厚生省生活衛生局　殿

最 終 報 告 書

C.I.ピグメントレッド 22 のラットを用いた

経口投与による単回投与毒性試験

(試験番号：9L777)

2001 年 5 月 11 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目 次

要約 …… 7
緒言 …… 8
材料および方法 …… 9
1. 被験物質 …… 9
2. 試験動物 …… 9
3. 動物飼育 …… 10
4. 投与 …… 10
5. 群構成 …… 11
6. 観察・測定項目 …… 11
6.1 一般状態 …… 11
6.2 体重 …… 11
6.3 病理学的検査 …… 12
7. 半数致死量(LD_{50}値)の算出 …… 12
結果および考察 …… 13
1. 一般状態 …… 13
2. 体重 …… 13
3. 剖検所見 …… 13
4. 半数致死量(LD_{50}値) …… 13
5. 考察 …… 13

図および群別表

要 約

C.I.ピグメントレッド 22 を 1 群あたり雌雄各 5 匹の SD 系ラットに 1 回経口投与し，その毒性を検討した．投与用量は雌雄ともに 0，500，1000 および 2000 mg/kg，投与液量は 20 mL/kg とし，投与後 14 日間の観察を行った．

その結果いずれの被験物質投与群においても死亡例はみられなかった．

一般状態観察において，雌雄とも被験物質様の色調を呈する赤色便および被毛の着色が被験物質投与群でみられたが，毒性変化と考えられる異常はみられなかった．

体重推移および剖検の結果には，いずれの被験物質投与群においても異常はみられなかった．

C.I.ピグメントレッド 22 を雌雄のラットに 1 回経口投与した結果，半数致死量 (LD_{50} 値) は，雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定した．

緒 言

既存化学物質の安全性点検調査事業の一環として，ラットを用いて C.I.ピグメントレッド 22 の単回投与毒性試験を実施し，生体への毒性学的影響について検討したので報告する.

材料および方法

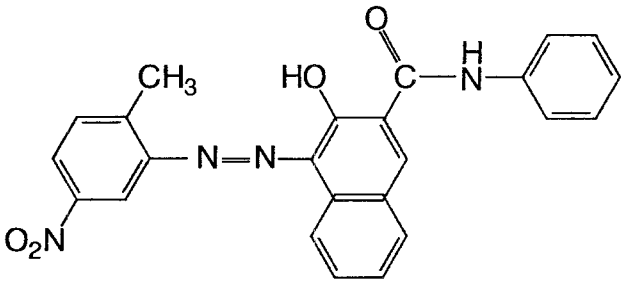
1. 被験物質

から提供された C.I.ピグメントレッド 22 (略称：PR22，CAS No. 6448-95-9，ロット番号　　，純度 99wt%以上) を使用した．被験物質は下記の化学名，構造式，分子量および不純物を有し，水，熱，光に対して安定で，水，アセトンおよび DMSO に不溶な赤色粉末である．被験物質は室温・暗所で保存した．

被験物質の安定性は，被験物質提供者より保証する資料を入手し，確認した．

化学名：　C.I. Pigment Red 22

構造式：



分子量：　426.42

不純物：　水分　　0.15%

　　水可溶分　0.05%

2. 試験動物

日本チャールス・リバー㈱ (生産場所 厚木) から 2000 年 4 月 26 日に Crj:CD(SD)IGS ラット (SPF) 雌雄各 23 匹を入手した．

動物入荷後，5 日間検疫・馴化し，いずれの動物も健康状態が良好なことを確認した．投与前日に，体重層別化無作為抽出法によって各群の平均体重がほぼ均一となるように群分けし，雌雄各 20 匹を使用した．投与日の週齢は 5 週齢，体重範囲は雄が 116～127 g，雌が 106～124 g であった．

動物は，尾に油性ペンによる番号付けを行い，個体識別した．ケージには試験番号，被験物質名，試験種，群名 (用量)，性別，動物種，系統，動物番号および投与

期間を記載したラベルを付けた.

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通して，温度 22±2℃ (目標値)，相対湿度 55±15% (目標値)，換気約 12 回／時 (オールフレッシュエアー供給)，照明 12 時間／日 (7:00 - 19:00) に自動調節した飼育室 (RM 飼育室 2124)を使用した．当研究所で定めた温湿度の許容範囲は 19～25℃，35～75%であり，実測値はそれぞれ 20.6～24.6℃，48～74%であった.

動物は，滅菌済の実験動物用床敷 (ベータチップ，日本チャールス・リバー㈱) を敷いたポリカーボネート製ケージ (265W×426D×200H mm,トキワ科学器械㈱) に，群分け前はケージあたり 5 または 3 匹 (同性)，群分け後はケージあたり 5 匹 (同性) 収容し，スチール製架台 (トキワ科学器械㈱) 上に配置して飼育した．給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器 (トキワ科学器械㈱) を，給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶 (700 mL,トキワ科学器械㈱) を使用した．ケージ (含床敷)，給餌器および給水瓶は週 1 回交換した.

動物には，実験動物用固型飼料 (MF,オリエンタル酵母工業㈱) と，5 μm のフィルター濾過後，紫外線照射した水道水を自由に摂取させ，飼料および飲用水は週 1 回交換した.

床敷と飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所で定めた基準に適合していることを確認した．また，飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的に実施し，分析値が基準範囲内にあることを確認している.

4. 投与

投与経路は OECD ｶﾞｲﾄﾞﾗｲﾝ (No.401, 1987) に従い経口，投与回数は 1 回とした．投与前日より約 17 時間絶食させたラットに，注射筒に装着した胃ゾンデを用いて強制経口投与し，投与後約 3 時間は飼料を与えなかった.

予備試験として，被験物質を 500，1000 および 2000 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 3 匹の SD 系ラットに単回経口投与し，投与後 7 日間観察した．その結果，いずれの用量群においても死亡例はみられなかった．このため，本試験の用量は雌雄ともに

2000 mg/kg を最高用量とし，以下公比 2 で 1000 および 500 mg/kg の 3 用量を設定した．この他に媒体のみを投与する対照群を設けた．投与液量は 20 mL/kg とし，投与直前の体重に基づいて算出した．

投与液の調製は投与 4 日前に行った．被験物質を各用量群ごとに量り，メノウ乳鉢を用いて 0.1%Tween80 添加 0.5%ｶﾙﾎﾞｷｼﾒﾁﾙｾﾙﾛｰｽ・ﾅﾄﾘｳﾑ (CMC-Na) 水溶液 (Tween80：東京化成工業㈱，ロット番号 GH01；CMC-Na：岩井化学薬品㈱，ロット番号 041210) に懸濁させ，投与に供するまで冷蔵保存した．投与前に投与液中の被験物質の均一性および冷蔵保存条件下での安定性を，0.4 mg/mL で 12 日間，100 mg/mL で 8 日間，それぞれ HPLC 法により確認した．また，各用量群の投与液を HPLC 法により分析し，いずれも設定濃度の±10%以内であることを確認した (添付資料)．

5. 群　構　成：

群　名	動物数(匹)	動物番号
0 mg/kg	雄5	10101-10105
	雌5	50101-50105
500 mg/kg	雄5	10201-10205
	雌5	50201-50205
1000 mg/kg	雄5	10301-10305
	雌5	50301-50305
2000 mg/kg	雄5	10401-10405
	雌5	50401-50405

6. 観察・測定項目

次の項目を検査した．なお，日の表記は投与日を第 1 日とした．

6.1 一般状態

投与日は投与後 30 分，1，3 および 6 時間の 4 回，以後は 1 日 1 回 14 日間にわたって各動物の生死および一般状態を観察した．

6.2 体重

全動物について投与直前，第 4，8 および 15 日に上皿電子天秤 (EB-3200S，㈱島津製作所) を用いて測定した．

6.3　病理学的検査

観察終了後 (第 15 日)に生存動物をチオペンタール・ナトリウム (ラボナール, 田辺製薬㈱) の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し, 安楽死させた後剖検した. なお, 肉眼的異常部位は 10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した.

7.　半数致死量 (LD_{50} 値) の算出

死亡例がみられなかったことから, 半数致死量 (LD_{50} 値) の算出は行わなかった.

結果および考察

1. 一般状態 (Table 1, Appendix 1)

被験物質と同様の色調を呈する赤色便が，被験物質投与群の雌雄で投与後 6 時間から第 3 日の間にみられ，第 2 日には雌雄全例で認められた．また，この赤色便に由来すると思われる被毛の着色が，第 2 日から 4 日の間に被験物質投与群の雌雄でみられた．しかし，毒性変化と考えられるような一般状態の変化はいずれの群においても認められなかった．

2. 体重 (Figure 1, Table 2, Appendix 2)

雌雄ともいずれの群においても対照群と同様の推移を示した．

3. 剖検所見 (Table 3, Appendix 3)

胸腔の横隔膜ヘルニアが 1000 mg/kg 群の雌 1 例に認められた．このヘルニアは肝臓の尾状突起部分が胸腔内へ結節状に突出したもので，その一部は胸壁と癒着していた．本変化は 1 例のみの発現で用量に関係ないことから，偶発所見と判断した．その他に異常はみられなかった．

4. 半数致死量 (LD_{50}値)

雌雄ともいずれの被験物質投与群においても死亡例はみられず，半数致死量 (LD_{50}値)は雌雄とも 2000 mg/kg 以上と推定した．

5. 考　察

C.I.ピグメントレッド 22 を雌雄のラットに 0，500，1000 および 2000 mg/kg の用量で 1 回経口投与した．その結果，被験物質投与に起因する毒性変化は認められず，雌雄とも死亡例はみられなかった．このことから C.I.ピグメントレッド 22 の半数致死量 (LD_{50}値) は，雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定した．

図 お よ び 群 別 表

Figure 1 体重 ····· 1

Table 1 一般状態 ····· 3

Table 2 体重 ····· 5

Table 3 剖検所見 ····· 7

Figure 1 - 1 Mean Body Weight - Male

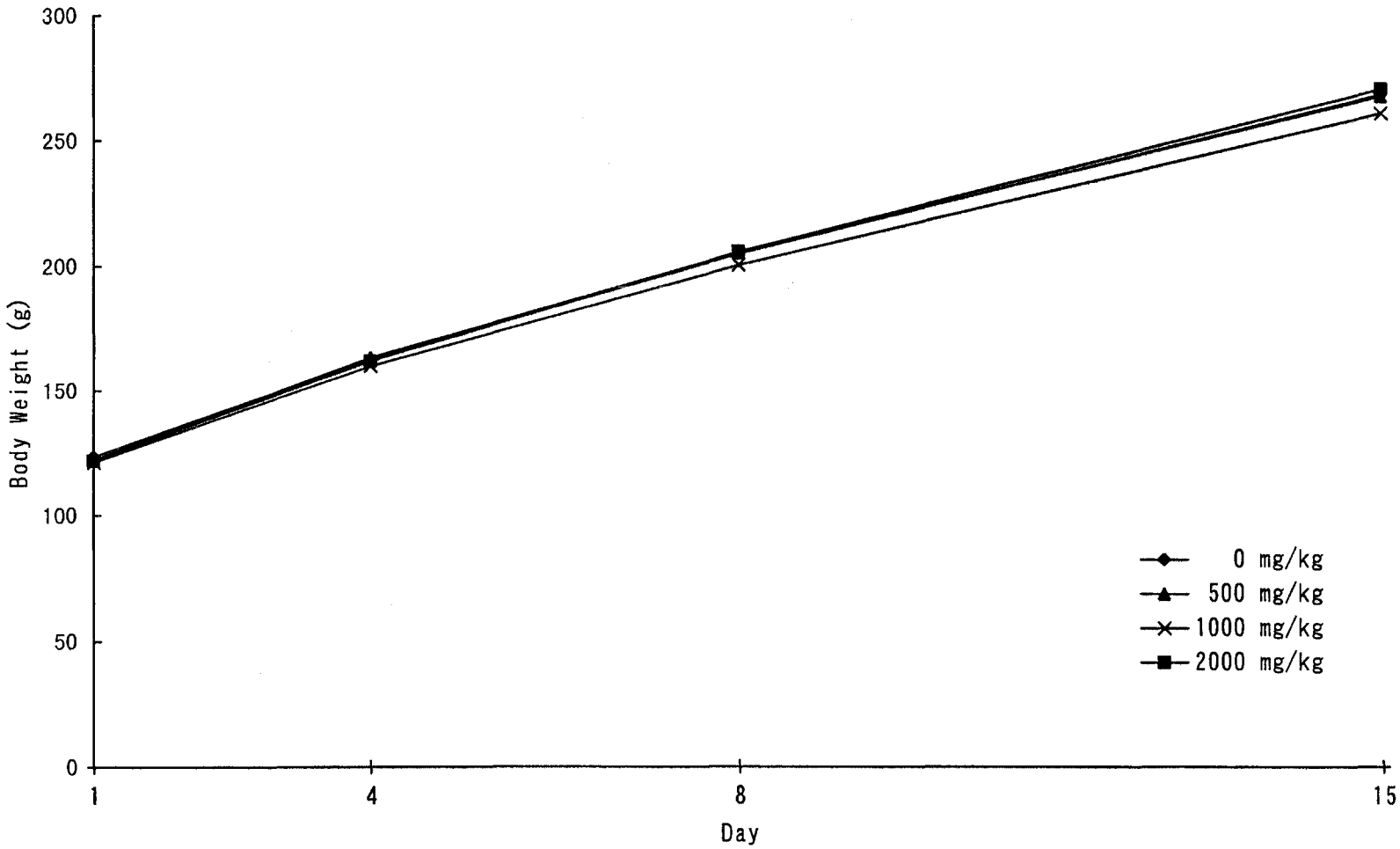


Figure 1 - 2 Mean Body Weight - Female

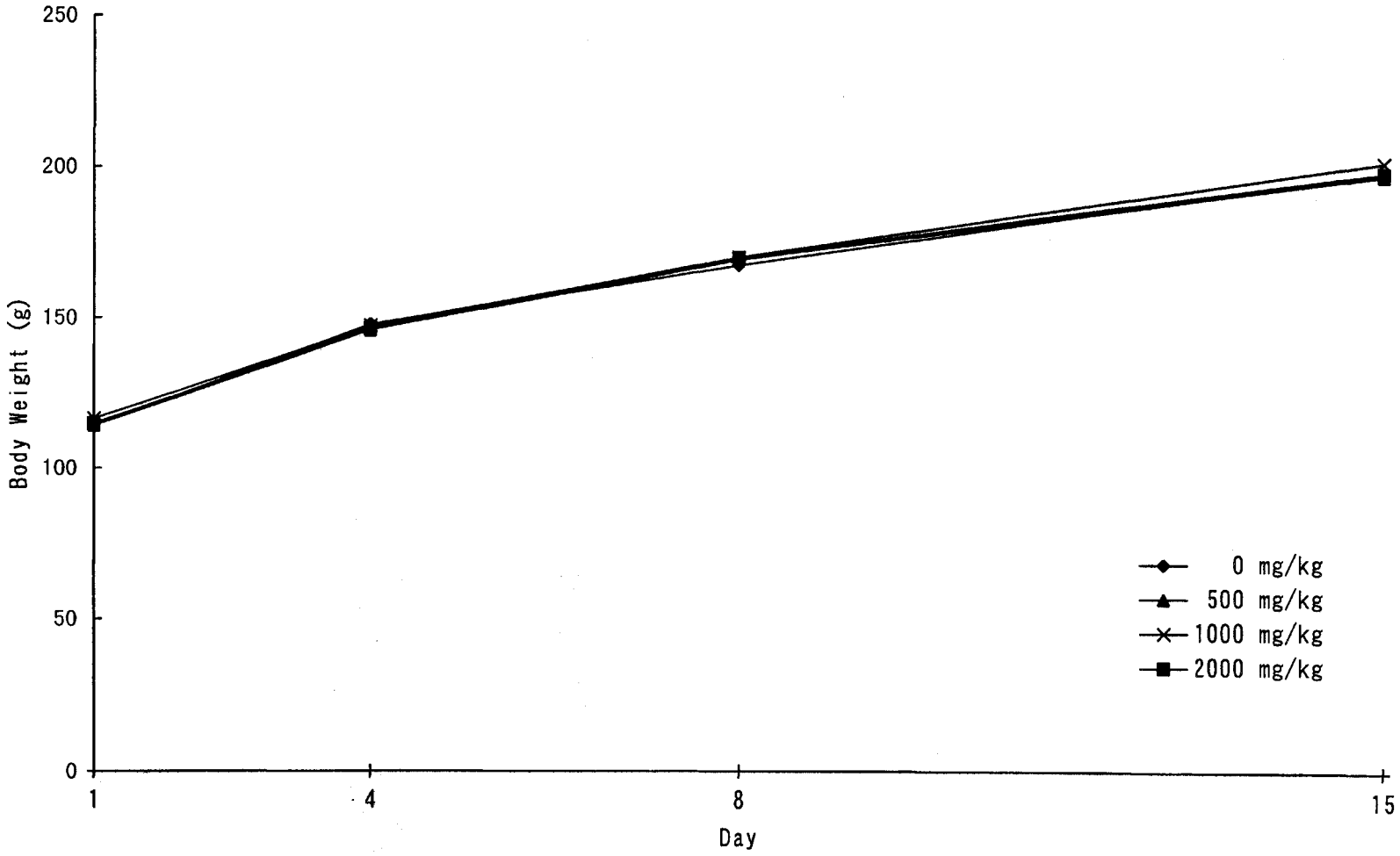


Table 1 - 1 Clinical Sign - Summary Study No. 9L777

Test Substance : PR22 Male

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	1 30m	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
0	No Abnormality		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	No Abnormality		5	5	5	1	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Coloring of fur	+	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reddish stool	+	0	0	0	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	No Abnormality		5	5	5	1	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Coloring of fur	+	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reddish stool	+	0	0	0	4	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No Abnormality		5	5	5	1	0	1	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Coloring of fur	+	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reddish stool	+	0	0	0	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

+ , Present

Table 1 - 2 Clinical Sign - Summary Study No. 9L777

Test Substance : PR22

Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	1 30m	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
0	No Abnormality		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	No Abnormality		5	5	5	1	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Coloring of fur	+	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reddish stool	+	0	0	0	4	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	No Abnormality		5	5	5	2	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Reddish stool	+	0	0	0	3	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Number of Animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No Abnormality		5	5	5	2	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Coloring of fur	+	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reddish stool	+	0	0	0	3	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

+ , Present

Table 2 - 1 Body Weight - Summary

Test Substance : PR22 Male

Study No. 9L777

Unit : g

Dose(mg/kg)	Day	1	4	8	15
0	Mean	123.4	162.6	204.4	267.4
	S.D.	2.9	4.5	6.0	15.3
	n	5	5	5	5
500	Mean	122.2	163.2	205.0	266.8
	S.D.	2.5	2.0	2.4	3.2
	n	5	5	5	5
1000	Mean	121.0	159.8	200.0	260.0
	S.D.	3.5	6.3	9.3	12.1
	n	5	5	5	5
2000	Mean	121.8	161.8	205.2	269.6
	S.D.	2.4	3.7	8.0	15.7
	n	5	5	5	5

Table 2 - 2 Body Weight - Summary

Test Substance : PR22 Female

Study No. 9L777

Unit : g

Dose(mg/kg)	Day	1	4	8	15
0	Mean	114.4	147.8	167.4	198.2
	S.D.	2.9	2.8	4.5	5.7
	n	5	5	5	5
500	Mean	114.2	146.0	169.2	197.4
	S.D.	3.3	4.8	5.9	6.4
	n	5	5	5	5
1000	Mean	116.6	147.4	170.0	201.8
	S.D.	4.4	3.8	4.9	6.9
	n	5	5	5	5
2000	Mean	115.0	146.6	169.8	198.4
	S.D.	6.6	5.4	10.2	9.7
	n	5	5	5	5

Table 3 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Day 15) Study No. 9L777

Test Substance : PR22

Organ Findings	Sex :	Male				Female			
	Dose (mg/kg) :	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
	Number of Animals :	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormality		5	5	5	5	5	5	4	5
Thoracic cavity									
Diaphragmatic hernia		0	0	0	0	0	0	1	0