

## 最終報告書

表 題：C.I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける急性経口投与毒性試験

試験番号：SR-9983

## 目次

	頁
要約 .....	3
緒言 .....	4
材料および方法 .....	4
成績 .....	8
考察 .....	8
参考文献 .....	9

Figures .....	添付
---------------	----

- 1 Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)
- 2 Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Tables .....	添付
--------------	----

- 1 Experimental design for oral acute toxicity test of C. I. Pigment Yellow  
53 (PY53) (SR-9983)
- 2 Mortality and LD<sub>50</sub> of rats in oral acute toxicity test of C. I. Pigment  
Yellow 53 (PY53) (SR-9983)
- 3 General appearance of rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)
- 4 Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)
- 5 Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)
- 6 Gross findings of rats in oral acute toxicity test of C. I.  
Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

## 要 約

雌雄の Crj:CD(SD)IGS ラットに 2000 mg/kg の C. I. ピグメントイエロー 53 を単回経口投与して 14 日間観察し、その毒性を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡例は、雌雄ともに認められなかった。
2. 一般状態では、雌雄の 2000 mg/kg 群で被験物質が糞中より排泄されたと考えられる黄色便が認められた。
3. 体重推移では、雌雄の 2000 mg/kg 群で対照群との間に差は認められなかった。
4. 剖検では、雌雄の 2000 mg/kg 群に異常所見は認められなかった。

以上のことより、C. I. ピグメントイエロー 53 をラットに単回経口投与した場合に毒性徴候の発現しないことが確認され、本試験条件下での LD<sub>50</sub> 値は 2000 mg/kg 以上であると推定された。

## 緒言

雌雄の Crj:CD(SD) IGS ラットに 2000 mg/kg の C. I. ピグメントイエロー 53 を単回経口投与して 14 日間観察し、その毒性を検討した。

## 材料および方法

### 1. 被験物質

被験物質は  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{Sb}_2\text{O}_3$ 、 $\text{NiO}$  を主成分とする C. I. ピグメントイエロー 53 (CAS No. :8007-18-9、ロット番号： 、純度：100%、提供者： ) で、分子量は 260.32、融点は  $1700^\circ\text{C}$ 、比重は 4.1 ~ 4.5 の黄色の粉末で臭いはない。C. I. ピグメントイエロー 53 は遮光気密容器に入れ、冷暗所 (実測範囲  $4\sim 9^\circ\text{C}$ ) に保存した。被験物質サンプルとして、上記ロットについて約 1g を採取し、試験施設の検体保存室に保存した。試験期間中の被験物質の安定性については、残余被験物質を用いて提供者である が純度の分析を行い確認した (Appendix 1~3)。

### 2. 対照物質

対照物質には、1%カルメロースナトリウム水溶液を使用した。1%カルメロースナトリウム水溶液は、カルメロースナトリウム (ロット番号：9813、丸石製薬株式会社) を精秤し、日本薬局方精製水 (ロット番号：95B1、ヤクハン製薬株式会社) に溶解し、被験物質の溶媒および対照群の投与液として使用した。

### 3. 投与液の調製および化学分析

#### (1) 投与液の調製

投与日に、被験物質を乳鉢で研磨後、精秤し、200 mg/mL の濃度になるように 1%カルメロースナトリウム水溶液に懸濁した。調製液は調製後、遮光気密容器に入れ速やかに投与に用いた。残余被験物質は焼却処分とした。

#### (2) 投与液の化学分析

投与に先立って 10 および 200 mg/mL の調製液について安定性の分析を行った結果、室温で 24 時間、冷蔵で 7 日間の安定性が確認されている。また、10、100 および 200 mg/mL の調製液について均一性が確認された (Appendix 4)。

投与に用いる 200 mg/mL の調製液について被験物質の濃度を分析した結果、含有率は所定の濃度の 90~110% の範囲内であることを確認した (Appendix 5)。

以上の分析は、 :において実施した。

#### 4. 試験方法

##### (1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター生産の SD 系ラット (SPF、Crj:CD(SD)IGS) を用いた。ラットはこの種の試験で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雌雄それぞれ 13 匹を 2000 年 5 月 24 日に 4 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 76~88 g、雌で 72~79 g であった。

##### (2) 検疫および馴化

受入後、全例について検疫および馴化期間を 8 日間とし、一般状態を 1 日 1 回観察するとともに、体重測定を 2 回行なった。検疫および馴化期間中、動物に異常はみられなかった。

##### (3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、健康な動物を雌雄それぞれ 10 匹選抜して、5 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間の終了日 (投与前日) の体重に基づいて層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行なった。これらの動物の体重範囲は、雄で 138~152 g、雌で 125~136 g であり、平均体重 (雄 145.0 g、雌 129.4 g) の  $\pm 20\%$  以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外した。

##### (4) 動物およびケージの識別

動物は、油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行なった。飼育ケージには、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに、試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後は性別毎に色分けしたラベルに、試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

##### (5) 動物飼育

###### 1) 飼育環境

動物を温度  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$  (実測範囲 22~24 $^{\circ}\text{C}$ )、湿度  $55 \pm 10\%$  (実測範囲 51~58%)、換気回数 10~15 回/時間、照明時間 12 時間 (午前 8 時点灯、午後 8 時消灯の人工照明) の動物飼育室 (306 号室) で飼育した。動物飼育室の温度および湿度を毎日監視したが、動物の健康に影響を及ぼすと考えられるような設定範囲からの逸脱は認められなかった。

###### 2) 飼育器材および飼育方法

雌雄別にブラケット式金属製金網床ケージ (300W×410D×200H, mm) に、検疫および馴化期間中は 1 または 3 匹、群分け後は 1 匹収容した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、受皿は週 2 回洗浄滅菌済のものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回の頻度で実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

## 3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製γ線照射固型飼料、CRF-1を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。ただし、投与前の17～18時間と投与後約4時間は給餌しなかった。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット(000302)の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行なった。分析項目と許容基準値は(株)化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった(Appendix 6、7)。

## 4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2000年4月12日および2000年7月19日に試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社において行なった。分析項目と許容基準値は(株)化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった(Appendix 8、9)。

## (6) 試験群の構成

試験群の構成および各群の動物番号をTable 1に示す。

C.I. ピグメントイエロー 53 2000 mg/kg 群ならびに1% カルメロースナトリウム水溶液のみを投与する対照群の全2群を設定した。

## (7) 被験物質の投与

## 1) 投与量の設定

投与量はC.I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける急性経口投与毒性試験のための予備試験<sup>1)</sup>の結果に基づいて設定した。予備試験では2000 mg/kg のC.I. ピグメントイエロー 53 を雌雄各3匹のCrj:CD(SD) IGSラットに1回経口投与した結果、死亡が認められなかったため、OECD試験法ガイドライン(401)で定められている限界投与量である2000 mg/kg を設定し、被験物質の溶媒である1% カルメロースナトリウム水溶液のみを投与する対照群を設けた。

## 2) 投与

C.I. ピグメントイエロー 53 がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、17～18時間の絶食後、胃ゾンデを用いて胃内に強制的に1回経口投与した。投与後約4時間経過した時点で給餌を再開した。

投与容量は10 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

## (8) 観察、測定および検査項目

## 1) 一般状態観察

全例について、動物の生死、外観、行動等を投与日（投与後 0 日）の投与直後から投与後 1 時間までは連続して観察し、投与後 2 時間から 6 時間までは約 1 時間間隔で観察した。投与後 1 日から 14 日の剖検日までは、1 日 1 回観察した。異常が認められる場合は、その症状ならびに症状の発現および消失が観察された時刻を記録した。

## 2) 体重測定

全例について、動物の体重を 0（投与日の投与前）、投与後 1、3、5、7、10 および 14 日（剖検日）に、電子天秤（ザルトリウス 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。

体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

$$\text{体重増加量} = (\text{投与後 14 日体重}) - (0 \text{ 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = [ (\text{体重増加量}) / (0 \text{ 日体重}) ] \times 100$$

## 3) 剖検

投与後 14 日に、全例の体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、精巣および精巣上体の固定にはブアン液を、保存には 70% エタノール液を使用した。

脳（大脳および小脳）、肝臓、腎臓（左右）、脾臓、心臓、肺（気管支含む）、胃（前胃および腺胃）、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、精巣（左右）、精巣上体（左右）および卵巣（左右）

## 4) 病理組織学的検査

剖検で C. I. ピグメントイエロー 53 投与の影響と考えられる肉眼的異常所見が認められなかったため、病理組織学的検査は実施しなかった。

## 5. 統計学的方法

体重、体重増加量および体重増加率について Bartlett の検定法を行ない、等分散性を解析した。等分散の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合は Dunnett の検定法を用いて対照群との比較を行なった。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行なった。なお、対照群との比較検定については、群の平均および標準偏差を使用し、危険率 5% 以下を統計学的に有意とした。

## 成績

### 1. 死亡状況および LD<sub>50</sub> 値

死亡状況および LD<sub>50</sub> 値を Table 2 に示す。

死亡例は、雌雄ともに認められなかった。LD<sub>50</sub> 値は、雌雄ともに 2000 mg/kg 以上であると推定された。

### 2. 一般状態

一般状態の成績を Table 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-2 に示す。

投与日には、雌雄ともに異常は認められなかった。

投与後 1 日に雌雄の 2000 mg/kg 群の全例で黄色便が認められたが、投与後 2 日以降には、雌雄ともに異常は認められなかった。

### 3. 体重

体重推移を Figure 1 および 2、Table 4 および 5 ならびに INDIVIDUAL DATA 2-1-1~2-2-2 に示す。

雌雄ともに 2000 mg/kg 群と対照群との間に差は認められなかった。

### 4. 剖検

剖検所見を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1~3-2-2 に示す。

雄の対照群で、腎臓に片側性の黄白色斑および片側性の腎盂拡張が各 1 例に認められたが、雌雄の 2000 mg/kg 群および雌の対照群では異常所見は認められなかった。

## 考察

雌雄の Crj:CD(SD) IGS ラットに 2000 mg/kg の C. I. ピグメントイエロー 53 を単回経口投与して 14 日間観察し、その毒性を検討した。

死亡例は雌雄ともに認められなかった。

一般状態観察では、投与後 1 日に雌雄の 2000 mg/kg 群の全例に黄色便が認められた。しかし、消化管等に異常が認められなかったことから、この変化は大量に投与した被験物質が糞中に排泄されたものと考えられ、毒性学的意義はないと判断した。

体重推移では、雌雄ともに対照群との間に差は認められなかった。

以上のことより、C. I. ピグメントイエロー 53 をラットに単回経口投与した場合に毒性徴候の発現しないことが確認され、本試験条件下での LD<sub>50</sub> 値は 2000 mg/kg 以上であると推定された。



## 参考文献

- 1) C.I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける急性経口投与毒性試験のための予備試験 (SR-9983P) : 最終報告書、株式会社 化合物安全性研究所 (2000)

### Figures

Figure 1 Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Figure 2 Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

### Tables

Table 1 Experimental design for oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9983)

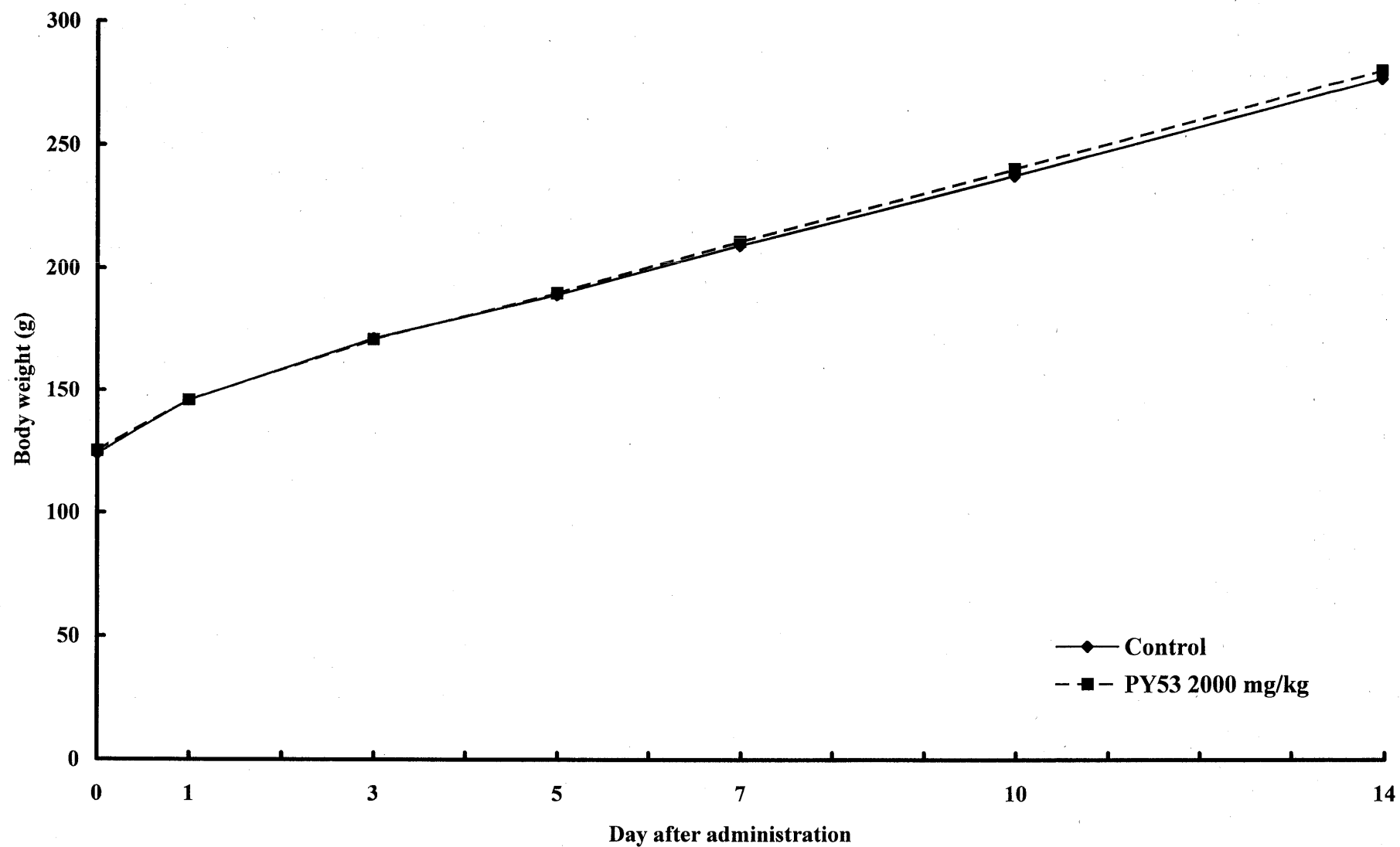
Table 2 Mortality and LD<sub>50</sub> of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Table 3 General appearance of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

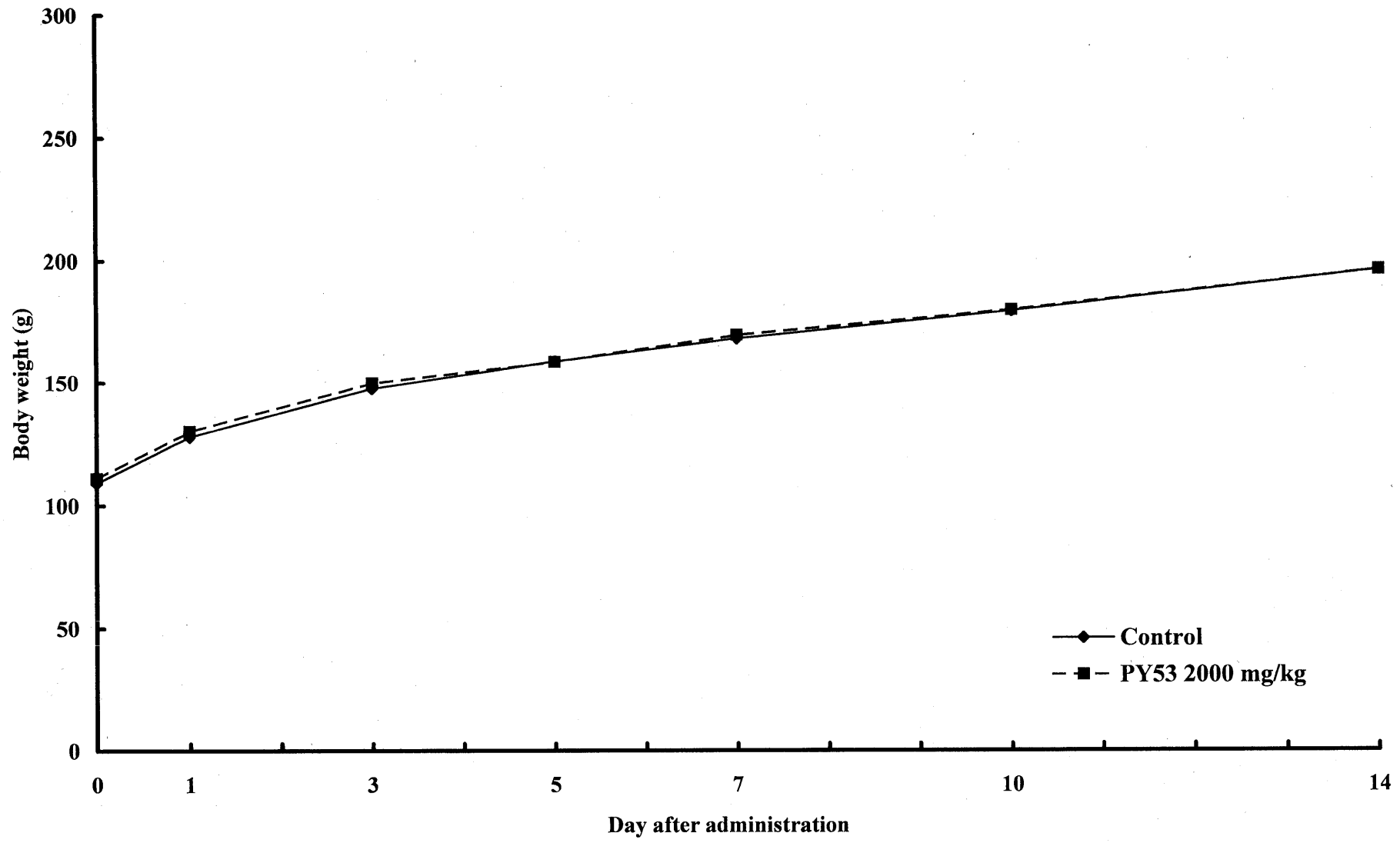
Table 4 Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Table 5 Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Table 6 Gross findings of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)



**Figure 1** Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)



**Figure 2** Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Table 1 Experimental design for oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9983)

Group	Concentration of PY 53 (mg/mL)	Volume (mL/kg)	No. of animals <sup>a</sup> (Animal No.)	
			Male	Female
Control <sup>b</sup>	0	10	5(101-105)	5(151-155)
PY 53 2000 mg/kg <sup>c</sup>	200	10	5(201-205)	5(251-255)

a: Crj:CD(SD)IGS rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Rats in the control group were treated with 1% carboxymethylcellulose sodium solution.

c: PY 53 was suspended in 1% carboxymethylcellulose sodium solution.

Table 2 Mortality and LD<sub>50</sub> of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Sex	Group	Distribution of dead animals		Mortality <sup>b</sup>	LD <sub>50</sub> value
		0 <sup>a</sup>	1-14		
Male	Control	0	0	0/5	>2000 mg/kg
	PY53 2000 mg/kg	0	0	0/5	
Female	Control	0	0	0/5	>2000 mg/kg
	PY53 2000 mg/kg	0	0	0/5	

a: Days after administration

b: No. of dead animals / no. of animals dosed

Table 3 General appearance of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Sex	Group	Findings	Days after administration			
			0	1	2	3-14
Male	Control	No. of animals examined	5	5	5	5
		No abnormal findings	5 <sup>a</sup>	5	5	5
	PY53 2000 mg/kg	No. of animals examined	5	5	5	5
		No abnormal findings	5	0	5	5
		Yellow feces	0	5	0	0
	Female	Control	No. of animals examined	5	5	5
No abnormal findings			5	5	5	5
PY53 2000 mg/kg		No. of animals examined	5	5	5	5
		No abnormal findings	5	0	5	5
		Yellow feces	0	5	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 4 Body weight changes of male rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain		
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	<sup>a</sup> %	
Control	5	<sup>b</sup>									
		124.0	145.8	171.2	189.0	209.4	237.6	276.6	152.6	123.168	
		4.6	3.7	6.3	7.2	9.1	11.8	13.5	12.1	10.503	
PY53 2000 mg/kg	5	125.2	145.8	170.8	189.8	211.0	240.2	279.8	154.6	123.492	
		5.9	7.0	8.3	8.9	10.4	11.6	15.8	11.7	7.618	

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D., and expressed in gram.



Table 5 Body weight changes of female rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	<sup>a</sup> %
Control	5	<sup>b</sup> 109.0	127.8	147.4	158.6	168.0	179.4	196.0	87.0	79.878
		3.1	2.8	4.5	6.5	6.7	6.9	7.5	7.0	7.082
PY53 2000 mg/kg	5	111.0	130.0	149.6	158.4	169.4	179.8	196.0	85.0	76.804
		3.9	4.7	6.2	5.2	5.0	3.6	4.6	7.2	8.931

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D., and expressed in gram.

Table 6 Gross findings of rats in oral acute toxicity test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) (SR-9983)

Item	Male		Female	
	Control	PY53	Control	PY53
		2000 mg/kg		2000 mg/kg
No. of animals examined	5	5	5	5
Organ: Findings	a			
Kidney: Yellowish white patch, unilateral	1	0	0	0
Dilatation, renal pelvis, unilateral	1	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.