

2-メチル-2-プロペンアミドのラットにおける
急性経口投与毒性試験
最終報告書

目 次

頁

表題、試験番号	1
要 約	2
緒 言	3
材料および方法	3
成 績	6
考 察	10
参考文献	12

Figures 添付

1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA
2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA

Tables 添付

1. Experimental design for acute oral toxicity test of MPA in rats
2. Mortality and LD50 of rats in acute oral toxicity test of MPA
3. General appearance of male rats in acute oral toxicity test of MPA
4. General appearance of female rats in acute oral toxicity test of MPA
5. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA
6. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA
7. Gross findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA
8. Gross findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA
9. Histopathological findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA
10. Histopathological findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA

要 約

2-メチル-2-プロペンアミド (CAS No. 79-39-0) の0 (対照群)、1315、1512、1739 および 2000 mg/kg を1群雌雄各5匹のCrj:CD(SD) IGS ラットに単回経口投与し、死亡状況、一般状態等を観察し、その毒性を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡は、雌雄いずれも 1512 mg/kg 以上の群で認められたが、雄では投与後 1~2 日に、雌では投与後 2 日に認められ、雄の方が死亡の発現が若干早かった。
2. 一般状態では、雌雄いずれも 1315 mg/kg 群では投与日に毒性徴候は認められなかったが、1512 mg/kg 以上の群では、雌雄いずれもよろめき歩行が認められた。また、多数例で雌雄いずれも投与後 1 日以降に振戦が認められ、流涎、過敏、口周囲被毛汚染も認められた。その他数例に立位 (前肢を上げ腰は床についた状態) あるいは受け皿上に橙黄色尿が認められた。
3. 体重では、雌雄いずれも各投与群で投与後 1 日に体重減少が認められ、雄では 1739 および 1512 mg/kg 群で投与後 14 日まで、雌では 1739、1512 および 1315 mg/kg 群で投与後 3~7 日まで、それぞれ対照群に対して有意な低値が継続した。しかし、雌雄いずれも投与後 3~5 日以降は体重増加がみられ、順調な回復傾向が認められた。
4. 剖検では、生存例で雄の 1512 および 1739 mg/kg 群の各 1 例に精巣の小型が認められたのみであった。
5. 病理組織学的検査では、1512 mg/kg 以上の群の生存例に精母細胞および精子細胞の減少する例が多数で認められ、精巣毒性が示唆された。また、各投与群の雌雄の多数例で中枢神経に変性・壊死が、1512 あるいは 1739 mg/kg 群では末梢神経に変性が認められ、神経毒性が示唆された。

以上のことから、本試験条件下での 2-メチル-2-プロペンアミドのラットにおける単回経口投与の LD₅₀ 値 (95%信頼限界) は、雄で 1789 (1559~2844) mg/kg、雌で 1774 (1575~2212) mg/kg であった。

緒 言

OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、2-メチル-2-プロペンアミド (CAS No. 79-39-0) をラットに単回経口投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を検討した。

なお、本試験は「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」(昭和59年3月31日環保業第39号環境庁企画調整局長・薬発第229号厚生省生活衛生局長・59基局第85号通商産業省基礎産業局長連名通知及び昭和63年11月18日同改正通知) に従い、試験方法は OECD 試験法ガイドライン「OECD Guideline for Testing of Chemicals; Acute Oral Toxicity (401)」(1987) に準拠した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、2-メチル-2-プロペンアミド (2-Methyl-2-propenamide、以下 MPA と略す、CAS No. 79-39-0、ロット番号：純度：99.5%) で、白色の結晶である。MPA は遮光気密容器に入れ、室温で保管した (Appendix 1~3)。なお、残余被験物質の安定性を製造業者が分析し、投与期間中の被験物質の安定性を確認した (Appendix 4)。

2. 被験物質の調製

MPA を精秤し、131.5、151.2、173.9 および 200.0 mg/ml の濃度となるように日本薬局方精製水 (ロット番号：7XT1、ヤクハン製薬株式会社) に溶解させた。調製液は、室温、遮光下で 24 時間安定である (Appendix 5) ことから、調製後直ちに遮光できる褐色瓶に入れて室温で保存し、調製後 24 時間以内に使用した。また、これらの調製液について、濃度確認試験を実施し、濃度範囲内にあることを確認した (Appendix 6)。

3. 対照物質

対照物質は被験物質の溶媒として用いた日本薬局方精製水 (ロット番号：7XT1、ヤクハン製薬株式会社) を用いた。

4. 試験系

生後4週齢のCrj:CD (SD) IGS ラット (SPF) の雌雄各29匹 (体重範囲: 雄; 78~90、雌; 73~81 g) を1998年3月4日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、雌雄とも7日間の検疫・馴化期間を設けた。

上述の検疫・馴化期間中、一般状態観察を1日1回および体重測定を2回実施し、それらの結果に異常がなく、順調な発育を示した雌雄各25匹を試験に用いた。

5. 飼育環境条件

動物は、温度22~24℃、湿度RH46~56%、換気回数10~15回/時間および照明時間12時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に制御されたバリアシステムの飼育室 (303号室) でブラケット式金属製金網床ケージ (260 W×380 D×180 H, mm) を用いて飼育し、群分け前は1ケージあたり4匹ないし5匹を収容し、群分け後は個別に飼育した。ケージの交換は群分け日に行った。

飼育室内の清掃および飼育室床面の清拭消毒は1日1回の頻度で行った。なお、消毒には塩素系消毒薬 (ヤクラックス, ヤクハン製薬株式会社) およびヨウ素系消毒薬 (ダイヤザン, 伊勢化学工業株式会社) を1週間単位で交互に使用した。

飼料は、 γ 線照射固型飼料 (CRF-1, Lot No. 971208、980110、オリエンタル酵母工業株式会社) を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水 (札幌市水道水) を自動給水装置を用いてそれぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は群分け日に1回、自動給水装置内の水抜きは週1回の頻度でそれぞれ実施した。

飼料の分析および検査について、財団法人日本食品分析センター (Appendix 7、8) およびオリエンタル酵母工業株式会社 (Appendix 9、10) に委託して実施した結果、飼料には試験に影響を及ぼす夾雑物の混入は認められなかった。

飲料水の水質検査について、日本衛生株式会社 (Appendix 11、12) に委託して実施した結果、試験に影響を及ぼす夾雑物の混入は認められなかった。

6. 群構成および投与量とその設定理由

群構成をTable 1に示す。

雌雄1群3匹のラットに1000、1150、1323、1521および1749 mg/kgの5用量を投与した予備試験を実施した結果、雌雄いずれも、最大耐量は1323 mg/kg、最小致死量は1521 mg/kgであった。雄については用量段階をさらに上に1段階、雌についてはさらに上に2ないし3段階を設けることによりLD₁₀₀が求められる可能性が考えられた。しかしながら、MPAの室温での溶解度の限界が200 mg/mlであることを考慮し、概略のLD₅₀値を求めるために2000 mg/kgを最高用量として公比1.15で計4群を設定し、これに日本薬局方精製水を投与する対照群を含めた5群を設定した。

7. 群分けおよび個体識別

群分けは、馴化期間の最終日（投与の前日）に各群の体重が均一になるように体重層別化無作為抽出法を用いて実施した。

動物の識別は、受け入れ時および群分け時に、油性フェルトペンを用いて尾部に群内個体識別を行った。また、各ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群および動物番号を明記して標示した。

8. 投与経路および投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドラインに従って経口投与とした。投与は生後 5 週齢に実施し、投与前に一夜絶食（約 17 時間）させた動物に対し、ラット用胃ゾンデを用いて強制的に胃内に単回投与した。投与容量は体重 1 kg 当たり 10 ml として投与日の体重に基づいて算出した。投与は午前 10 時前後に実施した。

なお、投与日の平均体重（体重範囲）は雄で 119.7 g（112～126 g）、雌で 102.9 g（96～110 g）であった。また、投与後約 4 時間を経過した時点で給餌を再開した。

9. 観察、測定および検査項目

以下の項目について実施した。なお、観察日数については投与日を 0 日と起算した。

(1) 一般状態観察

全例について、投与日は投与後 6 時間まで頻繁に、投与後 1 日以降は 1 日 1 回以上の頻度で投与後 14 日の剖検日まで観察した。視診、触診により行動、外観等を観察し、発現した症状について種類および観察時刻を記録した。なお、可能な限り、症状発現（あるいは発見）時刻と消失時刻を記録した。

(2) 体重測定

投与日の投与前、投与後 1、3、5、7、10 および 14 日に、電子天秤（ザルトリウス 1401B MP7-2、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。なお、死亡例は死亡時あるいは死亡発見時に測定した。得られた測定値から、体重増加量 $[(14 \text{ 日体重}) - (0 \text{ 日体重})]$ および体重増加率 $[(\text{体重増加量}) / (0 \text{ 日体重}) \times 100]$ を算出した。

(3) 剖検

全例について、死亡例は発見後直ちに、生存例は投与後 14 日に体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。なお、精巣および精巣上体の固定にはブアン液を、保存には 70% エタノールを使用した。

器官・組織：肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、胃（前胃・腺胃・幽門部）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、坐骨神経、腓腹筋、精巣、精巣上体および卵巣

(4) 病理組織学的検査

死亡例および生存例について、雌雄の各群からそれぞれ1例あるいは2例を番号の順に選び、剖検時に採取し、固定・保存した器官・組織について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。また、上記の観察例以外に肉眼的に異常が認められた1例の精巣（No. 404）についても同様に実施した。

10. 統計学的評価

雌雄の動物数および死亡動物数を用いて、probit 法により LD_{50} 値およびその 95%信頼限界を算出した。

体重、体重増加量および体重増加率について、Bartlett の検定法によって等分散性を解析した。その結果、等分散 ($p > 0.05$) を示した場合は、一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合 ($p \leq 0.10$) には、Dunnett の検定法により対照群と他群との比較を行った。不等分散 ($p \leq 0.05$) を示した場合は、Kruskal-Wallis 法で解析し、有意な場合 ($p \leq 0.10$) には、Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。なお、対照群との検定については、危険率 5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 死亡状況および LD_{50} 値

死亡状況および LD_{50} 値（95%信頼限界）を Table 2 に示す。

雄：1512 mg/kg 以上の群で、投与後 1 および 2 日に死亡例が認められた。死亡例数は、1512、1739 および 2000 mg/kg の各群について、それぞれ 2、1 および 4 例であった。

雌：1512 mg/kg 以上の群で、投与後 2 日に死亡例が認められた。死亡例数は、1512、1739 および 2000 mg/kg の各群について、それぞれ 1、2 および 4 例であった。

雌雄いずれも最大耐量は 1315 mg/kg、最小致死量は 1512 mg/kg であった。 LD_{50} 値（95%信頼限界）は probit 法により、雄で 1789 (1559~2844) mg/kg、雌で 1774 (1575~2212) mg/kg であった。

2. 一般状態

一般状態の成績を Table 3、4、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-2-5 に示す。

雄：2000 mg/kg 群では、投与後 1 時間以内に全例によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日には全例に振戦が認められ、1 例 (No. 502) には振戦に加え、流涎、過敏ならびに立位（前肢を上げ腰は床についた状態）も認められた。この例を含めた 4 例は、翌日（投与後 2 日）の朝に死亡が確認された。残りの 1 例 (No. 503) は、投与後 4 日まで振戦が認められたが、その後回復し、観察期間中を生存した。

1739 mg/kg 群では、投与後 1 時間 30 分に 5 例中の 1 例 (No. 404) によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日には全例に振戦が認められ、2 例 (No. 404、405) には振戦に加え、口周囲被毛汚染も認められた。この 2 例中 1 例 (No. 405) は午後に死亡した。残りの 4 例には、投与後 2 日以降も振戦が認められ、1 例 (No. 402) には投与後 2 日に過敏も認められたが、徐々に回復し、投与後 10 日以降には 4 例ともに異常は認められず、観察期間中を生存した。

1512 mg/kg 群では、投与後 3 時間あるいは 4 時間以降に 5 例中 2 例 (No. 301、302) によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日には 5 例中 3 例 (No. 301、302、305) に振戦が認められ、この 3 例中 1 例 (No. 301) には振戦に加え、流涎および立位も認められ、午後に死亡した。もう 1 例 (No. 305) も振戦に加え、口周囲被毛汚染が認められ、午後に死亡した。残りの 1 例 (No. 302) には、振戦に加え、流涎、立位および過敏も認められたが、投与後 5 日までの間に徐々に回復し、投与後 6 日以降は異常が認められなかった。投与後 1 日に振戦の認められなかった 2 例中 1 例 (No. 304) には、投与後 2～4 日に振戦が認められたが、残りの 1 例 (No. 303) と同様に観察期間中を生存した。

1315 mg/kg 群では、5 例中 1 例 (No. 201) に投与後 3 および 4 日に振戦が認められたが、それ以外には異常は認められず、全例が観察期間中を生存した。

なお、対照群では、投与日を含め観察期間中に異常は認められなかった。

雌：2000 mg/kg 群では、投与後 1 時間に全例によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日には全例に振戦が認められた。3 例 (No. 553、554、555) には振戦に加え、口周囲被毛汚染も認められ、この 3 例中 1 例 (No. 555) で受け皿上に橙黄色尿も認められた。5 例中 3 例 (No. 551、553、555) が、投与後 2 日の朝に死亡が確認された。残りの 2 例は、いずれも投与後 2 日に振戦が認められ、1 例 (No. 552) は午後に死亡し、もう 1 例 (No. 554) は投与後 7 日まで振戦を示したが、その後は異

常が認められず、観察期間中を生存した。

1739 mg/kg 群では、投与後 1 時間に全例によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日に 3 例 (No. 452、454、455) に振戦が、1 例 (No. 453) に口周囲被毛汚染が認められ、この 4 例中 2 例 (No. 452、454) は投与後 2 日の朝に死亡が確認された。残りの 3 例には投与後 2 日から最長投与後 10 日まで振戦が認められ、1 例 (No. 451) には振戦に加えて過敏も認められたが、徐々に回復し、投与後 11 日以降には 3 例とも異常は認められず、観察期間中を生存した。

1512 mg/kg 群では、投与後 1 時間あるいは 4 時間以降に 5 例中 4 例によるめき歩行が認められ、投与後 6 時間まで継続したが、その他の症候は発現しなかった。投与後 1 日には全例に振戦が認められ、2 例 (No. 351、355) には振戦に加え、口周囲被毛汚染が認められ、この 2 例中 1 例 (No. 355) は投与後 2 日の朝に死亡が確認された。残りの 4 例には、投与後 2～4 日に振戦が認められたものの投与後 5 日以降には異常が認められず、観察期間中を生存した。

1315 mg/kg 群では、投与後 2～6 日に 1 例 (No. 251) に振戦が認められ、もう 1 例 (No. 255) には投与後 2 および 3 日に振戦が認められた。その他の 3 例には変化が認められず、全例とも観察期間中を生存した。

なお、対照群では、投与日を含め観察期間中に異常は認められなかった。

3. 体重推移

体重推移を Table 5、6、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-2-5 に示す。

雄：各投与群とも投与後 1 日に体重減少がみられ、対照群に対して有意差が認められた。1739 および 1512 mg/kg 群では、投与後 14 日まで対照群に対して有意な体重の低値が認められたが、投与後 5 日以降の体重増加量には順調な回復傾向が認められた。1315 mg/kg 群では、投与後 3 日まで有意な体重増加抑制が認められたが、投与後 5 日以降は順調な体重増加が認められた。

雌：各投与群とも投与後 1 日に体重減少がみられ、対照群に対して有意差が認められた。この有意差は 1739 mg/kg 群では投与後 7 日、1512 mg/kg 群では投与後 5 日、1315 mg/kg 群では投与後 3 日まで認められたが、各投与群ともその後は対照群に対して有意差はなく、投与後 14 日までそれぞれ順調な体重増加が認められた。

4. 剖検

剖検所見を Table 7、8、INDIVIDUAL DATA 3-1～3-5 に示す。

雄：死亡例には、各投与群で異常は認められなかった。

生存例には、1739 および 1512 mg/kg 群の各 1 例 (No. 302、404) に精巣の小型が認められたが、その他の群では異常は認められなかった。

雌：死亡例、生存例いずれにも各投与群で異常は認められなかった。

5. 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Table 9、10、Photo H-1～H-15、INDIVIDUAL DATA 4-1～4-2 に示す。

[死亡例]

雄：2000 mg/kg 群の 2 例 (No. 501、502) で脾臓に萎縮が軽度認められた。また、1512 mg/kg 以上の群の全検査例 (No. 301、305、405、501、502) で精巣に step 1 精子細胞の変性／壊死が中等度に認められた。その他の器官・組織には全投与群で変化は認められなかった。

雌：1512 mg/kg 以上の群の全検査例 (No. 355、452、454、551、552) で脾臓に萎縮が軽度認められた。その他の器官・組織には全投与群で変化は認められなかった。

[生存例]

雄：1512 mg/kg 以上の群の全検査例 6 例 (No. 302、303、401、402、404、503) 中 4 例 (No. 302、402、404、503) で、精巣に精細管内多核巨細胞が軽度に、精細管の stage VII～XII のパキテン期精母細胞の減少が軽度～中等度に、elongate 精子細胞の減少が中等度に認められ、3 例 (No. 302、402、503) で、精巣上体に精子減少が中等度に認められた。また、1739 mg/kg 以上の群の 2 例 (No. 402、503) で、精巣上体に腔内細胞残屑が軽度認められた。

大脳に 1512 mg/kg 群の 1 例 (No. 302) で海馬における神経細胞の壊死が中等度に、海馬におけるグリオーシスが軽度に、また、扁桃核における神経細胞の壊死が軽度認められた。小脳に 1315 mg/kg 以上の群の検査例 8 例 (No. 201、202、302、303、401、402、503) 中 5 例 (No. 201、202、302、402、503) で小脳核における神経細胞の壊死が軽度に、1512 および 1739 mg/kg 群の 2 例 (No. 302、402) でプルキンエ細胞の壊死が軽度に、1512 mg/kg 群の 1 例 (No. 302) で分子層の空胞変性が軽度認められた。また、同例では坐骨神経に神経線維の変性が軽度認められた。

その他の器官・組織には全投与群で変化は認められなかった。

雌：小脳に 1315 mg/kg 以上の群の検査例 7 例 (No. 251、252、351、352、451、453、554) 中 6 例 (No. 251、351、352、451、453、554) で小脳核における神経細胞の壊死が軽度認められた。1739 mg/kg 群の 1 例 (No. 451) ではプルキンエ細胞の壊死が軽度認められ、同群の 2 例 (No. 451、453) では坐骨神経に神経線維の変性も軽度認められた。

考 察

2-メチル-2-プロペンアミドをラットに単回経口投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を検討した。

雌雄いずれも MPA の単回投与により、雄では投与後 1～2 日に、雌では投与後 2 日に、1512 mg/kg 以上の群で死亡が認められ、雄の方が死亡の発現が若干早かった。しかし、最大耐量および最小致死量に雌雄の差はなく、LD₅₀ 値 (95%信頼限界) も雄で 1789 (1559～2844) mg/kg、雌で 1774 (1575～2212) mg/kg とほぼ同じであり、性差はないものと考えられた。

一般状態では、雌雄いずれも 1315 mg/kg 群で投与日に毒性徴候は認められず、1512 mg/kg 以上の群で、雌雄ともによろめき歩行が認められた。死亡例のみに認められた毒性徴候はなかったが、多くの例で雌雄いずれも投与後 1 日以降に振戦、流涎、過敏、口周囲被毛汚染が認められた。これらの症候はその他少数例に認められた立位 (前肢を上げ腰は床についた状態) も含めて神経症状あるいは神経症状に起因するものと考えられた。一方、2000 mg/kg 群の雌 1 例にのみ認められた受け皿上の橙黄色尿については、腎臓に病理組織学的変化がなく、原因を特定することは出来なかった。

体重では、雌雄いずれも各投与群で投与後 1 日に体重減少が認められ、1512 mg/kg 以上の群では投与後 5 日に体重の回復傾向が認められ、投与後 5 日以降の体重増加量は対照群と同程度かあるいは対照群を上回るものであった。MPA の体重に対する影響は投与後の 1～3 日に認められ、その後回復する傾向を示し、この傾向は雄よりも雌の方がより速やかであった。

剖検では、死亡例には変化が認められなかったが、生存例には雄の 1512 および 1739 mg/kg 群の各 1 例に精巣の小型が認められた。病理組織学的検査で、精巣の小型の認められた精巣も含めて死亡例・生存例いずれにも精巣の変化が認められた。死亡例については精巣に step 1 精子細胞の変性/壊死が認められ、生存例については精細管内多核巨細胞、stage VII～X II のパキテン期精母細胞および elongate 精子細胞の減少が認められた。多核巨細胞は減数分裂期における分裂異常によって生じるものと考えられている¹⁾ことから、減数分裂期前後の精細胞が障害されたと考えられた。また、elongate 精子細胞の減少も、減数分裂期の精細胞が障害された結果と推察された。パキテン期精母細胞の減少については、死亡例において、精母細胞の障害を示唆する所見が認められていないことから、MPA の直接の障害かあるいは二次的なものかについて明らかでなかった。MPA にはマウスの生殖器官に対する毒性はないと報告されている²⁾が、今回の精巣の変化は、ラットにおける MPA の精巣毒性を示唆するものと考えられた。しかし、雌については生殖器官に対する毒性は認

められなかった。

一方、1512 mg/kg 以上の群の生存例で、神経組織、特に中枢神経組織の壊死あるいは変性等の変化が認められ、アクリルアミドについても短期間かつ大量の投与により発現するとの報告があること³⁾、MPA がアクリルアミドの類縁物質であることの2点からアクリルアミドと同様に中枢神経を障害したものと考えられた。海馬における神経細胞の壊死については、脳の虚血に起因して起こるとの報告があり^{4) 5)}、本試験においては1512 mg/kg 群の1例 (No. 302) のみに認められた変化であった。一方、本試験において末梢神経の変化は1512 あるいは1739 mg/kg 群の少数例にのみ認められた。MPA の神経毒性はアクリルアミドに比べると弱いとの報告があり²⁾、アクリルアミドの短期間かつ大量投与時の神経毒性が、末梢神経よりも中枢神経に強い変化をもたらすことが知られている³⁾。これらのことから、MPA の場合にもアクリルアミドと同様に末梢神経よりも中枢神経に強い変化を起こしたものと推察された。

脾臓の萎縮に関しては死亡例のみに認められている変化であることから、死亡に至る強度の侵襲および衰弱による二次的な変化と考えられた。

以上のことから、MPA をラットに単回経口投与することにより、よろめき歩行および振戦を主とする神経症状および一過性の体重減少が認められ、病理組織学的検査で精巣毒性および神経毒性が示唆された。

参考文献

- 1) 高橋道人、三森国敏、古川文夫、井上実、松井元. 1994. 精巣の毒性変化、精子細胞の巨細胞化. *In* 高橋道人 (編). 精巣毒性評価のための精細管アトラス—ラット、マウス、イヌ—。ソフトサイエンス社. 東京.
- 2) Hashimoto, K., J. Sakamoto, and H. Tanii. 1981. Neurotoxicity of Acrylamide and Related Compounds and Their Effects on Male Gonads in Mice. *Arch. Toxicol.* 47. 179-189.
- 3) O'Shaughnessy, D. J. and G. J. Losos. 1986. Comparison of Central and Peripheral Nervous System Lesions Caused by High-Dose Short-Term and Low-Dose Subchronic Acrylamide Treatment in Rats. *Toxicol. Pathol.* 14. 389-394.
- 4) Brown, A. W. and J. B. Brierley. 1968. The nature, Distribution and Earliest Stages of Anoxic-ischaemic Nerve Cell Damage in the Rat Brain as Defined by the Optical Microscope. *Br. J. Exp. Pathol.* 49. 87-106.
- 5) Takeshita, M., K. Doi, K. Imaizumi and T. Mitsuoka. 1989. Initial Lesions in the Mouse Brain Induced by Intra-peritoneal Injection of Hypertonic Saline. *Exp. Anim.* 38. 31-39.

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA

Figure 2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA

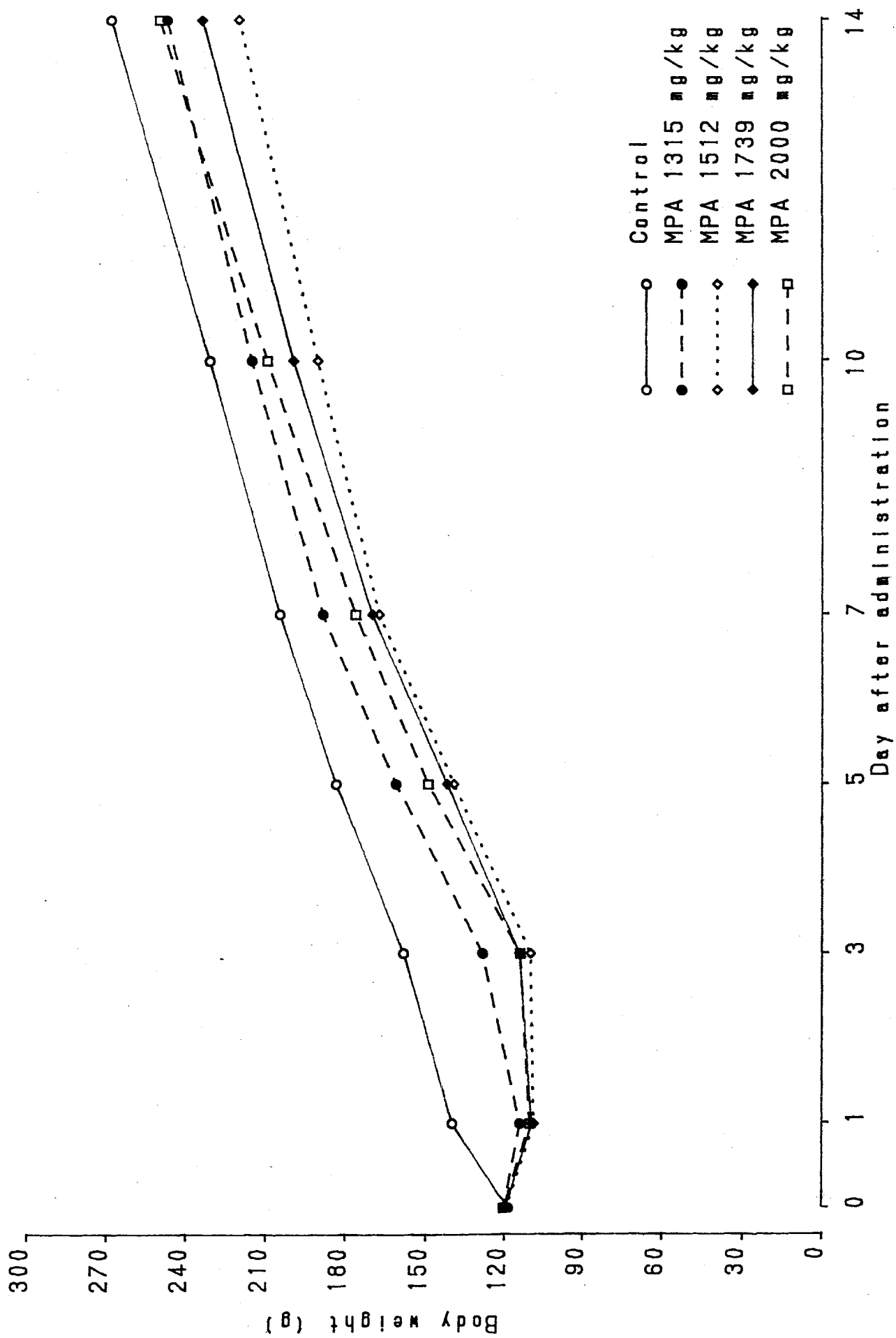


Figure 1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

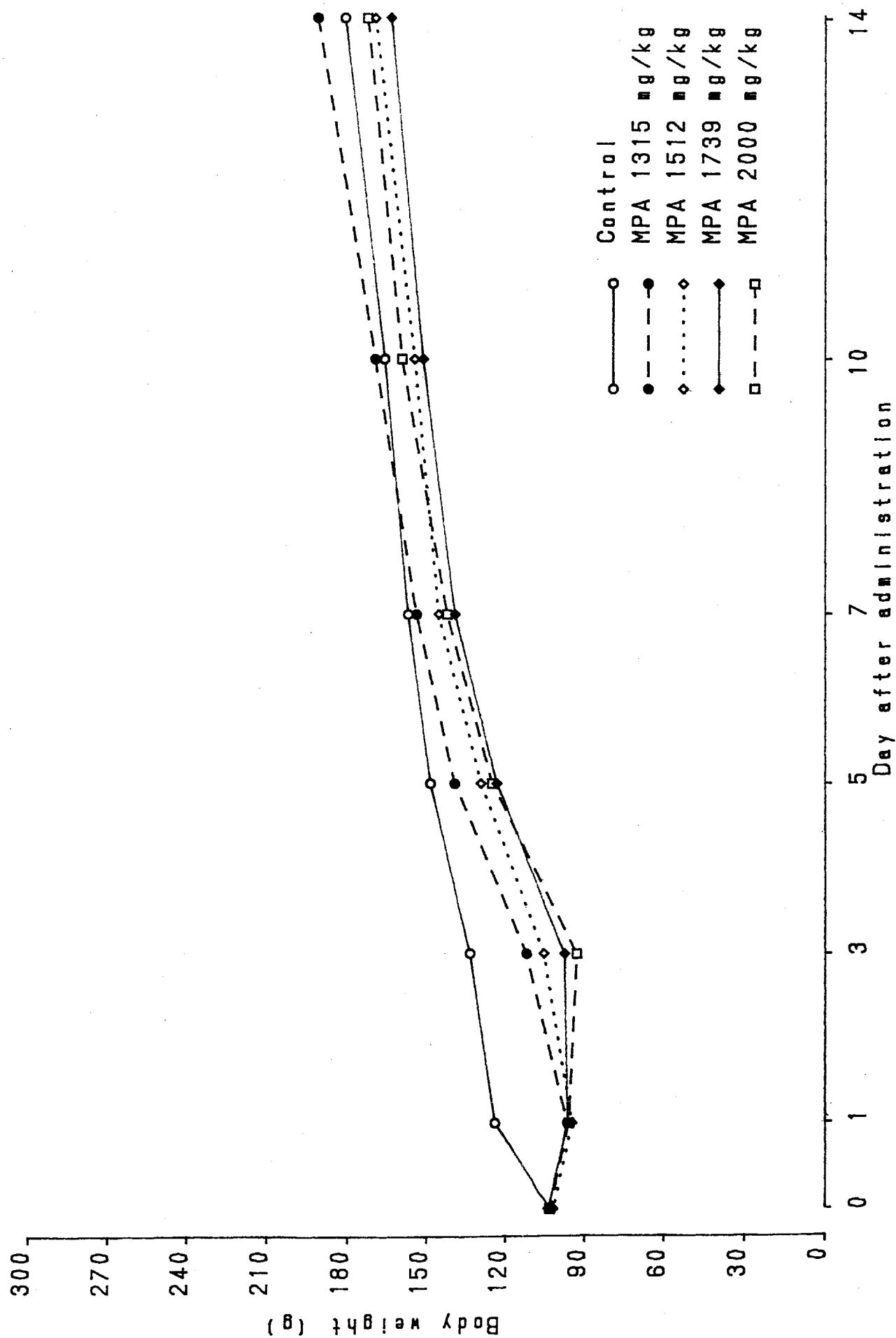


Figure 2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Tables

- Table 1. Experimental design for acute oral toxicity test of MPA in rats
- Table 2. Mortality and LD50 of rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 3. General appearance of male rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 4. General appearance of female rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 5. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 6. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 7. Gross findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 8. Gross findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 9. Histopathological findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA
- Table 10. Histopathological findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA

Table 1. Experimental design for acute oral toxicity test of MPA in rats (SR-9776)

Sex	Group	Concentration of MPA mg/ml	Volume mL/kg	No. of animals ^a
Male	^b Control	0.0	10	5
	^c MPA 1315 mg/kg	131.5	10	5
	MPA 1512 mg/kg	151.2	10	5
	MPA 1739 mg/kg	173.9	10	5
	MPA 2000 mg/kg	200.0	10	5
Female	Control	0.0	10	5
	MPA 1315 mg/kg	131.5	10	5
	MPA 1512 mg/kg	151.2	10	5
	MPA 1739 mg/kg	173.9	10	5
	MPA 2000 mg/kg	200.0	10	5

a: Crj:CD(SD)IGS rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Control rats were dosed with purified water.

c: MPA (2-Methyl-2-propenamide) was dissolved in purified water.

Table 2. Mortality and LD50 of rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Sex	Group	Distribution of dead animals														Mortality	LD50 value (95% confidence limit)
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14 ^a	
Male	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	MPA 1315 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	MPA 1512 mg/kg	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5
	MPA 1739 mg/kg	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5
	MPA 2000 mg/kg	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/5
Female	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	MPA 1315 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	MPA 1512 mg/kg	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5
	MPA 1739 mg/kg	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5
	MPA 2000 mg/kg	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/5

a: Day after administration.

b: No. of dead animals / no. of animals dosed.

Table 3. General appearance of male rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

[illegible]

Table 4. General appearance of female rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

[illegible]

Table 5. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	% a
Control	5	b								
		118.6	140.0	158.2	183.2	204.4	230.6	267.2	148.600	125.216
		2.8	5.8	4.5	5.8	7.4	9.5	11.5	8.792	4.822
MPA 1315 mg/kg	5	120.4	114.2**	128.2**	161.0	188.2	214.8	246.2	125.800	104.532
		3.6	8.4	6.5	7.9	7.5	5.5	9.9	8.585	7.352
MPA 1512 mg/kg	5			(3)c	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
		119.4	108.8**	110.0*	139.3**	167.3**	190.0*	219.3**	100.333**	84.447**
		5.0	4.7	26.9	27.3	23.1	31.2	27.3	27.683	24.225
MPA 1739 mg/kg	5			(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		119.8	109.6**	114.3*	141.8**	169.8**	199.3*	233.0*	114.000*	95.688*
		4.0	3.6	8.0	9.8	11.7	18.5	22.6	20.607	16.512
MPA 2000 mg/kg	5			(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
		120.4	110.4**	114.0	149.0	176.0	209.0	249.0	125.000	100.810
		5.2	6.7							

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 6. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	% a
Control	5	b								
		103.0 3.4	124.0 5.3	133.4 6.3	148.4 8.1	156.8 8.0	165.6 10.8	180.4 13.5	77.400 10.644	74.998 8.512
MPA 1315 mg/kg	5	102.8 3.2	96.6** 3.5	112.0** 5.4	139.2 7.4	153.6 9.5	169.2 14.0	190.6 19.2	87.800 17.908	85.322 16.788
				(4)c	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
MPA 1512 mg/kg	5	101.8 4.7	94.8** 2.6	105.5** 3.3	129.3** 4.9	145.3 6.2	154.3 11.6	169.0 20.0	68.500 19.841	68.288 20.159
				(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
MPA 1739 mg/kg	5	103.8 5.5	96.4** 6.1	97.7** 7.4	123.3** 6.1	139.0* 10.4	151.0 8.7	163.0 11.4	58.000 9.165	55.360 9.114
				(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
MPA 2000 mg/kg	5	103.2 4.7	96.0** 3.9	93.0	125.0	142.0	159.0	172.0	64.000	59.260

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

**: Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 7. Gross findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Item	MPA (mg/kg)				
	Control	1315	1512	1739	2000
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5
No. of dead animals examined	0	0	2	1	4
Abnormal findings	a -	-	b 0	0	0
No. of surviving animals examined	5	5	3	4	1
Organ : Findings					
Testis : Small size	0	0	1	1	0

a: - = blank value.

b: Values are no. of animals with findings.

Table 8. Gross findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Item	MPA (mg/kg)				
	Control	1315	1512	1739	2000
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5
No. of dead animals examined	0	0	1	2	4
Abnormal findings	a		b		
	-	-	0	0	0
No. of surviving animals examined	5	5	4	3	1
Abnormal findings	0	0	0	0	0

a: - = blank value.

b: Values are no. of animals with findings.

Table 9. Histopathological findings of male rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Item	MPA (mg/kg)				
	Control	1315	1512	1739	2000
Total no. of animals examined	2	2	4	4	3
No. of dead animals examined	0	0	2	1	2
Organ : Findings					
Testis : Degeneration/necrosis, step 1 spermatid	++	-	2	1	2
Spleen : Atrophy	+	-	0	0	2
No. of surviving animals examined	2	2	2	3	1
Organ : Findings					
Testis : Multinuclear giant cell, seminiferous tubule	+	0	0	2	1
Decrease, pachytene spermatocyte, stage VII - XII	Total	0	1	2	1
	+	0	0	1	0
	++	0	1	1	1
Decrease, elongate spermatid	++	0	1	2	1
Epididymis : Cell debris, lumen	+	0	0	1(2)	1
Decrease, sperm	++	0	1	1(2)	1
Cerebrum : Necrosis, neuronal, hippocampus	++	0	1	0(2)	0
Gliosis, hippocampus	+	0	1	0(2)	0
Necrosis, neuronal, amygdaloid nucleus	+	0	1	0(2)	0
Cerebellum : Necrosis, neuronal, cerebellar nucleus	+	0	1	1(2)	1
Necrosis, Purkinje's cell	+	0	1	1(2)	0
Degeneration, vacuolar, molecular layer	+	0	1	0(2)	0
Sciatic nerve : Degeneration, nerve fiber	+	0	1	0(2)	0

a: There were no abnormal findings in the lung, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, liver, heart, kidney, epididymis, cerebrum, cerebellum, sciatic nerve or gastrocnemius muscle.

b: + = slight and ++ = moderate change. c: - = blank value. d: Values are no. of animals with findings.

e: There were no abnormal findings in the lung, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, liver, heart, kidney, spleen or gastrocnemius muscle.

f: Values in parentheses are no. of animals examined.

Table 10. Histopathological findings of female rats in acute oral toxicity test of MPA (SR-9776)

Item		Control	MPA (mg/kg)			
			1315	1512	1739	2000
Total no. of animals examined		2	2	3	4	3
No. of dead animals examined		0	0	1	2	2
Organ : Findings						
	^a					
	^b					
	Grade	^c		^d		
Spleen : Atrophy	+	-	-	1	2	2
No. of surviving animals examined		2	2	2	2	1
Organ : Findings						
	^e					
Cerebellum : Necrosis, neuronal, cerebellar nucleus	+	0	1	2	2	1
Necrosis, Purkinje's cell	+	0	0	0	1	0
Sciatic nerve : Degeneration, nerve fiber	+	0	0	0	2	0

a: There were no abnormal findings in the lung, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, liver, heart, kidney, ovary, cerebrum, cerebellum, sciatic nerve or gastrocnemius muscle.

b: + = slight change.

c: - = blank value.

d: Values are no. of animals with findings.

e: There were no abnormal findings in the lung, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, liver, heart, kidney, ovary, cerebrum, spleen or gastrocnemius muscle.