

4-クロロフェノールのラットにおける
単回投与毒性試験

—最終報告書—

2000年 7月 7日

試験委託者 : 厚生省生活衛生局長
東京都千代田区霞ヶ関1-2-2 (〒100-0013)

試験施設 : 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所
熊本県宇土市栗崎町1285番地 (〒869-0425)

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	2
試験材料及び方法	2
試験成績	5
考 察	6

Figure

1 Body weight changes in rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	7
--	---

Tables

1 Mortality and approximate lethal dose in rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	8
2 Clinical signs in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	9
3 Clinical signs in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	10
4 Body weights in rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	11
5 Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	12

6	Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	14
7	Histopathological findings in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	16
8	Histopathological findings in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol	17

要 約

1群5匹のCrj:CD(SD) IGSラットに、4-クロロフェノールを0(対照)、690、980、1400及び2000 mg/kgの用量で単回経口投与し、その急性期の毒性徴候及び概略の致死量について検討し、以下の結果を得た。

1. 死亡は、2000 mg/kg群の雄及び1400 mg/kg以上の群の雌で投与後30分から投与翌日に認められた。概略の致死量は、雄で2000 mg/kg、雌で1400 mg/kgと推定された。
2. 一般状態観察では、すべての被験物質投与群の雌雄で、投与日に呼吸促迫、自発運動の低下、振戦、腹臥位及び緩徐呼吸が認められ、980 mg/kg群の雌雄では流涎、1400 mg/kg群の雌では横臥位が認められた。更に、死亡例では間代性痙攣又はチアノーゼが認められた。生存例では、呼吸促迫は投与後15分、流涎は投与後1時間、腹臥位及び横臥位並びに振戦は投与後3時間、自発運動の低下及び緩徐呼吸は投与翌日までに消失した。
3. 体重では、1400 mg/kg以上の群の雄で投与翌日に増加抑制が認められたが、投与後3日からは順調な増加が認められた。
4. 病理学的検査において、死亡例では、肺で肉眼的に暗赤色斑、組織学的に水腫が認められ、胸腺で肉眼的に暗赤色点、組織学的に出血が認められた。生存例では肉眼的変化は認められなかった。

結 言

OECD既存化学物質安全性点検に係る毒性調査の一環として、4-クロロフェノール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概略の致死量について検討したので報告する。

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

より提供された4-クロロフェノール(純度99.29%, Lot No.)を被験物質として使用した(添付資料1)。本被験物質は、白色～淡褐色の結晶であり、本試験の投与終了後にパナファーム・ラボラトリーズで保存中の被験物質の一部について上記の提供先にて分析を行い、試験実施期間中安定であったことを確認した(添付資料2)。媒体はコーンオイル(ナカライテスク株式会社, Lot No. V8M6177)を使用した。なお、被験物質は被験物質室の保管庫に遮光下で室温保存し、媒体は被験物質室の保管庫に室温保存した。

2. 使用動物及び飼育条件

5週齢のCrj:CD(SD)IGSラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各31匹購入し、7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、抜粋した雌雄各3匹について剖検し、異常がないことを確認したのち、雌雄各25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169.1～189.1 g、雌が125.0～147.5 gであった。動物は、温度 24 ± 2 °C(許容範囲21～27°C)、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B区域内の飼育室14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×D425 mm)に、1ケージ当たり2～3匹ずつ収容して飼育した。なお、温度の実測値は最高26°C、最低22°C、湿度の実測値は最高63%、最低55%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2 ppm)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、給水瓶は週3回の頻度で交換し、ケージ蓋及びケージ架台は群分け時に1回交換した。また、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 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	0	10	♂	5	201~205
				♀	5	301~305
低用量群	690	6.9	10	♂	5	206~210
				♀	5	306~310
中間用量群 1	980	9.8	10	♂	5	211~215
				♀	5	311~315
中間用量群 2	1400	14.0	10	♂	5	216~220
				♀	5	316~320
高用量群	2000	20.0	10	♂	5	221~225
				♀	5	321~325

投与量は、ラットを用いた予備試験 [試験番号29843 (GLP非適用)] の結果から設定した。1群雌雄各2ないし3匹の動物に250, 500, 1000及び2000 mg/kgの被験物質を経口投与した結果、2000 mg/kg群の雌雄各1/3例が死亡した。したがって、本試験では死亡の発現が予想され、かつOECDガイドラインによる限界用量である2000 mg/kgを高用量とし、以下公比約1.43で除した1400, 980及び690 mg/kgの4用量を設定した。試験群は、これに对照を加え計5群とし、1群当たりの動物数は、各群とも雌雄各5匹とした。

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。

なお、試験に使用した動物の体重幅は平均値±20%以内であった。また、群分け後の余剰動物は、試験から除外した。

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とし、18~20時間絶食させた動物に胃管を用いて1回強制投与した。投与容量は10 mL/kgとし、各動物の投与液量は投与日の体重を基に算出した。対照群には同容量の媒体を投与した。

5. 被験物質と媒体との混合物調製法

被験物質の必要量をコーンオイルに溶解し、6.9、9.8、14.0及び20.0 w/v%濃度液を調製した。調製はいずれも投与日に行った。なお、本調製法による0.2及び40w/v%コーンオイル溶液は、室温散光下で8日間安定である(添付資料3)。また、調製した各投与液については被験物質の濃度を測定し、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4)。

6. 観察及び検査

1) 一般状態観察及び体重測定

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(0日)は投与後6時間まで経時的に、投与後1日から13日は毎日午前及び午後の1日2回、投与後14日は午前中に1回観察するとともに、体重を投与日の投与前、並びに投与後1、3、5、7、10及び14日に測定した。

2) 病理学的検査

観察期間中に死亡した動物は発見後速やかに、また、観察期間終了後の生存動物はエーテル麻酔下に放血致死させたのち剖検した。肉眼的に異常が認められた器官は摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定保存するとともに、代表例について病理組織学的検査を行った。

7. 統計学的処理方法

体重は、各群ごとに平均値と標準偏差を求めた。なお、有意差検定は行わなかった。

試 験 成 績

1. 死亡の発生状況及び概略の致死量

死亡の発生状況及び概略の致死量をTable 1に示した.

1400 mg/kg群の雌1例, 2000 mg/kg群の雄4例及び雌5例が投与後30分から投与翌日に死亡した. 概略の致死量は, 雄で2000 mg/kg, 雌で1400 mg/kgと推定された.

2. 一般状態

一般状態の観察結果をTable 2, 3及びAppendix 1, 2に示した.

すべての被験物質投与群の雌雄で, 投与後5分から呼吸促迫, 自発運動の低下, 振戦及び腹臥位, 投与後15分から緩徐呼吸が認められた. また, 980 mg/kg群の雌雄では投与後30分から45分に流涎が散見され, 1400 mg/kg群の雌では投与後15分から2時間に横臥位が認められた. なお, 死亡例では上述の所見に加えて, 死亡直前に間代性痙攣又はチアノーゼが認められた. 生存例では, 呼吸促迫は投与後15分, 流涎は投与後1時間, 腹臥位及び横臥位並びに振戦は投与後3時間, 自発運動の低下及び緩徐呼吸は投与翌日までに消失した.

3. 体重

体重の推移をFig. 1, Table 4及びAppendix 3, 4に示した.

1400 mg/kg以上の群の雄で投与翌日に増加抑制が認められたが, 3日からは順調な増加が認められた. そのほかの被験物質投与群の雌雄では, 異常は認められなかった.

4. 剖検

剖検の結果をTable 5, 6及びAppendix 5, 6に示した.

死亡例では, 肺の暗赤色斑が2000 mg/kg群の雌雄各1例に認められ, 同群の別の雄1例に胸腺の暗赤色点が認められた.

生存例では, 変化は認められなかった.

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果をTable 7, 8に示した.

肉眼的な肺の暗赤色斑及び胸腺の暗赤色点に対応して, 組織学的に肺で水腫, 胸腺で出血が認められた.

考 察

OECD既存化学物質安全性点検に係る毒性調査の一環として, Crj:CD(SD) IGSラットを用い, 4-クロロフェノールの経口投与による単回投与毒性試験を実施した. 投与量は0 (対照), 690, 980, 1400及び2000 mg/kgとした.

死亡は, 投与後30分から投与翌日までに2000 mg/kg群の雄及び1400 mg/kg以上の群の雌で認められ, 本試験条件下における概略の致死量は, 雄で2000 mg/kg, 雌で1400 mg/kgと推定された.

死亡例では, 症状として呼吸促迫, 自発運動の低下, 振戦, 緩徐呼吸, 間代性痙攣又はチアノーゼなどが認められた. また, 一部の例では, 病理学的検査において肉眼的に肺の暗赤色斑, 組織学的に肺の水腫が認められており, 死因は呼吸不全と推察された. なお, 2000 mg/kg群の雄1例では, 胸腺で肉眼的に暗赤色点, 組織学的に出血が認められたが, 同様の変化は死亡例ではしばしば認められることから, 死戦期に生じたものと考えられた.

生存例では, すべての被験物質投与群で投与後5分から呼吸促迫, 自発運動の低下, 振戦又は緩徐呼吸などの症状が認められ, これらの症状は早いもので投与後30分, 遅くとも投与翌日に回復した. また, 体重では1400 mg/kg以上の群の雄で投与翌日に増加抑制が認められたが, 3日以降は順調に増加しており, 早い回復性を示した.

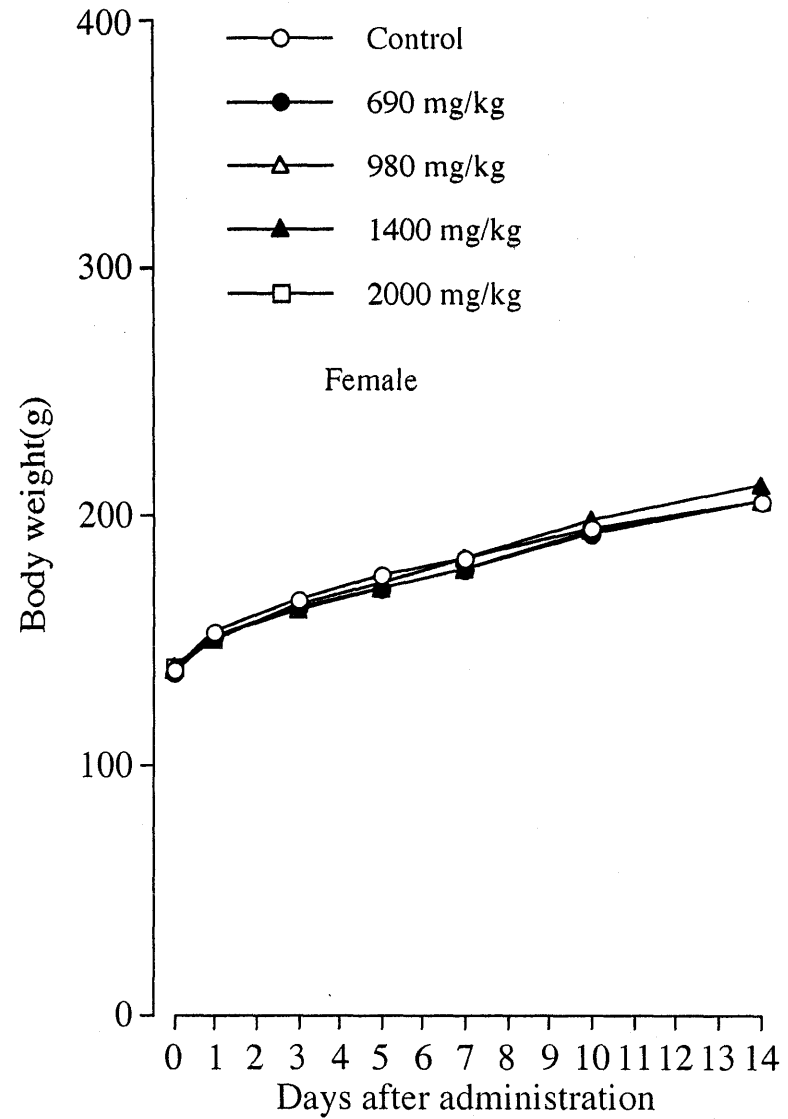
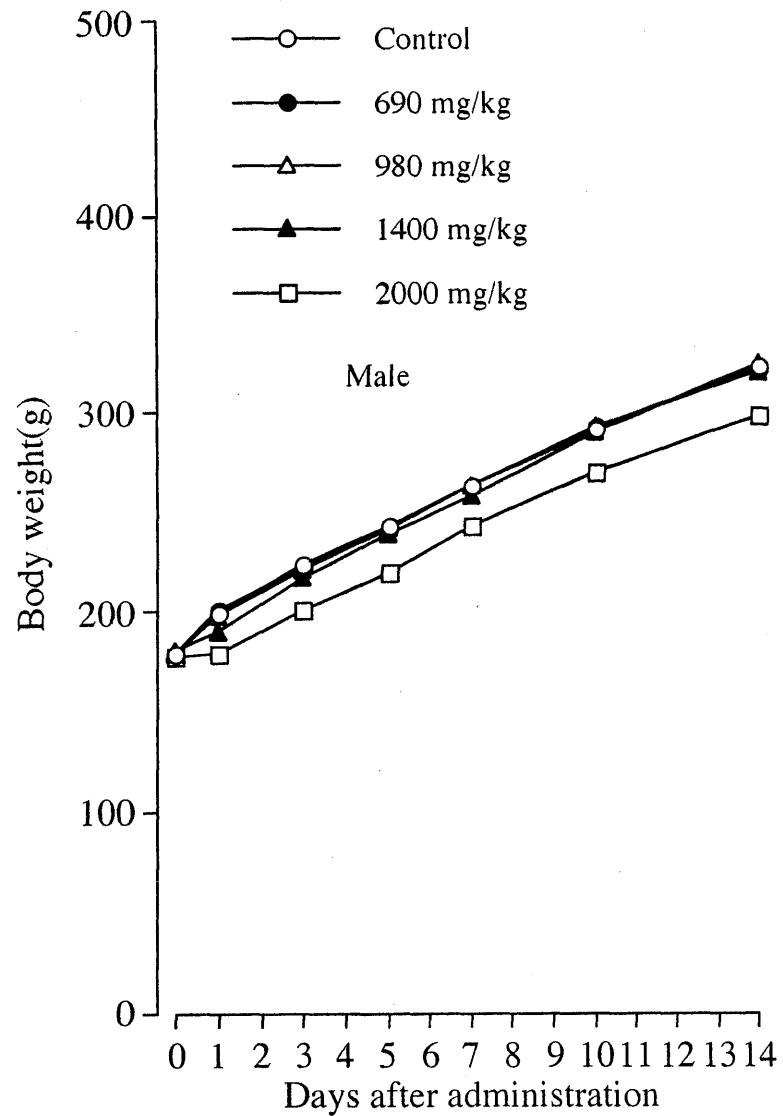


Fig. 1 Body weight changes in rats after a single oral administration of 4-chlorophenol.

Table 3 Clinical signs in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Group	Clinical signs	Time after administration																						
		Minutes					Hours				Days													
		0	5	15	30	45	1	2	3	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
690 mg/kg	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	0	0	2	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Tachypnea	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypoactivity	0	5	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bradypnea	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Prone position	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
980 mg/kg	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	0	0	1	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Tachypnea	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypoactivity	0	5	2	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	3	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bradypnea	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Prone position	0	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1400 mg/kg	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	No abnormality	5	0	0	0	0	1	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	Tachypnea	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypoactivity	0	5	1	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	3	4	4	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bradypnea	0	0	1	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Prone position	0	2	4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lateral position	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000 mg/kg	Number of animals	5	5	5	5	5	3	2	1	1	1													
	No abnormality	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0													
	Tachypnea	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0													
	Hypoactivity	0	5	1	0	0	0	0	0	1	0													
	Tremor	0	5	5	5	5	3	2	1	0	0													
	Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0													
	Prone position	0	5	4	3	2	0	0	0	0	0													
	Clonic convulsion	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0													
	Lateral position	0	0	3	3	4	3	2	1	0	0													
	Cyanosis	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0													
	Dead	0	0	0	0	2	1	1	0	0	1													

Table 4 Body weights in rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Sex	Group and dose		Body weight (g) on day						
			0	1	3	5	7	10	14
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	178.3	198.9	223.3	242.3	262.1	291.0	321.8
		S.D.	±2.4	±4.3	±4.3	±5.2	±3.0	±4.3	±7.3
	690 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	178.5	200.2	221.8	241.5	262.5	291.9	320.4
		S.D.	±3.9	±3.2	±6.5	±7.7	±9.3	±12.9	±13.5
	980 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	178.9	197.5	220.3	240.4	262.7	291.8	318.9
		S.D.	±7.2	±6.8	±9.2	±11.0	±11.1	±15.1	±19.0
	1400 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	179.5	188.7	216.1	238.5	257.3	289.3	323.2
		S.D.	±4.4	±2.6	±6.3	±4.2	±7.0	±9.0	±11.6
	2000 mg/kg	N	5	1	1	1	1	1	1
		Mean	177.7	-	-	-	-	-	-
		S.D.	±5.3	-	-	-	-	-	-
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	137.5	153.5	166.0	175.6	182.6	194.3	205.2
		S.D.	±3.6	±5.4	±5.7	±7.1	±6.4	±8.1	±11.7
	690 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	136.6	150.7	163.1	170.6	177.8	192.0	204.9
		S.D.	±6.4	±5.4	±6.7	±9.2	±10.3	±12.2	±11.2
	980 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	138.5	150.4	161.7	170.8	178.2	193.5	205.3
		S.D.	±8.3	±12.4	±12.1	±14.7	±14.0	±17.6	±19.3
	1400 mg/kg	N	5	4	4	4	4	4	4
		Mean	138.2	149.5	164.3	172.7	182.5	197.0	211.1
		S.D.	±4.5	±5.3	±7.2	±5.7	±5.0	±5.6	±6.3
	2000 mg/kg	N	5						
		Mean	139.4						
		S.D.	±6.4						

Table 5 Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Sex	Group and dose	Male											
		Control			690 mg/kg			980 mg/kg			1400 mg/kg		
		Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total
Organs and findings	Number of animals	5	0	5	5	0	5	5	0	5	5	0	5
Respiratory system													
Lung													
	Macule, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematopoietic system													
Thymus													
	Spot, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 5 - continued Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Organs and findings	Sex	Male		
	Group and dose	2000 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total
Number of animals	1	4	5	
Respiratory system				
Lung				
Macule, dark red		0	1	1
Hematopoietic system				
Thymus				
Spot, dark red		0	1	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 6 Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Sex	Female												
	Control			690 mg/kg			980 mg/kg			1400 mg/kg			
	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	
Group and dose													
Necropsy timing													
Organs and findings	Number of animals	5	0	5	5	0	5	5	0	5	4	1	5
Respiratory system													
Lung													
Macule, dark red		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 6 - continued Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Organs and findings	Sex	Female		
	Group and dose	2000 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total
	Number of animals	0	5	5
Respiratory system				
Lung				
Macule, dark red		0	1	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 7 Histopathological findings in male rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Organs and findings	Group and dose	2000 mg/kg	
	Animal No.	222	225
	Necropsy timing	D	D
Respiratory system			
Lung			*
Edema		+	
Hematopoietic system			
Thymus		*	
Hemorrhage			+

Abbreviation: D, dead.

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

*; not examined.

Table 8 Histopathological findings in female rats after a single oral administration of 4-chlorophenol

Organs and findings	Group and dose	2000 mg/kg
	Animal No.	323
	Necropsy timing	D
Respiratory system		
Lung		
Edema		+

Abbreviation: D, dead.

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.