

# 最終報告書

塩基性炭酸ニッケル (II) のラットを用いる急性経口投与毒性試験

試験番号 : 7821 ( 115-186 )

平成 17 年 3 月 29 日

試験委託者

厚生労働省 医薬食品局

財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

## 目 次

1. 要約 .....	3
2. 表題 .....	4
3. 試験目的 .....	4

13. 被験物質 .....	7
14. 試験材料および方法 .....	9
15. 試験結果 .....	14
16. 考察および結論 .....	15

### Tables

Table 1 Mortality .....	17
Table 2 Clinical observation .....	18
Table 3 Body weight .....	19
Table 4 Gross finding .....	20

## 1. 要約

1群につき雌6匹のCrj:CD(SD)IGSラットを用いて塩基性炭酸ニッケル(Ⅱ)の急性経口毒性試験を実施した。

塩基性炭酸ニッケル(Ⅱ)を0.5%CMC・Na水溶液に懸濁し、300および2000 mg/kgに相当する量を単回強制経口投与した。

観察期間は14日間とし、一般状態の観察、死亡動物の確認、体重推移および病理学検査を実施した。その結果は次の通り要約される。

死亡動物は2000 mg/kg群で6例中1例に認められたが、300 mg/kg群では認められず、死亡率は300および2000 mg/kg群でそれぞれ0および17%であった。

一般状態の観察ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

生存動物の体重は順調な増加を示した。

途中死亡動物の病理解剖では死後変化と考えられる胃と小腸の自己融解がみられたが、観察期間終了時の解剖においてはいずれの生存動物にも異常は認められなかった。

以上の結果から、塩基性炭酸ニッケル(Ⅱ)のLD<sub>50</sub>値は2000 mg/kg以上であり、GHS分類のCategory 5に分類された。

13. 被験物質

13.1. 被験物質名

塩基性炭酸ニッケル (II) (英名 : Nickel (II) carbonate hydroxide tetrahydrate)

13.2. ロット番号

13.3. 含量

94.7%

本被験物質 (分子量 376.18) 中の Ni (原子量 58.69) の含量は理論値では 46.8% ( $58.69 \times 3 / 376.18$ ) であるが, 本ロットの Ni 含量測定結果は 44.3%であったため, 94.7% (44.3 / 46.8) とした.

13.4. 製造元

13.5. 保存条件

室温・密閉

13.6. 保存場所

安評センター被験物質保管庫 (F-3)

13.7. CAS No.

39430-27-8

13.8. 化学名

Nickel (II) carbonate hydroxide tetrahydrate

13.9. 分子式

$\text{NiCO}_3 \cdot 2\text{Ni}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

13.10. 分子量

376.18

304.11 (無水物)

13.11. 物質の状態

うすい緑の粉末

13.12. 溶解性

二酸化炭素を含む水に不溶, 酸に可溶

**13.13. 取り扱い上の注意**

吸い込んだり、目、皮膚および衣類に触れないように適切な保護具を着用する。屋内作業における取り扱い場所では、局所排気装置を使用する。

**13.14. 残余被験物質の処理**

残余被験物質は全て安定性分析のため へ返却する。

## 14. 試験材料および方法

### 14.1. 試験動物

供試した Cj:CD(SD)IGS ラット[SPF]は日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから7週齢で雌13匹を搬入した。

動物は検収後、8~16日間試験環境に検疫・馴化し、8~9週齢で投与した。

初回絶食日に全例の体重を測定し、最も体重が大きい動物から順に3匹選び、これらを初回投与に用いた。2回目以降の投与も同様にして順次3匹ずつ選んだ。

動物の識別は、搬入時に連続番号を耳介に入墨することにより行った。投与時の体重は181~205gであった。

### 14.2. 試験系の選択理由

げっ歯類の種は試験ガイドラインで推奨されている雌ラットを選択した。系統は背景データ、感染性疾患に対する抵抗性および遺伝的安定性などを考慮して選択した。

### 14.3. 飼育管理

動物は202号飼育室(W3.6×D10.0×H2.5m, 90m<sup>3</sup>)で飼育し、環境調節の基準値は温度23±3°C(実測値:23.5~24.2°C)、相対湿度55±20%(実測値:48~81%)、換気回数1時間8回以上、照明12時間(午前7時点灯、午後7時消灯)とした。

株式会社東京技研サービス製の水洗式飼育機を使用し、ステンレス製網目飼育ケージ(W21.5×D27.5×H19.5cm, 飼育ケージ・スペース11529cm<sup>3</sup>)に動物を1~3匹ずつ収容した。飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回取り換えた。

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社製造の固型飼料MF(Lot No. 040705, 041102)を自由に摂取させた。使用した飼料の汚染物質の分析は、ロット番号毎に財団法人日本食品分析センターで行い、日本実験動物飼料協会案の許容基準値内であることを確認した。

飲水は動物に水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた。水道水の水質について、水道法に基づいた水道水の検査を3ヵ月に1回株式会社エコプロ・リサーチで行い、水質検査を実施しない月に関しては安評センターにて細菌検査(一般細菌および大腸菌検査)を実施した。検査値がSOPに記載されている上水道水質基準(平成15年5月30日厚生労働省令第101号)の基準値内であることを確認した。

14.4. 試験群の構成および投与量設定理由

14.4.1. 試験群の構成

用量 (mg/kg)	性	動物数	動物番号
300 (1回目)	雌	3	2101~2103
300 (2回目)	雌	3	2104~2106
2000 (1回目)	雌	3	2201~2203
2000 (2回目)	雌	3	2204~2206

14.4.2. 投与量設定理由

被験物質情報においてNi換算でラットLD<sub>50</sub>値が840 mg/kgであることから、初回投与は300 mg/kgを設定し、2回目以降の投与量の選択についてはAnnex 1のフローチャートに示された手順に従った。

#### 14.5. 投与液の調製

電子天秤 AT261, AT201 および PM460 (メトラー・トレド株式会社) を用いて必要量の被験物質を秤量し, メノウ乳鉢で粉碎した後 0.5%CMC・Na 水溶液に懸濁させた. 調製濃度は 300 および 2000 mg/kg (無水物換算値. 四水和物でそれぞれ 393 および 2620 mg/kg 相当) でそれぞれ 3 および 20 w/v% (無水換算値. 四水和物でそれぞれ 3.93 および 26.2 w/v%相当) とした. 本被験物質は秤量の際, 純度換算および無水物換算を実施し, その換算係数は 1.31 とした. なお, 換算係数は以下の式で求めた.

$$\frac{\text{(塩基性炭酸ニッケル (II) の分子量)}}{\text{塩基性炭酸ニッケル (II) 無水物の分子量} \times 0.947} =$$
$$\frac{376.18}{304.11 \times 0.947} = 1.31$$

調製後の投与液は室温に保存し, 調製後 72 時間以内に使用した.

#### 14.6. 投与液中の被験物質の分析

投与液中の被験物質の濃度/均一性分析および安定性分析は当センター代謝分析グループにおいて測定した. また, 濃度/均一性分析までに投与液中の被験物質の濃度測定法について, 滴定法を用いたバリデーション試験 (併行精度) を実施した. その結果, バリデーション項目の判定基準を満たしていたため, 本分析法は 0.5 %CMC-Na 中の被験物質の濃度測定法として適用しうるものと判断した. なお, 分析法およびバリデーション結果の詳細を Reference data 1 に示した.

##### 14.6.1. 投与液の安定性分析

0.05 および 20 w/v%投与液において, 室温保存 72 時間後の投与液濃度平均値の, 調製直後の濃度平均値に対する割合はそれぞれ 98.0 および 101.0%であり, また変動係数はともに 1.3%であった. またこれらの投与液の保存期間中の実測温度は 21.9~24.0°C であった. 調製直後の濃度平均値に対する割合が 85%以上, かつ変動係数が 10%以内であり判定基準を満たしていたため, 室温保存 72 時間以内で, 投与液中の被験物質は安定であると判断した.

##### 14.6.2. 投与液の濃度/均一性分析

3 および 20 w/v%投与液において, 得られた濃度平均値の, 設定濃度に対する割合はそれぞれ 101.0 および 102.5%であり, また変動係数は 1.0 および 0.5%であった. また投



与液は懸濁していた。濃度平均値の設定濃度に対する割合が 85~115%, かつ変動係数が 10%以内であり判定基準を満たしていたため, 投与液は適切に調製されていると判断した。

**14.7. 投与経路の選択理由および投与方法**

投与経路は準拠する試験ガイドラインに従い経口とした。

投与前約 16 時間絶食させた動物に胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与容量は体重 100 g あたり 1 mL とし, 個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出した。投与後約 3 時間に給餌した。

**14.8. 投与期間および観察期間**

単回投与とし, 観察期間は 14 日間とした。

**14.9. 一般状態の観察**

中毒症状および生死の観察は, 投与後 6 時間までは 1 時間間隔, 投与翌日からは 1 日 1 回実施した。

**14.10. 体重**

体重は投与直前, 投与後 7 および 14 日に電子天秤 PM4800 (メトラー・トレド株式会社) を用いて測定した。死亡動物は発見時に測定した。

**14.11. 病理学検査**

観察期間中の死亡例は死亡発見時に, 生存動物は観察終了時にエーテル麻酔後放血死させ解剖し, 主要な器官・組織を肉眼的に観察した。

**14.12. 統計解析**

統計学的解析は行わなかった。

**14.13. 余剰動物の処分**

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

## 15. 試験結果

試験結果は、Table 1 に観察期間中の経日死亡状況を、Table 2 に中毒症状およびその発現時期を示した。また、Table 3 に体重推移を、Table 4 に解剖所見を示した。

### 15.1. 死亡率およびLD<sub>50</sub>値

2000 mg/kg群では投与後5日に6例中1例が死亡し、死亡率は17%であった。300 mg/kg群では死亡動物は認められず、死亡率は0%であった。したがって、LD<sub>50</sub>値は2000 mg/kg以上であった。

### 15.2. 一般状態の観察

300 mg/kg 群では観察期間中、いずれの動物にも一般状態の異常は認められなかった。

2000 mg/kg 群では投与後5日目に1例の死亡が確認されたが、いずれの動物にも一般状態の異常は認められなかった。

### 15.3. 体重

全ての生存動物が観察期間中順調な体重増加を示した。

### 15.4. 病理学検査

途中死亡した1例の病理解剖では死後変化と考えられる胃と小腸の自己融解がみられたが、その他に異常は認められなかった。観察期間終了時の解剖においてはいずれの生存動物にも異常は認められなかった。

## 16. 考察および結論

塩基性炭酸ニッケル（Ⅱ）は薄い緑色の粉末でメッキ用金属として使用されている。本試験では、塩基性炭酸ニッケル（Ⅱ）を8～9週齢のCrj:CD(SD)IGS ラットの雌に300および2000 mg/kgを単回経口投与し、投与後14日間観察した。

死亡動物は2000 mg/kg群で6例中1例に認められたが、300 mg/kg群では認められず、死亡率は300および2000 mg/kg群でそれぞれ0および17%であった。

一般状態の観察ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

生存動物の体重は順調な増加を示した。

途中死亡動物の病理解剖では死後変化と考えられる胃と小腸の自己融解がみられたのみで死因は不明であった。観察期間終了時の解剖においてはいずれの生存動物にも異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において塩基性炭酸ニッケル（Ⅱ）のLD<sub>50</sub>値は2000 mg/kg以上であり、GHS分類のCategory 5に分類された。

Table 1. Mortality

Sex	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day				Mortality (%)
			1	2	3 - 7	8 - 14	
Female	300	6	0	0	0	0	0
	2000	6	0	0	1	0	17

Table 2. Clinical observation

Sex :	Female	Dose level :	300 mg/kg	Number of animals :														6				
Signs	Hours							Days														
	0*	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Dead																						
Number of affected animals :	0							Number of recovered animals :	0							Mortality :	0 / 6					
* : Just after administration																						

Sex :	Female	Dose level :	2000 mg/kg	Number of animals :														6				
Signs	Hours							Days														
	0*	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead	1																					
Number of affected animals :	0							Number of recovered animals :	0							Mortality :	1 / 6					
* : Just after administration																						

Table 3. Body weight

Sex : Female		( unit : g )		
Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration		
		0*	7	14
300	2101	186	215	243
	2102	187	225	252
	2103	190	231	261
	2104	185	223	243
	2105	181	226	245
	2106	183	195	229
	Mean ± S.D.		185 ± 3	219 ± 13
2000	2201	205	220	254
	2202	195	236	263
	2203	197	227	252
	2204	193 (153)	-	-
	2205	188	227	242
	2206	193	227	247
	Mean ± S.D.		195 ± 6	227 ± 6

\* : Just before administration

() : Body weight at death.

Table 4. Gross finding

Sex : Female		Dose level : 300 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		No abnormality
2102	Sacrificed	14		No abnormality
2103	Sacrificed	14		No abnormality
2104	Sacrificed	14		No abnormality
2105	Sacrificed	14		No abnormality
2106	Sacrificed	14		No abnormality
Sex : Female		Dose level : 2000 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2201	Sacrificed	14		No abnormality
2202	Sacrificed	14		No abnormality
2203	Sacrificed	14		No abnormality
2204	Dead	5	Stomach Small intestine	Autolysis Autolysis
2205	Sacrificed	14		No abnormality
2206	Sacrificed	14		No abnormality