

最終報告書

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）のラットを用いる
単回経口投与毒性試験

（試験番号：06-118）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験の表題 ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の
ラットを用いる単回経口投与毒性試験
（試験番号：06-118）

試験委託者

名 称 厚生労働省 医薬食品局
所 在 地 東京都千代田区霞が関 1-2-2
委託責任者 厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室

試験実施施設

名 称 財団法人 畜産生物科学安全研究所
所 在 地 神奈川県相模原市緑区橋本台 3-7-11

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

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の急性毒性を，SD 系 [CrI:CD(SD)]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 2000 mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。ステップ 2 では，再度 2000 mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。

投与後の一般状態の変化として，直後の流涎と不穏，投与後 1 時間以降の自発運動の低下および下痢，投与翌日から下腹部の汚れが認められた。体重は，順調な増加を示した。観察期間終了時の剖検で，変化は認められなかった。

以上の結果より，ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）のラット経口投与における概ねの致死量（LD₅₀ 値）は 5000 mg/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

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）（CAS 番号：37353-75-6）は、水に不溶な無色透明液体である。試験には、

入手したロット番号 (純度 99%以上)

を冷暗所（2～6℃）に、密栓して保管し、使用した。本被験物質の保管条件下での安定性は分析して確認した。本被験物質の詳細は、Appendix 1 に示す。

2. 供試動物および飼育条件

SD 系[CrI:CD(SD)]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 200～250g）し、5 日間試験環境に馴化させた。検疫は、搬入の翌日から 4 日間の臨床観察および体重測定（搬入の翌日および群分け日）により行い、16 匹とも健康状態が良好であることを確認した。群分けはステップ 1 の投与前日に行い、16 匹の中から平均値に近い 12 匹を選別（体重範囲、229g～246g）し、これらを体重別層化無作為抽出法により、各ステップ 3 匹ずつ最大ステップ 4 まで試験ができるように 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った。前夜より絶食した投与時の平均体重（体重範囲）は、ステップ 1 で 205(119～210)g およびステップ 2 で 211(200～223)g であった。なお、ステップ 2 までの投与で概略の致死量が求められたので、ステップ 3 および 4 の投与は実施せず、そのままステップ 2 の観察期間終了時まで、飼育した。

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 4 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. 20070470）と飲料水（孔径 $1\mu\text{m}$ 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 $23.6\sim 24.6^{\circ}\text{C}$ ，湿度は $51\sim 60\%$ の範囲で推移（Appendix 2）し，また飼料中の汚染物質の分析値（Appendix 3）は当研究所が定めた基準値以下であり，飲料水は水道法に準拠した水質検査（Appendix 4）で基準に適合することを確認した。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。

本試験は，動物実験を科学的観点および倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項などを定めた，「財団法人 畜産生物科学安全研究所の動物実験実施規定」に従い，本施設の動物実験委員会の承認を得て行った。

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 10 参照）に従って，5，50，300 あるいは 2000 mg/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（ステップ 1 の翌日にステップ 2）に投与を行った。本被験物質の，ラットの急性経口毒性について報告は見当たらない。ビスフェノール A については，ラットへの経口投与において， LD_{50} 値が 3250 mg/kg ¹⁾と報告されている。ラットの概略の致死量に関する情報がないため，ステップ 1 の用量は 2000 mg/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 9:33～9:34，ステップ 2 で 9:56～9:57）に実施した。

4. 投与液の調製

本被験物質は水および食物油に難溶で，水では均一な懸濁液とならないが，食物油に懸濁すると均一な懸濁液が得られたので，投与液は，媒体としてオリブ油（Lot.No. BA17，宮澤薬品工業株式会社）を用い，所定の投与量となる濃度（ 2000 mg/kg 群: $20.0\text{ w/v}\%$ ）の懸濁液に調製した。投与液の調製は投与直前に行った。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 10 参照）に従って、各ステップでの死亡率から概略の致死量（LD₅₀ 値）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 2000 mg/kg を投与した結果、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 2000 mg/kg を投与したが、死亡は認められなかった。

2. 一般状態(Table 2, Appendix 7)

投与直後の流涎が 6 匹中 1 匹に、続いて落ち着きがなく動き回る状態である不穏状態が 6 匹中 5 匹に認められたが、ともに投与後 30 分以内に消失した。投与後 1 時間を過ぎた頃から、自発運動の低下が全例に、下痢が 4 匹にみられ、自発運動の低下は投与後 6 時間の観察でも認められた。これらの変化は翌日には消失した。さらに、下腹部の汚れが投与翌日から長い例では観察 5 日まで認められた。

3. 体重推移(Table 3, Appendix 8)

観察 4 日の測定において、6 匹中 1 匹の体重の増加が認められなかった。観察 8 日以降は全例とも順調な体重増加を示した。

4. 剖検(Table 4, Appendix 9)

観察期間終了時の剖検で内部諸器官に異常は認められなかった。

考 察

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の 2000 mg/kg を雌ラットに投与した結果、死亡は認められなかった。

一般状態の変化として、投与後まもなくの流涎と不穏、投与後 1 時間以降の自発運動の低下および下痢、投与翌日から下腹部の汚れが認められた。体重は、順調な増加を示した。観察期間終了時の剖検で、変化は認められなかった。

自発運動の低下および下痢については、類縁物質のビスフェノール A の 28 日間の反復投与毒性試験²⁾でも報告されている。

以上の結果により、ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の LD₅₀ 値は 2000～5000 mg/kg の範囲にあり、危険度分類（GHS）ではカテゴリー 5 と判定された。また、カテゴリー 5 における LD₅₀ cut-off 分類に基づき、死亡が認められなかったので、概ねの LD₅₀ 値は 5000 mg/kg と推定された。

文 献

- 1) American industrial hygiene association journal, 28, 301, 1967.
- 2) Yamasaki, K., Subacute oral study of ethynylestradiol and bisphenol A, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline no.407' Arch. Toxicol. 76, 65-74, 2002.

Table 1 Mortality of rats treated with 4,4'-isopropylidenediphenol propoxylated 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)
			Day 1						2	3	4	5	6	7	8~15			
			~0.5	~1	~2	~4	~6	~9 (hrs)										
1	2000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ^a /3 ^b	5	5000
2	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 rats treated with 4,4'-isopropylidenediphenol propoxylated in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Day 1					2	3	4	5	6	7~15
				~0.5	~1	~2	~4	~6(hrs)						
1	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Restlessness	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	1	0	0	2	3	3	0	0	0	0	0	0
		Diarrhea	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled fur	1	0	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0
			2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
2	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Restlessness	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	1	1	0	1	3	3	0	0	0	0	0	0
		Salivation	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Diarrhea	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled fur	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0

Grade, 1 : Slight; 2 : Moderate

Table 3 Body weights of rats treated with 4,4'-isopropylidenediphenol propoxylated in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Body weights (g)			
			Day 1	4	8	15
1	2000	3	210 ± 8 (3)	226 ± 19 (3)	239 ± 20 (3)	259 ± 17 (3)
2	2000	3	211 ± 8 (3)	237 ± 12 (3)	244 ± 15 (3)	257 ± 12 (3)

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

Table 4 Incidence of necropsy findings of rats treated with 4,4'-isopropylidenediphenol propoxylated in the single dose oral toxicity test

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