



最終報告書

試験名：サリチルアルデヒドのマウスを用いた小核試験

試験番号：M-1422

試験期間：2010年5月14日-2011年7月11日

試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

試験受託者

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

1. GLP 陳述書

試験番号 : M-1422

試験表題 : サリチルアルデヒドのマウスを用いた小核試験

本試験は以下の GLP 基準を遵守して実施したものです。

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日 : 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環
保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会 : 1997 年 11 月 26 日)



2011 年 7 月 11 日



試験責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

2. 目次

1.	GLP 陳述書.....	2
2.	目次	3
3.	試験実施概要	6
3.1	試験計画書.....	6
3.2	試験目的	6
3.3	試験委託者.....	6
3.4	試験受託者.....	6
3.5	試験実施施設.....	6
3.6	試験日程	6
3.7	試験責任者.....	7
3.8	試験担当者.....	7
3.9	試験従事者.....	7
3.10	試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	7
3.11	資料保存	7
3.12	試験責任者の記名・なつ印	8
4.	要約	9
5.	緒言	10
6.	試験材料及び方法.....	11
6.1	被験物質、媒体及び陽性対照物質	11
6.1.1	被験物質	11
6.1.2	媒体.....	12
6.1.3	陽性対照物質.....	12
6.2	媒体、投与液及び陽性対照物質の調製	12
6.2.1	媒体の調製	12
6.2.1.1	調製方法	12
6.2.1.2	保存方法	12
6.2.2	投与液の調製.....	12
6.2.2.1	調製方法	12
6.2.2.2	保存方法	12
6.2.2.3	安定性	13
6.2.2.4	被験液の濃度確認	13
6.2.3	陽性対照物質の調製	14
6.3	試験動物種及び系統の選択理由	15
6.4	試験動物	15
6.5	飼育条件	15
6.6	飼料、飲料水及び床敷中の混入物質	15

6.7	動物の識別及びケージへの表示	15
6.8	群分け	16
6.9	投与経路、投与方法及びそれらの選択理由	16
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成	16
6.10.1	予備試験	16
6.10.2	本試験	17
6.11	観察及び検査の方法	17
6.11.1	一般状態の観察	17
6.11.2	体重測定	18
6.11.3	骨髓塗抹標本の作製	18
6.11.4	骨髓塗抹標本の観察	18
6.11.5	観察結果の判定	18
7.	試験結果	20
7.1	予備試験	20
7.1.1	一般状態	20
7.1.2	体重	20
7.2	本試験	20
7.2.1	一般状態	20
7.2.2	体重	20
7.2.3	骨髓塗抹標本の観察結果	20
8.	考察	21
9.	参考文献	22

添付資料

添付資料 1	試験成績書（サリチルアルデヒドの安定性）
添付資料 2	試験成績書（被験液中サリチルアルデヒドの安定性）
添付資料 3	試験成績書（被験液中サリチルアルデヒドの濃度）

表

Table 1	Clinical signs
Table 2	Body weight
Table 3	Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

付表

Appendix 1-1、1-2	Clinical signs (Preliminary study)
Appendix 2-1、2-2	Body weight (Preliminary study)
Appendix 3	Clinical signs
Appendix 4	Body weight
Appendix 5	Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

信頼性保証書

3. 試験実施概要

3.1 試験計画書

試験番号 : M-1422
試験表題 : サリチルアルデヒドのマウスを用いた小核試験

3.2 試験目的

マウス骨髄細胞を用いて、サリチルアルデヒドの染色体異常誘発性の有無を明らかにした。なお、本試験は株式会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

3.3 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

3.4 試験受託者

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

3.5 試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284
運営管理者 :

3.6 試験日程

試験開始日 : 2010 年 5 月 14 日
被験物質受領日 : 2009 年 12 月 28 日
試験責任者への被験物質配布日 : 2010 年 5 月 24 日
予備試験
動物入荷日 : 2010 年 5 月 26 日
実験開始日 (予備試験 1 回目の投与日) : 2010 年 6 月 2 日 (1 回目投与日)
2010 年 6 月 3 日 (2 回目投与日)
本試験
動物入荷日 : 2010 年 6 月 16 日
投与日 : 2010 年 6 月 23 日 (1 回目投与日)

2010年 6月 24日 (2回目投与日)
 骨髓採取日 : 2010年 6月 25日
 実験終了日 (本試験の標本観察終了日)
 : 2010年 7月 1日
 試験終了日 : 2011年 7月 11日

3.7 試験責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 研究部

3.8 試験担当者

被験物質保存責任者 :
 試験主担当者 :
 化学分析責任者 :
 統計解析責任者 :

3.9 試験従事者

検疫・馴化 :
 群分け :
 投与液及び陽性対照物質の調製
 :
 濃度測定及び安定性分析
 :
 投与 :
 一般状態の観察 :
 体重測定 :
 標本作製及び観察 :
 統計解析 :

3.10 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなかった。

3.11 資料保存

試験計画書原本 (試験計画書変更書を含む)、記録文書、生データ及び報告書類 (最終報告書は原本) は株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所の資料保存施設に保存する。保存期間は最終報告書提出後 10 年間とする。期間終了後の保存については、

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室に連絡し、厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室と株式会社ボゾリサーチセンター間で協議し、その処置を決定する。

3.12 試験責任者の記名・なつ印

 2011 年 7 月 11 日 
株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

4. 要約

サリチルアルデヒドの染色体異常誘発能の有無を検討するため、Crlj:CD1(ICR)SPF マウスを用いた小核試験を実施した。

サリチルアルデヒドの 125、250 及び 500mg/kg/日を約 24 時間間隔で 2 回経口投与し、2 回目投与後約 24 時間に骨髓塗抹標本を作製した。また、陰性対照としてコーン油、陽性対照としてマイトマイシン C の 1mg/kg を 1 回投与する群を設定した。

その結果、各被験物質投与群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加を示さず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群における全赤血球 200 個中に占める幼若赤血球の出現頻度も、陰性対照群と比較して、統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陰性対照群と陽性対照群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、当研究所における各々の背景データの $\text{Mean} \pm 3\text{S.D.}$ の範囲内であったことから、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の結果から、サリチルアルデヒドは本試験条件下で Crlj:CD1(ICR)SPF マウスの骨髓において、染色体異常誘発能は無いと判定した。

5. 緒言

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室からの委託により、サリチルアルデヒドの安全性評価の一環として、マウスを用いた小核試験を実施したので、その成績を報告する。なお、本試験は以下の基準を遵守し、ガイドラインに準じて行った。

GLP

- ・ 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日；薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環
保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- ・ 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会：1997 年 11 月 26 日)

毒性試験ガイドライン

- ・ 「新規化学物質等に係る試験の方法について」
(平成 15 年 11 月 21 日；薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環
保企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日最終改正)
- ・ 「OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 474」
(OECD 理事会：1997 年 7 月 21 日)

動物の福祉

- ・ 「動物の愛護及び管理に関する法律」
(昭和 48 年 10 月 1 日法律第 105 号、最終改正：平成 18 年 6 月 2 日法律第 50 号)
- ・ 「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」
(平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号)
- ・ 「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」
(日本学術会議、平成 18 年 6 月 1 日)

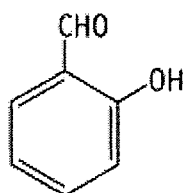
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質、媒体及び陽性対照物質

6.1.1 被験物質

被験物質であるサリチルアルデヒドは[REDACTED]より入手した。当試験に使用した被験物質のロット番号、性状等は次の通りである。

名称	:	サリチルアルデヒド
英名	:	Salicylaldehyde
別名	:	2-ヒドロキシベンズアルデヒド
CAS 番号	:	90-02-8
官報公示整理番号	:	(3)-1183、(3)-2660
構造式及び示性式	:	



		$C_7H_6O_2$
入手量	:	100g (25g×4 本)
分子量	:	122.12
ロット番号	:	VPMQB
純度	:	99.5%
性状	:	無色～うすい黄色の透明な液体
密度	:	1.1665g/mL (20°C)
屈折率	:	1.5736 (n ₂₀ /D)
融点	:	-7°C 以下
沸点	:	196°C
溶解性	:	水に微溶 (17g/L、86°C)
安定性	:	動物試験終了後、試験受託者で被験物質の安定性を確認した結果、安定であることが確認された (添付資料 1)。
保存方法	:	冷所 (冷蔵庫内、許容値: 1~10°C、実測値: 3~8°C)、遮光、気密
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室、第 1 研究棟被験物質調製室及び生化学部標準物質保存場所
使用後の処理	:	動物試験終了後の残量はすべて廃棄した。

6.1.2 媒体

名称	:	コーン油
規格	:	生化学用
メーカー	:	和光純薬工業株式会社
ロット番号	:	PEG0519
保存方法	:	室温
保存場所	:	御殿場研究所 第1研究棟被験物質調製室
選択理由	:	被験物質は第三石油類であることより、良好な投与液の調製が可能なコーン油を選択した。

6.1.3 陽性対照物質

名称	:	マイトマイシン C (以下 MMC と記す。)
メーカー	:	協和醗酵工業株式会社
ロット番号	:	525AHA
力価	:	2mg/vial
保存方法	:	室温、遮光
保存場所	:	御殿場研究所 第1研究棟発癌性物質室温保存庫
選択理由	:	MMC は小核試験に広く用いられ、背景データが豊富であり「毒性試験ガイドライン」に従って選択した。

6.2 媒体、投与液及び陽性対照物質の調製

6.2.1 媒体の調製

6.2.1.1 調製方法

コーン油をそのまま用いた。

6.2.1.2 保存方法

本試験において被験物質を秤取する前に、1 日必要量分ずつを褐色ガラス瓶に分注し、冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10℃、実測値：3~5℃）に保存した。

6.2.2 投与液の調製

6.2.2.1 調製方法

各濃度ごとに被験物質を秤取し、コーン油を加えて希釈し、所定量にメスアップした。

6.2.2.2 保存方法

1 日必要量分ずつを褐色ガラス瓶に分注し、冷所〔冷蔵庫内、許容値：1~10℃、実測値：4~5℃（予備試験）、3~5℃（本試験）〕に保存し、調製後 8 日以内に使用した。

6.2.2.3 安定性

0.1mg/mL 及び 200mg/mL 濃度液について、冷所（冷蔵庫内）8 日間＋室温 24 時間まで安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号：A-2275、添付資料 2）。

6.2.2.4 被験液の濃度確認

本試験に使用した各濃度の被験液より各 10mL 採取し、濃度を確認した結果、各濃度の表示値に対する濃度の割合は 103.6~105.0%で表示値を 100 として±10%以内であり問題はなかった（添付資料 3）。分析方法の概略は次の通りである。

分析方法の概略

1) 測定実測試料の調製

各測定試料から無作為で採取（n=1）し、以下の表に従って測定実測試料を用時調製した〔バリデーション試験で直線性の確認されている濃度範囲内（0.5～1.5µg/mL）に希釈をした〕。

濃度 (mg/mL)	1 次希釈		遠心*	2 次希釈		3 次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)		上清 採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
12.5	1	50	1500×g、 2500rpm、 4°C、 5 分間	1	25	1	10	12500
25	1	50		1	50	1	10	25000
50	1	100		1	50	1	10	50000

溶媒：エタノール（99.5）

*：1 次希釈液の一部を遠心

2) HPLC 測定条件

カラム : L-column ODS
(4.6mm×150mm、粒子径 5µm、財団法人化学物質評価研究機構)

カラム恒温槽設定温度

: 40°C

移動相 : アセトニトリル／精製水混液（5/5、v/v）

流量 : 1mL/min

検出 : UV（測定波長 254nm）

注入量 : 10µL

オートサンプラー内設定温度

: 10°C

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液 (システム適合性用)
2	3	標準溶液 (定量用)
3	1	測定実測試料 (12.5mg/mL)
4	1	測定実測試料 (25mg/mL)
5	1	測定実測試料 (50mg/mL)

標準溶液及び測定実測試料の測定は、注入後 24 時間以内に実施した。なお、バリデーション試験で、オートサンプラー内における 24 時間保存後の安定性が確認されている。

3) システム適合性

測定開始時に標準溶液を 3 回連続注入し、サリチルアルデヒドの保持時間及びピーク面積の再現性を確認した。

判定基準 : 保持時間及びピーク面積の相対標準偏差が 5% 以下。

4) 測定試料中サリチルアルデヒド濃度の算出

標準溶液を 3 回注入してサリチルアルデヒドのピーク面積の平均値 (Q_s) を求めた。別に測定実測試料を 1 回注入してサリチルアルデヒドのピーク面積 (Q_t) を求めた。

以下の式により測定試料中のサリチルアルデヒド濃度を求めた。また、表示値に対する割合 (%) を算出した。

$$\text{測定試料中サリチルアルデヒド濃度 (mg/mL)} = \frac{Q_t}{Q_s} \times A \times F \times \frac{1}{1000}$$

Q_t : 測定実測試料のサリチルアルデヒドのピーク面積

Q_s : 標準溶液のサリチルアルデヒドの平均ピーク面積

A : 標準溶液中のサリチルアルデヒド濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

F : 希釈率

6.2.3 陽性対照物質の調製

用時に、MMC の 0.1mg/mL 水溶液を調製した。すなわち、MMC (2mg/vial) 1 瓶を注射用水^{注1} 5mL で溶解した後、2mL を採取して、生理食塩液^{注2} を 6mL 加えて 8mL とした。

注1 : 日本薬局方〔(株) 大塚製薬工場、ロット番号 : 9J93〕

注2 : 日本薬局方〔(株) 大塚製薬工場、ロット番号 : M9L90〕

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

マウスは小核試験に広く用いられており、この試験に使用される系統のマウスは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物

ICR 系 SPF マウス [CrIj:CD1(ICR)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] を 7 週齢で、予備試験用として雌雄各 19 匹^{注3}、本試験用として雄 30 匹^{注4}を購入し、予備試験、本試験とも入荷日を 1 日と数え、8 日間検疫・馴化飼育した。検疫・馴化飼育期間中には体重測定（入荷日、検疫終了日及び群分け日）及び体外表、栄養状態、行動などの一般状態を 1 日 1 回観察し、その結果をもとに異常のない動物（予備試験：雌雄各 15 匹、本試験：雄 25 匹）を選択し、8 週齢で試験に供した。使用した動物の投与日における体重範囲は、予備試験が雄 31.7~37.0g、雌 22.9~25.5g、本試験が雄 31.0~35.2g であった。試験系から投与日に除外された動物数は、予備試験が雌雄各 4 匹、本試験が雄 5 匹であった。

注 3： 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 18 匹であったが、実際には雌雄各 19 匹が納入された。

注 4： 試験計画書に従い、注文匹数は雄 29 匹であったが、実際には雄 30 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度（許容範囲 $23\pm3^{\circ}\text{C}$ ）が予備試験 $21\sim23^{\circ}\text{C}$ 、本試験 $20\sim23^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度（許容範囲 $50\pm20\%$ ）が予備試験 48~54%、本試験 48~56%、換気回数 1 時間当たり 10~15 回、照明 1 日 12 時間（07:00~19:00）の飼育室（飼育室番号：予備試験、本試験とも 104 号室）で床敷（ホワイトフレーク：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチックケージ（W 155 × D 245 × H 150mm：日本クレア株式会社）に 1 匹ずつ収容し、固形飼料 CRF-1 [オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：100203（予備試験）、100302（本試験）] 及び飲料水（御殿場市営水道水：給水瓶使用）を自由に摂取させ飼育した。

6.6 飼料、飲料水及び床敷中の混入物質

飼料、飲料水及び床敷中の混入物質については、飼料は使用したロットごとに分析したデータを、床敷は 2010 年 4 月に分析したデータを Eurofins Scientific Analytics からそれぞれ入手し、飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を東芝機械環境センター株式会社に定期的（年 4 回）に依頼し、試験期間を保証するデータを入手し、それぞれ異常のないことを確認して、その写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

小動物用耳標 ： 予備試験では 728~765、本試験では 830~859 の番号が刻印された耳標を入荷時に装着した。

動物番号 : 群分け後は群ごとに1から始まる番号をつけた。
 予備試験では、100の位は群、10の位は性（雄は0番、雌は1番）、1の位は個体番号とした。本試験では、投与量ごと（陰性対照群、低、中、高用量群及び陽性対照群の順）に4桁の番号をつけた。1000の位は群、100の位は性（雄は0番）、10と1の位は個体番号とした。各飼育ケージに用量（群）ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号及び耳標番号を表示した。更に予備試験では動物試験終了日、本試験では骨髄採取日を明記した。

6.8 群分け

動物は、検疫・馴化期間中に、体重及び一般状態に異常がみられなかった個体を使用した。群分け当日（1回目投与日）の体重により層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等になるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割り当てた）により行った。群分け後の余剰動物は、1回目の投与日に予備試験、本試験ともエーテル深麻酔下で安楽死させた。

6.9 投与経路、投与方法及びそれらの選択理由

投与経路は、毒性試験に一般的に用いられる経口投与とした。投与容量は10mL/kg体重とし、マウスにフレキシブル胃ゾンデを用いて、約24時間間隔で2回投与した。

個体ごとの投与液量は投与日の体重を基準に算出した。また、陰性対照群にはコーン油を同様に投与した。陽性対照群にはマウス骨髄細胞に小核の誘発が報告されているMMCを25Gの注射針を用いて腹腔内に1回投与した。投与容量は10mL/kg体重とした。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

6.10.1 予備試験

予備試験の投与量は125、250、500、1000及び2000mg/kg/日の5用量を設定し、5群構成とした。また、2回目投与後の約24時間後の生存動物についてはイソフルラン麻酔下で開腹し、腹大動静脈を切断し安楽死させた。群構成表を表1.に示す。

表 1. 予備試験群構成表

群	投与量 (mg/kg/日)	濃 度 (mg/mL)	投与 容量 (mL/kg)	投与 回数	性	動物数	動物番号
最低用量	125	12.5	10	2	雄 雌	3 3	101~103 111~113
低 用 量	250	25	10	2	雄 雌	3 3	201~203 211~213
中 用 量	500	50	10	2	雄 雌	3 3	301~303 311~313
高 用 量	1000	100	10	2	雄 雌	3 3	401~403 411~413
最高用量	2000	200	10	2	雄 雌	3 3	501~503 511~513

6.10.2 本試験

予備試験において、雌雄マウスに 125、250、500、1000 及び 2000mg/kg/日を約 24 時間間隔で 2 回経口投与した結果、2 回目投与翌日までに、1000 及び 2000mg/kg/日投与群の雌雄全例の死亡が確認された。体重では、各投与群で減少傾向を示す動物が見られた。

したがって、本試験における投与量は、死亡例がみられず最大耐量と思われる 500mg/kg/日を高用量とし、以下公比 2 で除して、250 及び 125mg/kg/日の 3 用量を設定する。これに媒体を投与する陰性対照群及び MMC を投与する陽性対照群を加え、計 5 群とする。1 群当たりの動物数は 5 匹とした。

骨髄採取時期は、2 回目投与後約 24 時間とした。また、毒性発現に明らかな性差が見られなかったため、雄のみで実施することとした。

なお、MMC の投与量は小核の誘発が報告されている 1mg/kg とし、投与後約 24 時間に骨髄を採取した。群構成表を表 2. に示す。

表 2. 本試験群構成表

群	投与量 (mg/kg/日)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	投与 回数	性	動物数	動物番号	骨髄採取時間 (投与後)
陰性対照	0	0	10	2	雄	5	1001~1005	約 24 時間 ^{a)}
低 用 量	125	12.5	10	2	雄	5	2001~2005	約 24 時間 ^{a)}
中 用 量	250	25	10	2	雄	5	3001~3005	約 24 時間 ^{a)}
高 用 量	500	50	10	2	雄	5	4001~4005	約 24 時間 ^{a)}
陽性対照	1*	0.1*	10	1	雄	5	5001~5005	約 24 時間

* : MMC の投与量及び濃度を示す。 a) : 2 回目の投与時間から起算

6.11 観察及び検査の方法

6.11.1 一般状態の観察

予備試験及び本試験とも、投与日は投与前、投与直後、投与後約 2 時間、また、その他の日は 1 日 1 回、一般状態（体外表、栄養状態、行動及び排泄物）の観察を実施

した。

6.11.2 体重測定

予備試験では、各投与日と2回目投与翌日(9:05~9:47)に1日1回測定した。

本試験では、陰性対照群及び被験物質投与群については、各投与日と2回目投与翌日の骨髄採取日(9:12~9:32)に1日1回測定した。また、陽性対照群については、投与前日、投与日及び投与翌日の骨髄採取日(9:12~9:33)に1日1回測定した。

6.11.3 骨髄塗抹標本の作製

小核の観察のための標本を、Schmidの方法^{1,2)}に従って作製した。すなわち、投与後所定の時間に該当するマウスを頸椎脱臼により安楽死させ、両側の大腿骨を摘出し両端を切断した。その後1mL ディスポーザブル注射筒と23G注射針を用いて、約0.1~0.2mLの牛胎児血清(GIBCO BRL、ロット番号:494548)で骨髄細胞を遠心管に洗い出した。次に、この注射筒及び注射針を用いて骨髄細胞と牛胎児血清を混和して細胞をほぐし、1000rpmで5分間遠心分離(トミー工業株式会社、卓上多本架遠心機LC-220)し、上清を捨て、沈殿物をミキサーでよく混和し、スライドグラスに塗抹した(塗抹標本は1匹につき左右大腿骨から各1枚を作製)。塗抹した標本は風乾させ、メタノール(和光純薬工業株式会社、ロット番号:KWP4454)で3分間固定した後、再び風乾した。なお、標本の作製に際しては、動物番号と試料番号の対照表を作成し、標本には試験番号、ステージ、試料番号、試験の種類及び作製日を明記したラベルを付けた(盲検法)。

6.11.4 骨髄塗抹標本の観察

観察は盲検法で行うため試料番号をもとに、塗抹状態の良好なスライドグラス1枚を選択した。骨髄塗抹標本のアクリジンオレンジ蛍光染色及び観察は、Hayashiらの方法^{3,4)}に従った。予め40 μ g/mLアクリジンオレンジ水溶液を少量滴下したカバーグラスにスライドグラスを載せた。波長490nm付近の励起光、観察用フィルターとして515nm以上の波長を透過するものを備えた蛍光顕微鏡(システム生物顕微鏡BX40:オリンパス株式会社、ユニバーサル落射蛍光装置BX-FLA:オリンパス株式会社)を用いて、総合倍率600倍で観察した。

観察終了後の標本は廃棄した。また、観察に用いなかった標本は、全ての標本観察終了後廃棄した。

6.11.5 観察結果の判定

1個体について、全赤血球200個中のPCE数と2000個のPCEに対するMNPCE数を計数し、それぞれの出現頻度(%)を求めた。

また、群ごとにMNPCE数とその出現頻度(%)、PCE数とその出現頻度(%)について平均値と標準偏差を算出し、各出現頻度(%)については最大値と最小値も記

録した。

小核の出現頻度に対する有意性の判定は、陰性対照群と陽性対照群の MNPCE の出現頻度 (%) が当研究所の背景データの $\text{Mean} \pm 3\text{S.D.}$ 内であることを確認した後、陰性対照群と被験物質投与群とを比較し、2 項分布に基づく Kastenbaum&Bowman の検定⁵⁾ (有意水準：片側 5%) 並びに Cochran Armitage の傾向検定⁶⁾ (有意水準：両側 1 及び 5%) を行った。更に PCE の出現頻度については、陰性対照群と各被験物質投与群との間で Bartlett の検定⁷⁾ を行い等分散性 (有意水準：両側 1%) を調べ、分散が均一であったため Dunnett の検定⁸⁾ (有意水準：両側 1 及び 5%) を行った。

7. 試験結果

7.1 予備試験

サリチルアルデヒドの 125、250、500、1000 及び 2000mg/kg/日を投与した。

7.1.1 一般状態

結果を Appendix 1-1、1-2 に示した。

2 回目投与翌日までに、1000 及び 2000mg/kg/日投与群の雌雄全例の死亡が確認された。

7.1.2 体重

結果を Appendix 2-1、2-2 に示した。

体重では、各投与群で減少傾向を示す動物がみられた。

7.2 本試験

サリチルアルデヒドの 125、250 及び 500mg/kg/日、陰性対照としてコーン油、陽性対照として MMC の 1mg/kg を投与した。

7.2.1 一般状態

個体別の結果を Appendix 3 に、総括を Table 1 にそれぞれ示した。

各被験物質投与群において、一般状態の変化はみられなかった。陰性対照群及び陽性対照群にも一般状態に変化はみられなかった。

7.2.2 体重

個体別の結果を Appendix 4 に、総括を Table 2 にそれぞれ示した。

陰性対照群と比較して、各被験物質投与群及び陽性対照群の体重推移に異常はみられなかった。

7.2.3 骨髓塗抹標本の観察結果

個体別の結果を Appendix 5 に、総括を Table 3 にそれぞれ示した。

被験物質投与群では MNPCE の出現頻度が 125mg/kg/日投与群で $0.09 \pm 0.08\%$ 、250mg/kg/日投与群で $0.09 \pm 0.05\%$ 、500mg/kg/日投与群で $0.11 \pm 0.02\%$ を示した。これらの値を陰性対照群の $0.07 \pm 0.08\%$ と比較した結果、いずれの被験物質投与群も統計学的に有意な増加は示さず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群の全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度も、陰性対照群と比較して統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、陰性対照群と比べ顕著に増加した。さらに、陰性対照群及び陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、当研究所における各々の背景データの $\text{Mean} \pm 3\text{S.D.}$ の範囲内であった。

8. 考察

サリチルアルデヒドの染色体異常誘発能の有無を検討するため、CrIj:CD1(ICR)SPF マウスを用いた小核試験を実施した。

投与量を決定するための予備試験では、マウスに125、250、500、1000及び2000mg/kg/日を約24時間間隔で2回経口投与した結果、2回目投与翌日までに、1000及び2000mg/kg/日投与群の雌雄全例の死亡が確認された。体重では、各投与群で減少傾向を示す動物が見られた。

この結果をもとに、本試験では予備試験において死亡例のみられなかった500mg/kg/日を高用量として250及び125mg/kg/日を約24時間間隔で2回経口投与し、2回目投与後約24時間に骨髓の採取を行った。また、陰性対照としてコーン油を被験物質投与群と同じ頻度で投与し、陽性対照としてマイトマイシンCの1mg/kgを1回投与する群を設定した。

その結果、MNPCEの出現頻度において、各被験物質投与群は陰性対照群に比べて統計学的に有意な増加は認められず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群における全赤血球200個中に占めるPCEの出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陰性対照群と陽性対照群のMNPCEの出現頻度は、当研究所における各々の背景データのMean±3S.D.の範囲内であったことから、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の結果から、サリチルアルデヒドは本試験条件下でCrIj:CD1(ICR)SPFマウスの骨髓において、染色体異常誘発能は無いと判定した。

なお、サリチルアルデヒドは、復帰突然変異試験で陰性、染色体異常試験では染色体の構造異常及び倍数性細胞が誘発され、陽性の結果が得られている^{9,10)}。

9. 参考文献

- 1) W. Schmid, Mutation Res. 31, 9-15 (1975).
- 2) W. Schmid, "Chemical Mutagens," Vol. 4, ed. by A. Hollaender, Plenum Press, N.Y., London, 1976, pp.76-78.
- 3) M. Hayashi, T. Sofuni, M. Jr. Ishidate, Mutat. Res., 120, 241(1983).
- 4) 林 真, "小核試験," サイエンティスト社, 東京, 1991, pp.44-55.
- 5) M.A.Kastenbaum and K.O.Bowman, Mutation Res. 9, 527-549 (1970).
- 6) 吉村 功 編, "毒性・薬効データの統計解析," サイエンティスト社, 東京, 1987, pp. 67-69.
- 7) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press (1989).
- 8) Dunnett CW. (1955): A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. Journal of the American Statistical Association, 50, 1096-1121.
- 9) [REDACTED] 他 : 化学物質毒性試験報告書, 4, 165(1996).
- 10) [REDACTED] 他 : 化学物質毒性試験報告書, 4, 171(1996).

試験番号 : M-1422 (1/2)

試験成績書
(サリチルアルデヒドの安定性)

ステージ : 本試験投与操作終了後

測定開始日 : 2010 年 7 月 7 日
2010 年 4 月 8 日 [参照スペクトル (A-2275)]

被験物質 : サリチルアルデヒド (ロット番号 ; VPMQB)

試験項目 : 赤外吸収スペクトルの確認 (ATR 法)

判定基準 : 参照スペクトル (A-2275) と同様なスペクトルが得られること。

結果 : 参照スペクトル (A-2275) と同様なスペクトルが得られた。なお、赤外吸収スペクトルは次のページに示す。

判定 : 適

基準 : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成 15 年 11 月 21 日 ; 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)

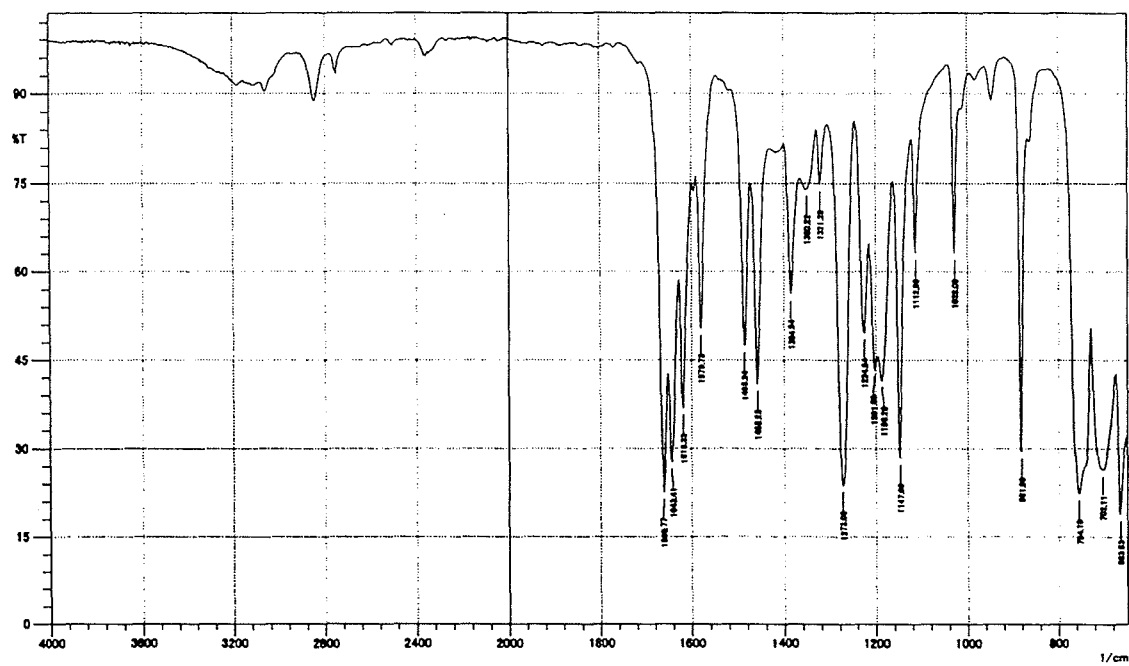
化学分析責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

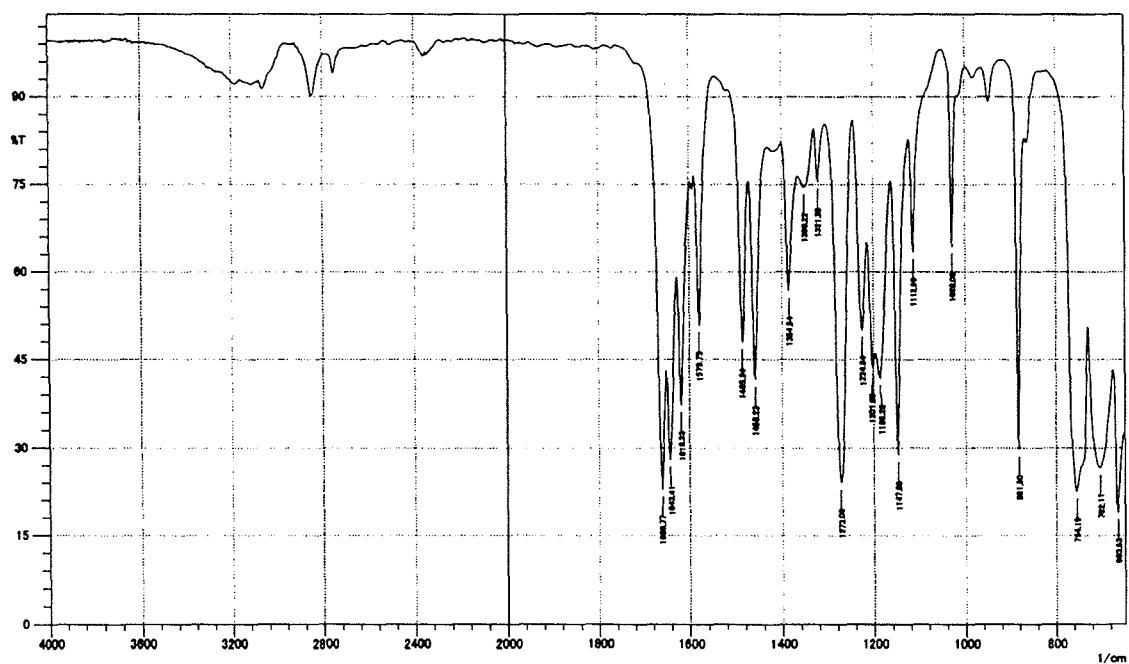
2010 年 7 月 27 日

試験番号 : M-1422 (2/2)

結果 : 赤外吸収スペクトル



[参照スペクトル (A-2275)]



(本試験投与操作終了後)

A-2275

試験番号 : A-2275

試験成績書
(被験液中サリチルアルデヒドの安定性)

被験物質 : サリチルアルデヒド
(ロット番号 ; VPMQB)

形態 (媒体) : 溶液 (コーン油)

評価基準

安定性 : 残存率 [調製直後の測定濃度の平均値 (100) に対する保存後の測定濃度の平均値の割合] が $100 \pm 10\%$ 以内。

結果 :

調製濃度 (mg/mL)	測定濃度 (mg/mL)	
	調製直後	冷所 8 日間+ 室温 24 時間保存後
0.100	0.102	0.104
	0.104	0.104
	0.103	0.103
平均値	0.103	0.104
残存率 (%)	100	101.0
200	204	204
	203	204
	204	207
平均値	203	205
残存率 (%)	100	101.0

判定 : 被験液中のサリチルアルデヒドは、褐色ガラスビンにて冷所 (冷蔵庫内、許容値 : $1 \sim 10^{\circ}\text{C}$) 8 日間及び室温 24 時間安定であった。

基準 : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)

 試験責任者

株式会社ボソリサーチセンター 生化学部

2010 年 4 月 27 日

試験番号 : M-1422

試験成績書
(被験液中サリチルアルデヒドの濃度)

ステージ : 本試験 (再調製)
分析日 : 2010 年 6 月 16 日

測定試料

被験物質 : サリチルアルデヒド (ロット番号 ; VPMQB)
形態 (媒体) : 溶液 (コーン油)
調製日 : 2010 年 6 月 16 日

判定基準

濃度 : 表示値に対する割合 ; $100 \pm 10\%$

結果 :

表示値 (mg/mL)	測定濃度 (mg/mL)	表示値に 対する割合 (%)
12.5	13.1	104.8
25	25.9	103.6
50	52.5	105.0

判定 : 適

基準 : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日 : 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正)


化学分析責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

2010 年 6 月 22 日

Table 1

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Clinical signs

Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
			Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Negative control	0	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
Low	125	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
Middle	250	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
High	500	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	Number of animals	5	-	-	5	5	5	5
		No abnormalities	5	-	-	5	5	5	5

- : No observation

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Table 2 A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Body weight					
Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	N	5	5	5
		Mean	32.9	32.7	33.2
		S.D.	1.4	1.4	1.0
Low	125	N	5	5	5
		Mean	32.7	32.3	32.5
		S.D.	1.2	1.6	1.5
Middle	250	N	5	5	5
		Mean	32.8	32.2	32.7
		S.D.	1.3	1.2	1.6
High	500	N	5	5	5
		Mean	32.9	33.0	33.6
		S.D.	1.3	1.9	1.4
Positive control ^{a)} (MitomycinC)	1	N	5	5	5
		Mean	32.7	32.5	32.7
		S.D.	1.2	1.2	2.2

Unit : g

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Table 3

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

Group	Dose (mg/kg/day)		No. of MNPCE in 2000 PCE	MNPCE(%) ^{b)}	No. of PCE in 200 erythrocytes	PCE(%) ^{c)}
Negative control	0	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	1 $\pm$ 2	0.07 $\pm$ 0.08	117 $\pm$ 4	58.3 $\pm$ 2.2
		Min. / Max.		0.00 / 0.15		55.0 / 60.5
Low	125	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 2	0.09 $\pm$ 0.08	116 $\pm$ 6	57.8 $\pm$ 2.8
		Min. / Max.		0.00 / 0.20		55.0 / 61.5
Middle	250	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 1	0.09 $\pm$ 0.05	118 $\pm$ 9	58.8 $\pm$ 4.6
		Min. / Max.		0.00 / 0.15		54.5 / 65.5
High	500	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 0	0.11 $\pm$ 0.02	117 $\pm$ 4	58.4 $\pm$ 2.2
		Min. / Max.		0.10 / 0.15		56.0 / 60.5
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	27 $\pm$ 4	1.33 $\pm$ 0.18	106 $\pm$ 9	52.9 $\pm$ 4.4
		Min. / Max.		1.15 / 1.60		45.5 / 56.0

a) : Administration was done only once for the positive control group.

b): Proportion(%) of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) per 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)

c): Proportion(%) of polychromatic erythrocytes (PCE, including MNPCE) per 200 erythrocytes

No significant difference in any treated groups from negative control group.

Appendix 1-1

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Clinical signs (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
				Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Male	Lowest	125	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Low	250	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	2	2	2	1
			No abnormalities	3	3	2	2	2	1	0
			dead	0	0	1	0	0	1	1
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3				
			No abnormalities	3	3	0				
			dead	0	0	3				

Appendix 1-2

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Clinical signs (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
				Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Female	Lowest	125	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Low	250	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	3	2	2	1
			No abnormalities	3	3	3	2	2	1	0
			dead	0	0	0	1	0	1	1
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3	1			
			No abnormalities	3	3	1	0			
			dead	0	0	2	1			

Body weight (Preliminary study)

	Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Male	Lowest	125	101	33.8	34.0	33.7
			102	31.8	32.0	31.7
			103	35.0	35.0	35.0
			Mean	33.5	33.7	33.5
			S.D.	1.6	1.5	1.7
	Low	250	201	32.5	32.1	32.6
			202	33.6	33.2	32.8
			203	35.6	36.3	36.4
			Mean	33.9	33.9	33.9
			S.D.	1.6	2.2	2.1
	Middle	500	301	35.8	35.1	35.9
			302	33.5	34.3	34.3
			303	32.6	31.6	31.1
			Mean	34.0	33.7	33.8
			S.D.	1.7	1.8	2.4
	High	1000	401	33.8	30.0	Dead
			402	31.7	28.3	Dead
			403	34.8	Dead	
			Mean	33.4	29.2	
			S.D.	1.6		
	Highest	2000	501	37.0	Dead	
			502	33.1	Dead	
			503	32.6	Dead	
			Mean	34.2		
			S.D.	2.4		

Unit : g

Body weight (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Female	Lowest	125	111	23.1	24.3	23.6
			112	24.6	24.9	25.8
			113	24.0	24.3	24.1
			Mean	23.9	24.5	24.5
			S.D.	0.8	0.3	1.2
	Low	250	211	24.6	24.8	24.2
			212	24.3	22.6	22.6
			213	22.9	21.0	22.2
			Mean	23.9	22.8	23.0
			S.D.	0.9	1.9	1.1
	Middle	500	311	25.1	26.0	26.0
			312	23.4	22.7	22.2
			313	23.6	23.8	24.0
			Mean	24.0	24.2	24.1
			S.D.	0.9	1.7	1.9
	High	1000	411	25.5	Dead	
			412	23.6	25.1 Dead	
			413	23.5	23.4	Dead
			Mean	24.2	24.3	
			S.D.	1.1		
	Highest	2000	511	25.0	Dead	
			512	23.1 Dead		
			513	23.7 Dead		
			Mean	23.9		
			S.D.	1.0		

Unit : g

Appendix 3

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Clinical signs

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
			Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Negative control	0	1001	-	-	-	-	-	-	-
		1002	-	-	-	-	-	-	-
		1003	-	-	-	-	-	-	-
		1004	-	-	-	-	-	-	-
		1005	-	-	-	-	-	-	-
Low	125	2001	-	-	-	-	-	-	-
		2002	-	-	-	-	-	-	-
		2003	-	-	-	-	-	-	-
		2004	-	-	-	-	-	-	-
		2005	-	-	-	-	-	-	-
Middle	250	3001	-	-	-	-	-	-	-
		3002	-	-	-	-	-	-	-
		3003	-	-	-	-	-	-	-
		3004	-	-	-	-	-	-	-
		3005	-	-	-	-	-	-	-
High	500	4001	-	-	-	-	-	-	-
		4002	-	-	-	-	-	-	-
		4003	-	-	-	-	-	-	-
		4004	-	-	-	-	-	-	-
		4005	-	-	-	-	-	-	-
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	-	/	/	-	-	-	-
		5002	-	/	/	-	-	-	-
		5003	-	/	/	-	-	-	-
		5004	-	/	/	-	-	-	-
		5005	-	/	/	-	-	-	-

- : No abnormalities

/ : No observation

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Appendix 4

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Body weight					
Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	1001	31.8	32.1	32.9
		1002	31.9	31.6	32.4
		1003	32.8	31.8	32.2
		1004	32.7	33.1	34.1
		1005	35.2	35.0	34.4
		Mean	32.9	32.7	33.2
		S.D.	1.4	1.4	1.0
Low	125	2001	33.5	33.6	33.5
		2002	34.3	34.2	34.5
		2003	32.1	31.0	30.8
		2004	31.3	30.5	31.2
		2005	32.5	32.3	32.6
		Mean	32.7	32.3	32.5
		S.D.	1.2	1.6	1.5
Middle	250	3001	31.3	30.6	30.5
		3002	32.0	31.7	32.1
		3003	34.5	33.5	34.6
		3004	33.5	33.1	33.7
		3005	32.5	32.1	32.6
		Mean	32.8	32.2	32.7
		S.D.	1.3	1.2	1.6
High	500	4001	31.9	32.0	32.8
		4002	34.8	36.3	35.8
		4003	31.5	31.6	32.2
		4004	32.7	33.0	34.1
		4005	33.4	32.2	33.0
		Mean	32.9	33.0	33.6
		S.D.	1.3	1.9	1.4
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	32.3	32.3	32.6
		5002	31.0	30.7	29.5
		5003	32.4	32.2	32.1
		5004	34.0	33.5	34.4
		5005	33.6	33.8	35.1
		Mean	32.7	32.5	32.7
		S.D.	1.2	1.2	2.2

Unit : g

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Appendix 5

A micronucleus test of Salicylaldehyde in mice

Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	No. of MNPCE in 2000 PCE	Mean $\pm$ S.D.	MNPCE(%) ^{b)}	Mean $\pm$ S.D. (Min / Max)	No. of PCE in 200 erythrocytes	Mean $\pm$ S.D.	PCE(%) ^{c)}	Mean $\pm$ S.D. (Min / Max)
Negative control	0	1001	0	1 $\pm$ 2	0.00	0.07 $\pm$ 0.08	117	117 $\pm$ 4	58.5	58.3 $\pm$ 2.2
		1002	0		0.00	(0.00 / 0.15)	110		55.0	(55.0 / 60.5)
		1003	3		0.15		121		60.5	
		1004	1		0.05		115		57.5	
		1005	3		0.15		120		60.0	
Low	125	2001	3	2 $\pm$ 2	0.15	0.09 $\pm$ 0.08	110	116 $\pm$ 6	55.0	57.8 $\pm$ 2.8
		2002	4		0.20	(0.00 / 0.20)	123		61.5	(55.0 / 61.5)
		2003	1		0.05		112		56.0	
		2004	0		0.00		113		56.5	
		2005	1		0.05		120		60.0	
Middle	250	3001	3	2 $\pm$ 1	0.15	0.09 $\pm$ 0.05	109	118 $\pm$ 9	54.5	58.8 $\pm$ 4.6
		3002	2		0.10	(0.00 / 0.15)	131		65.5	(54.5 / 65.5)
		3003	2		0.10		118		59.0	
		3004	0		0.00		121		60.5	
		3005	2		0.10		109		54.5	
High	500	4001	2	2 $\pm$ 0	0.10	0.11 $\pm$ 0.02	121	117 $\pm$ 4	60.5	58.4 $\pm$ 2.2
		4002	2		0.10	(0.10 / 0.15)	120		60.0	(56.0 / 60.5)
		4003	2		0.10		112		56.0	
		4004	2		0.10		119		59.5	
		4005	3		0.15		112		56.0	
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	26	27 $\pm$ 4	1.30	1.33 $\pm$ 0.18	112	106 $\pm$ 9	56.0	52.9 $\pm$ 4.4
		5002	28		1.40	(1.15 / 1.60)	91		45.5	(45.5 / 56.0)
		5003	32		1.60		112		56.0	
		5004	23		1.15		110		55.0	
		5005	24		1.20		104		52.0	

a): Administration was done only once for the positive control group.

b): Proportion(%) of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) per 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)

c): Proportion(%) of polychromatic erythrocytes (PCE, including MNPCE) per 200 erythrocytes

M-1422

信頼性保証書 (1/2)

試験番号 : M-1422

試験表題 : サリチルアルデヒドのマウスを用いた小核試験

本試験は以下に示す基準を遵守して実施されたことを保証致します。

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日 : 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、
環境企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会 : 1997 年 11 月 26 日)

なお、調査は下記の通り実施致しました。

2011 年 7 月 11 日
株式会社ボゾリサーチセンター
信頼性保証部門

試験における調査

項 目	担当者	調 査 日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
試験計画書		2010 年 5 月 14 日	2010 年 5 月 14 日
試験計画書変更書 (1)		2010 年 6 月 9 日	2010 年 6 月 9 日
コンピュータプロトコール		2010 年 6 月 14 日	2010 年 6 月 14 日
調製・被験物質の保存		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
被験液の濃度確認		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
調製 (再)		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
被験液の濃度確認 (再)		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
群分け・投与・一般状態の観察		2010 年 6 月 23 日	2010 年 6 月 23 日
陽性対照物質の調製		2010 年 6 月 24 日	2010 年 6 月 24 日

M-1422

信頼性保証書 (2/2)

項 目	担当者	調 査 日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
投与・一般状態の観察 (陽性対照物質)		2010 年 6 月 24 日	2010 年 6 月 24 日
骨髓塗抹標本の作製		2010 年 6 月 25 日	2010 年 6 月 25 日
骨髓塗抹標本の観察		2010 年 6 月 25 日	2010 年 6 月 25 日
被験物質の安定性確認		2010 年 7 月 7 日	2010 年 7 月 7 日
生データ		2010 年 7 月 31 日 2010 年 8 月 2 日	2010 年 8 月 3 日
最終報告書草案・表・付表		2010 年 7 月 31 日 2010 年 8 月 2 日	2010 年 8 月 3 日
改善確認		2010 年 8 月 3 日	2010 年 8 月 4 日
試験計画書変更書 (2)		2010 年 8 月 31 日	2010 年 8 月 31 日
最終報告書		2011 年 7 月 11 日	2011 年 7 月 11 日

プロセス調査

項 目	試験番号	担当者	調 査 日	部門責任者あるいは 陽性対照物質 管理責任者及び 運営管理者への 報告日
動物入荷	M-1422		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
検疫・馴化	M-1422		2010 年 6 月 16 日	2010 年 6 月 16 日
	M-1422		2010 年 6 月 23 日	2010 年 6 月 23 日
飼育管理	M-1422		2010 年 6 月 18 日	2010 年 6 月 18 日
陽性対照物質の管理	-		2010 年 7 月 21 日	2010 年 7 月 21 日

- : 該当せず