			5		
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	1132	1099	1114	364	323	290	576	538	574	317	275	281	153	150	184
		(1115 \pm 17)			(326 \pm 37)			(563 \pm 21)			(291 \pm 23)			(162 \pm 19)		

Negative control, Water for injection JP

As the purity of the test substance was 88.5%, dose levels were adjusted for purity.

This test substance contained 11.2% acetaldehyde as impurity.

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

要約

パラアセトアルデヒドのチャイニーズ・ハムスター雌肺由来細胞 (CHL/IU 細胞) を用いる染色体異常試験を実施し、その染色体異常誘発性を検討した。

用量設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果をもとに、短時間処理における最高処理濃度を S9 mix 非存在下および S9 mix 存在下ともに 10 mmol/L (1.3 mg/mL) とし、公比 2 で計 4 段階の濃度群を設定し、染色体異常試験を実施した。

細胞増殖率および分裂指数の結果をもとに以下の観察対象群を決定し、染色体分析を行った。

S9 mix 非存在下の短時間処理: 0.33、0.65、1.3 mg/mL

S9 mix 存在下の短時間処理: 0.33、0.65、1.3 mg/mL

その結果、S9 mix 非存在下で短時間処理した高濃度群においてのみ構造異常を有する細胞の統計学的に有意な増加 (出現率: 5.5%) が認められ、傾向性検定も有意となった。それ以外は、S9 mix 非存在下および存在下で短時間処理したいずれの濃度群においても構造異常を有する細胞および倍数性細胞の統計学的に有意な増加は認められなかった。

短時間処理では明らかな陽性結果が得られなかったことから、短時間処理と同様に最高処理濃度を 10 mmol/L (1.3 mg/mL) とし、公比 2 で計 5 段階の濃度群を設定して 24 時間連続処理による染色体異常試験を行った。

細胞増殖率および分裂指数の結果をもとに以下の観察対象群を決定し、染色体分析を行った。

24 時間連続処理: 0.33、0.65、1.3 mg/mL

その結果、24 時間連続処理した高濃度群において染色体の構造異常を有する細胞が統計学的に有意に増加 (出現率: 56.5%) し、傾向性検定も有意となった。倍数性細胞については、いずれの濃度群においても統計学的に有意な増加は認められなかった。

以上のように、高濃度のパラアセトアルデヒドで処理した場合、染色体の構造異常が誘発されたが、今回の試験に用いたパラアセトアルデヒドは、不純物として、0.03 mg/mL 以上の濃度で染色体の構造異常を誘発することが知られているアセトアルデヒドを 11.2% 含んでいる。したがって、今回得られた試験結果は、アセトアルデヒドにより構造異常が誘発された可能性も考えられる。

以上の結果より、本試験に用いたパラアセトアルデヒドは、本試験条件において CHL/IU 細胞に染色体異常を誘発するが、それは不純物であるアセトアルデヒドにより誘発された可能性も考えられた。

試験目的

OECD 既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、パラアセトアルデヒドの染色体異常誘発作用を評価するため、CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験を実施した。

をスライドグラス(あらかじめフロスト部分に試験番号、コード番号およびスライド番号を記入)上に滴下し、そのまま風乾した。1 ディッシュあたり6枚のスライド標本を作製した。

作製したスライド標本を3 vol%ギムザ液(pH 6.8 の 1/15 mol/Lリン酸緩衝液で希釈調製)で染色後、水道水ですすいで風乾した。

8. 染色体分析

染色体分析に先立ち、1枚のディッシュから得られた1枚の標本を用いて、濃度の高い方から分裂指数(500細胞/標本)を分析した。0.5%未満の分裂指数を示した場合は染色体分析不能と判断し、また、標本あたりの分析可能な分裂中期細胞が少ない場合にはその数を考慮して、分析可能な最高濃度群を決定することとした。

ディッシュ1枚から得られたスライド標本4枚を、4人の観察者がそれぞれ処理条件の分からない状態で分析した。染色体がよく広がり、かつ散逸していない分裂中期像を探し、1群あたり200個(100細胞/ディッシュ、25細胞/観察者)の分裂中期細胞(染色体数:23~27本)について構造異常の種類と数を、1群あたり800個(400細胞/ディッシュ、100細胞/観察者)の分裂中期細胞について倍数性細胞(染色体数が38本以上)の数を調べた。その結果に基づいて構造異常を持つ細胞と倍数性細胞の出現率を求めた。

ギャップおよび切断を除く染色体異常の分類は、日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会¹⁾による分類法に基づいて行った。染色分体幅より狭い非染色性部位をギャップ、それ以上幅の広いものを切断と定義し、ギャップについては構造異常誘発性の判定には含めないこととした。

染色体の構造異常(ギャップを除く)を有する細胞および倍数性細胞の出現数について、陰性対照群と被験物質処理群間および陽性対照群間で、フィッシャーの直接確率法²⁾($p < 0.01$ 、片側)により有意差検定を実施した。また、有意差の認められた処理条件についてはその用量依存性についてコ克蘭・アーミテッジの傾向性検定³⁾($p < 0.01$ 、片側)を実施することとした。これらの検定結果を参考とし、生物学的な観点からの判断を加味して染色体異常誘発性の評価を総合的に行った。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

本試験期間中に「予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと」はなかった。

試験成績と考察

用量設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果をもとに、公比2で以下の濃度群を設定し、短時間処理による染色体異常試験を実施した。

S9 mix 非存在下の短時間処理:0.16、0.33、0.65、1.3 mg/mL

S9 mix 存在下の短時間処理:0.16、0.33、0.65、1.3 mg/mL

なお、沈殿の有無を肉眼で観察した結果、いずれの処理群においても培養液中に沈殿は認められなかった。

染色体分析に先立ち実施した分裂指数の分析結果をもとに、観察対象群を以下のように決定し、染色体分析を行った。

S9 mix 非存在下の短時間処理:0.33、0.65、1.3 mg/mL

S9 mix 存在下の短時間処理:0.33、0.65、1.3 mg/mL

染色体分析の結果、S9 mix 非存在下で短時間処理した場合、高濃度群(1.3 mg/mL)においてのみ構造異常を有する細胞の統計学的に有意な増加(出現率:5.5%)が認められ、傾向性検定の結果も有意となった。それ以外は、構造異常を有する細胞および倍数性細胞の統計学的有意差は認められなかった(Table 1)。

S9 mix 存在下で短時間処理した場合には、いずれの濃度群においても構造異常を有する細胞および倍数性細胞の統計学的有意差は認められなかった(Table 2)。

以上のように、S9 mix 非存在下および存在下で短時間処理した場合、明らかな陽性結果が得られなかったことから、細胞増殖抑制試験結果をもとに以下の濃度群(公比 2)を設け、24 時間連続処理による染色体異常試験を実施した。

24 時間連続処理:0.081、0.16、0.33、0.65、1.3 mg/mL

染色体分析に先立ち実施した分裂指数の分析結果をもとに、観察対象群を以下のように決定し、染色体分析を行った。

24 時間連続処理:0.33、0.65、1.3 mg/mL

染色体分析の結果、24時間連続処理した高濃度群(1.3 mg/mL)で構造異常を有する細胞の統計学的に有意な増加(出現率:56.5%)が認められ、傾向性検定も有意となった。それ以外は、構造異常を有する細胞および倍数性細胞の統計学的に有意な増加は認められなかった(Table 3)。

陽性結果が得られた S9 mix 非存在下の短時間処理および 24 時間連続処理に関して D20 値⁴⁾を求めたところ、それぞれ 5.3 mg/mL および 0.67 mg/mL となった。

なお、当該試験で使用したパラアセトアルデヒドについては、不純物としてアセトアルデヒドが 11.2%含まれている。アセトアルデヒドは S9 mix 非存在下で短時間処理した場合および連続処理した場合、0.03 mg/mL 以上の濃度で 16%以上の細胞に染色体の構造異常を誘発することが報告⁵⁾されている。今回陽性結果の得られた 1.3 mg/mL は、純度換算しないと 1.47 mg/mL であり、その時のアセトアルデヒドの濃度は 0.16 mg/mL と推定され、被験物質であるパラアセトアルデヒドではなく、不純物であるアセトアルデヒドが染色体の構造異常を誘発した可能性も十分に考えられる。

パラアセトアルデヒドについては、当研究所で実施した細菌を用いる復帰突然変異試験(試験番号: M-05-132)で陰性の結果が得られている。また、ベンゼン環にメチル基の結合した 1,3,5-trimethylbenzene に関しては復帰突然変異試験、染色体異常試験ともに陰性の結果が報告⁶⁾されている。

陽性対照物質として用いた MMC は、S9 mix 非存在下の短時間処理および 24 時間連続処理におい

て染色体の構造異常を誘発し (Tables 1, 3)、CPは短時間処理の S9 mix 存在下において染色体の構造異常を誘発した (Table 2)。これらの陽性対照物質の結果より、本実験系の成立が確認された。

以上の結果より、本試験に用いたパラアセトアルデヒドは本試験条件において CHL/IU 細胞に染色体異常を誘発するが、それは不純物であるアセトアルデヒドにより誘発された可能性も考えられた。

参考文献

- 1) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編:「化学物質による染色体異常アトラス」, 朝倉書店, 東京 (1988)
- 2) 吉村 功 編:「毒性・薬効データの統計解析, 事例研究によるアプローチ」, サイエントリスト社, 東京 (1987)
- 3) 吉村 功, 大橋靖夫 編集:「毒性試験講座 14, 毒性試験データの統計解析」, 地人書館, 東京 (1992)
- 4) 祖父尼俊雄 監修:染色体異常試験データ集, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, pp.19-20 (1999)
- 5) 祖父尼俊雄 監修:染色体異常試験データ集, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, p.27 (1999)
- 6) 祖父尼俊雄 監修:染色体異常試験データ集, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, p.517 (1999)

Table 1 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL/IU) treated with 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane (PAA) for 6 h without S9 mix

Group	Concen- ²⁾ tration (mg/mL)	S 9 mix	Time of exposure (h)	Concurrent ³⁾ cell growth (%)	Mitotic ⁴⁾ index (%)	Number of cells analyzed	Number of structural aberrations						Others ⁶⁾	Number of cells with aberrations		Number ⁷⁾ of polyploid cells (%)	Trend test ⁸⁾			
							gap	ctb	cte	csb	cse	mul ⁵⁾		total	+gap (%)		-gap (%)	-gap	POL	
Negative ¹⁾	0	—	6-(18)	100	NA	100	1	0	0	0	1	0	2	1	2 (2.0)	1 (1.0)	0 (0.0)			
						100	1	0	0	0	0	1	0	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)				
						200	2	0	0	0	1	0	3	1	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0.0)			
PAA	0.16	—	6-(18)	98	NA	not observed														
PAA	0.33	—	6-(18)	95	NA	100	1	1	1	0	0	0	3	0	3 (3.0)	2 (2.0)	1 (0.3)			
						100	3	0	0	4	0	0	7	0	4 (4.0)	1 (1.0)	0 (0.0)			
						200	4	1	1	4	0	0	10	0	7 (3.5)	3 (1.5)	1 (0.1)			
PAA	0.65	—	6-(18)	89	NA	100	2	1	0	0	0	0	3	0	3 (3.0)	1 (1.0)	1 (0.3)			
						100	0	1	1	0	0	0	2	1	2 (2.0)	2 (2.0)	1 (0.3)			
						200	2	2	1	0	0	0	5	1	5 (2.5)	3 (1.5)	2 (0.3)			
PAA	1.3	—	6-(18)	83	8.2, 7.4	100	0	2	1	0	0	0	3	0	3 (3.0)	3 (3.0)	0 (0.0)			
						100	3	5	1	2	1	0	12	0	10 (10.0)	8 (8.0)	4 (1.0)			
						200	3	7	2	2	1	0	15	0	13 (6.5)	11*(5.5)	4 (0.5)			
MMC	0.1 µg/mL	—	6-(18)	NA	NA	100	1	17	45	0	0	10	73	0	40 (40.0)	39 (39.0)	0 (0.0)			
						100	5	18	64	0	0	0	87	2	50 (50.0)	47 (47.0)	0 (0.0)			
						200	6	35	109	0	0	10	160	2	90 (45.0)	86*(43.0)	0 (0.0)			

Abbreviations: gap, chromatid gap and chromosome gap; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange (dicentric and ring); mul, multiple aberrations; +gap, total number of cells with aberrations including gaps; -gap, total number of cells with aberrations excluding gaps; POL, polyploid; MMC, mitomycin C; NA, not analyzed.

1) Water for injection JP was used as a solvent and added at the level of 10 vol% per dish. 2) The concentration of PAA was adjusted for the purity (88.5%). 3) Cell confluency, representing cytotoxicity, was measured with a MonocellaterTM. 4) Metaphase frequency was calculated by counting 500 cells in each dish. 5) When the number of aberrations in a cell was more than 9, the cell was scored as having 10 aberrations. 6) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the number of structural aberrations. 7) Eight hundred cells were analyzed in each group. 8) Cochran-Armitage's trend test was done at p<0.01 (one-side).

*, Significantly different from the negative control at p<0.01 (one-side) by Fisher's exact probability test.

Table 2 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL/IU) treated with 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane (PAA) for 6 h with S9 mix

Group	Concen- ²⁾ tration (mg/mL)	S 9 mix	Time of exposure (h)	Concurrent ³⁾ cell growth (%)	Mitotic ⁴⁾ index (%)	Number of cells analyzed	Number of structural aberrations						Others ⁶⁾	Number of cells with aberrations		Number ⁷⁾ of polyploid cells (%)	Trend test ⁸⁾			
							gap	ctb	cte	csb	cse	mul ⁵⁾		total	+gap (%)		-gap (%)	-gap	POL	
Negative ¹⁾	0	+	6 - (18)	100	NA	100	0	1	1	0	0	0	2	0	2 (2.0)	2 (2.0)	1 (0.3)			
						100	0	1	2	0	0	0	3	0	3 (3.0)	3 (3.0)	1 (0.3)			
						200	0	2	3	0	0	0	5	0	5 (2.5)	5 (2.5)	2 (0.3)			
PAA	0.16	+	6 - (18)	99	NA	not observed														
PAA	0.33	+	6 - (18)	97	NA	100	0	1	0	0	0	0	1	1	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (0.3)			
						100	0	4	1	0	0	0	5	0	5 (5.0)	5 (5.0)	0 (0.0)			
						200	0	5	1	0	0	0	6	1	6 (3.0)	6 (3.0)	1 (0.1)			
PAA	0.65	+	6 - (18)	94	NA	100	1	2	0	0	0	0	3	2	3 (3.0)	2 (2.0)	0 (0.0)			
						100	0	1	1	0	1	0	3	0	3 (3.0)	3 (3.0)	0 (0.0)			
						200	1	3	1	0	1	0	6	2	6 (3.0)	5 (2.5)	0 (0.0)			
PAA	1.3	+	6 - (18)	90	9.2, 7.0	100	2	3	2	0	0	0	7	1	7 (7.0)	5 (5.0)	1 (0.3)			
						100	0	2	2	1	0	0	5	0	4 (4.0)	4 (4.0)	2 (0.5)			
						200	2	5	4	1	0	0	12	1	11 (5.5)	9 (4.5)	3 (0.4)			
CP	10 µg/mL	+	6 - (18)	NA	NA	100	2	25	52	0	1	0	80	1	48 (48.0)	46 (46.0)	0 (0.0)			
						100	5	21	50	0	1	0	77	0	48 (48.0)	45 (45.0)	1 (0.3)			
						200	7	46	102	0	2	0	157	1	96 (48.0)	91* (45.5)	1 (0.1)			

Abbreviations: gap, chromatid gap and chromosome gap; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange (dicentric and ring); mul, multiple aberrations; +gap, total number of cells with aberrations including gaps; -gap, total number of cells with aberrations excluding gaps; POL, polyploid; CP, cyclophosphamide; NA, not analyzed.

1) Water for injection JP was used as a solvent and added at the level of 10 vol% per dish. 2) The concentration of PAA was adjusted for the purity (88.5%). 3) Cell confluency, representing cytotoxicity, was measured with a MonocellaterTM. 4) Metaphase frequency was calculated by counting 500 cells in each dish. 5) When the number of aberrations in a cell was more than 9, the cell was scored as having 10 aberrations. 6) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the number structural aberrations. 7) Eight hundred cells were analyzed in each group. 8) Cochran-Armitage's trend test was done at p<0.01 (one-side).

*, Significantly different from the negative control at p<0.01 (one-side) by Fisher's exact probability test.

Table 3 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL/IU) continuously treated with 2,4,6-trimethyl-1,3,5-trioxane (PAA) for 24 h without S9 mix

Group	Concentration ²⁾ (mg/mL)	Time of exposure (h)	Concurrent cell growth (%) ³⁾	Mitotic index (%) ⁴⁾	Number of cells analyzed	Number of structural aberrations							Others ⁶⁾	Number of cells with aberrations		Number ⁷⁾ of polyploid cells (%)	Trend test ⁸⁾	
						gap	ctb	cte	csb	cse	mul ⁵⁾	total		+gap (%)	-gap (%)		-gap	POL
Negative ¹⁾	0	24	100	NA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (1.0)		
					100	0	2	0	0	0	2	0	2 (2.0)	2 (2.0)	1 (0.3)			
					200	0	2	0	0	0	2	0	2 (1.0)	2 (1.0)	5 (0.6)			
PAA	0.081	24	100	NA	not observed													
PAA	0.16	24	95	NA	not observed													
PAA	0.33	24	86	NA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.5)		
					100	0	0	1	0	0	1	2	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (0.3)			
					200	0	0	1	0	0	1	2	1 (0.5)	1 (0.5)	3 (0.4)			
PAA	0.65	24	76	NA	100	1	1	1	1	0	0	4	0	4 (4.0)	3 (3.0)	2 (0.5)		
					100	2	4	2	0	0	8	0	7 (7.0)	6 (6.0)	0 (0.0)			
					200	3	5	3	1	0	12	0	11 (5.5)	9 (4.5)	2 (0.3)			
PAA	1.3	24	57	5.2, 1.8	100	3	23	59	1	1	0	87	2	51 (51.0)	51 (51.0)	3 (0.8)		
					100	4	45	69	1	0	119	2	64 (64.0)	62 (62.0)	0 (0.0)			
					200	7	68	128	2	1	206	4	115 (57.5)	113 *(56.5)	3 (0.4)			
MMC	0.05 µg/mL	24	NA	NA	100	9	29	60	0	0	0	98	0	59 (59.0)	53 (53.0)	1 (0.3)		
					100	2	21	60	0	0	83	0	58 (58.0)	57 (57.0)	0 (0.0)			
					200	11	50	120	0	0	181	0	117 (58.5)	110 *(55.0)	1 (0.1)			

Abbreviations: gap, chromatid gap and chromosome gap; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange (dicentric and ring); mul, multiple aberrations; +gap, total number of cells with aberrations including gaps; -gap, total number of cells with aberrations excluding gaps; POL, polyploid; MMC, mitomycin C; NA, not analyzed.

1) Water for injection JP was used as a solvent and added at the level of 10 vol% per dish. 2) The concentration of PAA was adjusted for the purity (88.5%). 3) Cell confluency, representing cytotoxicity, was measured with a MonocellaterTM. 4) Metaphase frequency was calculated by counting 500 cells in each dish. 5) When the number of aberrations in a cell was more than 9, the cell was scored as having 10 aberrations. 6) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the number of structural aberrations. 7) Eight hundred cells were analyzed in each group. 8) Cochran-Armitage's trend test was done at p<0.01 (one-side).

*, Significantly different from the negative control at p<0.01 (one-side) by Fisher's exact probability test.

4. 要約

Sprague-Dawley系 SPF ラット [CrI:CD(SD)] を用いて、パラアセトアルデヒドの反復投与による毒性並びにその可逆性を検討した。投与量は 0 (コーン油：対照群)、100、300 及び 1000 mg/kg/day とし、28 日間反復強制経口投与した。1 群の動物数は対照群及び 1000 mg/kg 投与群で雌雄各 12 匹、100 及び 300 mg/kg 投与群で雌雄各 6 匹とした。このうち、対照群及び 1000 mg/kg 投与群の雌雄各 6 例については、28 日間投与後 2 週間休薬させた。

投与及び回復期間を通じて死亡動物はみられず、一般状態、詳細な一般状態の観察、握力、体重、摂餌量、尿検査、血液学及び血液化学検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。

機能検査では、1000 mg/kg 投与群の雌雄で着地開脚幅の高値が認められた。この変化は休薬により消失し、回復性が認められた。

自発運動量では、1000 mg/kg 投与群の雌雄で測定開始後 20 分以降及び測定開始後 60 分間の合計の値に低値が認められた。この変化は休薬により消失し、回復性が認められた。

病理学検査では、肝臓において 1000 mg/kg 投与群の雌で相対重量の高値がみられ、組織学的にも 300 mg/kg 投与群の雄及び 1000 mg/kg 投与群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大、300 mg/kg 以上の雄で門脈域における肝細胞の空胞化の減少が認められた。また、胃において 1000 mg/kg 投与群の雌雄で境界縁の肥厚が認められた。これらの変化は休薬により消失あるいは軽減がみられ、回復傾向が認められた。

以上の結果から、パラアセトアルデヒドの本試験条件下における無影響量は、雄で 100 mg/kg/day、雌で 300 mg/kg/day と推定された。なお、投与期間中に認められた変化については、いずれも休薬により消失あるいは軽減し、回復あるいは回復傾向が認められた。

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

いずれの動物においても、投与及び回復期間を通じて異常は認められなかった。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

1) 投与期間

いずれの検査項目においても異常はなく、各被験物質投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復期間

回復第1週の検査において、オープンフィールド内観察で 1000 mg/kg 投与群の雌の立ち上がり回数に有意な低値が認められたが、投与期間には認められていないことから、偶発性の変化と判断した。

7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

1) 投与第4週

1000 mg/kg 投与群の雌雄で着地開脚幅に有意な高値が認められた。

2) 回復第2週

いずれの検査項目においても異常はなく、1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群の間に有意差はみられなかった。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

1) 投与第4週

各被験物質投与群の雌雄とも握力は、対照群とほぼ同様な値を示し、有意差はみられなかった。

2) 回復第2週

1000 mg/kg 投与群の雌の後肢で有意な低値が認められたが、機能検査など他の検査項目に異常はなく、投与第4週には同様な変化は認められていないことから、偶発性と判断した。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

1) 投与第4週

1000 mg/kg 投与群の雌雄において、測定開始後 20 分以降及び測定開始後 60 分間の合計の値で有意な低値が認められた。

2) 回復第2週

1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

1) 投与期間

各被験物質投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

2) 回復期間

1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

各被験物質投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

2) 回復期間

1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

1) 投与第4週

1000 mg/kg 投与群の雄で摂水量に有意な高値が認められたが、ごく軽度な変化であり、また、尿量及び浸透圧などの関連項目に変化がみられないことから、偶発性的の変化と判断した。

2) 回復第2週

対照群及び 1000 mg/kg 投与群のいずれの動物でも定性的項目及び尿沈渣に異常はなく、尿量、摂水量及び尿浸透圧においても 1000 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-4 及び Appendix 119~130 に示した。

1) 投与期間終了時

いずれの検査項目についても、各被験物質投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復期間終了時

1000 mg/kg 投与群の雌で、赤血球数の有意な高値が認められたが、投与期間終了時には認められていないことから、偶発性的変化と判断した。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 Appendix 131~142 に示した。

1) 投与期間終了時

1000 mg/kg 投与群の雄で、ALP 活性の有意な低値が認められたが、毒性を示唆する高値ではなく、また、ごく軽度な変化であることから、偶発性的変化と判断した。

2) 回復期間終了時

いずれの検査項目についても、1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群との間に有意差は認められなかった。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 143~166 に示した。

1) 投与期間終了時

肝臓 : 相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌に認められた。

以下に示す所見についてはその出現状況から、偶発性的変化と判断した。

脾臓 : 相対重量の有意な高値が 300 mg/kg 投与群の雄に認められた。

2) 回復期間終了時

以下に示す所見についてはその出現状況から、偶発性的変化と判断した。

脾臓 : 絶対及び相対重量の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雌に認められた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 167~238 に示した。

1) 投与期間終了時

以下に示す所見についてはその出現状況などから、いずれも偶発性的変化と判断した。

腎臓 : 陥凹巣が 300 mg/kg 投与群の雌 1 例、のう胞が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。

B-6057

- 肺 : 暗赤色巢が 300 及び 1000 mg/kg 投与群の雄各 1 例に認められた。
- 子宮 : のう胞が 100 mg/kg 投与群の 1 例に認められた。

2) 回復期間終了時

いずれの動物においても剖検所見に異常は認められなかった。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-4 及び Appendix 167~238 に示した。

1) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が肝臓及び胃に認められた。

- 肝臓 : 軽微あるいは軽度な小葉中心性の肝細胞肥大が 300 mg/kg 投与群の雄 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 5 例と雌 3 例にみられた。また、軽微あるいは軽度な門脈域における肝細胞の空胞化が対照群の雄全例と雌 5 例、100 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 3 例、300 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 4 例、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 4 例に認められ、300 mg/kg 以上の投与群の雄では発現例数が減少した。
- 胃 : 軽微な境界縁の肥厚が 1000 mg/kg の雄 1 例と雌 2 例に認められた。

以下に示す所見については、その出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

- 心臓 : 軽微な心筋炎が対照群の雄 1 例に認められた。
- 盲腸 : 軽微な粘膜の細胞浸潤が対照群の雄 1 例に認められた。
- 腎臓 : 軽微な好酸性小体が対照群の雄 1 例と 1000 mg/kg 投与群の雄 2 例に認められた。軽微な再生尿細管が対照群の雄 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例に認められ、また、剖検において陥凹巢がみられた 300 mg/kg 投与群の雌 1 例でも軽度な再生尿細管が認められた。さらに、剖検においてのう胞がみられた 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例では軽微な尿細管のう胞が認められた。
- 肝臓 : 軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が対照群の雄 1 例と雌 4 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 4 例、300 mg/kg 投与群の雌 4 例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 4 例に認められた。
- 肺 : 軽微な泡沫細胞の集簇が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。また、剖検において暗赤色巢がみられた。

- 300 及び 1000 mg/kg 投与群の雄各 1 例では軽度な限局性の出血が認められた。
- 下垂体 : 軽微なう胞が対照群の雄 1 例に認められた。
- 前立腺 : 軽微あるいは軽度な間質の細胞浸潤が対照群の 4 例、1000 mg/kg 投与群の 2 例に認められた。
- 脾臓 : 軽微な髄外造血が対照群の雄 4 例と雌 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 3 例に認められた。
- 胃 : 軽微なびらんが 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。
- 甲状腺 : 軽微な異所性胸腺が対照群及び 1000 mg/kg の雄各 1 例に、軽微な總後体のう胞が対照群及び 1000 mg/kg 投与群の雌各 2 例に認められた。
- 子宮 : 剖検においてのう胞がみられた 100 mg/kg 投与群の 1 例に軽微なう胞が認められた。

2) 回復期間終了時

以下に示す所見については、その出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

- 肝臓 : 軽微な門脈域における肝細胞の空胞化が対照群の雄 2 例と雌 3 例、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例に、軽微な微小肉芽腫が対照群の雌雄各 2 例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 5 例に認められた。

8. 考察

Sprague-Dawley系 SPF ラット [CrI:CD(SD)] にパラアセトアルデヒドを0 (コーン油: 対照群)、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 28 日間反復強制経口投与し、その毒性を検討するとともに、対照群及び 1000 mg/kg 投与群はその後 2 週間休薬させ、変化の可逆性について検討した。

投与及び回復期間を通じて死亡動物はみられず、一般状態、詳細な一般状態、握力、体重、摂餌量、尿検査、血液学及び血液化学検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。

機能検査では、1000 mg/kg 投与群の雌雄で着地開脚幅の高値がみられ、被験物質投与の影響が疑われた。この変化は休薬により消失し、回復性が認められた。

自発運動量では、1000 mg/kg 投与群の雌雄で測定開始後 20 分以降及び測定開始後 60 分間の合計の値に低値がみられ、被験物質投与の影響が疑われた。これらの変化は休薬により消失し、回復性が認められた。

病理学検査では、肝臓において 1000 mg/kg 投与群の雌で相対重量の高値がみられ、組織学的にも 300 mg/kg 投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大、300 mg/kg 以上の雄で門脈域における肝細胞の空胞化の減少がみられ、被験物質投与の影響が認められた。胃において 1000 mg/kg 投与群の雌雄で境界縁の肥厚がみられ、被験物質投与の影響が疑われた。これらの変化は休薬により消失あるいは軽減し、回復傾向が認められた。

以上の結果から、本試験条件下におけるパラアセトアルデヒドの無影響量は、雄では 300 mg/kg 以上の投与群に病理組織学検査で肝臓の変化がみられたことから、100 mg/kg/day と推定された。また、雌では 1000 mg/kg 投与群に機能検査で着地開脚幅、自発運動量、器官重量で肝臓、病理組織学検査で肝臓及び胃の変化がみられたことから、300 mg/kg/day と推定された。なお、投与期間に認められた変化については、いずれの変化も休薬により消失あるいは軽減し、回復性あるいは回復傾向が認められた。

Table 1-1 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Clinical signs (Administration period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1-2 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Clinical signs (Administration period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration													
			15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	100	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	300	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	1000	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		100	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
300		No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
1000		No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	

Table 1-3 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
 Clinical signs (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of recovery													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Female	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 2-1 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 1)

Parameter	Sex	Male				Female			
		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture	Normal	12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion	None	12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior	None	12	6	6	12	12	6	6	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-2

A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observations (Week 2)

Parameter	Sex	Male				Female				
		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
		No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture										
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12	
Convulsion										
None		12	6	6	12	12	6	6	12	
Abnormal behavior										
None		12	6	6	12	12	6	6	12	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-3 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 3)

Parameter	Sex	Male				Female			
		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-4 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 4)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-5 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 1 of recovery)

Parameter	Sex	Male		Female		
		Dose (mg/kg)	0	1000	0	1000
	No. of animals		6	6	6	6
Posture						
Normal			6	6	6	6
Convulsion						
None			6	6	6	6
Abnormal behavior						
None			6	6	6	6

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-6 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observations (Week 2 of recovery)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	1000	0	1000
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-7 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 1)

Parameter	Sex Dose (mg/kg) No. of animals	Male				Female			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
		12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		11	6	6	10	12	5	6	11
Some resistance/avoidance		1	0	0	1	0	1	0	1
Difficult		0	0	0	1	0	0	0	0
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		10	6	6	10	12	5	6	11
Slightly awkward		1	0	0	2	0	1	0	1
Difficult		1	0	0	0	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-8 A 28-day oral toxicity study of paracetaldehyde in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observations (Week 2)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

No significant difference in any treated groups from control group.