最終報告書

3a, 4, 7, 7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンのラットを用いる急性毒性試験

（試験番号：０４－２０２）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

目次

要約……1
目的……2
材料および方法……2
結果……5
考察……6
文献……7

添付資料

群別平均表

Table 1　死亡率…… 8
Table 2　一般状態…… 9
Table 3　体重……10
Table 4　剖検……11

要　約

3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンの経口毒性について，ラットにおける反復投与毒性および生殖発生毒性についてはすでに報告[1]されている。

今回，3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンの急性毒性について，SD 系[Crj:CD(SD)IGS]雌ラットを 1 群 3 匹として用い，固定用量を死亡状況を確認しながら段階的に単回経口投与する逐次法により検討した。

ステップ 1 として 300mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。ステップ 2 として，再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。そこで，ステップ 3 では用量を上げて 2000mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。ステップ 4 として，再度 2000mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。

300mg/kg では，投与日から投与翌日に軟便および下腹部の汚れを示す例が認められた。体重は順調な増加を示し，観察期間終了時の剖検において，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kg では，軽度な自発運動の低下，眼瞼下垂，流涎が投与日に認められた。翌日の観察 2 日に，紅涙による口鼻周囲の汚れおよび粗毛が認められた。体重は概ね順調な増加を示し，剖検では内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

以上の結果より，3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンのラット経口投与における概ねの致死量は 5000mg/kg と推定され，化学物質危険度分類(GHS)ではカテゴリー5 に分類された。

目　的

3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンについて，ラットの経口投与における急性毒性を明らかにする。

材料および方法

1．被験物質

3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1*H*-インデン（CAS No. 3048-65-5）は，食物油に易溶な無色透明液体である。試験には，

製造の試薬（　　純度99.0%）を購入し，密栓して冷暗所（2～6℃）に保管・使用した。本被験物質の詳細は，Appendix 1 に示す。試験に使用した被験物質は，投与終了後に分析し，試験期間中安定であったことを確認した（Appendix 2）。分析は，　　に委託して実施した。

2．供試動物および飼育条件

SD 系[Crj:CD(SD)IGS]の SPF 雌ラットを日本チャールス・リバー株式会社　厚木飼育センター（神奈川県厚木市下古沢 795）より搬入（9 週齢の 16 匹，出荷時の体重範囲は 190～240g）し，5 日間試験環境に馴化させ，その間に臨床観察および体重測定による検疫を行ない，健康状態が良好であることを確認した。試験には，1 群の動物数を 3 匹とし，ステップ 4 まで実験ができるように，体重分布の中央値に近いものから 12 匹を選んで使用した。群分けは，ステップ 1 の投与前日の体重に基づく層化無作為抽出法により行ない，12 匹を 4 群に振り分けた。動物の個体識別は，ラックおよびケージへの標識札の貼付とピクリン酸溶液でラットの被毛の一部を染色する方法で行なった。群分け時の平均体重（体重の範囲）は，ステップ 1 で 229(223～238)g，ステップ 2 で 231(224～242)g，ステップ 3 で 230(225～233)g，ステップ 4 で 231(223～237)g，また投与時では，ステップ 1 で 204(199～213)g，ステップ 2 で 208(196～217)g，ステップ 3 で 210(204～216)g およびステップ 4 で 218(203～229)g であった。

動物は，馴化期間およ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／日（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定されたバリアーシステム動物室（第 10 室）で，

ステンレス製金網ケージ（260W×380D×180Hmm）に，3匹ずつ収容して飼育した。飼料（固型飼料ラボMRストック，日本農産工業株式会社，Lot.No.041158-2）と飲料水（孔径1μmのカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は，自由に摂取させた。給水には自動給水装置を用いた。

なお，動物の飼育期間中，動物室の温度は21.4～22.0℃，湿度は53～62%の範囲で推移（Appendix 3）し，また飼料および飲料水の汚染物質の分析値（Appendices 4&5）は，当研究所が定めた基準値以下であることが確認された。従って，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すと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3．投与用量および投与方法

投与用量は，OECDの試験法ガイドライン423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9参照）に従って，5，50，300あるいは2000mg/kgの固定量とし，逐次法により各ステップごとに死亡状況を確認しながら，概略の致死量が推定できるまで段階的に，それぞれステップ2までは1日間隔で，ステップ3はステップ2の2日後，ステップ4はステップ3の5日後に投与を行なった。本物質の致死量に関する既存情報として，ラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性試験のための投与量設定試験として実施された14日間の反復経口投与試験では，死亡（衰弱により屠殺）は最高用量の1000mg/kg/dayの雌雄各5匹中の雄1匹であったとの報告[1]があり，概略の致死量は300mg/kg以上と推定されたため，ステップ1の用量は300mg/kgとした。

投与方法は，テフロン製胃ゾンデを用い，動物の胃内に単回投与した。なお，動物は各ステップ毎に，投与前日の午後5時から投与後3時間まで除餌し，飲料水のみを自由に摂取させた。投与は，午前中（ステップ1で9:29～9:30，ステップ2で9:19～9:20，ステップ3では9:18～9:19，ステップ4では9:16～9:17）に実施した。

4．投与液の調製

本被験物質は，油溶性であるため，局方オリブ油（宮澤薬品株式会社，ロット番号 LA20）に溶解して投与液とした（300mg/kg 群:3w/v%，2000mg/kg 群:20w/v%）。

投与液の調製は投与直前に行なった。投与液量は，体重 1kg 当たり 10mL とし，各個体の投与液量は投与直前の体重より算出した。

5．観察事項

観察期間は投与後 14 日間とし，一般状態の観察および生死の確認は，観察 1 日（投与日）においては，投与後 1 時間までは継続して，その後は概ね投与後 2，4 および 6 時間に観察した。観察 2 日は午前，午後の各 1 回，観察 3 日以降は午前中に 1 回行なった。体重は，観察 1（投与直前），4，8 および 15 日に測定した。剖検は，観察 15 日の観察終了後にエーテル麻酔により安楽死させ，内部器官を肉眼的に観察した。

6．致死量の推定および化学物質危険度分類

OECD の試験法ガイドライン 423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9 参照）に従って，各ステップでの死亡率から概略の致死量を推定し，化学物質危険度分類の万国共通分類法[Globally Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures(GHS)]に従って，毒性の最も強いカテゴリー1 から最も弱いカテゴリー5 のいずれかに分類した。

結　果

1．死亡率(Table 1)

ステップ 1 として 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。確認のため，ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。次に，ステップ 3 として 2000mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。そこで，ステップ 4 として再度 2000mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。

以上のことから，毒性の強さは，化学物質危険度分類(GHS)における 2000～5000mg/kg の範囲を示すカテゴリー5 に分類され，概ねの致死量は 5000mg/kg と推定された。

2．一般状態(Table 2, Appendix 6)

300mg/kg において，投与日に軟便，投与翌日に下腹部の汚れが認められた。

2000mg/kg おいては，投与後 30 分以降に 6 匹中 6 匹で軽度な自発運動の低下および眼瞼下垂が認められたほか，2 匹で一過性の流涎が認められた。翌日の観察 2 日には，4 匹で粗毛が，1 匹で紅涙による口鼻周囲の汚れが認められた。観察 3 日以降は，変化は認められなかった。

3．体重推移(Table 3, Appendix 7)

300mg/kg において，順調な体重増加を示した。

2000mg/kg では，投与後 4 日までの体重増加がやや抑制傾向にあったものの，概ね順調な体重増加を示した。

4．剖検(Table 4, Appendix 8)

観察期間終了時の剖検では，300mg/kg および 2000mg/kg とも，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

考　察

3a, 4, 7, 7a テトラヒドロ-1*H*-インデンを雌ラットに，ステップ 1 として 300mg/kg を単回経口投与したが死亡は認められず，ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。そこで，ステップ 3 として 2000mg/kg を投与したところ，死亡は認められなかった。ステップ 4 として 2000mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。

300mg/kg では，投与日に軟便，投与翌日に下腹部の汚れを示す例が認められた。

2000mg/kg では，主な変化として，投与日に，軽度な自発運動の低下および眼瞼下垂，観察 2 日に，粗毛が認められた。また，一過性の流涎や紅涙による口鼻周囲の汚れを示す例も認められた。また，これらの症状は全て，出現した翌日には消失した。

体重は，300mg/kg で順調な増加を示した。2000mg/kg でも概ね順調な増加を示した。

剖検では，300mg/kg および 2000mg/kg とも，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

以上の結果により，3a, 4, 7, 7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンのラット経口投与における概ねの致死量は 5000mg/kg と推定され，化学物質危険度分類（GHS）ではカテゴリー5 に分類された。

文　献

1) 吉村浩幸，3a, 4, 7, 7a-テトラヒドロ-1*H*-インデンのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験，化学物質毒性試験報告，5，609-623，1997.

Table 1 Mortality of female rats treated with 1*H*-indene,3a,4,7,7a-tetrahydro in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Number of animals that died													Mortality	Category (GHS)	LD_{50} (mg/kg)
			1						2	3	4	5	6	7	8~15(days)			
			~0.5	~1	~2	~4	~6	~24 (hrs)										
1	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$0^a/3^b$		
2	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	5	5000
3	2000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3		
4	2000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3		

a : Number of animals that died; b : Number of animals treated

Table 2 Clinical signs of female rats treated with 1H-indene,3a,4,7,7a-tetrahydro in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Signs	Grade	1 ~0.5	1 ~1	1 ~2	1 ~4	1 ~6(hrs)	2	3	4	5	6	7	8	9~15(days)
1	300	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	300	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Soft stool	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
3	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Decreased locomotor activity	1	0	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		Ptosis	1	0	0	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		Perioral smudge	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		Unkempt fur	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
4	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Decreased locomotor activity	1	0	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		Ptosis	1	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Unkempt fur	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Grade, 1 : Slight

Table 3 Body weights of female rats treated with 1*H*-indene,3a,4,7,7a-tetrahydro in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Body weight (g)			
			1	4	8	15 (days)
1	300	3	204 ± 8 (3)	229 ± 10 (3)	238 ± 14 (3)	251 ± 10 (3)
2	300	3	208 ± 11 (3)	229 ± 4 (3)	236 ± 0 (3)	255 ± 4 (3)
3	2000	3	210 ± 6 (3)	213 ± 8 (3)	234 ± 7 (3)	247 ± 15 (3)
4	2000	3	218 ± 13 (3)	229 ± 14 (3)	252 ± 11 (3)	259 ± 20 (3)

Values represent mean body weight ± S.D. (number of animals examined)

Table 4 Incidence of necropsy findings of female rats treated with 1*H*-indene,3a,4,7,7a-tetrahydro in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Fate	
				Terminal kill	Found dead
1	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
2	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
3	2000	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
4	2000	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	