メチルアセトアセテートのラットにおける
単回投与毒性試験

－最終報告書－

試験実施施設　：株式会社パナファーム・ラボラトリーズ　安全性研究所

目　　次

頁

要　約 ---------- 1
緒　言 ---------- 2
試験材料及び方法 ---------- 2
試験成績 ---------- 4
考　察 ---------- 5

Figure

1 Mean body weight changes in rats after a single oral administration of methylacetoacetate ---------- 6

Tables

1 Body weights in rats after a single oral administration of methylacetoacetate ---------- 7
2 Necropsy findings in rats after a single oral administration of methylacetoacetate ---------- 8

要　　約

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として，メチルアセトアセテートの０(対照)及び2000mg/kgを１群雌雄各５匹のCrj:CD(SD系)ラットに単回経口投与する毒性試験を実施し，以下の結果を得た。

１．2000mg/kg群の雌雄ともに死亡の発生はなく，LD_{50}値は雌雄ともに2000mg/kgを上回るものと推定された。

２．2000mg/kg群の雌雄では，観察期間を通して一般状態の異常は認められず，体重も順調な推移を示し，観察期間終了時の剖検でも肉眼的異常は認められなかった。

緒　　言

今回，OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として，メチルアセトアセテートを雌雄ラットに単回経口投与し，その急性期の毒性徴候及びＬＤ$_{50}$値について検討したので報告する。

試験材料及び方法

１．被験物質

より提供されたメチルアセトアセテート(純度99.4%，Lot No.　　)を試験に使用した。本被験物質は，水に対する溶解性が38g/100mlの無色澄明の液体であり(添付資料１－１)，投与終了後，上記の供給源にて分析を行い，試験期間中安定であったことが確認された(添付資料１－２)。媒体には日本薬局方 注射用水(大塚製薬工場株式会社，Lot No. 5E87)を使用した。被験物質は低温室の被験物質保管庫に遮光下で，媒体は被験物質室の保管庫に室温で保管した。

２．使用動物及び飼育条件

５週齢のCrj:CD(SD系)ラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各15匹購入し，８日間の検疫馴化を行った。この間に，全例について一般状態の観察及び体重測定を実施するとともに，雌雄各３匹を抜粋して剖検し，異常がないことを確認したのち，雌雄各10匹を選んで６週齢で試験に使用した。投与日の体重は，雄が183.7～194.8g，雌が128.1～140.7gであった。動物は，温度24±２℃(許容範囲21～27℃)，湿度55±10%(許容範囲35～75%)，照明12時間(午前７時～午後７時)及び換気回数13～15回/時に設定したバリアーシステム飼育室(18番)で床敷(ホワイトフレーク，日本チャールス・リバー株式会社)を入れたポリカーボネイト製ケージ(W265×H185×D425mm)に，１ケージ当たり２～３匹ずつ収容して飼育した。なお，試験期間中の温度の実測値は最高26℃，最低23℃，湿度の実測値は最高58%，最低46%であった。飼料は高圧蒸気滅菌処理した固型飼料(MF，オリエンタル酵母工業株式会社)を，飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加(約２ppm)した井戸水を給水瓶によりそれぞれ自由に摂取させた。飼料については財団法人日本食品分析センターにて，また，飲水については株式会社鶴城 南九科研センターに

て分析を行い，いずれも許容基準に適合していることを確認した。飼育器材は高圧蒸気滅菌したものを使用し，ケージは週２回，ケージ蓋及びラックは群分け時に１回交換するとともに，飼育室は毎日清掃し，消毒薬を浸したモップで清拭した。

３．試験群構成，投与量設定の根拠及び群分け

試験群構成を下表に示した。

試験群	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (%)	投与容量 (ml/kg)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	0	10	♂	5	1～ 5
				♀	5	101～105
高用量群	2000	20	10	♂	5	6～ 10
				♀	5	106～110

投与量は，先に当研究所で実施したラットを用いた単回投与毒性予備試験[試験番号29630(ＧＬＰ非適用)，投与量：500，1000及び2000mg/kg]の結果から設定した。すなわち，当該試験において，いずれの用量でも死亡の発生はなく，一般状態の異常も認められなかった。以上より，本試験での投与量は，OECD毒性試験ガイドラインに従い限度試験として2000mg/kgの１用量のみを設定した。

試験群は，上記１用量に対照を加え計２群とした。１群当たりの動物数は，各群とも雌雄各５匹を設けた。

群分けは，投与前日に当日の体重を基に層別連続無作為化法で行い，群分け後の動物には油性フェルトペンによる尾への番号付け及び耳パンチにより個体識別した。また，各ケージには試験番号，動物番号，投与量及び性別を表示したラベルを付けて識別した。

４．投与経路及び投与方法

投与経路は，OECD毒性試験ガイドラインで指定されていること，また，予想されるヒトへの曝露経路の一つであることから，経口投与とした。投与は，約16時間絶食させたのちに，胃管を用いて１回強制経口投与した。投与容量は10ml/kgとし，個体ごとの投与液量は投与日の体重を基に算出した。対照群には注射用水を同様に投与した。

5．被験物質と媒体との混合物調製法

被験物質の必要量(純度換算せず)を秤量し，注射用水に溶解して，20W/V%溶液を調製した。調製は投与の２日前に行い，調製した溶液は投与まで被験物質室の保管庫に室温，遮光下(褐色瓶)に保管した。また，調製した溶液については，被験物質の濃度確認を実施し，設定濃度の許容範囲(±５%以内)にあることを確認した(添付資料２)。なお，本調製法による0.1及び20W/V%水溶液は，室温保存下(褐色瓶中)で８日間安定であることが確認されている(添付資料３)。

6．観察及び検査

1) 一般状態及び体重測定

観察期間は投与後14日間とし，この間に一般状態及び死亡の有無を投与日(１日目)は投与後６時間まで経時的に，２日目から14日目は毎日午前及び午後の１日２回，15日目は午前中に１回観察するとともに，体重を投与日の投与前，並びに２，４，６，８，11及び15日目に測定した。

2) 病理学的検査

観察期間終了後，すべての動物はエーテル麻酔下に放血致死させたのち剖検した。

7．統計学的処理

体重について，各群ごとに平均値と標準偏差を求めた。

試　験　成　績

1．死亡の発生状況及びLD_{50}値

2000mg/kg群の雌雄ともに死亡の発生はなく，LD_{50}値は雌雄ともに2000mg/kgを上回るものと推定された。

2．一般状態

対照群及び2000mg/kg群の雌雄に，観察期間を通して異常は認められなかった。

3．体重

体重の推移をFig. 1及びTable 1に示した。

2000mg/kg群の雌雄ともに，観察期間を通して対照群とほぼ同様な体重推移を示した。

4．剖検

検査結果をTable 2，及びAppendix 1，2に示した。

観察期間終了時の剖検で，対照群及び2000mg/kg群の雌雄に肉眼的異常は認められなかった。

考　　察

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として，メチルアセトアセテートの0(対照)及び2000mg/kgを雌雄ラットに単回経口投与する毒性試験を実施した。

2000mg/kg群の雌雄ともに観察期間を通して死亡の発生及び一般状態の異常はなく，体重も順調な推移を示した。また，観察期間終了時の剖検では，2000mg/kg群の雌雄ともに肉眼的異常は認められなかった。

このように，本被験物質の単回投与毒性試験では死亡の発生はなく，一般状態，体重及び剖検においても本被験物質の投与による変化は認められなかった。以上の結果より，ラットにおけるメチルアセトアセテートの単回経口投与によるLD_{50}値は雌雄ともに2000mg/kgを上回るものと推定された。

Study No.19626

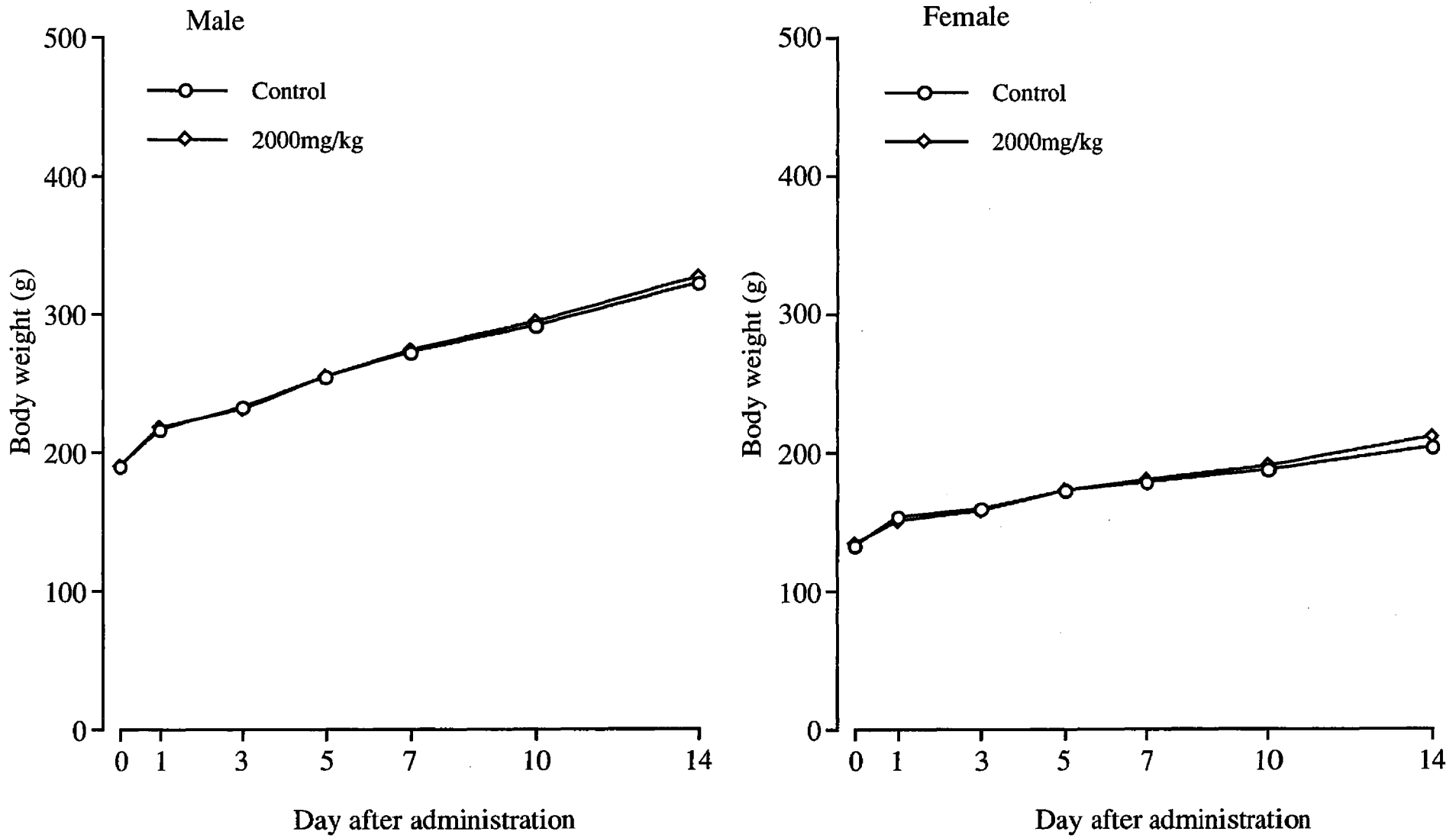

Fig. 1 Mean body weight changes in rats after a single oral administration of methylasetoacetate.

Table 1 Body weights in rats after a single oral administration of methylacetoacetate

Sex	Group and dose	Animal No.	Body weight (g) on day 0	1	3	5	7	10	14
Male	Control	1	185.2	211.0	226.2	247.4	266.9	288.4	315.4
		2	190.4	216.4	232.6	254.2	268.6	287.0	309.5
		3	185.8	212.9	229.8	251.6	271.4	288.8	319.6
		4	190.8	219.5	232.4	252.7	269.0	282.7	318.0
		5	194.8	222.8	240.4	268.3	286.8	312.0	346.2
		Mean	189.4	216.5	232.3	254.8	272.5	291.8	321.7
		S.D.	±4.0	±4.8	±5.2	±7.9	±8.1	±11.6	±14.2
	2000mg/kg	6	194.4	224.6	239.0	261.3	279.3	295.9	323.0
		7	191.6	217.0	233.3	259.5	281.3	304.6	341.6
		8	193.9	220.4	235.9	262.2	287.2	310.4	356.1
		9	183.7	208.3	218.6	240.9	259.7	279.8	307.6
		10	188.0	216.9	225.7	248.3	261.0	278.1	306.9
		Mean	190.3	217.4	230.5	254.4	273.7	293.8	327.0
		S.D.	±4.5	±6.0	±8.3	±9.4	±12.5	±14.5	±21.5
Female	Control	101	131.2	154.1	158.8	173.0	178.9	192.4	210.8
		102	134.8	152.9	157.6	171.4	177.1	185.6	202.5
		103	133.3	154.8	158.6	174.6	177.5	188.6	197.1
		104	131.0	151.9	162.5	173.1	182.2	187.8	205.6
		105	128.1	149.7	156.9	169.2	172.7	182.0	195.5
		Mean	131.7	152.7	158.9	172.3	177.7	187.3	202.3
		S.D.	±2.5	±2.0	±2.2	±2.1	±3.4	±3.8	±6.3
	2000mg/kg	106	140.7	162.5	172.0	184.6	193.2	200.7	219.0
		107	132.6	130.6	137.8	156.4	166.8	174.0	191.3
		108	133.6	155.0	164.2	172.8	184.6	191.6	221.9
		109	130.8	154.5	152.3	172.0	170.8	188.4	203.4
		110	131.5	148.7	160.6	173.5	182.6	194.9	212.7
		Mean	133.8	150.3	157.4	171.9	179.6	189.9	209.7
		S.D.	±4.0	±12.0	±13.0	±10.1	±10.7	±10.0	±12.5

Table 2 Necropsy findings in rats after a single oral administration of methylacetoacetate

Organs and findings \ Sex	Male		Female	
Group and dose	Control	2000mg/kg	Control	2000mg/kg
Number of animals	5	5	5	5
All organs and tissues	NR	NR	NR	NR

NR: no remarkable change.