BOZO RESEARCH CENTER INC.

最終報告書

アセナフテンのラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B－3153

株式会社ボゾリサーチセンター

目　次

	頁
要　約	1
緒　言	2
試験材料および方法	
1．被験物質および被験液の調製	3
1）被験物質	3
2）対照液および被験液の調製	3
(1) 対照液（溶媒）の調製および保存方法	3
(2) 被験液の調製および保存方法	4
3）被験液の安定性	4
4）被験液の濃度および均一性の確認	4
2．試験動物	4
3．飼育条件	4
4．投与経路、投与量、投与方法および群構成	5
1）予備試験	5
2）本試験	5
5．検査方法	6
1）一般状態および生死の観察	6
2）体重測定	6
3）病理学検査	6
6．統計処理	6
試験結果	
1．死亡状況および致死量	7
2．一般状態	7
3．体重	7
4．剖検	7

頁

考　察　8

Figure and Tables

Fig. 1	Body weight
Table 1	Mortality and lethal dose
Table 2－1、2－2	Clinical signs
Table 3－1、3－2	Body weight
Table 4－1、4－2	Gross pathological findings

要　約

６週齢のＣｒｊ：ＣＤ（ＳＤ）系ＳＰＦラットを用いて、アセナフテンの経口投与による急性毒性を検討した。投与量は０（０.５%メチルセルロース水溶液：対照群）、1000および2000mg／kgとし、ラットに単回強制経口投与した。１群の動物数は各群とも雌雄各５匹とした。

１．致死量

雌雄ともに最大投与量の2000mg／kgで死亡はみられず、致死量は2000mg／kgを上回ると推定された。

２．一般状態

いずれの動物にも異常はみられなかった。

３．体重

各群の体重は、対照群とほぼ同様に推移した。

４．剖検

いずれの動物にも異常はみられなかった。

以上の如く、アセナフテンをラットに単回経口投与した場合、致死量は2000mg／kgを上回ると推定された。また、一般状態、体重および剖検のいずれにおいても被験物質投与の影響は認められなかったことから、アセナフテンの経口投与時の急性毒性は極めて弱いものと考えられた。

緒　言

アセナフテンは、コールタール中に存在する芳香族の縮合環炭化水素で、染料の中間生成物あるいはプラスチック、殺虫剤および防黴剤の製造に広く使用されている。

今回、厚生省生活衛生局の依頼により、アセナフテンをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに単回経口投与したときの影響を調べたのでその成績を報告する。

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ついて」（〔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基準〕、一部改正〔昭和63年11月18日；環企研第 233号、衛生第38号、63基局第 823号〕）に定める「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」および「新規化合物質に係る試験の方法について」の一部改正等について（昭和61年12月 5日；環保業第 700号環境庁企画調整局長、薬発第1039号厚生省薬務局長、61基局第1014号通商産業省基礎産業局長連名通知）（以下「化審法ガイドライン」という）に準拠し実施した。

試験材料および方法

1．被験物質および被験液の調製

1）被験物質

アセナフテンは以下の情報とともに、

から提供された。

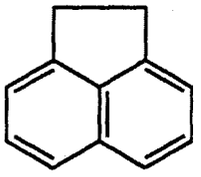
製　造　者　：

名　　称　：　アセナフテン

（ＣＡＳ番号：８３－３２－９）

構造式または示性式

：



ロット番号　：

純　　度　：　99.9%

性　　状　：　淡黄色結晶

分 子 量　：　154.21

融　　点　：　９４℃

沸　　点　：　２７９℃

保存方法　：　冷蔵

安 定 性　：　返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中は安定であったことが確認された。

なお、動物試験終了後の残余の被験物質は全量を２８日間反復投与毒性試験に用いた。

2）対照液および被験液の調製

(1) 対照液（溶媒）の調製および保存方法

必要量のメチルセルロース（メチルセルロース4000cps 、片山化学工業株式会社、Ｌｏｔ　No.９０４３）を秤量し、最終調製量の約８割の注射用水（日本薬局方、株式会社大塚製薬工場、Ｌot　No.５Ｇ９５）を加えて分散させ、冷蔵庫で冷やして完全に溶解させたのち注射用水をさらに加えて規定量とし、 0.5%メチルセルロ

ース水溶液を調製した。調製は本試験の投与日の７日前に行い、使用時まで冷蔵庫（約４℃）に保存した。

(2) 被験液の調製および保存方法

投与容量が10mℓ／kg体重となるよう、各濃度毎に必要な被験物質を秤取し、乳鉢を用いて溶媒に懸濁して調製した。被験液の調製は本試験の投与日の４日前に行い、褐色ガラス瓶にいれ、使用時まで冷蔵庫（約４℃）に保存した。

３）被験液の安定性

0.2～20%懸濁液は、室温・遮光（褐色ガラス瓶）で１日間および冷蔵（約４℃）・遮光（褐色ガラス瓶）で８日間まで安定である（添付資料　１、２）。

４）被験液の濃度および均一性の確認

本投与に用いた各濃度液について、株式会社ボゾリサーチセンターで測定した結果、表示値に対する割合は 103～ 105%、また、変動係数（ＣＶ）は 1.0～ 1.1%の範囲内であり、いずれも適正濃度でかつ均一であることが確認された（添付資料　３）。

２．試験動物

Ｃｒｊ：ＣＤ（ＳＤ）系ＳＰＦラット（日本チャールス・リバー株式会社）の雌雄各３５匹[注] を５週齢で購入し、当所で約１週間検疫・馴化飼育した後、健康な動物を選び６週齢で試験に供した。投与日の体重範囲は雄で 163～177g（平均値：170.3g）、雌で 136～146g（平均値：141.1g）であり、いずれの動物の体重も平均値±２０%以内であった。

動物は、投与３日前の体重により層別化し、無作為抽出法により各群の平均体重ができるだけ均等となるように割りつけた。動物の個体識別は尾に油性インクで印をつけて行い、ケージには試験番号、投与経路、投与量、投与日、性および動物番号を明記し、投与量ごとに色分けしたケージラベルをつけて表示した。なお、余剰動物は、投与後３日にエーテル麻酔により安楽死させた。

注：注文匹数は試験計画書に従い５週齢の雌雄各３５匹であったが、実際には雌雄それぞれ３６匹が納入された。

３．飼育条件

動物は温度２３±３℃、相対湿度５０±２０%、換気回数１時間当り１０～１５回、照明１日１２時間（午前７時～午後７時）の飼育室（６０６号室）で飼育した。動物は金属製網ケージ（Ｗ 190×Ｄ 350×Ｈ 170mm：リードエンジニアリング株式会社）に２～３匹

ずつ収容し、固型飼料（放射線滅菌ＣＲＦ－１：オリエンタル酵母工業株式会社）および飲料水（御殿場市営水道水：自動給水）を自由に摂取させて飼育した。飼料中の汚染物質に関しては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで実施した分析データを入手し、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の検査を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年４回）に依頼し、得られたデータを入手してそれぞれ異常のないことを確認して保管した。

４．投与経路、投与量、投与方法および群構成

投与経路は、「化審法ガイドライン」に準じて経口投与を選択した。

１）予備試験

予備試験は検疫・馴化期間中に雌雄各９匹を用いて実施した。

投与量は、 500、1000および2000mg／kgとし、投与前約１６時間絶食させたラットに、所定濃度の被験液を１㎖／100g体重の容量で、金属製胃ゾンデを用いて１回強制経口投与した。投与量および使用動物数は次の通りである。なお、投与後の給餌は投与後６時間に実施し、給水は投与に関係なく継続して行った。

投与量 （mg／kg）	投与容量 （㎖／100g体重）	性	動物数
500	1	雄 雌	3 3
1000	1	雄 雌	3 3
2000	1	雄 雌	3 3

２）本試験

予備試験の結果（Ａppendix １）、雌雄いずれの投与群でも死亡はみられなかった。したがって、本試験では雌雄ともに1000および2000mg／kgの２用量群を設定し、これに対照群を加えて計３群を用いた。動物は、投与前に約１６時間絶食させたのち、所定濃度の被験液を１㎖／100g体重の容量で、金属製胃ゾンデを用いて１回強制経口投与をした。対照群の動物には溶媒（ 0.5%メチルセルロース溶液）を同様に投与した。

１群の動物数は雌雄とも５匹とした。以下に群構成を示す。なお、投与後の給餌は投与６時間後に実施し、給水は投与に関係なく継続して行った。

投与量 (mg／kg)	被験液濃度 (mg／mℓ)	投与容量 (mℓ／100g体重)	性	動物数	動物番号
0	0	1	雄	5	1001～1005
			雌	5	1101～1105
1000	10	1	雄	5	2001～2005
			雌	5	2101～2105
2000	20	1	雄	5	3001～3005
			雌	5	3101～3105

５．検査方法

１）一般状態および生死の観察

投与後６時間までは頻繁に、その後は１日１回（午前中）１４日間にわたって動物の生死および一般状態の観察を行った。

２）体重測定

投与直前に体重を測定し、これを投与液量の算出基準にした。さらに、投与後１、２、３、７、１０および１４日の一定時刻（午前中）に体重を測定した。

３）病理学検査

全動物は１４日間の観察期間終了後にエーテル深麻酔下で放血致死させ、体外表の観察を行った後、頭部、胸部、腹部を含む全身の器官・組織の異常の有無を肉眼的に観察した。

６．統計処理

体重について、群毎に平均値と標準偏差を算出した。

試験結果

1．死亡状況および致死量

経日死亡状況および致死量をTable　1に示した。

雌雄ともに死亡はみられず、最小致死量は雌雄とも最大投与量の2000mg／kgを上回ると推定された。

2．一般状態

成績をTable　2－1、2－2に示した。

いずれの動物にも異常はみられなかった。

3．体重

成績をFig.　1およびTable　3－1、3－2に示した。

各投与群の体重は、対照群とほぼ同様に推移した。

4．剖検

成績をTable　4－1、4－2に示した。

いずれの動物にも異常は認められなかった。

考　察

6週齢のCrj：CD（SD）系SPFラットにアセナフテンを0（0.5%メチルセルロース水溶液）、1000および2000mg／kgの用量で単回経口投与し、その急性毒性を検討した。

最大投与量の2000mg／kgで死亡は認められず、最小致死量は雌雄ともに2000mg／kgを超えると推定された。また、一般状態、体重および剖検において被験物質投与による変化はみられなかったことから、ラットにおけるアセナフテンの経口投与時の急性毒性は極めて弱いことが示唆された。

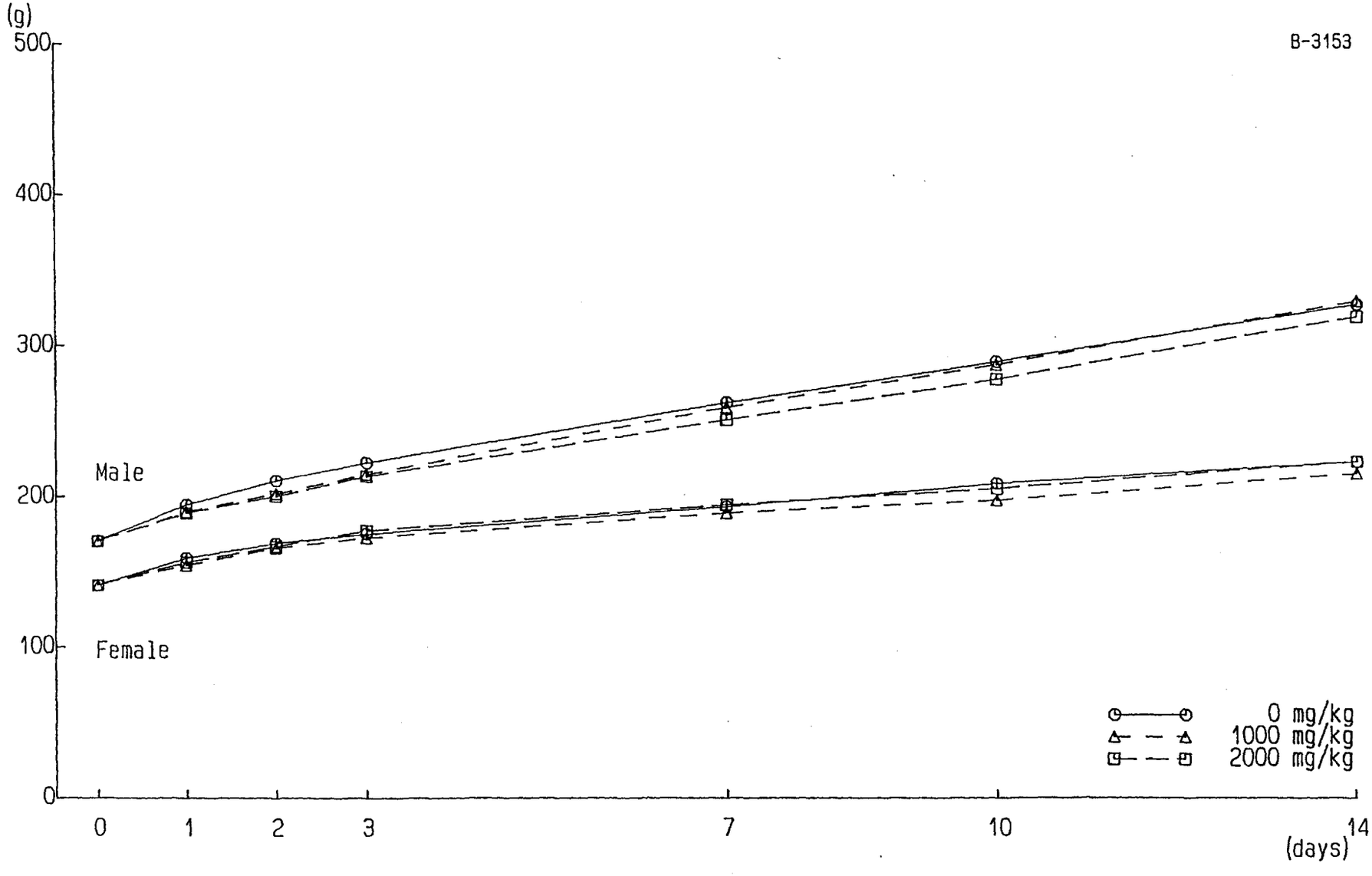


Fig.1 Body weight of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

——— Body weight ———

Table 1 Mortality and Lethal dose of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Sex	Dose	Number of	Distribution of death																					Mortality	Lethal dose (mg/kg)
			minutes			hours				days															
	mg/kg	animals	5	15	30	1	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	

Table 2-1 Clinical signs of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Male

Dose mg/kg	Symptoms	minutes			hours				days													
		5	15	30	1	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 2-2 Clinical signs of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Female

Dose mg/kg	Symptoms	minutes			hours				days													
		5	15	30	1	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 3-1 Body weight of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Male

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	171	194	211	222	262	289	327	156
	S.D.	1	3	4	3	3	6	6	6
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	Mean	170	190	202	215	259	287	329	159
	S.D.	6	9	11	10	11	11	15	9
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Mean	170	189	200	213	251	278	319	148
	S.D.	4	2	6	7	11	14	18	18

Unit : g

Table 3-2 Body weight of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Female

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	141	159	169	175	193	208	223	82
	S.D.	3	7	5	4	9	10	17	15
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	Mean	141	154	166	173	189	197	215	74
	S.D.	3	4	2	3	4	7	10	9
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Mean	141	156	167	177	194	205	223	82
	S.D.	3	6	9	6	13	16	18	16

Unit : g

Table 4-1 Gross pathological findings of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Male

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	1000	2000
		No. of alive (dead)	5 (0)	5 (0)	5 (0)
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)

Table 4-2 Gross pathological findings of rats treated orally with Acenaphthene in single dose toxicity test

Female

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	1000	2000
		No. of alive (dead)	5 (0)	5 (0)	5 (0)
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)	5 (-)