厚生省生活衛生局　殿

試　験　報　告　書

2-Hydroxypropanenitrileのラットを用いた

経口投与による単回投与毒性試験

（試験番号：１Ｌ４０３）

1992年７月28日

株式会社三菱化成安全科学研究所

表　　題　　：2-Hydroxypropanenitrileのラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験
（試験番号：１Ｌ４０３）

試験目的　　：2-Hydroxypropanenitrileをラットに一回経口投与し、急性毒性を検討する。

目 次

頁

1 要約 …… 1

2 材料と方法

2.1 被験物質 …… 2

2.2 試験動物 …… 2

2.3 動物飼育 …… 2

2.4 投与液の調製 …… 3

2.5 投与用量および投与液量 …… 3

2.6 投与方法 …… 3

2.7 一般状態観察 …… 3

2.8 体重測定 …… 3

2.9 剖検 …… 4

2.10 LD_{50}値の算出 …… 4

3 結果および結論

3.1 死亡動物 …… 5

3.2 一般状態 …… 5

3.3 体重 …… 5

3.4 剖検 …… 5

3.5 結論 …… 5

図表

Fig. 1 Body weight …… 6

Table 1 Mortality …… 7

Table 2 Clinical signs …… 8

Table 3 Mean body weight …… 11

Table 4 Autopsy findings …… 12

1　要　約

(1)　2-HydroxypropanenitrileをＳＤ系(Crj:CD)ラット(SPF)の雌雄に単回経口投与した時の毒性について検討した。

(2)　雄は15、21、30、42および60mg/kgの５用量、雌は21、30、42、60および84mg/kgの５用量を設定し、１群各５匹に投与した。溶媒には精製水を使用した。投与液量は10 ml/kg とした。

(3)　死亡動物は雄の21mg/kg 、雌の30mg/kg 以上の群で認められ、雄の60mg/kg 群、雌の84mg/kg の群で全例が死亡した。死亡の発現は投与後15分から１時間以内であった。

(4)　一般状態の観察では、投与当日に自発運動量減少、歩行失調、つま先立ち歩行、うずくまり、横たわり、強直性痙攣、間代性痙攣、振戦、呼吸緩徐およびあえぎが観察されたが、全ての動物の症状は投与後６時間には消失した。

(5)　体重では、いずれの被験物質投与群も同等の順調な体重推移を示した。

(6)　死亡動物の剖検では、心房拡張、肺の鬱血・水腫・出血、気管内粘液貯留、小腸のびらん／潰瘍・鬱血等が認められたが、生存動物の観察期間終了後の剖検では異常は認められなかった。

(7)　以上の結果より2-HydroxypropanenitrileのLD_{50}値は、雄が31.0mg/kg(95%信頼限界:22.8～42.8mg/kg)、雌が41.1mg/kg(95%信頼限界:29.8～56.4mg/kg)と結論した。

2　材料と方法

2.1　被験物質

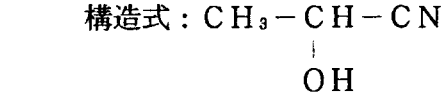
より提供された2-Hydroxypropanenitrile(関東化学株式会社,

ﾛｯﾄ番号：　　純度92.3%，略称：ＨＰＮ）を使用した。被験物質は下記の構造を有する黄褐色の液体である。なお、本ロットについては投与開始前および投与終了後に分析し、安定であることが確認された。

化学名：2-Hydroxypropanenitrile

化学式：$CH_3CH(OH)CN$

構造式：



分子量：71.08

2.2　試験動物

日本チャールス・リバー株式会社より1991年９月４日に購入したＳＤ系(Crj:CD)ラット(SPF）の雌雄を６～７日間馴化し、健康な動物を試験に使用した。投与時の週齢は５～６週齢、体重範囲は雄で153g～182g、雌で113g～139gであった。

2.3　動物飼育

2.3.1　飼育管理

馴化・検疫期間を含めた全飼育期間中、温度20～25℃、湿度40～70%R.H.、換気約12回／時、照明12時間／日（７:00 ～19:00 ）に自動調節された飼育室を使用した。実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm：トキワ科学器械株式会社）に１ケージ当り５匹収容し、スチール製架台（４段：トキワ科学器械株式会社）上で飼育した。ステンレス製の固型飼料用給餌器（トキワ科学器械株式会社）およびポリカーボネート製の給水瓶(700㎖：トキワ科学器械株式会社）を用いた。ケージ（含床敷）、給餌器および給水瓶は、週１回の頻度でオートクレーブ滅菌したものと交換した。

2.3.2　飼料

実験動物用固型飼料（MF：オリエンタル酵母工業株式会社）を自由摂取させた。

飼料は週1回の頻度で交換した。なお飼料については残留農薬等汚染物質の分析値が当社のSOPで定めた濃度以下であることが保証されたものを使用した。

2.3.3　飲水

5μmのフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由摂取させた。飲水は週1回の頻度で交換した。なお水道法に準拠した水質検査を定期的に行い、厚生省令56の別表に定める基準範囲内であることを確認した。

2.4　投与液の調製

秤量した被験物質を精製水に溶解調製した。

2.5　投与用量および投与液量

予備試験の結果を参考に、雄は15、21、30、42、60mg/kgの5用量、雌は21、30、42、60、84mg/kgの5用量（公比約$\sqrt{2}$）を投与した。投与液量は10mℓ/kg とした。

2.6　投与方法

投与前日の夕方から絶食させ、胃ゾンデを用いて、胃内に1回強制経口投与した。

投与後約3時間は飼料を与えなかった。

2.7　一般状態観察

投与当日は投与後5、15、30分、1、3および6時間、以後1日1回、14日間にわたって各動物の生死および一般状態を観察した。

2.8　体重測定

投与日を0日として、投与直前、投与後7および14日に体重を測定した。測定には上皿電子天秤（EB-5000：株式会社島津製作所）を使用した。

2.9 剖検

死亡動物については、発見後速やかに剖検した。生存動物については観察終了後（投与後14日）にペントバルビタール・ナトリウム（ネンブタール注射液：ダイナボット株式会社）麻酔下で腹大動脈を切断し、放血致死させ剖検した。

2.10 LD_{50}値の算出

各用量群における投与後14日の死亡率をもとにProbit法によりLD_{50}値を算出した。

3　結果および結論

3.1　死亡動物（表１）

雄では21mg/kg 以上の群で、雌では30mg/kg 以上の群で死亡が認められ、雄の60mg/kg 、雌の84mg/kg の群で全例に死亡が認められた。死亡の発現は投与後15分から１時間以内であった。

3.2　一般状態（表２）

自発運動量減少、歩行失調、横たわり、間代性痙攣、強直性痙攣、呼吸緩徐、あえぎが雄の15mg/kg 群を除く群で観察された。その他に一部の動物でつま先立ち歩行、うずくまり、振戦も観察された。これらの症状は、いずれも投与後５分から観察されたが投与後６時間には消失した。

3.3　体重（図１、表３、付表１）

14日間の観察期間を通していずれの被験物質投与群も同等の順調な体重推移を示した。

3.4　剖検（表４）

死亡例の剖検では、心房拡張、肺の鬱血・水腫・出血、気管内粘液貯留、小腸のびらん／潰瘍および鬱血が認められた。生存動物の観察終了後の剖検では、自然発生と考えられる腎盂拡張が雄の21mg/kg 群で１例、肝横隔面結節が雌の42mg/kg 群で１例認められたのみで、その他に異常は認められなかった。

3.5　結論

以上の結果より2-HydroxypropanenitrileのLD_{50}値は、雄が31.0mg/kg （95%信頼限界：22.8～42.8mg/kg)、雌が41.1mg/kg （95%信頼限界：29.8～56.4mg/kg)と結論した。

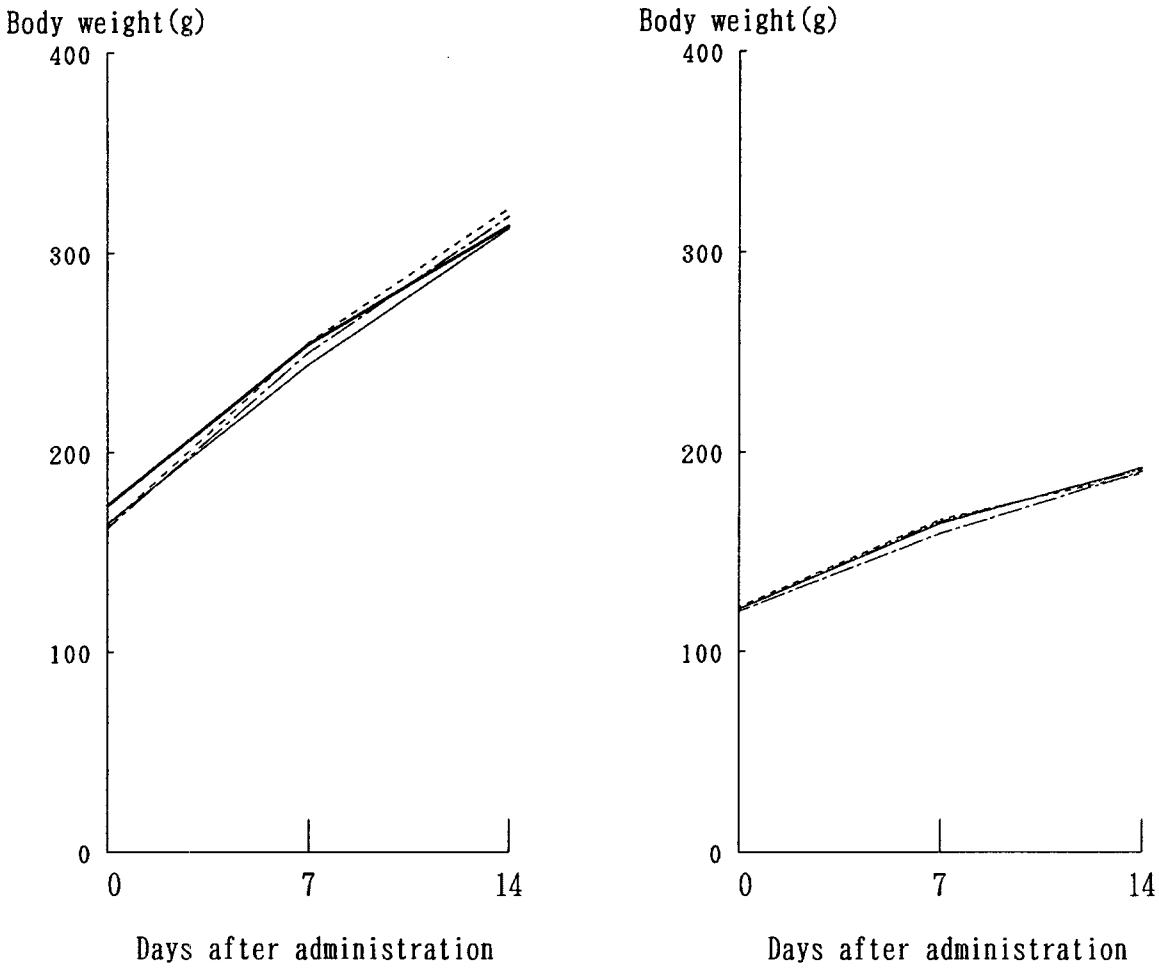


Fig. 1 Body weight (left : Male, right : Female)

—: 15 mg/kg
—: 21 mg/kg
···: 30 mg/kg
---: 42 mg/kg
----: 60 mg/kg

Table 1 Mortality

1L403

(Cumulative mortality / No. of test animals)

Sex	Dose (mg/kg)	Time after administration 5m	15m	30m	1h	3h	6h	Days after administration 1	2	3	4	5 ・・ 14d	Mortality rate (%)
Male	15	0/5	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→ 0/5	0
	21	0/5	→	→	1/5	→	→	→	→	→	→	→ 1/5	20
	30	0/5	1/5	2/5	3/5	→	→	→	→	→	→	→ 3/5	60
	42	0/5	1/5	3/5	→	→	→	→	→	→	→	→ 3/5	60
	60	0/5	2/5	3/5	5/5	→	→	→	→	→	→	→ 5/5	100
Female	21	0/5	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→ 0/5	0
	30	0/5	1/5	→	→	→	→	→	→	→	→	→ 1/5	20
	42	0/5	→	4/5	→	→	→	→	→	→	→	→ 4/5	80
	60	0/5	2/5	3/5	→	→	→	→	→	→	→	→ 3/5	60
	84	0/5	3/5	5/5	→	→	→	→	→	→	→	→ 5/5	100

m : minutes, h : hour(s), d : days.

Table 2-1 Clinical signs (Male) 1L403

(No. of animals with findings / No. of surviving animals)

Dose (mg/kg)	Clinical signs		Time after administration 5m	15m	30m	1h	3h	6h	Days after administration 1	2	3	4	5	−14d
15	Normal		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	−5/5
21	Decrease of locomotor activity	+	3/5	3/5										
		++	2/5	1/5										
		+++		1/5	1/5									
	Hypopnoea		3/5	2/5	1/5									
	Ataxic gait		2/5											
	Prone position			1/5	1/5									
	Tonic convulsion				1/5									
	Clonic convulsion				1/5									
	Normal		0/5	0/5	4/5	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	−4/
30	Decrease of locomotor activity	+			1/3		1/2							
		++	3/5	1/4		1/2								
		+++	2/5	3/4	2/3									
	Hypopnoea		5/5	4/4	3/3	2/2	1/2							
	Prone position		2/5	3/4	2/3									
	Tonic convulsion				1/3									
	Clonic convulsion		1/5		1/3									
	Normal		0/5	0/4	0/3	0/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	−2/2
42	Decrease of locomotor activity	+			1/2	2/2	1/2							
		++	2/5		1/2									
		+++	3/5	4/4										
	Hypopnoea		3/5	2/4	2/2	2/2	1/2							
	Prone position		3/5	4/4										
	Normal		0/5	0/4	0/2	0/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	−2/2
60	Decrease of locomotor activity	++	2/5											
		+++	3/5	3/3	2/2									
	Hypopnoea		5/5	3/3	2/2									
	Ataxic gait		1/5			AD								
	Prone position		3/5	3/3	2/2									
	Tonic convulsion			2/3	1/2									
	Clonic convulsion		2/5											
	Normal		0/5	0/3	0/2									

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, ++ : moderate, +++ : severe.
AD : all animals were dead.

(No. of animals with findings / No. of surviving animals)

Dose (mg/kg)	Clinical signs		Time after administration 5m	15m	30m	1h	3h	6h	Days after administration 1	2	3	4	5	−14d
21	Decrease of locomotor activity	+	2/5	3/5	2/5	1/5								
		++	3/5	1/5										
	Hypopnoea		1/5											
	Ataxic gait		3/5	3/5	2/5									
	Crouching		2/5	1/5										
	Normal		0/5	1/5	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	−5/5
30	Decrease of locomotor activity	+	2/5	2/4		1/4								
		++	2/5			1/4								
		+++	1/5	2/4	2/4									
	Hypopnoea		3/5	2/4	2/4	2/4								
	Ataxic gait		2/5											
	Prone position		1/5	2/4	2/4									
	Tonic convulsion		1/5											
	Normal		0/5	0/4	2/4	2/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	−4/4
42	Decrease of locomotor activity	++	1/5		1/1	1/1								
		+++	4/5	5/5										
	Hypopnoea		2/5	3/5	1/1									
	Gasping			2/5										
	Ataxic gait		1/5			1/1								
	Tiptoe gait						1/1							
	Crouching				1/1	1/1								
	Prone position		4/5	5/5										
	Tonic convulsion		1/5	3/5										
	Tremor				1/1									
	Normal		0/5	0/5	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	−1/1
60	Decrease of locomotor activity	+				2/2	2/2							
		++			1/2									
		+++	5/5	3/3	1/2									
	Hypopnoea		5/5	3/3	2/2		1/2							
	Gasping		1/5											
	Tiptoe gait						1/2							
	Crouching					2/2	1/2							
	Prone position		5/5	3/3	1/2									
	Tonic convulsion		2/5											
	Normal		0/5	0/3	0/2	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	−2/2

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, ++ : moderate, +++ : severe.

Table 2-2-2 Clinical signs (Female) 1L403

(No. of animals with findings / No. of surviving animals)

Dose (mg/kg)	Clinical signs		Time after administration 5m	15m	30m	1h	3h	6h	Days after administration 1	2	3	4	5	−14d
84	Decrease of locomotor activity	+++	5/5	2/2										
	Hypopnoea		5/5	2/2	AD									
	Gasping		2/5	1/2										
	Prone position		5/5	2/2										
	Tonic convulsion		5/5											
	Normal		0/5	0/2										

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, ++ : moderate, +++ : severe.
AD : all animals were dead.

Table 3 Mean body weight 1L403

Unit : g

Sex	Dose (mg/kg)		Days after administration 0	7	14
Male	15	Mean	173	254	313
		S. D.	7.4	13.3	14.5
		Number	5	5	5
	21	Mean	164	244	312
		S. D.	5.2	7.8	7.2
		Number	5	4	4
	30	Mean	163	255	322
		S. D.	5.8	10.6	12.0
		Number	5	2	2
	42	Mean	162	250	318
		S. D.	4.4	0.7	7.1
		Number	5	2	2
	60	Mean	163		
		S. D.	6.8	AD	
		Number	5		
Female	21	Mean	121	164	192
		S. D.	6.4	9.2	12.6
		Number	5	5	5
	30	Mean	122	166	189
		S. D.	10.0	17.3	15.8
		Number	5	4	4
	42	Mean	120	159	190
		S. D.	6.9	-	-
		Number	5	1	1
	60	Mean	121	165	191
		S. D.	4.5	7.8	7.1
		Number	5	2	2
	84	Mean	125		
		S. D.	3.4	AD	
		Number	5		

AD : all animals were dead.

Table 4 - 1 Autopsy findings (Male) 1L403

(No. of animals with findings / No. of animals examined)

	Organ : findings / Dose (mg/kg) :	15	21	30	42	60
Dead animals	Heart : dilatation of atrium	–	0/1	1/3	2/3	4/5
	Lung : focal hemorrhage	–	0/1	0/3	0/3	1/5
	Small intestine : congestion	–	1/1	1/3	0/3	1/5
	Normal	–	0/1	1/3	1/3	1/5
Surviving animals	Kidney: dilatation of the renal pelvis	0/5	1/4	0/2	0/2	–
	Normal	5/5	3/4	2/2	2/2	–

Table 4 - 2 Autopsy findings (Female)

(No. of animals with findings / No. of animals examined)

	Organ : findings / Dose (mg/kg) :	21	30	42	60	84
Dead animals	Heart : dilatation of atrium	–	1/1	2/4	2/3	2/5
	Lung : congestion/edema	–	1/1	0/4	0/3	0/5
	focal hemorrhage	–	1/1	0/4	0/3	3/5
	Trachea : mucus stagnation	–	0/1	0/4	0/3	2/5
	Small intestine : erosion/ulcer	–	0/1	0/4	0/3	1/5
	Normal	–	0/1	2/4	1/3	0/5
Surviving animals	Liver : hepatodiaphragmatic nodule	0/5	0/4	1/1	0/2	–
	Normal	5/5	4/4	0/1	2/2	–