最 終 報 告 書

ジブチルフォスフェートのラットを
用いた経口投与による急性毒性試験

（試験番号　９２－０４３）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

要　約

ジブチルフォスフェート（略称：ＤＢＰ）のラットを用いた急性毒性試験を経口投与により実施し、以下の成績を得た。

1．投与量

雄・雌　：2,000mg/kg　（ＯＥＣＤ毒性試験法ガイドラインの限界用量）

2．最小致死量

雄・雌　：＞2,000mg/kg

3．一般症状及び体重

雄、雌とも、2,000mg/kg 投与において死亡は認められなかった。一般症状については、投与後、自発運動低下、呼吸深大化、眼瞼下垂、流涎、下腹部尿汚染、赤色尿排泄などが認められ、体重も増加抑制ないし減少を示した。これらの変化は、いずれも４日以降は認められず、回復した。

4．剖検所見

観察期間終了後の生存動物の剖検肉眼検査において、雄、雌のいずれにおいても異常は認められなかった。

試験目的

この試験は、ジブチルフォスフェートをラットに経口投与し、本被験物質の急性毒性を明らかにする目的で実施した。

試験材料及び方法

1．被験物質 (Appendix 1, 2)

ジブチルフォスフェート（以下、「ＤＢＰ」と略す。）は、

から提供されたもの〔ロット番号　　純度 ６２．６%

（不純物としてブチルフォスフェートのモノエステル体18.3%，その他トリエステル体等19.1%)〕を使用した。ＤＢＰの詳細は、付表１(Appendix 1）に示したとおりである。

なお、試験に用いたＤＢＰについては、投与前及び投与後に　　に依託して分析し、この間安定であったことを確認した(Appendix 2)。

2．供試動物及び飼育条件 (Appendix 3～5)

動物は、Crj:CD(SD)系の SPFラットを日本チャールス・リバー（株）より４週齢（雄１１匹、雌１１匹）で導入し、１２日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般状態の良好な雌雄各１１匹から無作為にそれぞれ５匹を抽出し、５週齢で供試した。投与時の平均体重（体重の範囲）は、雄 149(137～153)g、雌 122(118～129)g であった。

動物の飼育は、馴化期間及び投与後の観察期間とも、室温 22±３℃、湿度 55±10%、換気回数10回以上/ 時(オールフレッシュエアー方式)、照明 12 時間（午前６時点灯、午後６時消灯）に設定されたバリアーシステム動物飼育室で、ステンレス製金網ケージ（276W×426D×200Hmm）に２～３匹ずつ雌雄別に収容して行った。飼料（日本農産工業㈱製，固型飼料ラボＭＲストック、Lot No. 92.10.67、汚染物質の分析結果： Appendix 3）と水(１μm カートリッジフィルター濾過後紫外線照射による殺菌水道水、汚染物質の分析結果： Appendix 4）は自由に摂取させた。

なお、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化は認められなかった（温度・湿度の測定結果： Appendix 5)。

3．試験群の構成及び投与量

投与量設定のための予備試験を実施した結果、雌雄とも 2,000mg/kg 投与によっても死亡はみられず、ＤＢＰは急性毒性の弱い物質であると推測された。従って、試験群は、雌雄とも各５匹とし、ＯＥＣＤの毒性試験法ガイドラインで規定された限界用量である 2,000mg/kg の１用量群を設定した。

4．被験物質の調製及び投与方法(Appendix 6)

ＤＢＰは、局方ゴマ油（宮澤薬品㈱製、Lot No. LI01）を媒体にし、 20 w/v % の懸濁液に調製した。投与液量は、体重１kgあたり10mℓとした。投与液は調製後大八化学工業株式会社に依託して分析し、均一、かつ、所定濃度に調製されていることを確認した(Appendix 6)。

投与方法は、胃ゾンデを用いて強制的に動物の胃内に単回経口投与（投与時刻：午前10時49分～11時00分）した。なお、動物は投与前日午後５時から投与後３時間まで絶食し、水のみを与えた。

5．観察事項

観察期間は投与後１４日間とし、その間の一般症状の観察と生死の確認は、投与日においては投与後１時間までと投与後約３時間及び６時間までにそれぞれ１回ずつ行い、これを投与０日とした。また、翌日（投与後１日）以降は、前日の午後５時から当日の午後５時までを１日とし、実際の観察は午前９時から午後５時までの間に、少なくとも１回行った。

体重は、投与直前（投与０日）、投与後１、３、７及び14日に測定し、測定日間の体重増加量を算出した。

剖検は、観察期間終了後に動物をエーテル麻酔死させて行った。

試験成績

1．死亡率及び致死量　（ Table 1 ）

雌雄とも、2,000mg/kg投与において死亡は認められず、最小致死量は、2,000mg/kg以上であった。

2．一般症状　（ Table 2,　Appendix 7）

動物は、投与直後より自発運動の低下、呼吸の深大化及び眼瞼下垂を示し、雄、雌各1例に一過性の流涎も認められた。さらに、投与後6時間から3日の間に雌の1例を除く全動物に下腹部尿汚染がみられた。また、雌の1例には投与翌日から2日にかけて赤色尿の排泄が認められた。しかし、これらの症状は投与後1日から3日の間に消失し、4日以降は一般状態の異常はみられなかった。

3．体重の推移　（ Table 3,　Appendix 8）

投与翌日において、雌の1例に体重減少が、その他の雌雄には軽度な体重増加の抑制が認められた。3日以降は、いずれも順調な体重増加を示した。

4．剖検所見　（ Table 4,　Appendix 9）

観察期間終了後の剖検において、雄、雌とも、臓器の肉眼的な異常は認められなかった。

考察

ＤＢＰのラットにおける急性毒性試験を、経口投与により実施した。その結果、ＯＥＣＤの毒性試験法ガイドラインで規定された限界用量である2,000mg/kgの投与においても死亡は認められず、最小致死量は 2,000mg/kg 以上であると推定された。

中毒症状としては、雌雄とも投与後に自発運動の低下、呼吸の深大化及び眼瞼下垂などの全身抑制症状を示し、下腹部は尿で汚染され、投与翌日には体重の増加抑制ないし減少がみられた。また、一過性の流涎や赤色尿を排泄する例もみられた。これらの変化は、いずれも投与後4日には認められず、回復した。剖検においても、全身臓器に肉眼的な異常はみられなかった。

以上の結果より、ＤＢＰは、最小致死量が 2,000mg/kg 以上であり、ラットに対する急性毒性

は弱いものと結論された。

Table 1 Acute toxicity in rats

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals died							Mortality	Minimum lethal dose (mg/kg)
			Day 0	1	2	3	4	5	6~14		
Male	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0/5	>2000
Female	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0/5	>2000

Table 2-1 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day / Hrs.	0 ~1	0 ~3	0 ~6	1	2	3	4~14
Decreased locomotor activity	Male	2000		5[a]/5[b]	4/5	3/5	3/5	1/5	0/5	0/5
	Female	2000		5/5	5/5	5/5	4/5	1/5	2/5	0/5
Deep and slow respiration	Male	2000		5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	Female	2000		5/5	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Ptosis of eyelid	Male	2000		2/5	2/5	1/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	Female	2000		5/5	4/5	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5

a : Number of animals with signs

b : Number of animals observed

Table 2-2 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day 0 Hrs. ~1	~3	~6	1	2	3	4~14
Salivation	Male	2000	1[a]/5[b]	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Female	2000	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Blotted fur lower abdominal region	Male	2000	0/5	0/5	2/5	5/5	0/5	1/5	0/5
	Female	2000	0/5	0/5	4/5	4/5	1/5	0/5	0/5
Red urine	Male	2000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Female	2000	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5

a : Number of animals with signs

b : Number of animals observed

Table 3 Body weight - Mean values in rats

(g)

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Day 0	1	3	7	14
Male	2000	5	149 ± 7	159 ± 8 (10)[a]	178 ± 8 (19)	224 ± 8 (46)	291 ±11 (67)
Female	2000	5	122 ± 4	131 ±11 (9)	150 ± 6 (19)	168 ± 8 (18)	193 ±14 (25)

Each value is expressed as mean ± SD., a : Increase from last mean body weight measured(g)

Table 4 Summary of necropsy findings in rats

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals with abnormalities
Male	2000	5	0
Female	2000	5	0