

試験報告書

依頼者 株式会社 パナセア

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



検体 空間洗浄ミストパナセア (1,000ppm)

表題 雌ラットを用いる気管内投与による急性毒性試験

2020 年 06 月 24 日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

雌ラットを用いる気管内投与による急性毒性試験

要 約

空間洗浄ミストパナセア (1,000ppm)を検体として、雌ラットを用いる気管内投与による急性毒性試験を行った。

検体を0.5 mL/kgの用量で気管内に投与し、14日間観察を行った。観察終了後、全身諸器官を肉眼的に観察し、肺(気管支含む)については重量測定及び病理組織学的検査を行った。また、気管支肺胞洗浄液を採取し、総細胞数及び細胞分画を調べた。

その結果、観察期間中に死亡例は認められず、体重、肉眼的検査、肺重量、気管支肺胞洗浄液の総細胞数及び細胞分画並びに肺(気管支含む)の病理組織学的検査において、検体の毒性を示唆する変化は認められなかった。試験群において投与直後に自発運動の低下が認められたが、投与後4時間以降に異常は認められず、その他の検査項目にも異常を示さなかったことから、検体の影響は一過性であると考えられた。

以上のように、本試験条件下において、検体は死亡などの急性全身毒性を引き起こさず、肺への毒性を示さないと考えられた。

1 依頼者

株式会社 パナセア

2 検体

空間洗浄ミストパナセア (1,000ppm)

3 試験実施施設

一般財団法人日本食品分析センター 千歳研究所
北海道千歳市文京2丁目3番

4 試験期間

2020年06月24日～2020年10月02日

5 試験目的

検体について、雌ラットを用いる気管内投与による急性毒性を調べる。

6 試験動物

9週齢のJclBrlHan:WIST系雌ラットを日本クレア株式会社から購入し、4日間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はプラスチック製ケージに1～3匹ずつ収容し、室温20～26℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はマウス・ラット・ハムスター用ガンマ線照射飼料[CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社]、飲料水は水道水をともに自由に摂取させた。

7 試験方法

試験群及び対照群を設定し、それぞれ6匹の試験動物を用いた。

体重を測定した後、試験群には検体、対照群には注射用水をそれぞれ0.5 mL/kgの投与用量で胃ゾンデを用いて気管内に投与した。

観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日以降は1日1回一般状態の観察を行った。投与後7及び14日に体重を測定した。観察期間終了時に、全身諸器官について肉眼的に観察を行った。その後、肺(気管支を含む)を摘出し、左肺は重量を測定した後、10 %中性緩衝ホルマリン中で固定した。これをパラフィン包埋して薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色(H.E.染色)を施し、光学顕微鏡を用いて検査した。また、右肺から気管支肺胞洗浄液を採取し、総細胞数及び細胞分画を調べた。

体重、肺重量、気管支肺胞洗浄液の総細胞数及び細胞分画について等分散性の検定(Leveneの検定)を行った。分散に差が認められない場合はStudentの t 検定、分散に差が認められた場合はWelchの t 検定により群間の比較を行った。いずれも有意水準は5 %とした。

8 試験結果

1) 死亡例

いずれの投与群においても、観察期間中に死亡例は認められなかった。

2) 一般状態

試験群の全例において、投与直後の観察で自発運動の低下が認められたが、投与後4時間以降に異常は認められなかった。

対照群では、観察期間中に異常は見られなかった。

3) 体重変化(表-1)

投与後7及び14日の体重測定において、群間で差は認められなかった。

4) 全身諸器官の肉眼的検査(表-2)

試験群では、全例で巣状の白変が肺葉全体に散在していたが、その他の器官に異常は見られなかった。

対照群では、すべての試験動物に異常は見られなかった。

5) 肺重量(表-3)

絶対重量及び相対重量において、群間で差は認められなかった。

6) 気管支肺胞洗浄液の検査(表-4)

試験群では、対照群と比較して好中球分画が有意に高かった。その他の検査項目では、群間で差は認められなかった。

7) 肺(気管支を含む)の病理組織学的検査(表-5並びに写真-1及び2)

試験群では、全例で肺胞に泡沫状マクロファージの集簇が認められたが、その程度はいずれもわずかであり、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球及び形質細胞の浸潤は認められなかった。

対照群では、6例中3例で肺胞に泡沫状マクロファージの集簇が認められたが、その程度はいずれもわずかであり、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球及び形質細胞の浸潤は認められなかった。

9 考 察

検体について、雌ラットを用いる気管内投与による急性毒性試験を実施した。

その結果、全例で死亡例は認められず、体重においては、群間で差は認められなかった。一般状態では、試験群において投与直後に自発運動の低下が認められたが、投与後4時間以降に異常は認められなかった。観察期間終了時の全身諸器官の肉眼的検査においては、試験群の全例で肺に巣状の白変が認められたが、その他の器官に異常は認められなかった。

肺重量、気管支肺胞洗浄液の総細胞数及び細胞分画では、好中球分画で有意差が認められたものの、軽微な変化であり毒性学的な意義はないものと考えられた。その他の検査項目に群間で差は認められなかった。肺(気管支を含む)の病理組織学的検査の結果、試験群には肺胞マクロファージの集簇が見られたものの、その程度はわずかであった。また、対照群にも同様の反応が見られた。肺胞マクロファージは正常な肺の組織でも認められ、肺胞に入り込んだ異物を貪食する役割を持つ。肉眼的検査では試験群の肺に巣状の白変が認められたが、これに関連する病理所見は認められなかったため、毒性とは無関係であると考えられた。

試験群において投与直後に自発運動の低下が認められたが、短時間で回復し、その他の検査項目にも異常を示さなかったことから、検体の影響は一過性であると考えられた。

以上のように、本試験条件下において、検体は死亡などの急性全身毒性を引き起こさず、肺への毒性を示さないと考えられた。

表-1 体重変化

群(動物数)	投与前	投与後(日)	
		7	14
試験群(6)	199.7±6.7	214.1±8.1	220.8±10.4
対照群(6)	198.7±6.3	209.5±7.8	223.1±11.2

体重は平均値±標準偏差で表した(単位:g)。

表-2 肉眼的検査

群	動物番号	所見
試験群	1-1	巣状の白変が肺葉全体に散在
	1-2	巣状の白変が肺葉全体に散在
	1-3	巣状の白変が肺葉全体に散在
	1-4	巣状の白変が肺葉全体に散在
	1-5	巣状の白変が肺葉全体に散在
	1-6	巣状の白変が肺葉全体に散在
対照群	2-1	NP
	2-2	NP
	2-3	NP
	2-4	NP
	2-5	NP
	2-6	NP

NP: 異常なし

表-3 肺重量

群(動物数)	絶対重量(g)	相対重量(g%)
試験群(6)	0.351±0.021	0.159±0.011
対照群(6)	0.323±0.032	0.145±0.013

平均値±標準偏差で表した。

相対重量 = [絶対重量(g) / 剖検時体重(g)] × 100

表-4 気管支肺胞洗浄液の総細胞数及び細胞分画

群(動物数)	総細胞数(×10 ³ /μL)	細胞分画(%)				
		好酸球	好中球	好塩基球	リンパ球	マクロファージ
試験群(6)	29.2±20.3	0.0±0.0	6.0±1.9*	0.0±0.0	1.5±1.5	92.5±2.4
対照群(6)	20.2±7.8	0.0±0.0	3.8±1.3	0.0±0.0	1.7±1.4	94.5±2.2

平均値±標準偏差で表した。

* 対照群と比較して有意差あり(p<0.05)。

表-5 肺(気管支含む)の病理組織学的検査

投与群	動物番号	所見	程度
試験群	1-1	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	1-2	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	1-3	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	1-4	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	1-5	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	1-6	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
対照群	2-1	NP	
	2-2	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	2-3	NP	
	2-4	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±
	2-5	NP	
	2-6	肺胞に泡沫状マクロファージの集簇	±

NP : 異常なし

程度 : -, なし ; ±, わずか ; +, 軽度 ; ++, 中程度 ; +++, 強度

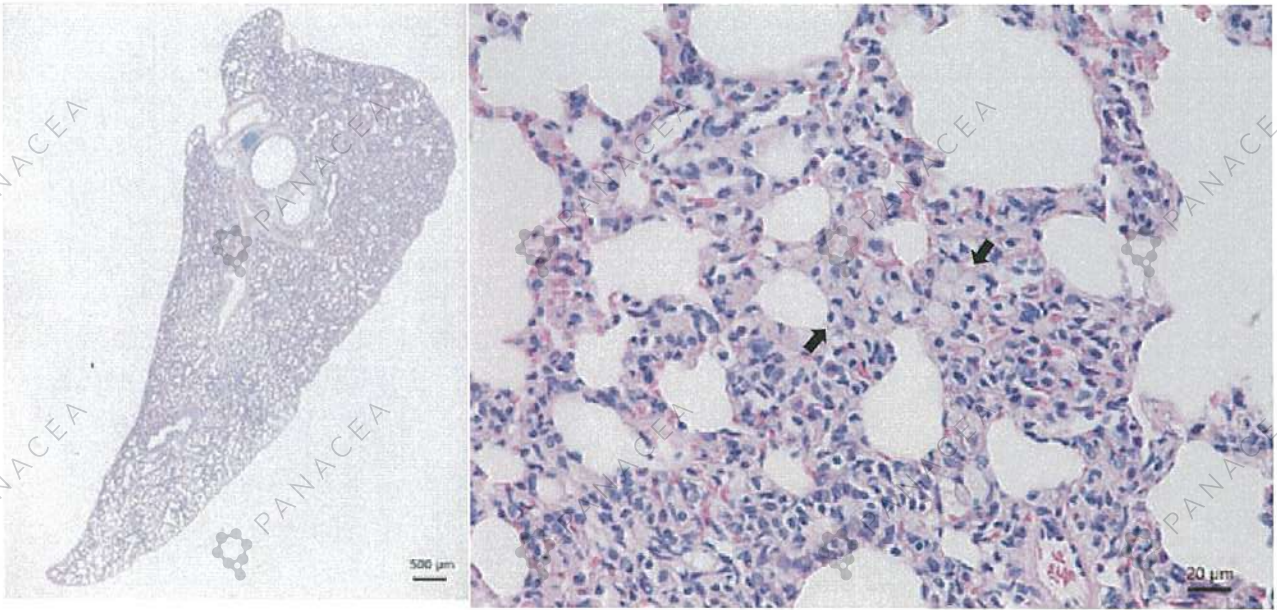


写真-1 試験群の肺 (H. E. 染色, 動物番号1-3)

右の写真は左の写真の強拡大。肺胞に泡沫状マクロファージ(矢印)の集簇が認められる。

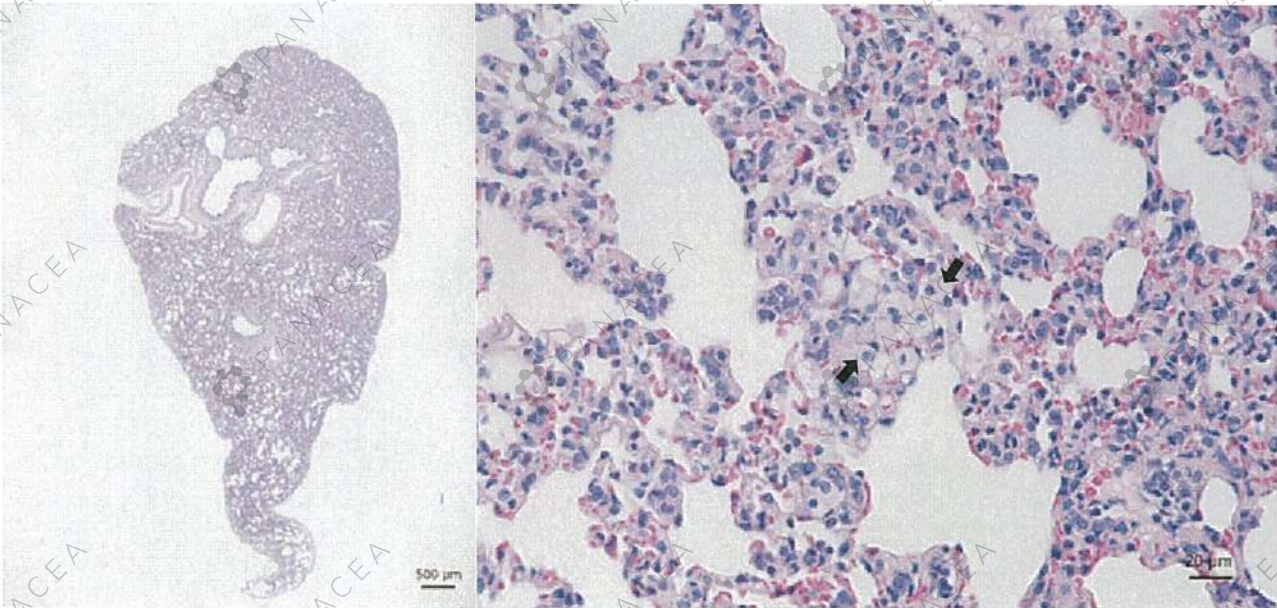


写真-2 対照群の肺 (H. E. 染色, 動物番号2-6)

右の写真は左の写真の強拡大。肺胞に泡沫状マクロファージ(矢印)の集簇が認められる。

以上