

トリプロピレングリコー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 Tripropyleneglycol in Rats

要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するために、トリプロピレングリコールを雌雄ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は2000 mg/kgを最高用量とし、以下1000 および 500 mg/kgとした。対照として、媒体の蒸留水投与群を設けた。

死亡発現はなく、異常症状は観察されなかった。LD₅₀値は、雌雄ともに2000 mg/kg以上であった。体重は、各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示した。剖検では、いずれの例とも著変はみられなかった。

方法

1. 被験物質、媒体および投与検体液

被験物質のトリプロピレングリコールは、分子式： $C_9H_{20}O_4$ 、分子量：192.29、沸点：268℃、比重（25℃）：1.019、粘性率（25℃）：56.2 cp、引火点：140℃で、水にきわめて溶けやすい粘性の液体である [Lot No.040810、製造元：旭電化工業（株）、純度：98%以上]。投与終了後に残余被験物質の一部を製造元に送付して分析した結果、純度は規格値内であり、使用期間中の安定性が確認された。媒体として、蒸留水（大塚注射用水）を用いた。

投与検体液は、被験物質を蒸留水に用時溶解して調製した。

2. 使用動物および飼育条件

4週齢のSprague-Dawley系雌雄ラット〔(SPF)、Crj:CD(SD)〕を日本チャールス・リバー（株）から購入し、5日間の検疫期間およびその後3日間の馴化期間を設け、一般状態および体重推移に異常の認められない雌雄各20匹の動物を群分けして試験に用いた。群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無

作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与日に行った。

動物は、室温20~24℃、湿度40~70%、明暗各12時間、換気回数12回/時に設定した飼育室で飼育した。検疫・馴化期間中および絶食期間中はステンレス製懸垂式ケージを用いて1ケージあたり5匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージを用いて個別飼育した。

飼料は固型飼料〔CRF-1、オリエンタル酵母工業（株）〕を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、投与前日の夕刻から投与までの約19時間と、投与後約6時間まで絶食させ、その後に飼料を与えた。飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし、群分け時から投与後約6時間までは絶水させ、その後に飲料水を与えた。飼料および飲料水の検査の結果、いずれも試験成績は当試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

3. 投与経路、投与方法、群構成および投与量

トリプロピレングリコールは、経口的に人に摂取される可能性が考えられたため、投与経路として胃ゾンダを用いた強制経口投与を選択した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として、10 ml/kgで算出した。投与回数は1回とした。投与時の週齢は約5週齢、体重範囲は雄が114~121 g、雌が94~100 gであった。

群構成は以下の如くとした。一群の動物数は、雌雄各5匹とした。

投与量設定の理由：雄ラットを用いた予備試験の結果、OECD毒性試験ガイドラインで限界用量とされている2000 mg/kg投与においても死亡例はみられなかった。したがって、当試験では2000 mg/kgを高用量とし、以下公比2で1000 および 500 mg/kg群を設けた。対照として、被験物質と同一容量の媒体（蒸留水）を投与する群を設けた。

群	試験群	投与量	雄 (動物番号)	雌 (動物番号)
第1群	対照 (蒸留水)	0 mg/kg	5 (001~005)	5 (051~055)
第2群	tripropylenglycole	500 mg/kg	5 (101~105)	5 (151~155)
第3群	tripropylenglycole	1000 mg/kg	5 (201~205)	5 (251~255)
第4群	tripropylenglycole	2000 mg/kg	5 (301~305)	5 (351~355)

単回投与毒性試験

4. 観察および検査項目

観察期間は、投与後 14 日間とした。

一般状態および死亡の有無を、投与日は投与前および投与後 6 時間まで、投与翌日からの観察期間中は 1 日 1 回観察した。

体重は、投与日（投与前）および投与後 1, 3, 7, 10 ならびに 14 日の午前中に測定した。

各動物とも、観察期間終了時にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

5. 統計学的方法

LD₅₀値は、観察期間中の死亡率から概略値を推定した。

体重は、各群で平均値および標準偏差を算出した。有意差検定は対照群と被験物質投与各群の間で多重比較検定を用いて行い、危険率 5% 未満を有意とした。すなわち、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較を Dunnett 法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は順位を利用した一元配置法による分析 (Kruskal-Wallis の検定) を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用した Dunnett 法を用いて行った。

結果および考察

1. 一般状態および死亡状況

観察期間を通じて、いずれの例とも異常症状はみられなかった。

雌雄とも、高用量の 2000 mg/kg 群でも死亡発現はなかった。トリプロピレングリコールの LD₅₀ 値は、雌雄とも 2000 mg/kg 以上であった。

2. 体重推移

雌雄の各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、有意差は認められなかった。

3. 剖検所見

雌雄各群とも、剖検で著変はみられなかった。

以上のように、トリプロピレングリコールは OECD 毒性試験ガイドラインで限界用量とされている 2000 mg/kg の投与によって雌雄とも死亡発現はなく、一般状態の観察でも異常症状はみられなかった。また、体重推移に異常はなく、剖検でも著変はみられなかった。

トリプロピレングリコールの LD₅₀ 値は、雌雄とも 2000 mg/kg 以上であった。

連絡先

試験責任者 : 和田 浩

試験担当者 : 小林吉一, 藤村高志,
古橋忠和, 山本明義

(株)日本バイオリサーチセンター羽島研究所

〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島 6-104

Tel 058-392-6222 Fax 058-392-1284

Correspondence

Authors : Hiroshi Wada (Study director)

Yoshikazu Kobayashi, Takashi Fujimura,

Tadakazu Furuhashi and

Akiyoshi Yamomoto

Nihon Bioresearch Inc. Hashima Laboratory

6-104 Majima, Fukuju-cho, Hashima, Gifu, 501-62,

Japan

Tel +81-58-392-6222 Fax +81-58-392-1284

トリプロピレングリコールのラットを用いる経口投与による 反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test of Tripropyleneglycol by Oral Administration in Rats

要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するために、トリプロピレングリコールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する反復投与による一般毒性学的な影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖発生に及ぼす影響について検討した。投与段階は、0 (媒体)、8、40、200 および 1000 mg/kg とした。

I. 反復投与毒性

1. 雄 (P) に及ぼす影響

一般状態の観察では、1000 mg/kg 群で投与期間の後期に少数例で投与後に流涎がみられたが、投与約5分後には消失した。器官重量では、1000 mg/kg 群で肝臓の絶対重量および相対重量がともに、さらに腎臓相対重量が有意な高値を示した。体重、摂餌量、血液学的検査、血液化学的検査、剖検では、各投与群とも被験物質投与の影響はみられなかった。病理組織学的検査では、1000 mg/kg 群の心臓、腎臓、肝臓、胸腺、精巣、精巣上体、副腎、脳および脾臓に、被験物質の投与に起因すると思われる組織変化はみられなかった。

2. 雌 (P) に及ぼす影響

器官重量では、1000 mg/kg 群で肝臓相対重量が有意な高値を示した。一般状態の観察では、対照群および各投与群ともに異常症状はみられなかった。体重、摂餌量および剖検では、各投与群とも被験物質投与の影響はみられなかった。病理組織学的検査では、1000 mg/kg 群の心臓、腎臓、肝臓、胸腺、卵巣、副腎、脳および脾臓に、被験物質の投与に起因すると思われる組織変化はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物 (P) の生殖発生に及ぼす影響

発情回数、交尾率、交尾日数、受胎雌数、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率および受胎率は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。また、分娩状態に異常はみられなかった。出産率は、対照群および各投与群とも100%であった。

2. 新生児 (F₁) に及ぼす影響

総出産児数、分娩率、哺育0日の生存児数、性比および哺育4日の生存率は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。死産児数および出生率には、投与用量に関連した変動はみられなかった。一般状態の観察では、対照群および各投与群とも異常症状はみられなかった。外表観察では、対照群および各投与群とも異常はみられなかった。各投与群の雌雄とも、新生児の体重は哺育0日および哺育4日ともに対照群とほぼ同程度であった。

以上のように、トリプロピレングリコールは1000 mg/kg 群で雄 (P) の一般状態 (流涎) および雌雄 (P) の器官重量 (雌雄の肝臓、雄の腎臓) に影響がみられた。したがって、当試験条件下における一般毒性学的な無影響量は、雌雄ともに200 mg/kg と推察された。また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雌雄の生殖および児動物の発生に関して、いずれも1000 mg/kg と推察された。

方法

1. 被験物質、媒体および投与検体液

被験物質のトリプロピレングリコールは、分子式： $C_9H_{20}O_4$ 、分子量：192.29、沸点：268 °C、比重 (25 °C)：1.019、粘性率 (25 °C)：56.2 cp、引火点：140 °C で、水にきわめて溶けやすい粘性の液体である [Lot No.040810、製造元：旭電化工業 (株)、純度：98%以上]。投与終了後に残余被験物質の一部を製造元に送付して分析した結果、純度は規格値内であり、使用期間中の安定性が確認された。媒体として、蒸留水 (大塚注射用水) を用いた。

投与検体液は、被験物質を蒸留水に溶解して調製した。投与開始前および投与終了前の2回、各投与検体液中の被験物質濃度を測定した。その結果、いずれの投与検体液も適正範囲内の値を示した。蒸留水中の1.6 mg/ml および200 mg/ml 濃度の被験物質は、冷蔵・遮光・気密条件下で調製後7日間までの安定性が確認された。そこで、各投与検体液の調製は1週間に1回以上行い、1日分ずつ分割して冷蔵・遮光・気密条件下で保存し、用時室温に戻して投与に用いた。

2. 使用動物および飼育条件

8週齢の Sprague-Dawley 系雌雄ラット [(SPF), Crj: CD (SD)] を日本チャールス・リバー (株) から購入し、5日間の検疫期間およびその後6日間の馴化期間を設け、一般状態および体重推移に異常がみられず、

また性周期観察で異常が認められなかった雌雄各60匹の動物を群分けして試験に用いた。群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように、投与開始日の前日に行った。

動物は、室温20~24℃、湿度40~70%、明暗各12時間、換気回数12回/時に設定した飼育室で飼育した。検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージを用いて1ケージあたり5匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージを用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。また、母動物は妊娠18日に床敷〔サンフレック、日本チャールス・リバー(株)〕を入れたプラスチック製ケージに個別に移し、自然分娩および哺育させた。床敷の分析結果は、当該試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

飼料は、固型飼料〔CRF-1、オリエンタル酵母工業(株)〕を給餌器に入れ、自由に摂取させた。飲料水

は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飼料および飲料水の検査の結果、いずれも試験成績は当該試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

3. 投与経路、投与方法、群構成および投与量

トリプロピレングリコールは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として胃ゾンデを用いた強制経口投与を選択した。投与液量は、雄では投与日に最も近い測定時の体重を基準とし、5ml/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日に最も近い測定時の体重を、妊娠期間中は妊娠0、7、14および21日の体重を、哺育期間中は哺育0日の体重を基準とし、5ml/kgで算出した。投与開始時の週齢は雌雄とも約10週齢、体重範囲は雄が343~397g、雌が208~242gであった。

群構成は、以下の如くとした。一群の動物数は、雌雄各12匹とした。

群	試験群	投与量	雄(動物番号)	雌(動物番号)
第1群	対照(蒸留水)	0 mg/kg	12 (001~012)	12 (051~062)
第2群	tripropylene glycol	8 mg/kg	12 (101~112)	12 (151~162)
第3群	tripropylene glycol	40 mg/kg	12 (201~212)	12 (251~262)
第4群	tripropylene glycol	200 mg/kg	12 (301~312)	12 (351~362)
第5群	tripropylene glycol	1000 mg/kg	12 (401~412)	12 (451~462)

投与量設定の理由：投与量設定のための雄ラットを用いた2週間経口投与による予備試験の結果、最高用量の1000 mg/kg群でも死亡発現はなく、一般状態、体重推移および剖検に異常はみられなかった。したがって、当該試験ではOECDテストガイドラインで限界用量とされている1000 mg/kgを最高用量として、以下公比5により200、40および8 mg/kg群を設定した。対照として、被験物質と同一容量の媒体(蒸留水)を投与する群を設けた。

投与期間は、雄では交配前14日間とその後35日間の合計49日間とし、雌では交配前14日間、交配期間中(最長5日間)、妊娠期間および哺育4日の剖検前日(41~45日間)までとした。投与は1日1回で連日とした。

4. 観察および検査項目

1) 雄(P)

(1) 一般状態および死亡の有無：投与期間中は毎日投与前・後の2回観察した。

(2) 体重：1週間に2回および剖検日に測定した。

(3) 摂餌量：交配開始前14日間および交配期間終了後に、連続2日間量を測定して1日量に換算し、1週間に2回測定した。なお、剖検前日の夕刻からは絶食とした。

(4) 血液学的検査：投与期間(49日間)終了の翌日に、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈からカニューレーションにより血液を採取し、以下の検査を行った。

プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)およびフィブリノーゲン濃度は、3.13%クエン酸ナトリウム処理した血漿について、散乱光検出方式により血液凝固分析装置〔コアグマスターII、三共(株)〕を用いて測定した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数および白血球数(WBC)は、EDTA-2Kコーティングしたサンプルカップに採取した血液について、多項目自動血球計数装置〔Sysmex E-2000、東亜医用電子(株)〕を用いて測定した。また、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

白血球百分率は、EDTA-2K処理した血液をスライドグラスに塗抹し、May-Giemsa染色した標本を作製して顕微鏡下で白血球100個を分類計数した。

網状赤血球数は、EDTA-2K処理した血液をBrecher法により超生体染色してスライドグラスに塗抹後、Giemsa染色した標本を作製して顕微鏡下で赤血球1000個中の数を数えた。

(5) 血液化学的検査：血液学的検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から分離して得た血清について、以下の検査を行った。

GOTおよびGPTはHenry変法、 γ -GTPは γ -G-P-NA基質法、総蛋白(TP)はBiuret法、総ビリルビン(T-Bil)はAzobilirubin法、尿素窒素(BUN)はUrease-GIDH法、クレアチニン(Jaffé)、ブドウ糖はGlucose dehydrogenase法、無機リン(IP)はMolybdenum blue法、Caは α -CPC法により、いずれも自動分析装置[AU 500, オリパス光学工業(株)]を用いて測定した。

NaおよびKはイオン選択電極法により、Clは電量滴定法により、いずれも全自動電解質分析装置[EA04, (株)A&T]を用いて測定した。

アルブミン量は総蛋白量および蛋白分画値[自動電気泳動装置AES 600, オリパス光学工業(株)]から、A/G(アルブミン/グロブリン)比は蛋白分画値から算出した。

(6) 剖検：上記のように採血した動物について、さらに放血致死させた後に、器官・組織の肉眼的観察を行った。肝臓、腎臓、胸腺、精巣および精巣上体を摘出後に重量を測定し、さらに副腎、脳、心臓および脾臓を摘出した。その後、精巣および精巣上体はプアン液に、その他の器官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(7) 病理組織学的検査：固定した全例の各器官および組織について、常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。対照群および1000 mg/kg群についてはH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

2) 雌(P)

(1) 一般状態および死亡の有無：投与期間中は毎日投与前・後の2回観察した。

(2) 性周期：投与開始日から交尾確認日まで毎日1回観察した。なお、発情期が連続2日間にわたって観察される場合は1回と数えた。

(3) 体重：交配開始前14日間および交配期間中は毎週2回、妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日に、哺育期間は哺育0および4日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量：交配開始前14日間までは毎週2回、連続2日間量を測定して1日量に換算し、1週間に2回測定した。また、妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および19日からの連続2日間量を、哺育期間中は哺育0~4日の累積量を測定し、それぞれ1日量に換算した。

(5) 分娩状態の観察：自然分娩させ、分娩状態の異常の有無、分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日の午前9時まで毎日行った。午前9時までに分娩が終了していた場合、その日を哺育0日とした。

(6) 交尾確認後25日の午前9時までに分娩しない動物：エーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、妊娠の成否を確認した。交尾が確認されたものの、着床痕がみられない雌は不妊動物とした。肝臓、腎臓、胸腺および卵巣を摘出後に重量を測定し、副腎、脳、心臓および脾臓とともに10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(7) 哺育状態の観察および剖検：哺育4日まで毎日観察し、哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床痕数および黄体数を数えた。肝臓、腎臓、胸腺および卵巣を摘出後に重量を測定し、副

腎、脳、心臓および脾臓、ならびに剖検で異常の認められた器官・組織(対照群の胃および脾臓)とともに10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、保存した。

(8) 病理組織学的検査：固定した全例の各器官および組織について、常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。対照群および1000 mg/kg群の器官および組織についてはH-E染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

被験物質を14日間にわたって投与し、約12週齢の同一群内の雌雄を1対1の組み合わせで、同居交配した。交配期間は14日を限度として、交尾を確認するまで連続同居交配としたが、同居開始後5日までに全例の交尾が確認された。

なお、交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、陰垢内に精子または陰栓を確認した雌を交尾成立動物として、その日を妊娠0日として起算した。

4) 新生児(F1)

(1) 出産時に、総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。

(2) 新生児について、一般状態および死亡の有無を、生存期間中毎日1回観察した。

(3) 体重：哺育0(出生日)および4日に測定した。

(4) 剖検：哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後、剖検した。

5. 統計学的方法

測定値の統計学的方法は下記の検定法を用い、有意差検定は対照群とトリプロピレングレコールの各投与群との間で行った。いずれの検定の場合も危険率5%未満を有意とし、5%未満($p < 0.05$)と1%未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。なお、不妊動物(対照群の1例)の交尾後の体重および摂餌量は集計から除外した。また、新生児は一腹の平均を一単位とした。

1) 多重比較検定

体重、摂餌量、発情回数、同居日数、妊娠期間、着床痕数、黄体数、着床率、総出産児数、死産児数、分娩率、出生率、哺育4日の生存率、新生児数、性比、外表異常の出現率、器官重量(絶対重量および相対重量)、血液学的検査成績および血液化学的検査成績について行った。

検定では、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較はDunnnett法(例数が等しい場合)またはScheffé(例数が等しくない場合)により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用したDunnnett法(例数が等しい場合)またはScheffé法(例数が等しくない場合)を用いて行った。

2) χ^2 検定

交尾率、受胎率および出産率について行った。

結果

1. 反復投与毒性

1. 雄 (P) に及ぼす影響

1) 一般状態

対照群および200 mg/kg以下の群では、異常症状はみられなかった。

1000 mg/kg群では、投与開始44日以降に最終投与日まで1~3例で投与後に流涎がみられた。当症状は投与終了直後からみられたが、約5分後には消失していた。その他には、異常症状は観察されなかった。

2) 体重

各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、いずれの測定日にも有意差は認められなかった。

3) 摂餌量

各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、いずれの測定日にも有意差は認められなかった。

4) 血液学的検査 (Table 1)

各投与群のいずれの測定項目とも対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

5) 血液化学的検査 (Table 2)

各投与群のいずれの測定項目とも対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。なお、対照群の1例は γ -GTP が高値を示したため、当群ではバラツキが大きかった。

6) 剖検所見

200 mg/kg群の1例で、腎臓 (右側) の腎盂拡張がみられた。その他には、著変はみられなかった。

7) 器官重量 (Table 3)

対照群に比して、1000 mg/kg群の肝臓絶対重量および相対重量、ならびに腎臓相対重量が有意な高値を示した。200 mg/kg以下の投与群では、いずれの器官重量とも対照群との間に有意差は認められなかった。

8) 病理組織学的検査

心臓：ごく軽度の肉芽腫が対照群の1例にみられた。

腎臓：ごく軽度の腎症が対照群の2例にみられた。

その他の検査部位 (肝臓、胸腺、脾臓、精巣、精巣上体、脳および副腎) では、いずれも著変はみられなかった。

2. 雌 (P) に及ぼす影響

1) 一般状態

交配開始前および交配期間中、妊娠期間中ならびに哺育期間中を通じて、対照群および各投与群とも異常症状は観察されなかった。

2) 体重

交配開始前および交配期間中、妊娠期間中ならびに哺育期間中を通じて、各投与群の体重は対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

Table 1 Hematology of male rats(P) treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group Dose(mg/kg)	tripropyleneglycol				
	Control 0	8	40	200	1000
Number of males	12	12	12	12	12
RBC (10 ⁴ /mm ³)	898.9 ± 35.4	904.0 ± 25.8	881.9 ± 30.8	884.5 ± 44.9	868.4 ± 33.1
Hemoglobin (g/dl)	15.96 ± 0.54	15.76 ± 0.57	15.68 ± 0.63	15.62 ± 0.65	15.33 ± 0.58
Hematocrit (%)	47.15 ± 1.69	46.96 ± 1.40	46.27 ± 1.58	47.80 ± 5.17	45.77 ± 1.69
MCV μ m ³	52.49 ± 2.02	51.97 ± 2.01	52.48 ± 1.63	54.05 ± 5.08	52.74 ± 1.19
MCH (pg)	17.78 ± 0.70	17.44 ± 0.73	17.77 ± 0.60	17.67 ± 0.68	17.65 ± 0.59
MCHC (g/dl)	33.86 ± 0.54	33.55 ± 0.54	33.89 ± 0.45	32.89 ± 2.52	33.52 ± 0.66
Platelet (10 ⁴ /mm ³)	111.32 ± 15.42	109.27 ± 8.50	106.28 ± 7.46	111.34 ± 17.71	111.12 ± 17.56
Reticulocyte (%)	24.1 ± 3.0	21.7 ± 4.6	21.0 ± 3.0	22.7 ± 3.6	22.3 ± 4.2
PT (sec.)	16.04 ± 3.13	15.41 ± 2.10	14.13 ± 1.72	16.21 ± 4.28	15.70 ± 4.15
APTT (sec.)	31.62 ± 3.20	30.17 ± 2.78	28.42 ± 2.05	30.03 ± 3.69	30.61 ± 4.35
Fibrinogen (mg/dl)	252.4 ± 46.7	242.9 ± 13.5	244.1 ± 42.1	246.8 ± 22.3	244.3 ± 11.6
WBC (10 ³ /mm ³)	55.0 ± 7.9	47.7 ± 11.4	50.1 ± 12.1	46.4 ± 10.4	53.4 ± 14.0
Differential leukocyte (%)					
Lymphocyte	91.9 ± 3.9	92.1 ± 2.5	91.2 ± 3.9	90.7 ± 3.1	90.2 ± 4.4
Neutrophil	7.7 ± 3.7	7.2 ± 2.6	8.2 ± 4.1	8.8 ± 2.9	8.8 ± 4.1
Eosinophil	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.5
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Monocyte	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.6	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.7	0.6 ± 0.7

Each value, shows mean ± S.D.

Table 2 Blood chemistry of male rats(P) treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	Dose (mg/kg)	tripropyleneglycol				
		Control	8	40	200	1000
Number of males		12	12	12	12	12
GOT	(IU/l)	76.37 ± 11.27	68.28 ± 7.09	75.31 ± 14.31	81.25 ± 24.55	78.89 ± 31.40
GPT	(IU/l)	26.49 ± 6.96	23.18 ± 4.47	24.79 ± 2.73	29.04 ± 10.39	33.82 ± 16.11
γ-GTP	(IU/l)	2.59 ± 8.98	0.00 ± 0.00	00.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
TP	(g/dl)	5.79 ± 0.24	5.61 ± 0.22	5.62 ± 0.11	5.62 ± 0.22	5.92 ± 0.28
Albumin	(g/dl)	3.055 ± 0.154	3.039 ± 0.123	2.949 ± 0.165	2.975 ± 0.122	3.111 ± 0.115
Protein fraction (%)						
Albumin		52.81 ± 2.71	54.19 ± 1.55	52.48 ± 2.46	52.98 ± 1.91	52.61 ± 1.79
α ₁ -globulin		21.70 ± 1.73	21.86 ± 1.66	22.53 ± 1.46	22.53 ± 1.70	22.12 ± 2.09
α ₂ -globulin		5.37 ± 0.78	5.17 ± 0.39	5.10 ± 0.42	4.89 ± 0.42	5.47 ± 0.49
α ₃ -globulin		6.22 ± 0.62	6.10 ± 0.38	6.30 ± 0.59	6.35 ± 0.44	6.17 ± 0.40
β-globulin		10.63 ± 0.66	9.92 ± 0.70	10.47 ± 0.80	10.31 ± 0.84	10.67 ± 0.74
γ-globulin		3.27 ± 0.81	2.77 ± 0.60	3.12 ± 1.01	2.93 ± 0.67	2.97 ± 0.64
A/G ratio		1.117 ± 0.115	1.177 ± 0.073	1.102 ± 0.106	1.120 ± 0.088	1.101 ± 0.081
T-Bil	(mg/dl)	0.046 ± 0.008	0.046 ± 0.008	0.047 ± 0.017	0.053 ± 0.012	0.056 ± 0.022
BUN	(mg/dl)	17.25 ± 3.54	17.69 ± 3.91	16.07 ± 1.99	17.96 ± 1.930	17.03 ± 1.98
Creatinine	(mg/dl)	0.663 ± 0.261	0.598 ± 0.072	0.570 ± 0.040	0.586 ± 0.026	0.583 ± 0.034
Glucose	(mg/dl)	127.92 ± 16.35	123.97 ± 8.77	123.53 ± 11.43	122.30 ± 9.59	124.62 ± 9.68
Na	(mEq/l)	144.37 ± 1.43	144.43 ± 1.26	144.79 ± 1.51	144.15 ± 1.61	144.21 ± 1.36
K	(mEq/l)	4.322 ± 0.287	4.300 ± 0.208	4.376 ± 0.228	4.492 ± 0.303	4.453 ± 0.381
Cl	(mEq/l)	106.78 ± 1.9	107.42 ± 1.03	107.11 ± 1.34	106.59 ± 1.19	105.58 ± 1.82
Ca	(mg/dl)	9.91 ± 0.33	9.92 ± 0.33	9.91 ± 0.18	9.98 ± 0.27	10.19 ± 0.24
IP	(mg/dl)	6.90 ± 0.56	6.88 ± 0.53	7.07 ± 0.65	7.38 ± 0.6	7.12 ± 0.42

Each value shows mean ± S.D.

Table 3 Absolute and relative organ weights of male rats(P) treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group	Dose(mg/kg)	tripropyleneglycol				
		Control	8	40	200	1000
Number of males		12	12	12	12	12
Body weight	(g)	469.6 ± 17.6	466.9 ± 25.7	471.2 ± 29.6	477.8 ± 26.9	464.1 ± 29.5
Thymus	(mg)	286.43 ± 76.31	281.86 ± 79.37	267.53 ± 53.09	269.43 ± 51.24	283.68 ± 68.76
	(mg%)	60.95 ± 15.98	60.52 ± 17.75	57.05 ± 12.56	56.37 ± 10.36	61.07 ± 14.14
Liver	(g)	11.597 ± 0.833	11.478 ± 0.935	11.587 ± 0.966	12.544 ± 0.851	14.961 ± 1.262**
	(g%)	2.467 ± 0.140	2.457 ± 0.141	2.459 ± 0.147	2.625 ± 0.113	3.232 ± 0.280**
Kidneys	(g)	3.110 ± 0.242	3.038 ± 0.252	3.027 ± 0.294	3.069 ± 0.172	3.327 ± 0.224
	(g%)	0.663 ± 0.048	0.652 ± 0.054	0.642 ± 0.053	0.646 ± 0.026	0.719 ± 0.041*
Testes	(g)	3.427 ± 0.214	3.443 ± 0.224	3.385 ± 0.277	3.341 ± 0.308	3.317 ± 0.248
	(g%)	0.730 ± 0.032	0.739 ± 0.056	0.720 ± 0.071	0.700 ± 0.072	0.716 ± 0.071
Epididymides	(g)	1.326 ± 0.080	1.281 ± 0.089	1.295 ± 0.144	1.272 ± 0.096	1.305 ± 0.072
	(g%)	0.282 ± 0.017	0.275 ± 0.027	0.275 ± 0.037	0.267 ± 0.025	0.281 ± 0.027

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (*: p<0.05, **: p<0.01)

3) 摂餌量

交配開始前および交配期間中、妊娠期間中ならびに哺育期間中を通じて、各投与群の摂餌量は対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

4) 剖検所見

母動物：対照群の1例で脾臓の退色と表面粗造および脾臓と胃との癒着がみられた。その他には、著変はみられなかった。

不妊動物：著変はみられなかった。

5) 器官重量 (Table 4)

母動物：対照群に比して、1000 mg/kg群の肝臓相対重量が有意な高値を示した。その他には、対照群との間に有意差は認められなかった。

不妊動物：同群の他の例に比して肝臓重量がやや低値であった。

6) 病理組織学的検査

肝臓：ごく軽度の壊死巣が、対照群および1000 mg/kg群の各2例にみられた。

脾臓：脾臓との癒着および褐色色素沈着が、対照群の1例にみられた。変化の程度は軽度であった。

その他の検査部位（心臓、胸腺、腎臓、卵巣、脳および副腎）では、いずれも（不妊動物を含む）著変はみられなかった。

Table 4 Absolute and relative organ weights of dams(P) treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group Dose(mg/kg)	tripropyleneglycol				
	Control 0	8	40	200	1000
Number of dams	11	12	12	12	12
Body weight (g)	333.1±15.20	324.7±21.10	329.6±18.20	333.7±18.80	340.7±19.60
Thymus (mg)	255.10±58.770	227.32±75.390	231.93±64.470	264.17±55.170	306.44±80.700
(mg%)	76.51±16.46	69.96±22.73	70.25±18.82	79.23±16.46	89.87±23.04
Liver (g)	14.285±1.1400	13.423±1.1780	14.368±1.1640	14.916±1.3860	15.941±1.5850
(g%)	4.290±0.292	4.129±0.145	4.357±0.238	4.467±0.329	04.672±0.274*
Kidneys (g)	1.974±0.222	1.972±0.123	1.928±0.122	2.004±0.172	2.077±0.164
(g%)	0.591±0.054	0.609±0.049	0.585±0.031	0.602±0.038	0.608±0.044
Ovaries (mg)	105.30±8.9000	104.17±12.540	102.76±7.4400	111.94±22.500	109.50±15.620
(mg%)	31.59±2.110	32.23±4.790	31.25±2.660	33.52±6.340	32.16±4.350

Each value shows mean±S.D.

Significantly different from control (*: p<0.05)

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響 (Table 5, 6)

1) 発情回数

検査・馴化期間中の7日間および投与期間の14日間(交配前)の発情回数は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

2) 交尾率、受胎雌数および受胎率

各群の動物とも、同居開始後5日までに全例で交尾が確認された。交尾確認までの日数は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。また、交尾率は対照群および各投与群とも100%であった。一方、前述のように対照群の1例が不妊であったため、受胎雌数は対照群が11例、各投与群ではそれぞれ12例ずつであった。したがって、受胎率は対照群が91.7%、各投与群は100%であった。新生児を分娩した母動物数は、対照群が11例、各投与群は12例ずつであった。いずれの項目も、各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった。

3) 妊娠期間および分娩状態

各投与群の妊娠期間は対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。また、いずれの動物とも分娩状態に異常はみられなかった。

4) 黄体数、着床痕数および着床率

黄体数、着床痕数および着床率は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。

5) 出産率

対照群および各投与群とも、出産率は100%であった。

2. 新生児(F1)に及ぼす影響 (Table 6)

1) 総出産児数および分娩率

総出産児数および分娩率は各投与群とも対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

Table 5 Summary of reproductive performance of male and female rats treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group Dose(mg/kg)	tripropyleneglycol				
	Control	8	40	200	1000
Number of females	12	12	12	12	12
Estrous cases before administration (7 days)					
Mean±S.D.	1.7±0.5	1.6±0.5	1.8±0.5	1.8±0.4	1.7±0.5
Estrous cases during administration (14 days)					
Mean±S.D.	3.4±0.5	3.4±0.5	3.9±0.3	3.6±0.5	3.3±0.9
Number of pairs	12	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	12	12	12	12	12
Copulation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Days before copulation after pairing					
Mean±S.D.	2.3±1.3	2.3±1.3	2.8±0.6	2.4±1.2	2.4±1.2
Number of pregnant females	11	12	12	12	12
Fertility index (%) ^{b)}	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant females with live pups	11	12	12	12	12

a): (Number of pairs with successful copulation / Number of pairs) × 100.

b): (Number of pregnant animals / Number of pairs with successful copulation) × 100.

Table 6 Observation of pups(Ft) from rat dams(P) treated orally with tripropyleneglycol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Group Dose(mg/kg)	tripropyleneglycol				
	Control	8	40	200	1000
Number of dams	11	12	12	12	12
Gestation length (days)					
Mean±S.D. per dam	22.09 ± 0.30	22.25 ± 0.45	22.08 ± 0.29	22.25 ± 0.45	22.17 ± 0.39
Number of implantation scars					
Total	171	195	194	192	184
Mean±S.D. per dam	15.5 ± 1.6	16.3 ± 1.3	16.2 ± 1.3	16.0 ± 1.5	15.3 ± 3.4
Gestation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pups born					
Total	158	182	179	181	168
Mean±S.D. per dam	14.4 ± 1.9	15.2 ± 1.8	14.9 ± 1.7	15.1 ± 1.7	14.0 ± 3.6
Delivery index (%) ^{b)}	92.5 ± 7.7	93.2 ± 6.5	92.3 ± 8.5	94.3 ± 5.9	91.3 ± 11.1
Number of live pups born					
Male	73	88	86	98	89
Female	84	90	91	83	75
Total	157	178	177	181	164
Mean±S.D. per dam	14.3 ± 1.8	14.8 ± 1.6	14.8 ± 1.7	15.1 ± 1.7	13.7 ± 3.4
Sex ratio ^{c)}	0.98 ± 0.54	1.07 ± 0.52	1.06 ± 0.51	1.38 ± 0.67	1.33 ± 1.00
Live birth index (%) ^{d)}	99.5 ± 1.8	97.9 ± 3.1	98.9 ± 2.5	100.0 ± 0.0	97.9 ± 3.1
Number of dead pups on day 0					
Total	1	4	2	0	4
Mean±S.D. per dam	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.5
Number of live pups on day 4					
Male	72	85	85	96	89
Female	83	88	87	83	75
Total	155	173	172	179	164
Mean±S.D. per dam	14.1 ± 1.9	14.4 ± 1.6	14.3 ± 1.9	14.9 ± 1.8	13.7 ± 3.40
Viability index (%) ^{e)}	98.7 ± 2.8	97.3 ± 4.2	97.1 ± 5.8	98.8 ± 2.8	100.0 ± 0.0
Number of external anomalies	0	0	0	0	0
Mean±S.D. per dam	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

a): (Number of dams with live pups / Number of pregnant dams) × 100.

b): (Number of pups born / Number of implantation scars) × 100; Mean ± S.D. per dam.

c): (Number of male pups / Number of female pups.; Mean ± S.D. per dam.

d): (Number of live pups born / Number of pups born) × 100; Mean ± S.D. per dam.

e): (Number of live pups on day 4 / Number of live pups born) × 100.; Mean ± S.D. per dam.

2) 出生率および性比

哺育0日の新生児数、死産児数、出生率および性比は、いずれも対照群との間に有意差は認められず、投与用量に関連した変動はみられなかった。

3) 新生児の一般状態、哺育4日の生存率および外表異常の観察

新生児の一般状態では、いずれの群とも異常症状は観察されなかった。

哺育期間中に、対照群、8, 40, 200 mg/kg群で死亡例がみられた。したがって、哺育4日の生存率は対照群が98.7%、各投与群は97.1~100.0%であった。いずれの投与群とも対照群との間に有意差は認められず、投与用量に関連した変動はみられなかった。

新生児の外表異常の観察では、異常はみられなかった。

4) 新生児の体重

各投与群の体重は、哺育0日および4日とも雌雄ともに対照群とほぼ同程度であり、有意差は認められなかった。

5) 新生児の剖検所見

いずれの例とも、剖検で著変はみられなかった。

考察

トリプロビレングリコールの、ラットを用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。投与段階は、1000 mg/kgを最高用量とし、以下200, 40 および8 mg/kgとした。

雄(P)動物に対しては、一般状態観察で1000 mg/kg群では投与期間の後期に少数例で投与後に流涎がみられたが、持続時間は約5分間のみであり、一過性の症状であった。また、器官重量測定では1000 mg/kg群で肝臓の絶対重量および相対重量ならびに腎臓の相対重量が高値を示し、これらの器官への影響が示唆された。しかしながら、血液化学的検査ではこれらの器官の機能に関連すると思われる検査値に変動は認められず、また病理組織学的検査では当群に特異的な組織変化はみられず、重量変動のみに留まる変化であった。なお、血液化学的検査において対照群の1例で γ -GTPが他の例に比して高値を示した。しかしながら、当検査値に関連すると考えられる器官の肝臓では剖検、重量測定、病理組織学的検査で異常はみられず、その他の検査項目にも特異的な変化は認められないことから、試験の評価には影響を及ぼさない所見と思われた。剖検では、200 mg/kg群の1例で腎臓の腎盂拡張がみられたのみで、被験物質投与に起因すると思われる変化はみられなかった。さらに、体重、摂餌量および血液学的検査でも対照群との間に有意差は認められなかった。

雌(P)動物に対しては、器官重量測定で1000 mg/kg群の肝臓相対重量が有意な高値を示したのみで、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検および病理組織学的検査で被験物質投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

したがって、当試験条件下におけるトリプロビレングリコールの一般毒性学的な無影響量は、雌雄とも200 mg/kgと推察された。

親動物(P)の生殖発生に対しては、交尾率、受胎率、発情回数および受胎雌数には、各投与群とも影響はみられなかった。また、各投与群とも妊娠期間、分娩状態、黄体数、着床痕数、着床率および出産率に影響はみられなかった。

新生児(F1)に対しては、各投与群で出産児数、死産児数、新生児数、性比に投与用量に関連した変動は認められず、被験物質投与の影響はなかったと判断された。また、一般状態で異常はみられず、哺育4日の生存児数および生存率に投与用量に関連した変動は認められなかった。体重にも影響は認められず、外表異常も観察されなかった。

したがって、当試験条件下ではトリプロビレングリコールの生殖発生毒性学的な無影響量は、雌雄の生殖および児動物の発生に関して、いずれも1000 mg/kgと推察された。

以上により、当試験条件下における一般毒性学的な無影響量は雌雄とも200 mg/kgと推察された。また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雌雄の生殖および児動物の発生に関していずれも1000 mg/kgと推察された。

連絡先

試験責任者：和田 浩
 試験担当者：小林吉一、藤村高志、
 木村 均、渡邊ゆかり、
 古橋忠和

(株)日本バイオリサーチセンター羽島研究所
 〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島 6-104
 Tel 058-392-6222 Fax 058-392-1284

Correspondence

Authors : Hiroshi Wada (Study director)
 Yoshikazu Kobayashi,
 Takashi Fujimura,
 Hitoshi Kimura, Yukari Watanabe and
 Tadakazu Furuhashi

Nihon Bioresearch Inc. Hashima Laboratory
 6-104 Majima, Fukuju-cho, Hashima, Gifu, 501-62,
 Japan
 Tel +81-58-392-6222 Fax +81-58-392-1284

トリプロピレングリコールの細菌を用いる 復帰突然変異試験

Reverse Mutation Test of Tripropylene glycol on Bacteria

要約

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、トリプロピレングリコールについて、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレート法により実施した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2 uvr A を用い、直接法および代謝活性化法のいずれも、用量設定試験では 50~5000 µg/プレート、本試験は用量設定試験で抗菌性が認められなかったことから、312.5~5000 µg/プレートの用量で試験を実施した。

その結果、2回実施した本試験において、用いた5種類の検定菌について、いずれの用量でも復帰突然変異コロニー数の再現性のある増加が認められなかったことから、トリプロピレングリコールは、用いた試験系において変異原性を有しない（陰性）と判定された。

方法

〔検定菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 uvr A
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

S. typhimurium の4菌株は1975年10月31日にアメリカ合衆国、カリフォルニア大学の B.N. Ames 博士から分与を受けた。

E. coli WP2 uvrA 株は1979年5月9日に国立遺伝学研究所の賀田恒夫博士から分与を受けた。

検定菌は、-80℃以下で凍結保存した。

試験に際して、ニュートリエントブロスNo. 2 (Oxoid) を入れたL字型試験管に種菌を接種し、37℃、10~12時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被験物質〕

トリプロピレングリコール (CAS No 24800-44-0) は、分子量 192.29 の無色透明の液体である。純度98%以上のも (ロット番号：記載なし、旭電化工業(株)製造、不純物：ジプロピレングリコール2%以下) を(社)日本化学工業協会から供与された。被験物質は、使用時まで冷暗所にて保管した。

トリプロピレングリコールは、蒸留水に 50 mg/ml になるように調製した後、同溶媒で更に公比2ないし3で希釈したものを、速やかに試験に用いた。なお、調製にあたって、純度換算は行わなかった。

秦野研究所においてトリプロピレングリコールの蒸

留水中での安定性試験を高濃度 (50mg/ml) および低濃度 (3mg/ml) の2濃度について、室温遮光条件下で実施した。その結果、調製後4時間における各3サンプルの平均含量は、それぞれ初期値 (0時間) の平均に対して、99.6および101%であった。

また、本試験に用いた調製検体について、含量測定試験を行った結果、50 mg/ml 溶液の含量は既定濃度に対し、102~104%、3.125 mg/ml 溶液は、106~107%であった。

以上の結果から、トリプロピレングリコールは水溶液中では安定であり、また調製液中の被験物質の含量は所定の値の範囲内にあることが確認された。

〔陽性対照物質〕

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF-2 : フリルフラマイド (上野製薬(株))
SA : アジ化ナトリウム (和光純薬工業(株))
9-AA : 9-アミノアクリジン (Sigma Chem.Co.)
2-AA : 2-アミノアントラセン (和光純薬工業(株))

AF-2, 2-AA は DMSO (和光純薬工業(株)) に溶解したものを-20℃で凍結保存し、用時解凍した。9-AA は DMSO に、SA は蒸留水に溶解して速やかに試験に用いた。

〔培地および S9 混液の組成〕

1) トップアガー (TA菌株用)

下記の水溶液 (A) および (B) を容量比 10:1 の割合で混合した。

(A) バクトアガー (Difco)	0.6%
塩化ナトリウム	0.5%
(B)* Lヒスチジン	0.5 mM
ピチオン	0.5 mM

* : WP2 用には、0.5 mM L-トリプトファン水溶液を用いた。

2) 合成培地

培地は、日清製粉(株)製の最少寒天培地を用いた。なお、培地1lあたりの組成は下記のとおりである。

硫酸マグネシウム7水和物	0.2 g
クエン酸・1水和物	2 g
リン酸水素二カリウム	10 g
リン酸水素アンモニウムナトリウム ・4水和物	3.5 g

グルコース	20 g
バクトアガー (Difco)	15 g

径 90 mm のシャーレ1枚あたり 30 ml を流して固めてある。

3) S9 混液 (1 ml 中下記の成分を含む)

S9**	0.1 ml
NADH	4 μ mol
塩化マグネシウム	8 μ mol
NADPH	4 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol
0.2M リン酸緩衝液(pH 7.4)	0.5 ml
グルコース・6リン酸	5 μ mol

** : 7週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および5, 6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製した S9 (キッコーマン(株)) を用いた。

〔試験方法〕

プレート法を用いて、直接法および代謝活性化法によって試験を行った。

小試験管中にトッアガー2ml, 被験物質調製液 0.1 ml, リン酸緩衝液 0.5 ml (代謝活性化試験においては S9 混液 0.5 ml), 検定菌液 0.1 ml を混合したのち合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに蒸留水, または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとの陽性対照物質の名称および用量は Table に示した。培養は37°Cで48時間行い、生じた変異コロニー数を算定し、それぞれその平均値と標準偏差を求めた。抗菌性の有無については、肉眼的あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌膜の状態から判断した。

〔判定基準〕

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の直接法あるいは代謝活性化法において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数の平均値が、陰性対照のそれに比べて2倍以上に増加し、かつ、その増加に再現性あるいは用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有する(陽性)と判定することとした。

結果および考察

〔用量設定試験〕

トリプロピレングリコールについて、50~5000 μ g/プレートの範囲で公比約3で試験を実施したところ、すべての検定菌の直接法および代謝活性化法において抗菌性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直接法、代謝活性化法ともにすべての検定菌で 5000 μ g/プレートとし、公比2で5用量を設定することとした。

〔本試験〕

トリプロピレングリコールについて、直接法、代謝活性化法ともに 312.5~5000 μ g/プレートの範囲で2回の試験を実施した。結果を Tables 1, 2 に示した。1回目の試験においては、TA1535 の直接法の最高用量の 5000 μ g/プレートおよび TA1537 の代謝活性化法の 312.5 および 2500 μ g/プレートの用量において、陰性対照群の2倍を超える変異コロニー数が計測された。その他の検定菌については、直接法、代謝活性化法のいずれにおいても変異コロニー数の増加は認められなかった。

2回目の試験においては、TA1535 の直接法の 312.5

μ g/プレートの用量においてのみ陰性対照値の2倍を超える変異コロニーが計測された。その他の検定菌については、直接法、代謝活性化法のいずれにおいても変異コロニー数の増加は認められなかった。

〔再現性試験〕

2回の本試験で TA1535 の直接法および TA1537 の代謝活性化法で認められた陰性対照値の2倍を超える変異コロニーの出現については、再現性試験を実施した。TA1535 の直接法においては、異なった用量で陰性対照群の2倍を超える変異コロニー数が認められたことから、2回の再現性試験を実施した。結果を Tables 3, 4 に示す。その結果、TA1535 の直接法および TA1537 の代謝活性化法のいずれの用量においても、陰性対照群の2倍を超える変異コロニーの増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験における陰性対照値の2倍を超える変異コロニーの出現には用量依存性が認められず、また再現性も得られなかったことから、陰性対照値の低いことによる偶発的なものであると考えられた。

以上の結果に基づき、トリプロピレングリコールは、用いた試験系において変異原性を有しないもの(陰性)と判定した。

文献

- (1) D.M. Maron, and B.N. Ames, *Mutation Research*. 113, 173-215 (1983).
- (2) M.H.L. Green, "Handbook of Mutagenicity Test Procedures," (B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel eds.) Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford. 1984, 161-187.

連絡先

試験責任者: 澁谷 徹

試験担当者: 坂本京子, 加藤基恵, 石原尚古,
川上久美子, 松木容彦,
北嶋美似子

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

Correspondence

Authors: Tohru Shibuya (Study director)

Kyoko Sakamoto, Motoe Katoh,

Naoko Ishihara,

Kumiko Kawakami,

Yasuhiko Matsuki, Miiko Kitashima

Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257, Japan

Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627

Table 1 Results of reverse mutation test (I) of tripropylene glycol ** on bacteria

With (+) or without (-)	Test substance dose (μg/plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98		TA1537			
S9 Mix (-)	0	151	169	164	12	11	8	25	14	18	26	19	27	11	11	10
		(161 ± 9.3)			(10 ± 2.1)			(19 ± 5.6)			(24 ± 4.4)		(11 ± 0.6)			
	312.5	149	164	149	22	16	16	25	22	17	26	16	13	14	9	7
		(154 ± 8.7)			(18 ± 3.5)			(21 ± 4.0)			(18 ± 6.8)		(10 ± 3.6)			
	625	159	139	140	17	15	12	17	28	26	14	31	25	6	11	8
		(146 ± 11.3)			(15 ± 2.5)			(24 ± 5.9)			(23 ± 8.6)		(8 ± 2.5)			
	1250	171	151	160	13	26	8	23	18	21	26	21	25	15	10	8
	(161 ± 10.0)			(16 ± 9.3)			(21 ± 2.5)			(24 ± 2.6)		(11 ± 3.6)				
S9 Mix (+)	2500	161	147	146	11	12	11	19	22	20	24	29	23	10	8	8
		(151 ± 8.4)			(11 ± 0.6)			(20 ± 1.5)			(25 ± 3.2)		(9 ± 1.2)			
	5000	123	142	154	21	20	19	20	19	22	26	25	25	9	9	11
	(140 ± 15.6)			(20 ± 1.0)			(20 ± 1.5)			(25 ± 0.6)		(10 ± 1.2)				
S9 Mix (+)	0	157	156	153	20	19	18	20	20	20	27	26	27	8	7	6
		(155 ± 2.1)			(19 ± 1.0)			(20 ± 0.0)			(27 ± 0.6)		(7 ± 1.0)			
	312.5	133	142	131	20	16	11	22	34	20	46	30	35	19	11	17
		(135 ± 5.9)			(16 ± 4.5)			(25 ± 7.6)			(37 ± 8.2)		(16 ± 4.2)			
	625	174	150	173	14	13	20	26	28	21	44	27	43	9	11	9
		(166 ± 13.6)			(16 ± 3.8)			(25 ± 3.6)			(38 ± 9.5)		(10 ± 1.2)			
	1250	156	169	159	18	19	11	18	15	17	31	31	34	8	15	12
	(161 ± 6.8)			(16 ± 4.4)			(17 ± 1.5)			(32 ± 1.7)		(12 ± 3.5)				
S9 Mix (+)	2500	145	164	159	16	12	18	21	23	32	33	40	38	14	17	13
		(156 ± 9.8)			(15 ± 3.1)			(25 ± 5.9)			(37 ± 3.6)		(15 ± 2.1)			
	5000	144	145	155	15	9	15	19	24	24	29	40	47	10	12	12
	(148 ± 6.1)			(13 ± 3.5)			(22 ± 2.9)			(39 ± 9.1)		(11 ± 1.2)				
Positive control	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2		9AA			
	Dose (μg/plate)	0.01			0.5			0.01			0.1		80			
S9 Mix (-)	Number of colonies / plate	646	612	613	152	185	154	232	251	211	620	647	672	2837	2633	2595
		(624 ± 19.3)			(164 ± 18.5)			(231 ± 20.0)			(646 ± 26.0)		(2688 ± 130.1)			
Positive control	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA		2AA			
	Dose (μg/plate)	1			2			10			0.5		2			
S9 Mix (+)	Number of colonies / plate	615	667	602	154	151	165	749	773	721	195	181	143	146	179	190
		(628 ± 34.4)			(157 ± 7.4)			(748 ± 26.0)			(173 ± 26.9)		(172 ± 22.9)			

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

** : Purity was above 98%.

Table 2 Results of reverse mutation test (II) of tripropylene glycol ** on bacteria

With (+) or without (-)	Test substance dose (μ g /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)															
		Base - pair substitution type									Frameshift type						
		TA100			TA1535			WP2 _{uvrA}			TA98			TA1537			
S9 Mix (-)	0	139	134	158	11	12	8	16	19	16	28	30	27	9	9	11	
		(144 \pm 12.7)			(10 \pm 2.1)			(17 \pm 1.7)			(28 \pm 1.5)			(10 \pm 1.2)			
	312.5	133	154	143	19	23	18	19	16	25	24	33	31	5	13	13	
		(143 \pm 10.5)			(20 \pm 2.6)			(20 \pm 4.6)			(29 \pm 4.7)			(10 \pm 4.6)			
	625	131	114	145	22	15	20	17	23	21	25	28	22	14	16	11	
		(130 \pm 15.5)			(19 \pm 3.6)			(20 \pm 3.1)			(25 \pm 3.0)			(14 \pm 2.5)			
	1250	144	135	150	24	16	17	27	22	17	31	26	29	24	12	7	
	(143 \pm 7.5)			(19 \pm 4.4)			(22 \pm 5.0)			(29 \pm 2.5)			(14 \pm 8.7)				
S9 Mix (+)	0	125	149	152	21	16	10	19	28	19	38	51	34	18	9	15	
		(142 \pm 14.8)			(16 \pm 5.5)			(22 \pm 5.2)			(41 \pm 8.9)			(14 \pm 4.6)			
	312.5	183	192	134	19	12	21	27	27	26	37	52	39	13	11	13	
		(170 \pm 31.2)			(17 \pm 4.7)			(27 \pm 0.6)			(43 \pm 8.1)			(12 \pm 1.2)			
	625	139	150	146	23	28	22	19	16	19	40	53	50	13	15	11	
		(145 \pm 5.6)			(24 \pm 3.2)			(18 \pm 1.7)			(48 \pm 6.8)			(13 \pm 2.0)			
	1250	152	165	133	16	12	18	27	21	22	47	39	42	12	11	8	
	(150 \pm 16.1)			(15 \pm 3.1)			(23 \pm 3.2)			(43 \pm 4.0)			(10 \pm 2.1)				
Positive control	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA			
	Dose (μ g /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80			
	Number of colonies / plate	586	617	614	308	293	274	192	185	179	639	612	604	2840	2998	3240	
		(606 \pm 17.1)			(292 \pm 17.0)			(185 \pm 6.5)			(618 \pm 18.3)			(3026 \pm 201.5)			
	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA			
	Dose (μ g /plate)	1			2			10			0.5			2			
	Number of colonies / plate	889	769	794	283	239	280	676	518	615	321	361	366	209	188	199	
	(817 \pm 63.3)			(267 \pm 24.6)			(603 \pm 79.7)			(349 \pm 24.7)			(199 \pm 10.5)				

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide. SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

** : Purity was above 98%.

Table 3 Results of reverse mutation test (confirmation test I) of tripropylene glycol ** on bacteria

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μ g /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, $Mea \pm S.D.$)							
		Base - pair substitution type			Frameshift type				
		TA100	TA1535		WP2uvrA	TA98	TA1537		
S9 Mix (-)	0		17	19	16				
			(17 \pm 1.5)						
	312.5		17	20	13				
			(17 \pm 3.5)						
	625		17	9	12				
			(13 \pm 4.0)						
	1250		14	10	14				
		(13 \pm 2.3)							
2500		15	14	15					
		(15 \pm 0.6)							
5000		14	11	16					
		(14 \pm 2.5)							
S9 Mix (+)	0						10	13	8
							(10 \pm 2.5)		
	312.5						9	16	7
							(11 \pm 4.7)		
	625						9	14	12
							(12 \pm 2.5)		
	1250						13	14	16
						(14 \pm 1.5)			
2500						19	13	14	
						(15 \pm 3.2)			
5000						13	11	20	
						(15 \pm 4.7)			
Positive control S9 Mix (-)	Chemical		SA						
	Dose (μ g /plate)		0.5						
Positive control S9 Mix (+)	Chemical		2AA						
	Dose (μ g /plate)		2						
S9 Mix (+)	Number of colonies / plate		161	178	163				
			(167 \pm 9.3)						
S9 Mix (+)	Number of colonies / plate						316	306	283
							(302 \pm 16.9)		

SA: Sodium azide, 2AA: 2-Aminoanthracene

** : Purity was above 98%.

Table 4 Results of reverse mutation test (confirmation test II) of tripropylene glycol ** on bacteria

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μ g /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)					
		Base - pair substitution type			Frameshift type		
		TA100	TA1535	WP 2uvrA	TA98	TA1537	
S9Mix (-)	0		20 11 9 (13 \pm 5.9)				
	312.5		15 14 20 (16 \pm 3.2)				
	625		13 17 13 (14 \pm 2.3)				
	1250		12 9 9 (10 \pm 1.7)				
	2500		10 15 17 (14 \pm 3.6)				
	5000		15 9 12 (12 \pm 3.0)				
S9Mix (+)							
Positive control S9 Mix (-)	Chemical		SA				
	Dose (μ g /plate)		0.5				
Positive control S9 Mix (+)	Chemical						
	Dose (μ g /plate)						
S9 Mix (-)	Number of colonies / plate		155 141 166 (154 \pm 12.5)				
	Number of colonies / plate						

SA: Sodium azide, 2AA: 2-Aminoanthracene

** : Purity was above 98%.

トリプロピレングリコールの 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

In Vitro Chromosomal Aberration Test of Tripropylene glycol on Cultured Chinese Hamster Cells

要約

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、トリプロピレングリコールの培養細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響を評価するため、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL/1U, 以下CHLと略す) を用いて試験管内染色体異常試験を実施した。

染色体異常試験に用いる濃度を決定するため、細胞増殖抑制試験を行ったところ、直接法および代謝活性化法ともに、処理した濃度範囲 (0.06 ~ 1.90 mg/ml) で50%を越える増殖抑制作用は認められなかった。従って、染色体異常試験において、直接法、代謝活性化法とも 1.90 mg/ml (10 mM) の処理濃度をそれぞれ高濃度とし、その 1/2 の濃度を中濃度、1/4 の濃度を低濃度として用いた。

直接法により、CHL 細胞を 24時間および 48時間処理した結果、すべての処理群において、染色体の構造異常や倍数性細胞の誘発作用は認められなかった。また、代謝活性化法の S9mix 存在下および非存在下においても、すべての処理群で染色体の構造異常や倍数性細胞の誘発作用は認められなかった。

以上の結果より、トリプロピレングリコールは、上記の試験条件下で試験管内の CHL 細胞に染色体異常を誘発しないと結論した。

方法

1. 使用した細胞

リサーチ・リソースバンク (JCRB) から入手 (1988年2月, 入手時: 継代4代) したチャイニーズ・ハムスター由来の CHL 細胞を、解凍後継代 10代以内で試験に用いた。

2. 培養液の調製

培養には、牛胎児血清 (FCS: JRH BIOSCIENCES, ロット番号: 1C2073) を 10% 添加したイーグル MEM 培養液を用いた。

3. 培養条件

2×10^4 個の CHL 細胞を、培養液 5 ml を入れたディッシュ (径 6 cm, Corning) に播き、37 °C の CO₂ インキューベーター (5% CO₂) 内で培養した。

直接法では、細胞播種3日目に被験物質を加え、24時間および48時間処理した。また、代謝活性化法では、細胞播種3日目に S9mix の存在下および非存在下で6時間処理し、処理終了後新鮮な培養液でさらに18時間培養した。

4. 被験物質

トリプロピレングリコール (CAS No.: 24800-44-0, ロット番号: 記載なし, 旭電化工業(株)製造, (社)日本化学工業協会提供) は無色透明液体で、水に可溶、分子式 C₉H₂₀O₄, 分子量 192.29, 純度 98% 以上 (不純物としてジプロピレングリコール 2% 以下), 沸点 268 °C の物質である。原体は常温常圧において安定であり、溶媒中 (注射用水) での安定性試験では、3 ~ 50 mg/ml の濃度範囲で4時間は安定であった。

5. 被験物質の調製

被験物質の調製は、使用のつとを行った。溶媒として注射用水 (大塚製薬工場(株), ロット番号: K1G70) を用いた。原体を溶媒に溶解して原液を調製し、ついで原液を溶媒で順次希釈して所定の濃度の被験物質調製液を作製した。被験物質調製液は、全ての試験において培養液の 10% (v/v) になるように加えた。染色体異常試験の直接法および代謝活性化法に用いた高濃度群と低濃度群の調製液の濃度は、すべて許容範囲内 (平均含量が添加量の 85% 以上) の値であった。

6. 細胞増殖抑制試験による処理濃度の決定

染色体異常試験に用いる被験物質の処理濃度を決定するため、被験物質の細胞増殖に及ぼす影響を調べた。被験物質の CHL 細胞に対する増殖抑制作用は、単層培養細胞密度計 (Monocellater, オリンパス光学工業(株)) を用いて各群の増殖度を計測し、被験物質処理群の溶媒対照群に対する細胞増殖の比をもって指標とした。

その結果、直接法、代謝活性化法の S9mix 存在下および非存在下ともに処理した濃度範囲で、50% を越える増殖抑制作用は認められなかった (Fig. 1)。

7. 実験群の設定

細胞増殖抑制試験の結果より、染色体異常試験で用いる被験物質の高濃度群を、直接法、代謝活性化法ともに 1.90 mg/ml (10 mM) とし、それぞれ高濃度群の 1/2 の濃度を中濃度、1/4 の濃度を低濃度とした。

8. 染色体標本作製法

培養終了の2時間前に、コルセミドを最終濃度が約 0.1 μg/ml になるように培養液に加えた。染色体標本の作製は常法に従って行った。スライド標本は各シャーレにつき6枚作製した。作製した標本を 3% ギムザ溶液で約 10分間染色した。

結果および考察

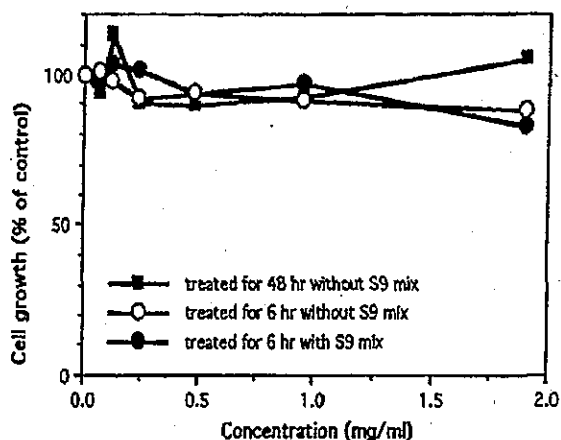


Fig.1 Growth inhibition of CHL cells treated with tripropylene glycol

直接法による染色体分析の結果を Table 1 に示した。トリプロピレングリコールを加えて24時間および48時間処理した各濃度群で、染色体の構造異常および倍数性細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

代謝活性化法による染色体分析の結果を Table 2 に示した。トリプロピレングリコールを加えてS9mix非存在下で6時間処理した各濃度群で、染色体の構造異常および倍数性細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

9. 染色体分析

作製したスライド標本のうち、1つのディッシュから得られた異なるスライドを、複数の観察者がそれぞれ処理条件が分からないようにコード化した状態で分析した。染色体の分析は、日本環境変異原学会、哺乳動物試験(MMS)分科会²⁾による分類法に基づいて行い、染色体型あるいは染色分体型のギャップ、切断、交換などの構造異常の有無と倍数性細胞 (polyploid) の有無について観察した。また構造異常については1群200個、倍数性細胞については1群800個の分裂中期細胞を分析した。

10. 記録と判定

無処理対照、溶媒および陽性対照群と被験物質処理群についての分析結果は、観察した細胞数、構造異常の種類と数、倍数性細胞の数について集計し、各群の値を記録用紙に記入した。染色体異常を有する細胞の出現頻度について、フィッシャーの exact probability test 法により、溶媒対照群と被験物質処理群間および溶媒対照群と陽性対照群間の有意差検定を行った。被験物質の染色体異常誘発性についての判定は、石館ら³⁾の判定基準に従い、染色体異常を有する細胞の頻度が5%未満を陰性、5%以上10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

Table 1 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL) continuously treated with tripropylene glycol ** without S9 mix

Group	Concentration (mg/ml)	Time of exposure (hr)	No. of cells analysed	No. of structural aberrations								Others ³⁾	No. of cells with aberrations			Polyploid ⁴⁾ (%)	Judgement ⁵⁾	
				gap	ctb	cte	csb	cse	f	mul ²⁾	total		TAG (%)	TA (%)	SA		NA	
Control			200	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2 (1.0)	0 (0.0)	0.75			
Solvent ¹⁾ 0		24	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.13			
TPG 0.48		24	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.13	-	-	
TPG 0.95		24	200	1	0	0	0	0	0	0	1	1 (0.5)	0 (0.0)	0.38	-	-		
TPG 1.90		24	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	-	-		
MC 0.00005		24	200	17	38	82	0	3	2	0	142	0	83 *(41.5)	78 *(39.0)	0.50	+	-	
Solvent ¹⁾ 0		48	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.38			
TPG 0.48		48	200	4	0	0	0	0	0	0	4	0	4 (2.0)	0 (0.0)	0.38	-	-	
TPG 0.95		48	200	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1 (0.5)	0 (0.0)	0.00	-	-	
TPG 1.90		48	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.63	-	-	
MC 0.00005		48	200	14	30	80	0	9	1	0	134	1	69 *(34.5)	64 *(32.0)	0.63	+	-	

Abbreviations : gap : chromatid gap and chromosome gap, ctb : chromatid break, cte: chromatid exchange, csb : chromosome break, cse : chromosome exchange (dicentric and ring etc.), f : acentric fragment (chromatid type), mul : multiple aberrations, TAG : total no. of cells with aberrations, TA : total no. of cells with aberrations except gap, SA : structural aberration, NA : numerical aberration, MC : mitomycin C.

1) Distilled water was used as solvent. 2) More than ten aberrations in a cell were scored as 10. 3) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the no. of structural aberrations. 4) Eight hundred cells were analysed in each group. 5) Judgement was done on the basis of the criteria of Ishidate et al. (1987). * : Significantly different from solvent control at p<0.05. ** : Purity was more than 98% and dipropylene glycol (less than 2%) was contained as impurity.

Table 2 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL) treated with tripropylene glycol** with tripropylene glycol (TPG)** with and without S9 mix

Group	Concentration (mg/ml)	S9 mix	Time of exposure (hr)	No. of cells analysed	No. of structural aberrations								Others ³⁾	No. of cells with aberrations			Polyploid ⁴⁾ (%)	Judgement ⁵⁾	
					gap	ctb	cte	csb	cse	f	mul ²⁾	total		TAG (%)	TA (%)	SA		NA	
Control				200	1	1	0	0	0	0	0	2	2 (1.0)	1 (0.5)	0.25				
Solvent ¹⁾ 0		-	6-(18)	200	4	0	0	0	0	0	0	4	4 (2.0)	0 (0.0)	0.63				
TPG 0.48		-	6-(18)	200	4	0	0	0	0	0	0	4	4 (2.0)	0 (0.0)	0.38	-	-		
TPG 0.95		-	6-(18)	200	0	1	0	0	0	0	0	1	1 (0.5)	1 (0.5)	0.38	-	-		
TPG 1.90		-	6-(18)	200	4	0	0	0	0	0	0	4	4 (2.0)	0 (0.0)	0.00	-	-		
CPA 0.005		-	6-(18)	200	0	1	0	0	0	0	0	1	1 (0.5)	1 (0.5)	0.25	-	-		
Solvent ¹⁾ 0		+	6-(18)	200	4	0	0	0	0	0	0	4	4 (2.0)	0 (0.0)	0.38				
TPG 0.48		+	6-(18)	200	2	0	0	0	0	0	0	2	2 (1.0)	0 (0.0)	0.38	-	-		
TPG 0.95		+	6-(18)	200	2	0	0	0	0	0	0	2	2 (1.0)	0 (0.0)	0.38	-	-		
TPG 1.90		+	6-(18)	200	6	0	1	0	0	0	0	7	7 (3.5)	1 (0.5)	0.13	-	-		
CPA 0.005		+	6-(18)	200	30	63	127	0	0	3	10	233	0	104 *(52.0)	95 *(47.5)	0.63	+	-	

Abbreviations : gap : chromatid gap and chromosome gap, ctb : chromatid break, cte: chromatid exchange, csb : chromosome break, cse : chromosome exchange (dicentric and ring etc.), f : acentric fragment (chromatid type), mul : multiple aberrations, TAG : total no. of cells with aberrations, TA : total no. of cells with aberrations except gap, SA : structural aberration, NA : numerical aberration, CPA : cyclophosphamide.

1) Distilled water was used as solvent. 2) More than ten aberrations in a cell were scored as 10. 3) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the no. of structural aberrations. 4) Eight hundred cells were analysed in each group. 5) Judgement was done on the basis of the criteria of Ishidate et al. (1987). * : Significantly different from solvent control at p<0.05. ** : Purity was more than 98% and dipropylene glycol (less than 2%) was contained as impurity.

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, 1988.
- 2) 石館 基 監修, “〈改訂〉染色体異常試験デー
タ集,” エル・アイ・シー社, 1987.

連絡先

試験責任者: 田中憲穂
試験担当者: 山影康次, 日下部博一,
橋本恵子, 渋谷 徹, 原 巧,
加藤基恵, 石原尚子
(財)食品薬品安全センター秦野研究所
〒257 神奈川県秦野市落合729-5
Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors : Noriho Tanaka (Study director)
Kohji Yamakage,
Hirokazu Kusakabe,
Keiko Hashimoto, Toru Shibuya,
Takumi Hara, Motoe Kato,
Naoko Ishihara

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