BOZO RESEARCH CENTER INC.

最 終 報 告 書

亜リン酸トリメチルのラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B-3882

株式会社ボゾリサーチセンター

目　次

頁

目　次 …… 1

要　約 …… 6

緒　言 …… 7

試験材料および方法

1. 被験物質および被験液の調製 …… 8
   1) 被験物質 …… 8
   2) 被験液の調製および保存方法 …… 8
   3) 被験液の安定性 …… 8
   4) 被験液の濃度の確認 …… 9
2. 試験動物 …… 9
3. 飼育条件 …… 9
4. 投与経路、投与量、投与方法および群構成 …… 9
5. 検査方法 …… 10
   1) 一般状態の観察 …… 10
   2) 体重測定 …… 10
   3) 病理学検査 …… 10
6. 統計処理 …… 10

試験結果

1. 死亡状況および致死量 …… 12
2. 一般状態 …… 12

頁

3. 体重 …… 12

4. 剖検 …… 12

考　察 …… 13

文　献 …… 14

Figure and Tables

Fig. 1　Body weight

Table 1　Mortality and Lethal dose

Table 2-1、2- 2　Clinical signs

Table 3-1、3- 2　Body weight

Table 4-1、4- 2　Gross pathological findings

要　約

6 週齢の Crj:CD(SD)系 SPF ラットを用いて、亜リン酸トリメチルの経口投与による急性毒性を検討した。投与量は 0（オリーブ油：対照群）および 2000mg/kg とし、ラットに単回強制経口投与した。1 群の動物数は雌雄各 5 匹とした。

1. 致死量

雌雄ともに死亡はみられず、致死量は 2000mg/kg を上回ると推定された。

2. 一般状態

いずれの動物にも異常はみられなかった。

3. 体重

2000mg/kg 投与群の雌雄の体重は、観察期間を通じて対照群を下回って推移した。

4. 剖検

いずれの動物にも異常はみられなかった。

以上の如く、亜リン酸トリメチルをラットに単回経口投与した場合、致死量は雌雄とも 2000mg/kg を上回ると推定された。2000mg/kg 投与により体重増加抑制がみられたが、一般状態および剖検では変化は認められなかった。

緒　言

亜リン酸トリメチルは、有機リン系殺虫剤の原料あるいは脱ハロゲン剤などとして広く使用されている。

今回、厚生省生活衛生局の依頼により、亜リン酸トリメチルをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに単回経口投与したときの影響を調べたのでその成績を報告する。なお、本試験は、以下の基準およびガイドラインに準拠して実施した。

- 「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（昭和59年3月31日；環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号連名基準）一部改正（昭和63年11月18日；環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」
- 「『新規化学物質に係る試験の方法について』の一部改正等について」（昭和61年12月5日；環保業第700号環境庁企画調整局長、薬発第1039号厚生省薬務局長、61基局第1014号通商産業省基礎産業局長連名通知）
- 「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」
  （総理府告示第6号、昭和55年3月27日）
- 「動物実験に関する指針」
  （㈳日本実験動物学会、昭和62年5月22日）

試験材料および方法

1. 被験物質および被験液の調製

1) 被験物質

亜リン酸トリメチルは、　　から提供された。

使用した被験物質のロット番号および性状等を以下に示した。

製造者　：

名　　称　：　亜リン酸トリメチル

（CAS 番号：121-45-9）

構造式または示性式

：　$(CH_3O)_3P$

ロット番号　：

純　　度　：　99.58%

性　　状　：　無色の液体

分子量　：　124.08

比　　重　：　1.052

融　　点　：　-78℃

沸　　点　：　111℃

保存方法　：　冷暗所、開封後は窒素置換

安定性　：　返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中安定であったことが確認された。

保存場所　：　御殿場研究所　被験物質保存室および被験物質調製室

なお、動物試験終了後の残余被験物質は、全量を製造者に返却した。

2) 被験液の調製および保存方法

被験物質濃度が 200mg/mL となるよう、必要量の被験物質をオリーブ油（日本薬局方、丸石製薬株式会社、Lot No. 7Z10）に溶解した。調製は投与日の 8 日前に行い、ポリ製遮光瓶に入れて冷蔵（約 4℃）・気密保存した。

3) 被験液の安定性

本被験物質の 3 および 200mg/mL 溶液（媒体：オリーブ油）は、冷蔵（約 4℃）8 日後室温 6 時間、暗所（褐色ガラス瓶）・気密保存で安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（添付資料 1）。

4) 被験液の濃度の確認

本投与に用いた被験液について、GC 法により株式会社ボゾリサーチセンターで測定した。その結果、被験物質濃度は表示値に対して 101%であり、適正（許容範囲：表示値±10%以内）であった（添付資料 2）。

2. 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社〕雌雄各 21 匹[注1]を 5 週齢で入手し、約 1 週間検疫・馴化飼育した後、一般状態に異常のみられない健康な動物を選び 6 週齢で試験に供した。

投与日における動物の体重範囲は、雄で 188～195g（平均値：191g）、雌で 132～142g（平均値：138g）であり、いずれの動物も平均値±20%以内であった。

動物は、投与前日の体重により層別化し、無作為抽出法により各群の平均体重ができるだけ均等になるように割り付けた。動物の個体識別は群構成後に尾に油性インクで印をつけて行い、ケージには試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号および投与日を明記し、投与量ごとに色分けしたケージラベルをつけて表示した。なお、余剰動物は、投与後 8 日にエーテル深麻酔により安楽死させた。

注1 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 20 匹であったが、実際には雌雄各 21 匹が納入された。

3. 飼育条件

動物は温度 23±3℃、相対湿度 50±20%、換気回数 1 時間 10～15 回、照明 1 日 12 時間（07：00～19：00）の飼育室（805 号室）で飼育した。動物は、ブラケット式金属製網ケージ（W 254 x D 350 x H 170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に 2 または 3 匹ずつ収容し、固形飼料（放射線滅菌 CRF-1：オリエンタル酵母工業株式会社）および飲料水（御殿場市営水道水：自動給水装置使用）を自由に摂取させて飼育した。飼料中の汚染物質等については、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析を行いデータを入手し、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年 4 回）に依頼し、得られたデータを入手し、それぞれ異常のないことを確認して保存した。

4. 投与経路、投与量、投与方法および群構成

投与経路は、毒性試験法のガイドラインに準じて経口投与を選択した。投与量は、予備試験

[1] の成績を参考にして設定した。すなわち、亜リン酸トリメチルの 500、1000、1500 および 2000mg/kg を雌雄ラットに単回投与した結果、死亡はなく一般状態の異常も認められなかった。この結果から、本試験では 2000mg/kg の 1 用量設定し、これに対照群を加えて 2 群構成とした。動物は、投与前に約 16 時間絶食させた後、所定濃度の被験液を 10mL/kg 体重の容量で、金属製胃ゾンデを用いて 1 回強制経口投与した。対照群の動物には溶媒（オリーブ油）を同様に投与した。1 群の動物数は雌雄とも 5 匹とした。以下に群構成を示す。なお、観察期間は 14 日間とした。投与後の再給餌は投与 6 時間後に実施し、給水は投与に関係なく継続して行った。

投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg 体重)	性	動物数	動物番号
0	0	10	雄 雌	5 5	1001～1005 1101～1105
2000	200	10	雄 雌	5 5	2001～2005 2101～2105

5. 検査方法

1) 一般状態の観察

投与 6 時間後までは頻繁（投与直後～5 分後、～15 分後、～30 分後、～1 時間後、～2 時間後、～4 時間後、～6 時間後）に、その後は 1 日 1 回（08：00～12：30）、14 日間にわたって全個体について外観、体位・姿勢、意識・態度、行動、神経症状などの一般状態を観察した。なお、投与日を投与 0 日とした。

2) 体重測定

投与日（投与直前）に体重を測定し、これを投与液量算出の基準にした。さらに、投与 1、2、3、7、10 および 14 日後の一定時刻（08：00～12：30）に体重を測定した。

3) 病理学検査

全個体について観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させた後、体外表ならびに頭部、胸部および腹部を含む全身の器官・組織の観察を行い記録した。

6. 統計処理

投与後 14 日間の累積死亡率をもとにおおよその致死量を推定した。体重については以下の手順で対照群と投与群との間で統計解析を行った。まず、F 検定により各群の分散の均一性の検定（有意水準、10%、両側）を行った。その結果、分散が均一の場合には Student の t 検定を、分散が不均一の場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。検定はいずれも両側で、有意水準

は5および1%とした。

試験結果

1. 死亡状況および致死量

経日死亡状況および致死量を Table 1 に示した。

雌雄ともに死亡はみられず、最小致死量は雌雄とも 2000mg/kg を上回ると推定された。

2. 一般状態

成績を Table 2-1、2-2 に示した。

いずれの動物にも異常はみられなかった。

3. 体重

成績を Fig. 1 および Table 3-1、3-2 に示した。

雄では、投与翌日以降、観察期間を通じて対照群を有意に下回って推移し、観察期間中の体重増加量も対照群に比べて有意に低かった。

雌では、投与翌日以降、ほとんどの測定時点で対照群を有意に下回り、観察期間中の体重増加量も対照群に比べて有意に低かった。

4. 剖検

成績を Table 4-1、4-2 に示した。

いずれの動物にも異常は認められなかった。

考　察

6 週齢の Crj:CD(SD)系 SPF ラットに亜リン酸トリメチルを 0（オリーブ油）および 2000mg/kg の用量で単回経口投与し、その急性毒性を検討した。

雌雄ともに被験物質投与群で死亡はみられず、最小致死量は雌雄ともに 2000mg/kg を上回ると推定された。また、一般状態および剖検では被験物質投与による影響は認められなかった。一方、体重では雌雄ともに投与翌日以降、対照群を下回って推移し、被験物質投与の影響が示唆された。

文　献

1)

亜リン酸トリメチルのラットを用いた経口投与による急性毒性予備試験（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：E-2061、1998 年）

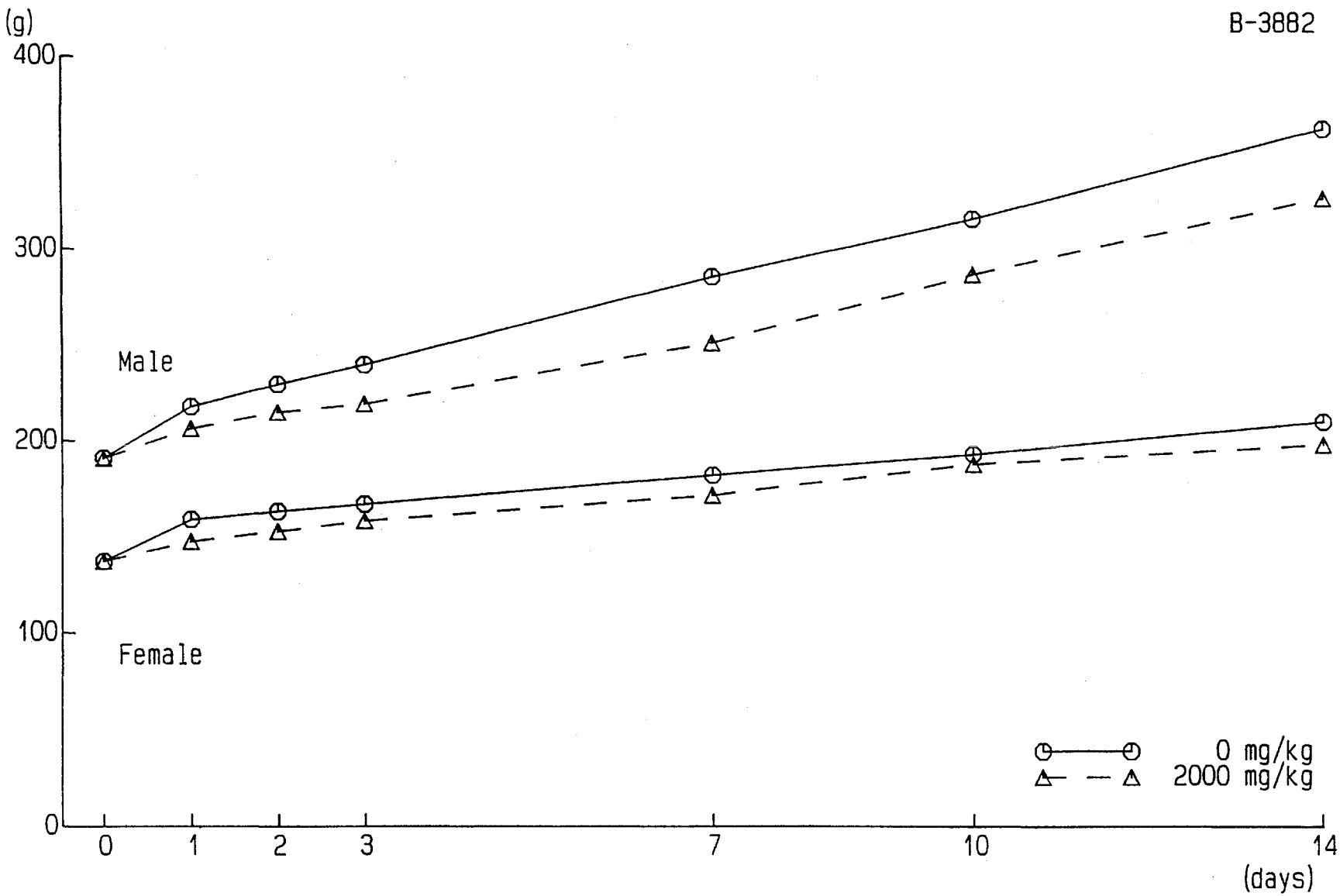

Fig.1 Body weight of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

——— Body weight ———

Table 1 Mortality and Lethal dose of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Sex	Dose	Number of animals	Distribution of death																						Mortality	Lethal dose (mg/kg)
			minutes			hours				days																
	mg/kg		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5	

i : Immediately

Table 2-1 Clinical signs of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Male

Dose mg/kg	Findings	minutes			hours				days													
		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	No. of animals	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
2000	No. of animals	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

i : Immediately

Table 2-2 Clinical signs of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Female

Dose mg/kg	Findings	minutes			hours				days													
		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	No. of animals	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
2000	No. of animals	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

i : Immediately

Table 3-1 Body weight of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Male

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
0	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	191	218	229	240	286	316	362	171
	S.D.	2	4	5	6	8	7	4	2
2000	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	191	207**	215**	219**	251**	287**	327**	136**
	S.D.	3	4	4	6	9	8	14	14

Unit : g
** : $p<0.01$ (Significant difference from control group)

Table 3-2 Body weight of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Female

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	137	159	163	167	182	193	210	73
	S.D.	4	4	4	5	6	7	9	7
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Mean	138	148**	153**	159	172*	188	198*	61*
	S.D.	2	3	3	7	5	2	6	7

Unit : g
* : $p<0.05$; ** : $p<0.01$ (Significant difference from control group)

Table 4-1 Gross pathological findings of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Male

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	2000
		No. of alive (dead)	5 (0)	5 (0)
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)

Table 4-2 Gross pathological findings of rats treated orally with phosphorous acid, trimethyl- in single dose toxicity test

Female

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	2000
		No. of alive (dead)	5 (0)	5 (0)
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)