

ジフェニルアルシン酸 (DPAA) の毒性試験報告書

平成18年11月

環境省総合環境政策局環境保健部 環境安全課

環境リスク評価室

【監修】

本報告書は環境省からの請負事業の毒性試験結果に基づき、DPAA 毒性ワーキングチームによる監修を経て作成された。DPAA 毒性ワーキングチームのメンバーを以下に示す。

青山 博昭	残留農薬研究所 毒性部副部長，生殖毒性研究室長
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長
櫻井 治彦	中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター所長
清水 英佑	東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座教授
平野 靖史郎	国立環境研究所 環境リスク研究センター 環境ナノ生体影響研究室室長
宮川 宗之	労働安全衛生総合研究所 産業医学総合研究所 健康障害予防研究グループ 上席研究員
鱈淵 英機	大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学教授

(座長：)

1. 目次

1. 目次	3
2. 緒言	5
3. 試験リスト	5
4. ジフェニルアルシン酸 (DPAA) データ	7
5. 試験概要	8
5.1 一般毒性試験	8
5.1.1 DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	8
5.1.2 DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験	14
5.1.3 DPAA 新生児ラット 28 日反復経口毒性試験	21
5.1.4 DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験	24
5.1.5 PMAA ラット 28 日反復経口毒性試験	25
5.1.6 MPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	30
5.2 生殖毒性試験	37
5.2.1 DPAA ラット催奇形性試験	37
5.2.2 DPAA ラット初期胚発生 (受胎能 ~ 着床) に関する試験	39
5.2.3 DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験	42
5.3 遺伝毒性試験	47
5.3.1 DPAA 細菌を用いた復帰突然変異試験	47
5.3.2 DPAA ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験	47
5.3.3 DPAA ラット小核試験	49
5.4 薬物動態試験	50
5.4.1 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の血液・血漿中濃度試験	50
5.4.2 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の体内分布試験	50
5.4.3 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の排泄・体内残留性試験	51
5.4.4 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 代謝試験	52
5.4.5 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胎盤・胎児移行性試験	52
5.4.6 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の乳汁移行性試験	53
5.4.7 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いた幼若ラット単回投与時の体内分布試験	54
5.4.8 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 7 日反復投与時の体内分布試験	54
5.4.9 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット脳内分布試験	55
5.4.10 ¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血球移行性試験	55

5.4.11	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血漿蛋白結合性試験	56
5.4.12	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験での肝薬物代謝酵素試験	56
5.5	物質特性試験	58
5.5.1	DPAA 解離定数測定試験	58
5.5.2	DPAA 分配係数測定試験	58
6.	総括	59

2. 緒言

平成 15 年に茨城県神栖市で、通常自然界には存在しない有機ヒ素化合物であるジフェニルアルシン酸 (DPAA) による環境汚染に起因すると考えられる健康被害が確認された。環境省では DPAA の安全性に関する基礎データを集積することを目的として、動物実験を含む基礎研究を実施してきたが、この度、現時点で判明している毒性試験の結果について取りまとめたので報告する。なお、DPAA の関連物質であるフェニルメチルアルシン酸 (PMAA) およびモノフェニルアルソン酸 (MPAA) についてもラットを用いた毒性試験を実施してきたので、併せて報告する。

3. 試験リスト

コード	試験略名	試験番号
一般毒性試験 (A)		
A-1	DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B031825
A-2	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験	B041213
A-3	DPAA 新生児ラット 28 日反復経口毒性試験	B041296
A-4	DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験	B040272
A-5	PMAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B050132
A-6	MPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B050572
生殖毒性試験 (B)		
B-1	DPAA ラット催奇形性試験	B041215
B-2	DPAA ラット初期胚発生 (受胎能～着床) に関する試験	B041587
B-3	DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験	B041589
遺伝毒性試験 (C)		
C-1	DPAA 細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)	B041297
C-2	DPAA ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験	B041298
C-3	DPAA ラット小核試験	B041300
薬物動態試験 (D)		
D-1	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の血液・血漿中濃度試験	B041305
D-2	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の体内分布試験	B041306
D-3	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の排泄・体内残留性試験	B041307
D-4	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 代謝試験	B041308
D-5	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胎盤・胎児移行性試験	B050299
D-6	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の乳汁移行性試験	B050300

(続き)

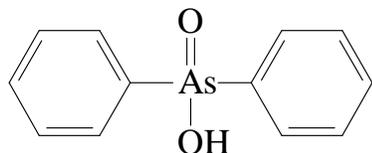
コード	試験略名	試験番号
薬物動態試験 (D)		
D-7	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた幼若ラット単回投与時の体内分布試験	B050301
D-8	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 7 日反復投与時の体内分布試験	B050302
D-9	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット脳内分布試験	B050303
D-10	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血球移行性試験	B041594
D-11	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血漿蛋白結合性試験	B041593
D-12	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験での肝薬物代謝酵素試験	B041592
物質特性試験 (E)		
E-1	DPAA 解離定数測定試験	D050031
E-2	DPAA 分配係数測定試験	D050032

4. ジフェニルアルシン酸 (DPAA) データ

Diphenylarsinic acid (DPAA)

分子式：C₁₂H₁₁O₂As

構造式：



分子量：262

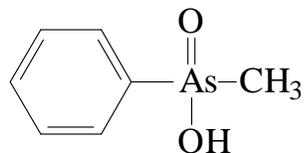
性 状：常温において白色の固体

融 点：170°C

また、DPAA の関連物質であるフェニルメチルアルシン酸 (PMAA) およびモノフェニルアルソン酸 (MPAA) の情報を以下に示した。

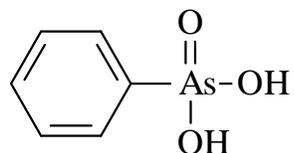
Phenylmethylarsinic acid (PMAA)

構造式：



Phenylarsonic acid (MPAA)

構造式：



5. 試験概要

5.1 一般毒性試験

5.1.1 DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験

コード番号： A-1

試験番号： B031825

DPAA を 0, 0.3, 1.2 および 5.0 mg/kg の用量（用量設定試験の結果から設定）で雌雄の Sprague-Dawley (SD) 系ラット* [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性と回復性を評価した。

観察・測定項目

一般状態

投与期間は 1 日 2 回（投与前，投与後約 30 分）観察した。その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した。

行動検査

以下に示す詳細な症状観察は、投与開始前日に 1 回、投与期間中に毎週 1 回、いずれも午後に行った。機能検査および自発運動量の測定については、第 4 週の午後に 1 回実施した。投与期間中の検査で被験物質の影響が疑われる変化が認められたため、回復期間中にも同様に詳細な症状観察を毎週 1 回午後に、機能検査および自発運動量の測定を第 6 週の午後に 1 回実施した。なお、いずれの検査においても雌については 5.0 mg/kg 群に生存例が存在しなかったため、対照群を含めて検査は実施しなかった。

自発運動量の測定時にはオートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ（TR-PC-200，265W × 426D × 200H mm，トキワ科学器械株式会社）内に個別飼育とし、自発運動量の測定を除いて、各動物に動物番号とは無関係な検査番号をランダムに付加したブラインド検査とするとともに、可能な限り当該試験の投与および観察に従事していない者が実施した。

(1) 詳細な症状観察

(a) ホームケージ内での観察

ホームケージ内での動物の様子を静かに 1 分間観察した。

検査項目：振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，呼吸

(b) ハンドリング時の観察

動物の体躯をやさしく背側から掴み，ケージから取り出して観察した。

検査項目：ケージからの取り出し易さ，ハンドリングに対する反応，攻撃性，皮膚

* 動物試験で一般的に用いられるラットの系統の一つである。

(外傷, 皮膚の色調), 被毛(被毛の汚れ), 眼(眼球突出, 眼瞼閉鎖状態), 粘膜(結膜の色調), 分泌物, 流涙, 流涎, 立毛, 瞳孔径

(c) オープンフィールドでの観察

オープンフィールドの中心に動物をおいてから静かに 2 分間観察した。オープンフィールドに動物を入れる前に, その床を硬く搾った布で水拭きした。

検査項目: 立ち上がり, 覚醒度, 排尿, 排便, 体位・姿勢, 呼吸, 運動協調性, 歩行の異常, 振戦, 間代性痙攣, 強直性痙攣, 常同行動, 異常行動

(2) 機能検査

(a) 刺激に対する反応性

オープンフィールド内で検査した。

検査項目: 接近反応, 接触反応, 聴覚反応, テールピンチ反応, 空中正向反射

(b) 握力測定

デジタルフォースゲージ(DPS-5, 株式会社イマダ)を用いて測定した。

検査項目: 前肢握力, 後肢握力

なお, 第 4 週の検査において, 一部の動物(動物番号: 10405, 10409 および 50406)が握力測定装置を握らなかったため, データが欠失した。また, 雄の第 6 週の検査では 5.0 mg/kg 群の動物数が 2 例であったことから統計学的解析を実施しなかった。

(3) 自発運動量の測定

自発運動量測定装置(SUPERMEX, 室町機械株式会社)を用いた。投与後の観察終了後, ポリカーボネート製ケージに動物を移し, ケージ馴化を行った。測定直前に新たなポリカーボネート製ケージに交換し, 1 時間測定した。なお, 測定値は測定開始から 10 分毎に集計した。なお 雄の第 6 週の検査では 5.0 mg/kg 群の動物数が 2 例であったことから, 統計学的解析を実施しなかった。

体重

全例の体重を投与期間中は第 1, 8, 15, 22 および 28 日に, 回復期間中は第 29, 36 および 42 日に電子天秤(PB3002-S, メトラー・トレド株式会社)を用いて測定した。また, 計画解剖日ならびに死亡動物については死亡発見時にも測定した。

摂餌量

ケージごとに風袋込み重量を電子天秤(PB3002-S, メトラー・トレド株式会社)を用いて測定し, 第 1~8, 8~15, 15~22, 22~27, 29~36 および 36~41 日の測定日間における 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

血液学的検査

投与および回復期間終了後の計画解剖日(第 29 および 43 日)に全対象動物を前日の夕方より絶食し, チオペンタールナトリウム(ラボナール, 田辺製薬株式会社)を腹腔内投与して麻酔し, 後大静脈より採血した。採取した血液を用いて次に示す項目を測定した。プロトコ

ンピン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の項目の測定には、凝固阻止剤として 3.2w/v% クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離（12000 rpm，約 12000 g，3 分間，約 4°C）して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた。

項目	方法	測定機器
赤血球数 (RBC)	球状化処理二次元レーザーFCM 法	(a)
ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法	(a)
ヘマトクリット値 (Ht)	球状化処理二次元レーザーFCM 法	(a)
平均赤血球容積 (MCV)	RBC と Ht より算出	-
平均赤血球色素量 (MCH)	RBC と Hb より算出	-
平均赤血球色素濃度 (MCHC)	Hb と Ht より算出	-
網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM 法	(a)
血小板数 (PLT)	球状化処理二次元レーザーFCM 法	(a)
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式	(b)
活性化部分トロンボプラスチン 時間 (APTT)	光散乱検出方式	(b)
白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法	(a)
WBC 分類 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法	(a)

測定機器：

(a)，ADVIA120 (バイエル メディカル株式会社)

(b)，CA-510 (シスメックス株式会社)

血液生化学的検査

各計画解剖時に採取した血液の一部を室温で約 30 分間以上静置後、遠心分離(3000 rpm ,2050 g , 10 分間，約 4°C) し，得られた血清を用いて次の項目を測定した。

項目	方法
ASAT (GOT)	UV-rate 法 (JSCC 改良法)
ALAT (GPT)	UV-rate 法 (JSCC 改良法)
GT	-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC 改良法)
ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC 改良法)
アセチルコリンエステラーゼ	アセチルチオコリン-DTNB 法

総ビリルビン	酵素法 (BOD 法)
尿素窒素	酵素-UV 法 (Urease-LEDH 法)
クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD 法)
グルコース	酵素法 (HK-G6PDH 法)
総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS 法)
トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS 法, グリセリン消去法)
総蛋白	Biuret 法
アルブミン	BCG 法
A/G 比	総蛋白およびアルブミンより算出
カルシウム	OCPC 法
無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD 法)
ナトリウム	イオン選択電極法
カリウム	イオン選択電極法
クロール	イオン選択電極法

測定機器：TBA-200FR (株式会社東芝)

尿検査

投与期間最終週 (第 27 日) に各群雌雄 5 例 (各群動物番号の小さい順に 5 例) を個別採尿ケージに移し, 新鮮尿を採取して以下に示す試験紙法による項目を測定し, また尿沈渣検査を実施した。さらに, 第 27~28 日に約 21 時間蓄積尿を採取してその他の項目を測定した。なお, 5.0 mg/kg 群の雌 1 例 (動物番号: 50401) が蓄積尿の採取時に死亡したため, 蓄積尿に関するデータは得られなかった。新鮮尿採取時間は飼料および飲用水を与えなかった。新鮮尿は投与前に採取し, 必要量が得られ次第密閉した。

回復期間最終週 (第 41~42 日) に, 生存していた対照群の雄 5 例および 5.0 mg/kg 群の雄 2 例 (動物番号: 10407, 10408) にも同様の検査を実施した。なお, 雌については 5.0 mg/kg 群に生存例が存在しなかったため, 対照群を含めて検査を実施しなかった。

項目	方法	測定機器
pH	試験紙法 (マルチテックス, パールメディカ株式会社)	(a)
蛋白	試験紙法 (マルチテックス, パールメディカ株式会社)	(a)
グルコース	試験紙法 (マルチテックス, パールメディカ株式会社)	(a)
ケトン体	試験紙法 (マルチテックス, パールメディカ株式会社)	(a)
ビリルビン	試験紙法 (マルチテックス, パールメディカ株式会社)	(a)

潜血	試験紙法 (マルチスティックス, パイエル メディカル株式会社)	(a)
ウロビリノーゲン	試験紙法 (マルチスティックス, パイエル メディカル株式会社)	(a)
尿量	メスシリンダーで測定	-
比重	屈折法	(b)
ナトリウム	イオン選択電極法	(c)
カリウム	イオン選択電極法	(c)
クロール	電量滴定法	(c)
尿沈渣	Sternheimer-Malbin 染色した標本を鏡検	-

測定機器:

(a), クリニテック 100 (パイエル メディカル株式会社)

(b), ユリコン-JE (株式会社アタゴ)

(c), PVA- (株式会社エイアンドティー)

器官重量

全生存動物の下記の器官重量を電子天秤(AW-120, 株式会社島津製作所)を用いて測定した。両側性の器官はまとめて測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量(対体重比)を算出した。

肝臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 精巣上部, 卵巣, 胸腺, 脾臓, 脳, 心臓

病理解剖検査

死亡動物については死亡発見後、速やかに剖検した。計画解剖動物については採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後、剖検した。

病理組織学的検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、精巣および精巣上部はブアン液(Bouin液)で、死亡動物以外の眼球とハーダー腺はダビドソン液(Davidson液)で固定後、10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した。なお、脳の固定は常温で10 vol%中性リン酸緩衝ホルマリン液中にて約24時間とした。

脳(大脳, 小脳および橋を含む部位), 脊髄, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸(パイエル板を含む), 盲腸, 結腸, 直腸, 肝臓, 腎臓, 副腎, 脾臓, 心臓, 胸部大動脈, 胸腺, 眼球およびハーダー腺, 下垂体, 甲状腺(上皮小体含む), 気管および肺, 精巣, 卵巣, 精巣上部, 前立腺, 子宮, 膣, 膀胱, 下顎リンパ節, 腸間膜リンパ節, 坐骨神経(大腿筋に付けて採材), 骨髄(大腿骨), 腸腰筋(腰腸筋), その他, 肉眼的異常部位

投与期間終了後解剖動物の対照群および5.0 mg/kg群,ならびに投与または回復期間中に死亡

した雄 2 例 (動物番号: 10404, 10409), 雌 6 例 (動物番号: 50401, 50402, 50403, 50404, 50407, 50408) の上記の器官・組織および全試験動物の肉眼的異常部位について, 常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し, 鏡検した。

その結果, 被験物質に起因すると思われる変化または被検物質との関連が疑われる変化が雌雄の肝臓, 脾臓, 胸腺, 下顎リンパ節, 腸間膜リンパ節, 大腿骨骨髓, 腎臓, 肺, 腺胃, 十二指腸, 副腎, 脊髄 (脊髄神経節), 大脳と雄の精巣, 精巣上体に認められたため, 投与期間終了後解剖動物の 0.3 および 1.2 mg/kg 群と回復期間終了後解剖動物の雌雄全例の当該器官・組織について検査を実施した。

投与期間終了後解剖動物の対照群および 5.0 mg/kg 群の脳について, アポトーシス検出のための TUNEL 法, 髄鞘を確認するための Kluver-Barrera 染色, 神経膠線維を確認するための Holzer 染色, 軸索・神経線維を確認するための Bodian's 染色を実施した。肝臓のグリソン鞘にみられた肉芽腫の立体構築を把握するため, 肉芽腫の形成が最も顕著な 1 例 (動物番号: 10402) の肝臓を再度切り出し, 間断連続標本を作製した。また, 脊髄神経節神経細胞内に沈着物が認められた 3 例のうち 1 例 (動物番号: 10405) について, 頸部, 胸前部, 腰部の各脊髄神経節を切り出し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施すとともに, 頸部と腰部の脊髄神経節に Bodian's 染色を施した。

結果および結論

一般状態では, 5.0 mg/kg 群の雄 2/10 例 (この他に 1 例が事故死), 雌 6/10 例が死亡した。また, 5.0 mg/kg 群の雌雄に着色尿 (黄色), 振戦, 易刺激性, 流涎, 活動性の低下, 鼻周囲の汚れ, 下腹部の汚れ, 歩行異常, 眼瞼下垂が認められた。

行動検査では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に振戦, 反応性低下または亢進, 覚醒度亢進, 歩行異常などの神経異常を示唆する所見がみられ, また握力および自発運動量の減少が認められた。

体重および摂餌量では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に低値が認められた。

血液学的検査では, 1.2 mg/kg 群の雌および 5.0 mg/kg 群の雌雄にヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低値が認められた。また 5.0 mg/kg 群の雄に血小板数の高値が認められた。さらに 5.0 mg/kg 群の雄に網赤血球数の低値および PT の延長傾向がみられ, 同群雌雄に APTT の延長傾向および白血球分画異常が認められた。

血液生化学的検査では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に ASAT (GOT), ALAT (GPT), GT, ALP, 総ビリルビン, 尿素窒素およびクロールの高値または高値傾向がみられ, A/G 比およびナトリウムの低値または低値傾向が認められた。

尿検査では, 5.0 mg/kg 群の雌雄にビリルビンおよびウロビリノーゲンの高値または高値傾向が認められた。ビリルビンの高値については 1.2 mg/kg 群の雄にも認められた。

器官重量では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に肝臓重量の高値, 胸腺重量の低値が認められた。

剖検では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に脾臓および胸腺の小型化, 腺胃の赤色・褐色斑が認められた。

病理組織学的検査では, 5.0 mg/kg 群の雌雄に肝臓の胆管増生, グリソン鞘における炎症性細胞浸潤, 肝細胞の限局性壊死, グリソン鞘内の肉芽腫, 脾臓の白脾髄の萎縮, 胸腺の急性萎縮, 大腿骨骨髓の造血細胞減少および腺胃のびらんなどが認められた。なお, 一般状態観察

で振戦，易刺激性，流涎など神経系への作用がみられたが，脳のヘマトキシリン・エオジン染色標本では器質的变化は認められなかった．また，脳について TUNEL 法，Kluver-Barrera 染色，Holzer 染色および Bodian's 染色の特殊染色を施し，より詳細に器質的变化を観察したが，何ら異常変化は認められなかった．

上述した変化のうち，雄に発現した変化については回復期間終了時には回復または回復傾向を示し，回復性は良好であった．しかし，雌については死亡例が多発したため，発現した変化の回復性を確認することはできなかった．

以上の結果より，被験物質投与に起因すると考えられる変化が雌雄とも 1.2 mg/kg 以上の群に認められたことから，本試験条件下における DPAA の無影響量（NOEL）は雌雄とも 0.3 mg/kg/day と判断した．

5.1.2 DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験

コード番号： A-2

試験番号： B041213

DPAA を 0，0.1，0.3，0.8 および 2.0 mg/kg の用量（28 日反復経口毒性試験の結果から設定）で雌雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に 91 日間反復経口投与し，現れる生体の機能および形態の変化を観察し，その毒性と回復性を評価した．

観察・測定項目

一般状態

投与期間は 1 日 2 回（投与前，投与後約 30 分）観察した．その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した．

詳細な症状観察

投与開始前に 1 回，投与期間中に毎週 1 回（午後），下記の項目について検査を行った．飼育ケージ内で 1 分間，ハンドリング時およびオープンフィールド内で 2 分間の観察を行った．検査時には，動物番号とは別の識別番号を記載したラベルを付けて，用量および動物番号を観察者に判らないようにした．なお，投与期間中の検査で被験物質投与による影響が疑われたため，回復期間中も毎週 1 回（午後）検査した．

(1) 飼育ケージ内での観察

振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，呼吸

(2) ハンドリング時の観察

ケージからの取り出し易さ，ハンドリングに対する反応，攻撃性，皮膚（外傷，皮膚の色調），被毛（被毛の汚れ），眼（眼球突出，眼瞼閉鎖状態），粘膜（結膜の色調），分泌物，流涙，流涎，立毛，瞳孔径

(3) オープンフィールド内での観察

立ち上がり，覚醒度，排尿，排便，体位・姿勢，呼吸，運動協調性，歩行の異常，振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，常同行動，異常行動

機能検査

第 12 週に 1 回(午後)下記の項目について検査を行った。刺激に対する反応性を観察した後，握力測定を行った。握力測定には，デジタルフォースゲージ(DPS-5，株式会社イマダ)を使用した。自発運動量の測定は，自発運動量測定装置(SUPERMEX，室町機械株式会社)を用い 1 時間行った。なお，運動量測定時にはポリカーボネート製ケージ(床敷含む)を使用した。投与後の観察終了後，動物をポリカーボネート製ケージに移し，ケージ馴化を行った。その後，測定直前に新たなポリカーボネート製ケージに動物を移して測定した。また，測定期間中は餌および飲用水を与えなかった。自発運動量の測定以外の検査時には，動物番号とは別の識別番号を記載したラベルを付けて，用量および動物番号を観察者に判らないようにした。なお，第 12 週での検査で被験物質投与の影響が疑われる変化は認められなかったことから，回復期間には検査を行わなかった。

(1) 刺激に対する反応性

接近反応，接触反応，聴覚反応，テールピンチ反応，空中正向反射

(2) 握力測定

前肢握力，後肢握力

(3) 自発運動量測定

測定開始から 10 分毎に集計するとともに 1 時間の総量を求めた。

体重

全例について，投与期間の第 1，8，15，22，29，36，43，50，57，64，71，78，85 および 91 日，回復期間の第 92，99，106，113 および 119 日に電子天秤(BX3200H，EB-3200S：株式会社島津製作所)を用いて測定した。また，各測定日間の体重増加量を算出した。

摂餌量

個別に飼料の風袋込み重量を電子天秤電子天秤(BX3200H，EB-3200S：株式会社島津製作所)を用いて測定し，投与期間中の第 1～5，8～15，16～22，22～29，29～36，36～43，44～50，50～57，57～64，65～71，71～78，78～85 および 86～89 日，回復期間中の第 92～99，99～106，106～113 および 116～119 日における 1 日平均摂餌量を算出した。また，摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

血液学的検査

投与および回復期間終了後の計画解剖日(第 92 および 120 日)に全対象動物を前日の夕方より絶食し，ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール，大日本製薬株式会社)を腹腔内

投与して麻酔し，後大静脈より採血した．採取した血液を用いて次に示す項目を測定した．プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には，凝固阻止剤として 3.2 w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し，遠心分離(12000 rpm ,約 12000 g ,3 分間，約 4°C)して得られる血漿を用いた．その他の項目の測定には，凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた．

項目	方法
(1) 赤血球数 (RBC)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(2) ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法
(3) ヘマトクリット値 (Ht)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(4) 平均赤血球容積 (MCV)	(1), (3)より算出
(5) 平均赤血球色素量 (MCH)	(1), (2)より算出
(6) 平均赤血球色素濃度 (MCHC)	(2), (3)より算出
(7) 網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM 法
(8) 血小板数 (PLT)	球状化处理二次元レーザーFCM 法
(9) プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式
(10) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式
(11) 白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法
(12) 白血球百分率 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法

測定機器：

(1)-(3), (7), (8), (11), (12) : ADVIA120 (パイエル メディカル株式会社)

(9), (10) : CA-510 (シスメックス株式会社)

血液生化学的検査

計画解剖時に採取した血液の一部を室温で 30 分間以上静置後，遠心分離 (3000 rpm ,約 2050 g 以上，10 分間，約 4°C) し，得られた血清を用いて下記の項目を測定した．瀕死期解剖動物も可能な限り測定した．

項目	方法
(1) ASAT (GOT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(3) GT	-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC改良法)

(5)	総ビリルビン	酵素法 (BOD法)
(6)	尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-LEDH法)
(7)	クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD法)
(8)	グルコース	酵素法 (HK-G6PDH法)
(9)	総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS法)
(10)	トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS法, グリセリン消去法)
(11)	総蛋白	Biuret法
(12)	アルブミン	BCG法
(13)	A/G比	(11) および (12) より算出
(14)	カルシウム	OCPC法
(15)	無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD法)
(16)	ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(17)	カリウム (K)	イオン選択電極法
(18)	クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器： TBA-200FR (株式会社東芝)

尿検査

投与および回復期間最終週 (第 13 および 17 週) に, 各群雌雄 5 匹 (各群動物番号の小さい順に 5 例) の新鮮尿を採取して, 下記の試験紙法の項目および尿沈渣を検査した。また, 約 21 時間蓄積尿を採取して, 尿量, 比重, ナトリウム, カリウムおよびクロールを検査した。ただし, 0.1 および 2.0 mg/kg 群の雌各 1 例 (動物番号: 50202, 50504) の蓄積尿には, 飲用水が混入したため, これらの動物の尿量および比重については, 参考値とした。

項目	方法
(1) PH	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(2) 蛋白	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(3) グルコース	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(4) ケトン体	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(5) ビリルビン	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(6) 潜血	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(7) ウロビリノーゲン	試験紙法 (マルチスティックス, バイエルメーカ株式会社)
(8) 尿量	メスシリンダーで測定
(9) 比重	屈折法

(10)	ナトリウム	イオン選択電極法
(11)	カリウム	イオン選択電極法
(12)	クロール	電量滴定法
(13)	尿沈渣	Sternheimer-Malbin 染色した標本を鏡検

測定機器

- (1)~(7)：クリニテック 100 (バイエル メディカル株式会社)
 (9)：ユリコン-JE (株式会社アタゴ)
 (10)~(12)：PVA- (株式会社エイアンドティー)

眼科学的検査

投与開始前(馴化期間中,群分け前)には全例,投与期間最終週(第13週)には対照群および2.0 mg/kg 群の全例について,照明を暗くした状態で,直像鏡を用いて対光反射を検査し,スリットランプ(SL-14,興和株式会社)を用いて前眼部および中間透光体を,双眼倒像鏡(オメガ 200,ハイネ社)を用いて眼底を検査した.前眼部,中間透光体および眼底検査は散瞳剤(ミドリリン P,参天製薬株式会社)点眼後に行った.検査の結果,被験物質投与の影響が認められたことから,全例の検査を行うとともに回復期間最終週(第17週)にも,全例について同様の検査を行った.

器官重量

全例について,下記の器官重量を電子天秤(AW120:株式会社島津製作所,AG204:メトラー・トレード株式会社)を用いて測定した(両側性の器官はまとめて測定した).解剖日に体重を測定し,その体重に基づいて相対重量(対体重比)を算出した.

肝臓,腎臓,副腎,精巣,精巣上体,子宮,卵巣,胸腺,脾臓,脳,心臓

病理解剖検査

全例について,採血後,腹大動脈を切断・放血し,安楽死させた後,剖検した.

病理組織学的検査

全例の下記器官・組織を採取し,10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し,保存した.ただし,精巣および精巣上体はブアン液で,眼球,ハーダー腺および視神経はダビドソン液でそれぞれ固定後,10 vol %中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した.なお,投与および回復期間終了後の器官重量測定および病理解剖検査後に,各群雌雄5例(動物番号の小さい順に5例)の肝臓については,雄の尾状葉と外側右葉以外の全ての部位,雌の外側左葉および中間葉の一部を採取し,それ以外の部位を当研究所で実施する「ジフェニルアルシン酸をラットに91日間反復経口投与した後の肝薬物代謝酵素に対する影響(試験番号:B041592)」に転用した.

肉眼的異常部位，脳（4断面），脊髄（頸部，胸部中央，腰部），下垂体，甲状腺および上皮小体，胸腺，食道，唾液腺（下顎・舌下），胃，十二指腸，空腸，回腸（パイエル板含む），盲腸，結腸，直腸，肝臓，膵臓，腎臓，副腎，脾臓，心臓，気管，肺，胸部大動脈，精巣，精巣上体，前立腺腹葉，精嚢，卵巣，子宮，膣，乳腺（雌のみ），膀胱，下顎リンパ節，腸間膜リンパ節，坐骨神経，大腿筋，胸骨および骨髄，大腿骨および骨髄，皮膚，眼球およびハーダー腺および視神経

投与期間終了後解剖動物の対照群と 2.0 mg/kg 群の雌雄全例の上記器官・組織，ならびに対照群を含む全動物の肉眼的異常部位について，常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し，鏡検した．その結果，被験物質投与の影響が疑われる変化が肝臓，総胆管，脾臓，腎臓，眼球，胸腺に認められたため，全例の当該器官・組織を検査した．

リンパ球サブセット測定

投与期間終了後の計画解剖日（第 92 日）に各群雌雄 5 匹（各群動物番号の小さい順に 5 例）について測定した．測定には，計画解剖時に採取した血液の 0.5 mL をヘパリン（ナトリウム塩）で抗凝固処理し使用した．解析用プロトコルの確認には，無処置動物（同性の余剰動物を各計画解剖日に 1 例）より計画解剖動物と同様に採取した血液を用いた．

混在する赤血球を ACK Lysing Solution（0.16 mol/L NH_4Cl ，10 mmol/L KHCO_3 ，0.1 mmol/L EDTA-2Na，pH 7.2）で溶血した後，自動血球計数装置（Sysmex F-800，シスメックス株式会社）を用いて白血球数の測定を行った．

リンパ球サブセットの測定は，白血球数の測定後，蛍光標識抗体による染色を行い，T 細胞（CD3），B 細胞（CD45RA），NK 細胞（NKR-P1A），ヘルパー T 細胞（CD4）およびキラー T 細胞（CD8a）の表面マーカーの比率について，フローサイトメーター（EPICS XL-MCL，ベックマン・コールター株式会社）を用いて測定した．結果は，各細胞分画のリンパ球中の比率ならびに血液 1 mL あたりの絶対数で表した．

染色抗体は以下のものを用いた．

- FITC 標識抗ラット CD3 抗体（G4.18；BD Pharmingen）
- PE 標識抗ラット CD45RA 抗体（OX-33；BD Pharmingen）
- PE 標識抗ラット NKR-P1A 抗体（10/78；BD Pharmingen）
- FITC 標識抗ラット CD4 抗体（OX-38；BD Pharmingen）
- PE 標識抗ラット CD8a 抗体（OX-8；BD Pharmingen）

コントロール抗体は以下のものを用いた．

- FITC 標識マウス IgG2a，抗体（BD Pharmingen）
- FITC 標識マウス IgG3，抗体（BD Pharmingen）
- PE 標識マウス IgG1，抗体（BD Pharmingen）

結果および結論

投与および回復期間を通じて、死亡動物は認められなかった。

一般状態において、2.0 mg/kg 群の雄に振戦、強直性痙攣、着色尿（黄色）、易刺激性、眼球の混濁および膨大が認められた。また、強直性痙攣後には、一過性の自発運動の低下が認められた。

行動検査において、詳細な症状観察では、2.0 mg/kg 群の雄にケージからの取り出しおよびハンドリング時の反応性の亢進、覚醒度の亢進、振戦が認められた。機能検査（刺激に対する反応性、握力および自発運動量測定）では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

2.0 mg/kg 群の雄に体重、体重増加量および摂餌量の低値が認められた。

血液学的検査において、2.0 mg/kg 群の雌雄に赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低値がみられ、2.0 mg/kg 群の雄に血小板数および網赤血球数の高値が認められた。血液生化学的検査において、2.0 mg/kg 群の雌雄に総コレステロールおよび ALP の高値、2.0 mg/kg 群の雄に GT、総ビリルビン、総蛋白およびカルシウムの高値と A/G 比の低値、2.0 mg/kg 群の雌に ASAT の高値が認められた。

尿検査において 2.0 mg/kg 群の雄にビリルビンおよびウロビリノーゲンの高値が認められた。眼科学的検査において、2.0 mg/kg 群の雄に角膜血管新生、角膜水腫あるいは角膜変性を伴う角膜混濁が認められた。

器官重量において、2.0 mg/kg 群の雌雄に肝臓の絶対・相対重量の高値がみられ、2.0 mg/kg 群の雄に心臓および脾臓の絶対・相対重量の高値および胸腺の絶対重量の低値が認められた。病理解剖検査において、2.0 mg/kg 群の雌雄に肝臓の腫大がみられ、2.0 mg/kg 群の雄に肝臓の表面顆粒状化および白色斑、総胆管の拡張、胸腺の小型化および眼球の角膜混濁が認められた。

病理組織学的検査において、肝臓では 2.0 mg/kg 群の雌雄に胆管増生およびグリソン鞘の炎症性細胞浸潤、2.0 mg/kg 群の雄にグリソン鞘内の肉芽腫、小葉中心性の肝細胞肥大、小葉辺縁性の肝細胞脂肪化および肝細胞の限局性壊死、2.0 mg/kg 群の雌にグリソン鞘の線維化が認められた。総胆管では、2.0 mg/kg 群の雌雄に増殖性炎がみられ、2.0 mg/kg 群の雄に粘膜上皮の空胞化が認められた。また、2.0 mg/kg 群の雄に脾臓の赤血球性髄外造血の発現の増加、腎臓の近位尿細管上皮における好酸性小滴、眼球の角膜の炎症性細胞浸潤および角膜水腫、胸腺の萎縮が認められた。なお、一般状態観察で振戦、強直性痙攣、易刺激性など神経系への作用がみられたが、脳のヘマトキシリン・エオジン染色標本では器質的变化は認められなかった。

リンパ球サブセット測定では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

本試験で認められたほとんどの変化は、投与の休止により、消失、変化の程度あるいは発現の減少がみられ、回復性が認められた。また、胸腺重量の低値および剖検における総胆管の拡張は、回復期間終了後にも投与期間終了後と同様に認められたが、これらの器官にみられた病理組織学的変化は、回復期間終了後には、消失あるいは軽減していることから、胸腺および総胆管としての変化自体には、回復性が認められた。

以上の結果から、本試験条件下における DPAA の無影響量(NOEL)は雌雄ともに 0.8 mg/kg/day と判断した。

5.1.3 DPAA 新生児ラット 28 日反復経口毒性試験

コード番号： A-3

試験番号： B041296

DPAA を 0, 0.1, 0.3 および 1.0 mg/kg の用量（用量設定試験の結果から設定）で雌雄の SD 系新生児ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に生後 4 日から 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性を評価した。

観察・測定項目

一般状態

児動物は投与期間中、1 日 2 回（投与前、投与後約 30 分）観察した。また、母動物は投与期間中、1 日 1 回観察した。その他の期間は 1 日 1 回観察した。

体重

児動物の体重を第 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 および 28 日に電子天秤（UX4200H, 株式会社島津製作所）を用いて測定した。また、母動物の体重を第 1, 8, 15 日および 18 日（離乳日）に同様に測定した。

摂餌量

児動物の摂餌量を第 18~22 および 22~28 日に測定し、また母動物の摂餌量を第 1~8, 8~15 および 15~18 日に測定した。ケージごとに風袋込み重量を電子天秤（UX4200H, 株式会社島津製作所）を用いて測定し、各測定日間の児動物および母動物 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。なお、摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

血液学的検査

児動物は、投与期間終了後の計画解剖日（第 29 日）に全対象動物を前日の夕方より絶食し、ペントバルビタールナトリウム（ネンプタール, 大日本製薬株式会社）を腹腔内投与して麻酔し、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて以下に示す項目を測定した。プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には、凝固阻止剤として 3.2 w/v% クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離（12000 rpm, 12100 g, 3 分間, 約 4°C）して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた。

項目	方法
(1) 赤血球数 (RBC)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(2) ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法
(3) ヘマトクリット値 (Ht)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(4) 平均赤血球容積 (MCV)	(1) および (3) より算出
(5) 平均赤血球血色素量 (MCH)	(1) および (2) より算出
(6) 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	(2) および (3) より算出
(7) 網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM法
(8) 血小板数 (PLT)	球状化処理二次元レーザーFCM法
(9) プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式
(10) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式
(11) 白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM法
(12) 白血球百分率 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM法

測定機器：

(1)～(3), (7), (8), (11), (12)： ADVIA120 (パイエル メディカル株式会社)
(9), (10)： CA-510 (シスメックス株式会社)

血液生化学的検査

児動物について、計画解剖時に採取した血液の一部を室温で 30 分間以上静置後、遠心分離 (3000 rpm, 2050 g, 10 分間, 約 4°C) し、得られた血清を用いて以下に示す項目を測定した。

項目	方法
(1) ASAT (GOT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-rate法 (JSCC改良法)
(3) GT	-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC改良法)
(5) 総ビリルビン	酵素法 (BOD法)
(6) 尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-LEDH法)
(7) クレアチニン	酵素法 (Creatininase-POD法)
(8) グルコース	酵素法 (HK-G6PDH法)
(9) 総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS法)

(10)	トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS法 , グリセリン消去法)
(11)	総蛋白	Biuret法
(12)	アルブミン	BCG法
(13)	A/G比	(11) および (12) より算出
(14)	カルシウム	OCPC法
(15)	無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD法)
(16)	ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(17)	カリウム (K)	イオン選択電極法
(18)	クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器： TBA-200FR (株式会社東芝)

器官重量

児動物の下記の器官重量を電子天秤 (AW-120 , 株式会社島津製作所) を用いて測定した . 両側性の器官はまとめて測定した . また , 解剖日に体重を測定し , その体重に基づいて相対重量 (対体重比) を算出した .

肝臓 , 腎臓 , 副腎 , 精巣 , 精巣上体 , 子宮 , 卵巣 , 胸腺 , 脾臓 , 脳 , 心臓

病理解剖検査

児動物の計画解剖動物は採血後 , 腹大動脈を切断・放血し , 安楽死させた後 , 剖検した . なお , 母動物については離乳時に同様に剖検し , 全例に異常がないことを確認した .

病理組織学的検査

児動物の下記器官・組織を採取し , 10 vol % 中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し , 保存した . ただし , 精巣および精巣上体はブアン液で , 眼球 , ハーダー腺および視神経はダビドソン液でそれぞれ固定後 , 10 vol % 中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した .

肉眼的異常部位 , 脳 (4 断面) , 脊髄 (頸部 , 胸部中央 , 腰部) , 下垂体 , 甲状腺および上皮小体 , 胸腺 , 食道 , 唾液腺 (下顎・舌下) , 胃 , 十二指腸 , 空腸 , 回腸 (パイエル板含む) , 盲腸 , 結腸 , 直腸 , 肝臓 , 脾臓 , 腎臓 , 副腎 , 脾臓 , 心臓 , 気管 , 肺 , 胸部大動脈 , 精巣 , 精巣上体 , 前立腺腹葉 , 精囊 , 卵巣 , 子宮 , 膣 , 乳腺 (雌のみ) , 膀胱 , 下顎リンパ節 , 腸間膜リンパ節 , 坐骨神経 , 大腿筋 , 胸骨および骨髄 , 大腿骨および骨髄 , 皮膚 , 眼球およびハーダー腺 , 視神経

対照群と 1.0 mg/kg 群の雌雄全例の上記器官・組織 , ならびに対照群を含む全動物の肉眼的異常部位について , 常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し , 鏡検した . 検

査の結果，1.0 mg/kg 群で被験物質に起因すると考えられる変化が雌雄の肝臓に認められたため，0.1 および 0.3 mg/kg 群の雌雄の肝臓について検査を実施した。

結果および結論

母動物の哺育状況を確認するため，哺育期間中の児動物の体重および摂餌量データについて各群の母動物ごとに一元配置分散分析を実施した。その結果，ほとんどのデータで同一群内の母動物間に有意差があることが確認された。しかし，有意差は群に偏ることなく，いずれの群でも認められていることから，児動物の体重および摂餌量データを用いた毒性評価は十分に可能であるものと判断した。

死亡例は認められず，また一般状態および病理解剖所見には何ら異常は認められなかった。

体重では，1.0 mg/kg 群の雌で第 22 日から投与期間終了時まで有意な低値が認められた。

血液学的検査では，0.3 および 1.0 mg/kg 群の雄に赤血球数の低値がみられ，また 1.0 mg/kg 群の雄に単球比の低値が認められた。さらに，1.0 mg/kg 群の雌に血小板数の高値および PT の延長が認められた。

血液生化学的検査では，1.0 mg/kg 群の雄にトリグリセライドの高値および A/G 比の低値が認められた。

器官重量では，1.0 mg/kg 群の雌に肝臓の相対重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では，1.0 mg/kg 群の雌雄全例に胆管増生がみられ，1.0 mg/kg 群の雄 9/12 例，雌 7/12 例にグリソン鞘における炎症性細胞浸潤が認められた。なお，造血系器官である骨髄，脾臓には異常変化はみられず，また脳のヘマトキシリン・エオジン染色標本では器質的变化は認められなかった。

以上の結果より，被験物質投与に起因すると考えられる変化が雄で 0.3 mg/kg 以上の群に，雌では 1.0 mg/kg 群に認められたことから，本試験条件下における DPAA の無影響量（NOEL）は雄が 0.1 mg/kg/day，雌が 0.3 mg/kg/day と判断した。

5.1.4 DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験

コード番号： A-4

試験番号： B040272

DPAA を 0 および 1000 mg/kg の用量で雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] に 7 日間反復経皮投与し，現れる生体の機能および形態の変化を観察し，その毒性を評価した。

結果および結論

投与期間を通じて，死亡動物は認められなかった。

一般状態において，着色尿（黄色）が 1000 mg/kg 群に認められた。

体重では，1000 mg/kg 群に低値傾向が認められた。

器官重量において，1000 mg/kg 群に肝臓，脾臓，腎臓および副腎の絶対・相対重量の高値が