

③90日反復投与毒性試験

ラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験（資料31、31-2）

試験機関：日本歯科大学新潟歯学部歯科補綴学教室第2講座

報告書作成年：1996年

公表：有

論文著者；森義雄ら

文献名；強酸性電解生成水溶液の生体毒性

発行年月日；歯学 第84巻第4号, pp. 619-626; 1997

検体：pH 2.45～2.53、有効塩素濃度40 mg/kgの電解次亜塩素酸水

供試動物：Sprague-Dawley系ラット、1群雌雄各6匹、開始時；雄7週令、雌7～8週令

投与期間：13週間（1996年）

投与方法：検体を希釈せず、飲用給水ボトルで90日間にわたって自由摂取させた。検体は2、3日ごとに残量を計量し、給水した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率

対照群と比べて、ラットの外観、体重曲線などの一般経過に異常はなく、歩行状態、毛並みの状態、眼症状、糞尿の状態などの全身的状态や試料摂取状況に異常をきたしたものは観察されなかった。また、死亡例も全くなかった。

体重変化

電解次亜塩素酸水投与群では対照群の正常発育とほぼ同様の様相を示し、両者の間には特に違いは見られなかった。

各実験群の平均体重

	対照・雄	検体投与・雄	対照・雌	検体投与・雌
実験開始時	163.0 g	157.7 g	192.2 g	195.5 g
最終体重	560.8 g	543.0 g	316.7 g	337.0 g

摂水量及び給水効率

対照群とともに異常な摂水状態・飼料摂取状態はなく、雄雌とも電解次亜塩素酸水を多く飲用する傾向（但し有意差なし）が観察された。

摂水量：雄 約30 ml/day 雌 約15 ml/day

血液学的検査

投与終了日に各ラットについて、心臓より血液を採取し、以下の項目の測定を行った。赤血球数(RBC)、白血球(WBC)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)

対照群との差を認めなかった。

性別	雄			雌		
	正常値	対照	投与	正常値	対照	投与
検査時期 (週)		13	13		13	13
RBC ($\times 10000/\text{mm}^3$)	812 \pm 42	833.7 \pm 61.3	843.5 \pm 38.9	753 \pm 41	727.5 \pm 57.6	762 \pm 88.5
WBC ($/\mu\text{l}$)	11300 \pm 3100	10800 \pm 8982	6417 \pm 1658	8000 \pm 210	7533 \pm 3231	10050 \pm 6288
Hb (g/dl)	16 \pm 0.7	15.43 \pm 0.5	15.39 \pm 0.5	15.6 \pm 0.7	14.48 \pm 0.9	15.28 \pm 1.7
Ht (%)	48 \pm 2	46.15 \pm 2.4	46.36 \pm 2.1	46 \pm 2	42.17 \pm 3.5	43.18 \pm 4.2
MCV (μm^3)	58.7 \pm 2.6	55.3 \pm 1.8	54.83 \pm 1.5	60.7 \pm 2.8	57.83 \pm 1.5	56.83 \pm 1.5
MCH (pg)	19.8 \pm 2.1	18.5 \pm 0.8	18.17 \pm 0.4	21.8 \pm 1.1	19.83 \pm 0.4	20.6 \pm 0.4
MCHC (%)	33.7 \pm 0.8	33.3 \pm 0.8	33.33 \pm 0.8	34.3 \pm 0.8	34.33 \pm 1.0	35.5 \pm 0.5

平均値 \pm S.D.

血液性化学検査

血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、アルブミン

雌雄別に対照群と電解次亜塩素酸水投与群を比較すると、投与群の雌のLDHが低く、投与群の雄のALPが他の群と比較して高い傾向を示した。しかし、他の項目においては大差がなかった。

項目	対照・雄	投与・雄	対照・雌	投与・雌
GOT (IU/l 37°C)	30.5 \pm 10.4	22.1 \pm 3.3	23.1 \pm 5.0	25.4 \pm 12.3
GPT (IU/l 37°C)	55.3 \pm 22.4	30.2 \pm 2.3	65.7 \pm 29.4	84.2 \pm 32.3
LDH (IU/l 37°C)	422.3 \pm 85.3	441.9 \pm 121.7	329.8 \pm 113.0	175.7 \pm 71.8
ALP (IU/l 37°C)	275.8 \pm 29.7	429.8 \pm 112.6	221.8 \pm 21.5	199.7 \pm 51.2
γ -GTP (IU/l 37°C)	0	1.5 \pm 2.3	0.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4
アルブミン (g/dl)	4.9 \pm 0.4	4.9 \pm 0.1	5.7 \pm 0.3	6.1 \pm 0.3

尿検査

尿素窒素、クレアチニンともに対照群と電解次亜塩素酸水投与群の間に大きな差はなかった。さらに、両項目の尿素窒素／クレアチニン比率が両群間で、ほぼ変わらなかった。

項目	対照・雄	投与・雄	対照・雌	投与・雌
尿素窒素 (BUN)	23.2±1.6	22.8±1.5	25.2±2.9	23.7±2.1
クレアチニン	0.98±0.10	0.73±0.04	0.77±0.10	0.82±0.03

肉眼的病理検査

試験終了時、すべての個体を対象に、肉眼的に見られる諸臓器、器官などについて、その大きさ、形状、色調などを指標として解剖を行ったが、いずれのラットにも異常と思われる所見は認められなかった。

病理組織学的検査

- ①肝臓・腎臓・脾臓では対照群と比較して実質細胞に退行性病変を疑う所見を認めなかった。
- ②食道粘膜・胃粘膜・十二指腸粘膜では対照群のそれと変わらず異常所見は特になかった。
- ③口腔粘膜は、電解次亜塩素酸水投与群において頬粘膜では粘膜固有層に対照群との差異はないが、角質層および顆粒層の膨化肥厚を伴った粗造化傾向と上皮の肥厚を認めた。また、角質層の剥離脱落も一部認められた。
- ④舌に関しては、舌先部、舌下部、舌根部組織について対照群と異なる所見が観察された。舌先部では角質層の緻密化傾向が観察された。舌下部では重層扁平上皮の角質層の膨化肥厚が認められた。舌根部では上皮表面が、対照群では平坦なのに対し、投与群では非角化扁平細胞層の部分的な肥厚による畝状に波打つ状態が観察されるとともに上皮扁平細胞層の肥厚も認められた。ただし、味蕾に関して変化は認められなかった。

重層扁平上皮の角質層の膨化肥厚は12日以前のきわめて早い段階に起きていることが確認されており、電解次亜塩素酸水の投与をさらに継続しても、口腔組織に対する変化は進行して悪化するようなことがないことから、電解次亜塩素酸水の摂取による上皮表層への刺激を防ぐための生体の防御反応と考えられる。

以上の結果から、ラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験において、電解次亜塩素酸水は口腔組織に対して局所的な上皮の反応性の変化を認めたが、それ以外に重大な変化を認めなかった。

(参考) 28日間反復経口投与毒性試験

スーパーオキシダーターから生成される超酸化水のラットにおける28日間反復経口投与毒性試験 (資料43、44)

試験機関：財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター日田研究所

報告書作成年：1993年

公表：なし

検体：pH 2.2-2.5、溶存塩素濃度 30-50 mg/kg

供試動物：4週齢のCrj：CD(SD)ラット1群雌雄各10匹、開始時；5週齢

投与期間：28日間

投与方法：給水瓶による自由摂取。毎日一定時刻に当日調製したものと交換し、給与。
摂水量を毎日測定した。

観察・検査項目及び結果：

投与による死亡、一般状態、体重、摂餌量は雌雄ともに異常は認められなかった。

体重変化：

器官重量 (絶対重量) は雌雄ともに異常は認められなかった。器官重量 (相対重量) は雌の超酸化水給与群で唾液腺の重量増加がみられた。

部検：

雌雄ともに異常は認められなかった。

病理組織学的検査：

雄：超酸化水給与群で空腸の分泌過多 (3/10)、十二指腸の分泌過多 (1/10)、のほか対照群で肝臓の被膜下肉芽組織 (1/10)、小葉周辺性脂肪滴 (2/10)、腎臓の囊胞形成 (1/10) がみられた。

雌：対照群で肝臓の小肉芽腫 (1/10)、小葉周辺性脂肪滴 (4/10)、腎臓の繊維化 (2/10)、超酸化水給与群で肝臓の小肉芽腫 (1/10)、小葉周辺性脂肪滴 (4/10)、腎臓の囊胞形成 (1/10) がみられた。

雌雄でGPTの増加、雄でトリグリセリドの増加、トロンボプラスチン時間の延長、雌で総コレステロールの減少がみられたが、軽微な変化であった。また、雄の少数例で、空腸及び十二指腸に分泌亢進がみられた。

また、今回の毒性試験の結果についてのコメントを、長年毒性試験に携わっている北里研究所の小宮山寛機博士に頂き、問題のないことを確認した。(資料44)