

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究

平成 18 年度分担研究報告書

6. アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）のマウスを用いる小核試験

分担研究者 松元 郷六 (財)残留農薬研究所 毒性部遺伝毒性研究室長
協力研究者 和田 邦生 (財)残留農薬研究所 毒性部遺伝毒性研究室研究員
竹澤 祐造 (財)残留農薬研究所 毒性部遺伝毒性研究室
阿部 美咲樹 (財)残留農薬研究所 毒性部遺伝毒性研究室

研究要旨

アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）の哺乳動物に対する *in vivo* 染色体異常誘発性を調査するため、マウスを用いる小核試験を行った。最大耐量である 150 mg/kg を最高用量に、中用量（75 mg/kg）及び低用量（37.5 mg/kg）を設定し、単回の強制経口投与を行った。投与後 24 及び 48 時間に骨髓塗抹標本を作製し、多染性赤血球中の小核出現頻度を求めた。その結果、いずれの用量においても小核出現頻度の有意な増加は認められなかった。よって、AAC の *in vivo* 染色体異常誘発性は無いものと判断された。

A. 研究目的

国内で使用される木材防腐剤は主に 3 種類に分けられる。すなわち、クロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤（CCA）、銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（ACQ）、およびアルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）である。我々はこれまでに CCA と ACQ の遺伝毒性を明らかにして来た。本年度は AAC に的を絞ってその遺伝毒性を調査することにした。

本研究では、哺乳動物の染色体への影響を明らかにするため、マウスを用いた小核試験を実施した。

B. 研究方法

試験方法は Schmid¹⁾および国内外の各

種毒性試験指針（経済協力開発機構、OECD Guidelines、No. 474、1997 年；薬事法、医薬審第 1604 号、1999 年；農林水産省、12 農産第 8147 号、2・1・19-3、2000 年等）に示された方法を参考に、以下の条件で実施した。

1. 被験物質

被験物質 AAC の情報および特性を以下に示す。

名称： Didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC)

ロット番号： DPJ0013

純度： 82.2～87.2%

CAS Reg No. : 7173-51-5
製造元 : 和光純薬工業株式会社
入手日 : 2006年 8月 14日
注意事項 : 吸湿性あり
保存条件 : 冷暗所 (許容範囲 : 1~10°C)

2. 使用動物

SPF の ICR 系 (CrIj:CD1) 雄マウス (6週齢) を日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターより購入した。入荷後 7 日間の馴化期間を設け、7 週齢で試験に供した。毒性試験および小核試験における被験物質投与日の使用マウスの平均体重はそれぞれ 32.6 g および 32.4 g であった。

3. 飼育条件

動物は以下の環境に設定された動物飼育室 (動物室115) で飼育した。

温度 : 22±3°C

湿度 : 50±20%

換気回数 : 10回以上/時間 (オールフレッシュエアー方式)

照明時間 : 12時間/日 (午前 7 時点灯、午後 7 時消灯)

金網床アルミニウム製ケージ (215W×330D×180H mm) に 3 または 5 匹の動物を収容した。各ケージはステンレス鋼製可動ラックに収容した。

動物の群分けは入荷時に動物を無作為に各ケージに分配することで行った。ただし、投与日の各個体の体重が、平均体重の±20% を超えないことを確認して用いた。ケージ内での各個体の識別は、ピクリン酸飽和 70% エタノール溶液を用いて被毛の一部を染色することで行った。

供試動物には、保証飼料である MF 固型 (オリエンタル酵母工業株式会社) を自由に摂取させた。また、市上水 (茨城県常総市) をプラスチック製給水びんに入れて動物に自由に摂取させた。

4. 被験物質溶液の調製

被験物質溶液の調製には純水 (Simpli Lab (日本ミリポア株式会社) を用いた。各濃度の被験物質投与液は、最高濃度の投与液を段階希釈により調製した。調製は投与日に行い、残余はそのつど廃棄した。なお、純度換算は行わなかった。

5. 陽性対照物質溶液の調製

マイトマイシン注用 (2 mg 力価マイトマイシン C/バイアル、協和醗酵工業株式会社) に純水を加えて溶解させ、1.0 mg/mL のマイトマイシン C 溶液を投与直前に調製した。

6. 投与方法

被験物質投与群、陰性対照群、および陽性対照群のすべての動物に対し、10 mL/kg の容量で胃ゾンデを用いて単回の強制経口投与を行った。個々の動物に対する投与容量は、投与日の体重から算出した。なお、投与前後、それぞれ約 3 時間の絶食を行った。

7. 毒性試験

供試動物の被験物質単回投与に対する最大耐量を求めるため毒性試験を行った。被験物質は 50、100、200、400、および 800 mg/kg の 5 用量を設定した。用量あたり 3 匹の動物に投与し、投与後 48 時間までの一

般状態の観察を行った。

8. 小核試験

毒性試験の結果に基づき、投与用量は 37.5、75、および 150 mg/kg の 3 用量を設定した（理由は後述）。供試動物数は 1 群 5 匹の動物を用いた。ただし、投与後 24 時間の最高用量（150 mg/kg）群で死亡例が 1 例認められたためサテライト群を設け、5 匹の予備動物を用意した。さらに陰性対照群および陽性対照群を設定した。陰性対照群には純水を 10 mL/kg の容量で投与した。陽性対照群はマイトマイシン C を 10 mg/kg の用量で投与した。

投与後 24 時間にすべての被験物質投与群、陰性対照群、および陽性対照群から骨髓採取を行った。また、投与後 48 時間には被験物質投与群の最高用量群および陰性対照群から骨髓採取を行った。

9. 小核標本の作製

頸椎脱臼で動物を安楽死させ、両側大腿骨を摘出した。摘出した大腿骨の一端からウシ胎仔血清を注入し、骨髓細胞を遠沈管へ洗い出した。骨髓細胞浮遊液を遠心分離し、余分の血清を捨てた。遠沈管に残った少量の血清に細胞を再浮遊させ、骨髓細胞浮遊液の小滴をピペットでスライドグラスに取り、カバーグラスを用いて細胞を均等に塗抹した。標本には暗号化したコード番号を記載した。標本を室温で十分に空気乾燥させた後、メタノールで 5 分間固定し、3% ギムザ液（メルク社製ギムザ溶液を pH6.8 リン酸緩衝液で希釈）で約 30 分間、室温で染色した²⁾。

10. 小核標本の観察

1 動物につき 1 枚の塗抹標本について、光学顕微鏡下 1000 倍にて赤血球の観察を行った。小核を有する多染性赤血球の出現頻度を求めるため多染性赤血球を 2000 個観察した。また、多染性赤血球の割合を求めるため、赤血球を多染性と正染性に区別しながら 1000 個観察した。

11. 統計方法

小核を有する多染性赤血球の出現頻度についての統計学的解析には、Kastenbaum-Bowman の数表³⁾（被験物質投与群）およびカイ二乗検定（陽性対照群）を用いた。一方、多染性赤血球の割合についての統計学的解析には Wilcoxon の順位和検定を行った。

12. 判定基準

少なくとも 1 つの被験物質投与群で、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加が認められれば陽性と判断した。一方、いずれの被験物質投与群においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加が認められなければ陰性と判定した。

13. 倫理面への配慮

本研究は実験動物としてマウスを用いているが、財団法人残留農薬研究所の実験動物保護管理規定を遵守しており、動物愛護の観点において十分配慮がされている。また、人を研究対象として用いていないため、人権擁護の観点において倫理上の問題は全くなかった。

C. 研究結果

1. 毒性試験成績

毒性試験の成績を Appendix 1 に示す。投与後 48 時間までに 50、100 および 200 mg/kg 群に死亡例の発生はなかった。しかし、400 mg/kg 群では 3 例中 2 例、800 mg/kg 群では 3 例中全例の死亡が確認された。観察された一般症状として、自発運動低下、努力性呼吸、自発運動消失、立毛、腹部膨満、および体温低下が観察された (Appendix 3)。

死亡例が発生しなかった最大用量は 200 mg/kg であった。しかし、200 mg/kg 群には腹部膨満、自発運動消失などの激しい毒性症状が現れており、死亡例が発生しても不思議ではない用量であることから、これよりも低い用量が望ましい。しかし、100 mg/kg 群ではまったく症状がないことから中間の 150 mg/kg を AAC 単回投与に対する最大耐量と判断し、小核試験の最高用量を 150 mg/kg に設定した。

2. 小核試験成績

試験期間中、最高用量の 150 mg/kg 群で 15 例中 1 例に死亡が認められた (Appendix 1)。一般状態においては 75 mg/kg 群に立毛が認められ、150 mg/kg 群に立毛、自発運動低下、努力性呼吸および体温低下が認められた。

小核試験の成績と統計学的解析の結果を Table 1 に、個体別成績および投与日の体重を Appendix 2 に示した。投与後 24 時間の陰性対照群における小核出現頻度は 0.25% であった。それに対して被験物質投与群の小核出現頻度は 0.24~0.34% であり、有意な増加は認められなかった。

投与後 48 時間の陰性対照群における小核出現頻度は 0.21% であった。それに対して 150 mg/kg 群の小核出現頻度は 0.18% であり、投与後 24 時間と同様に有意な増加は認められなかった。

また、多染性赤血球の割合においても、投与後 24 および 48 時間において有意な減少は認められず、AAC に骨髄増殖抑制効果はないものと考えられた (Table 1)。

D. 考察

本試験の最高用量群ではサテライト群も含めて 15 例中 1 例に死亡が認められたことから、十分に高い用量で試験が実施されたことが分かる。その結果、投与後 24 時間および 48 時間において、統計学的に有意な小核出現頻度の増加が認められなかったことから、AAC の *in vivo* 小核誘発性は陰性であることが示された。

AAC、すなわち DDAC は、第 4 級アンモニウム塩のカチオン界面活性剤であり、薬効分類としては塩化ベンザルコニウムと同じ逆性石鹼にあたる。DDAC の遺伝毒性については国内外の専門誌には報告されていない。しかし、DDAC は動物用医薬品として承認され、畜・鶏舎の消毒、畜・鶏体の消毒、家畜診療領域などで使用されている。種々の毒性試験が実施されており、非公開かつ古いデータではあるが復帰突然変異試験や小核試験では陰性の結果が得られている。本実験はそれを裏付ける結果と言えよう。

本研究の結果より、AAC には *in vivo* 染色体異常誘発性は無いことが明らかとなった。また、*in vitro* コメットアッセイでも陰性の結果が得られていることから (本年度

事業において実施)、AACはDNA損傷作用も有していないことが示された。よって、AAC (DDAC) には明らかな遺伝毒性は無いものと結論した。

E. 結論

AACはマウス骨髄細胞において小核の誘発は認められず、よって、*in vivo* 染色体異常誘発性は陰性であると結論した。

F. 引用文献

- 1) Schmid, W. (1976) The micronucleus test for cytogenetic analysis, In : A. Hollaender (Ed.) Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection, vol. 4, Plenum. New York, PP. 31~54.
- 2) Gollapudi, B. and Kamra, O.P. (1979) Application of a simple Giemsa-staining method in the micronucleus test, *Mutat. Res.*, 64, 45~46
- 3) Kastenbaum, M.A. and Bowman, K.O. (1970) Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutat. Res.*, 9, 527 ~ 549.
- 4) <http://nval.go.jp/vet-cop/sub4/ammonium.htm>

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Table 1 Summary of results - micronucleus test

Sampling time (hr)	Substance	Dose (mg/kg)	No. of mice	MNPCE / PCE (%)		PCE / (PCE+NCE) (%)	
				Mean \pm SD (range)	S ^{KC}	Mean \pm SD (range)	S ^W
24	Vehicle (Pure water)	0	5	0.25 \pm 0.11 (0.10 ~ 0.35)	—	55.0 \pm 7.2 (45.2 ~ 65.3)	—
		37.5	5	0.28 \pm 0.06 (0.20 ~ 0.35)	N.S.	52.6 \pm 4.0 (46.1 ~ 55.8)	N.S.
	AAC	75	5	0.24 \pm 0.11 (0.15 ~ 0.40)	N.S.	59.4 \pm 6.2 (51.8 ~ 65.6)	N.S.
		150	5	0.34 \pm 0.12 (0.15 ~ 0.45)	N.S.	52.3 \pm 6.4 (46.4 ~ 62.4)	N.S.
48	Mitomycin C	10	5	5.35 \pm 3.20 (1.70 ~ 9.10)	***	45.7 \pm 6.8 (39.3 ~ 56.2)	N.S.
		0	5	0.21 \pm 0.09 (0.10 ~ 0.30)	—	52.3 \pm 8.4 (44.0 ~ 66.4)	—
	AAC	150	5	0.18 \pm 0.16 (0.00 ~ 0.40)	N.S.	51.8 \pm 6.8 (41.1 ~ 57.5)	N.S.
		0	5	0.18 \pm 0.16 (0.00 ~ 0.40)	N.S.	51.8 \pm 6.8 (41.1 ~ 57.5)	N.S.

MNPCE : Micronucleated polychromatic erythrocytes.

PCE : Polychromatic erythrocytes.

NCE : Normochromatic erythrocytes.

SD : Standard deviation.

S^{KC} : Statistical analysis using the tables of Kastenbaum-Bowman or a chi-square test.

S^W : Statistical analysis using Wilcoxon's sum of ranks test.

N.S. : Not significantly different from the concurrent vehicle control (p \geq 0.05).

*** : Significantly different from the concurrent vehicle control at p \leq 0.001.

Appendix 1 Mortality in toxicity and micronucleus tests

Test	Substance	Dose (mg/kg)	Mortality
Toxicity test	AAC	50	0 / 3
		100	0 / 3
		200	0 / 3
		400	2 / 3
		800	3 / 3
Micronucleus test	Vehicle	0	0 / 10
	AAC	37.5	0 / 5
		75	0 / 5
		150	1 / 15
Mitomycin C	10	0 / 5	

Mortality : Number of death / Number of animals dosed.
 Vehicle : Pure water.

Appendix 2 Individual values of micronucleus test

Sampling time (hr)	Substance	Dose (mg/kg)	Animal number	B.W. (g)	MNPCE/PCE (%)	PCE/(PCE+NCE) (%)
24	Vehicle (Pure water)	0	111	30.4	0.10	45.2
			112	34.1	0.20	65.3
			113	29.1	0.35	56.3
			114	30.1	0.35	55.0
			115	33.7	0.25	53.4
	AAC	37.5	121	33.0	0.30	55.8
			122	31.7	0.35	46.1
			123	32.9	0.30	51.7
			124	34.5	0.25	54.3
			125	30.5	0.20	55.2
		75	126	31.7	0.15	59.2
			127	34.7	0.20	54.7
			128	34.4	0.15	51.8
			129	33.2	0.40	65.5
			130	32.6	0.30	65.6
	150	136	34.3	0.15	51.0	
		137	30.8	0.30	47.8	
		148	35.1	0.45	54.1	
		139	33.1	0.35	46.4	
		140	31.7	0.45	62.4	
Mitomycin C	10	141	33.0	1.70	56.2	
		142	32.3	9.10	39.9	
		143	34.0	7.45	45.6	
		144	31.3	6.10	39.3	
		145	31.0	2.40	47.3	
48	Vehicle (Pure water)	0	116	31.3	0.30	66.4
			117	32.3	0.15	52.1
			118	33.0	0.20	48.6
			119	34.1	0.30	50.6
			120	26.6	0.10	44.0
	AAC	150	131	30.3	0.10	57.4
			132	31.8	0.40	41.1
			133	30.9	0.00	57.5
			134	36.8	0.10	53.0
			135	34.9	0.30	50.0

BW : Body weight at the day of dosing.

MNPCE : Micronucleated polychromatic erythrocytes.

PCE : Polychromatic erythrocytes.

NCE : Normochromatic erythrocytes.

Appendix 3 Individual clinical observation in toxicity test

Test	Substance	Dose (mg/kg)	Animal number	Time after the administration				
				1	3	5	24	48 (hr)
Toxicity test	AAC	50	11	—	—	—	—	—
			12	—	—	—	—	—
			13	—	—	—	—	—
		100	14	—	—	—	—	—
			15	—	—	—	—	—
			16	—	—	—	—	—
		200	17	—	—	A	A,D,P	A,D,P
			18	—	—	—	A,D,P	A,D,P
			19	—	A,P	A,D,P	A,D,L,P	A,L,Lo,H,P
		400	20	—	—	—	A,Lo	Lo
			21	—	A,P	P	Fd	
			22	—	—	P	A,Lo,P,H	Fd
		800	23	—	A,P	A,D,P	Fd	
			24	—	A,P	D,P	Lo,H	Fd
			25	—	A,P	A,D,P	Fd	

- : No abnormalities detected.
- A : Abdominal distention.
- D : Decrease in spontaneous motor activity.
- Fd : Found dead.
- L : Labored respiration.
- Lo : Loss of spontaneous motor activity.
- P : Piloerection.
- H : Hypothermia.

Appendix 4 Individual clinical observation in micronucleus test

Test	Substance	Dose (mg/kg)	Animal number	Time after the administration				
				1	3	5	24	48 (hr)
Micronucleus test	Vehicle (Pure water)	0	111	—	—	—	—E	
			112	—	—	—	—E	
			113	—	—	—	—E	
			114	—	—	—	—E	
			115	—	—	—	—E	
	AAC	37.5	121	—	—	—	—E	
			122	—	—	—	—E	
			123	—	—	—	—E	
			124	—	—	—	—E	
			125	—	—	—	—E	
		75	126	—	—	—	—E	
			127	—	—	—	—E	
			128	—	P	P	P,E	
			129	—	—	—	—E	
			130	—	—	—	—E	
	150	136	—	—	—	—E		
		137	—	—	—	—E		
		138	D	D,L	D,L,H,P	Fd		
		139	—	—	—	—E		
		140	—	—	—	—E		
	Mitomycin C	10	141	—	—	—	—E	
			142	—	—	—	—E	
			143	—	—	—	—E	
			144	—	—	—	—E	
			145	—	—	—	—E	
	Vehicle (Pure water)	0	116	—	—	—	—E	
			117	—	—	—	—E	
			118	—	—	—	—E	
			119	—	—	—	—E	
			120	—	—	—	—E	
	AAC	150	131	—	—	—	—E	
			132	—	—	—	—E	
			133	—	—	—	—E	
134			—	—	—	—E		
135			—	—	—	—E		
AAC (Satellite)	150	146	—	—	—	—T		
		147	—	P	—	—T		
		148	P	P	—	—E		
		149	—	—	—	—T		
		150	—	P	P	P,T		

- : No abnormalities detected.
- D : Decrease in spontaneous motor activity.
- E : Euthanatized for sampling.
- Fd : Found dead.
- L : Labored respiration.
- H : Hypothermia.
- P : Piloerection.
- T : Terminal kill without sampling.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価に関する研究

平成 18 年度分担研究報告書

7. アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）のラットにおける 4 週間
反復経口投与毒性試験（一般毒性及び神経・免疫毒性併合試験）

分担研究者	小坂忠司	（財）	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室長
分担研究者	首藤康文	（財）	残留農薬研究所	毒性部神経毒性研究室長
協力研究者	高橋尚史	（財）	残留農薬研究所	毒性部病理研究室研究員
	千葉裕子	（財）	残留農薬研究所	毒性部病理研究室技術担当室長
	小嶋五百合	（財）	残留農薬研究所	毒性部病理研究室主任研究員
	林 宏一	（財）	残留農薬研究所	毒性部免疫・急性毒性研究室
	武田眞記夫	（財）	残留農薬研究所	毒性部分子毒性研究室長
	大塚亮一	（財）	残留農薬研究所	毒性部分子毒性研究室研究員

研究要旨

アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）のラットにおける一般毒性、神経毒性及び免疫毒性を検索するため、AAC を、0、1、8 及び 40 mg/kg の用量で、雌雄の Wistar 系ラットに 4 週間に亘り毎日強制経口投与した。その結果、高用量群では雌雄ともに投与初期から腹部膨満、異常呼吸音、鼻・外陰部周囲の汚れなどが認められ、それに伴い一般状態が悪化し、約半数例が死亡した。同様な症状は少数例ながら中用量群においても観察され、雌では 1 例が死亡した。病理組織学的検査では、高用量群の雌雄において胸腺・脾臓の萎縮（B 及び T 細胞数の減少）、気道系の炎症及び前胃のびらん・潰瘍あるいは十二指腸粘膜過形成が認められた。鼻腔の炎症は中用量群の雌においても観察された。低用量群では、AAC 投与に関連づけられる異常は特に認められなかった。これらの結果から、AAC を経口的に投与すると消化管及び気道系に傷害を惹起することが示唆された。なお、本実験条件下では 8 mg/kg 前後が最大耐量（MTD）であり、無毒性量（NOAEL）は雌雄とも 1 mg/kg と判定された。

A. 研究目的

現在の使用量の多い代表的な木材防腐剤であるアルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤（AAC）をラットに 4 週間にわ

たって反復経口投与し、その際に生じる一般毒性、神経毒性及び免疫毒性を検索し、リスク評価に必要な基礎的毒性情報を得る事を目的とした。

B. 研究方法

試験方法は、医薬品毒性試験法ガイドライン（薬審1第24号、1989年）、単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について（薬新薬第88号、1993年）、医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン（医薬審第1019号、1998年）、反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（医薬審第655号、1999年）、医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドラインの改正について（医薬審第1831号、2000年）に従い、以下の条件で実施した。

1. 被験物質

本試験の被験物質として、アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤のジデシルジメチルアンモニウムクロリド（Didecyl dimethylammonium chloride、和光純薬工業株式会社）である。含量は、マクロケルダール法による窒素量から算出した場合82.2%、硝酸銀滴定法による塩素イオン量から算出した場合87.2%であり、水分量は1.3%であった。受領した被験物質は冷蔵庫（許容範囲1~10℃）で保管した。

2. 試験動物

日本クレア株式会社富士生育場（静岡県）で生産されたWistar Hannover系SPFラット（Br1Han:WIST@Jcl[GALAS]）を一般毒性試験用に雌雄各47匹、免疫毒性試験用に雄を40匹、雌47匹購入し、雄では10日間、雌では8日間試験環境に馴化した後、7週齢で試験に用いた。馴化期間中毎日一般状態を観察し、この期間中眼科学的検査及

び詳細な一般状態の観察を実施した。動物は温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 20\%$ 、換気回数10回以上/時間（オールフレッシュエア方式）、照明時間12時間/日（午前7時点灯、午後7時消灯）に設定された動物飼育室で飼育した。投与開始日に全ての動物の体重を測定し、体重値に基づいた層別無作為抽出法で一般毒性試験には雌雄各10匹、免疫毒性試験用は雄8匹を各用量群にそれぞれ配分し、群分けを実施した。群分け後の個体識別は耳鑑札法で行なった。基礎飼料には保証飼料MF粉末（オリエンタル酵母工業株式会社）を用い、ステンレス鋼製粉末給餌器に入れて動物に自由に摂取させた。飲料水は、市上水（常総市）をプラスチック製給水びんに入れて動物に自由に摂取させた。なお、動物の取り扱いに関しては残留農薬研究所に定める倫理規定に従い実施した。

3. 試験群

当該試験に先立ち、各群6匹ずつの雄性Wistar Hannover系SPFラットを用いて0、10、30、100、300及び1000 mg/kgの6用量で14日間の反復強制経口投与による予備試験を実施した。その結果、100 mg/kg以上の投与群において半数例以上が死亡ないし切迫殺された。臓器重量測定において、10 mg/kg投与群で腎臓の相対重量値に有意な減少がみられた。この予備試験結果に基づいて、明らかな毒性変化が惹起されることが考えられる40 mg/kgを最高用量に、最小の毒性変化が予想される8 mg/kgを中間用量に設定した。また、無毒性が予想される1 mg/kgを低用量に設定した。加えて、対照群（0 mg/kg）を設定した。これらの設

定用量群 (0、1、8 及び 40 mg/kg の 4 用量) の各用量群につき主試験用に雌雄とも 10 匹、免疫グロブリン抗体価測定用に雄 8 匹の動物を使用した。

本試験の主試験用動物の免疫学的検査において、幼若胸腺細胞 (DP 細胞) 及び細胞傷害性 T 細胞の減少が全投与群 (1、8 及び 40 mg/kg) の雌動物に用量依存性に認められた。そのため、雌動物についても免疫グロブリン抗体価を検索する必要性が生じたことから、免疫グロブリン抗体価測定用の雌追加群 (0、0.2、1、8 及び 24 mg/kg の 5 用量) を設けた、各用量群につき雌 8 匹の動物を使用した。

4. 被験物質投与液の調製

各用量 (0、0.2、1、8、24 及び 40 mg/kg) の被験物質投与液を週に 1 回調製した。投与液調製時の含量換算は行わなかった。投与容量は 4 mL/kg とした。所定量の被験物質を秤量し、注射用水 (大塚薬品株式会社、東京都) を加え定容し、溶解させた。0.2、1、8、24 及び 40 mg/kg の各用量の濃度は、それぞれ 0.05、0.25、2.0、6.0 及び 10.0 mg/mL である。また、対照群の投与液は注射用水とした。各濃度の投与液は小分けし、冷蔵・遮光 (5°C) 条件下にて保存した。投与液は投与直前に室温に戻して使用した。

5. 一般状態の観察

全動物について、投与期間中 1 日 2 回瀕死状態ないし死亡の有無を、1 日 1 回被験物質投与後に一般状態を観察した。瀕死状態の動物は動物愛護及び人道的配慮から安楽死させた。この切迫殺動物のデータは死亡例と同様に扱った。

6. 詳細な状態の観察

主試験用の全生存動物について、詳細な状態の観察を投与開始前 1 回と投与期間中毎週 1 回、午前のほぼ一定の時刻に実施した。観察は、ケージ内あるいは外 (オープンフィールド) で以下の項目を対象に実施し、それらの程度をスコアリングして記録した。

詳細な状態の観察項目：体位/姿勢、呼吸状態、攣縮、振戦、痙攣、警戒性、攻撃性、眼球突出、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、粘膜、分泌物/付着物、筋緊張、取り扱いに対する反応、瞳孔径の変化、常同行動、異常行動、被毛の状態、皮膚色、探索行動、歩様異常、立ち上がり姿勢、糞の個数、糞の状態及び尿の状態

7. 神経機能検査

主試験用の全生存動物について、投与 4 週時に 1 回、感覚運動反応 (位置視覚、接近反応、触覚反応、痛覚反応、聴覚反応及び空中立ち直り反射) 検査、OECD 方式ラット握力測定器 (室町機械株式会社) を用いた前肢及び後肢握力測定、遠赤外線方式の検出器 (SUPER MEX®) を装着した自発運動測定システム (室町機械株式会社) を用いた自発運動量測定を実施した。

8. 体重

全動物について、投与開始時及びその後毎週毎週 1 回体重を測定した。また、全動物について殺処分前あるいは死亡発見時に最終体重を測定した。

9. 摂餌量

主試験用の全生存動物について、全ケ-

ジについて、毎週 1 回原則として連続 3 日分または 4 日分のケージ別摂餌量を測定した。各測定値を測定期間中にそれぞれのケージ内で生存した動物の延べ数で除し、ケージ毎に 1 日 1 匹あたりの摂餌量（ケージ別平均摂餌量）を算出した。

10. 食餌効率

主試験用の全用量群について、投与開始後毎週、群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して群平均食餌効率（%で表示）を雌雄別に算出した。

11. 眼科学的検査

主試験用の動物について、馴化期間中に雌雄の全馴化動物及び投与 4 週時に雌雄の全生存動物について、ハロゲン検眼鏡（株式会社ナイツ）による観察を含む眼科学的検査を行なった。眼科学的検査では、眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体及び眼底を観察した。

12. 尿検査

主試験用の全生存動物について、投与 4 週時に尿検査を実施した。各検査動物を個体別採尿ケージに入れて自然排泄により得られた新鮮尿を用いて、尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン及び尿沈渣の項目について検査した。また、動物を同ケージに一晩入れて蓄積尿を採取し、尿色と尿量を検査した。尿比重は手持屈折計（株式会社アタゴ）で測定した。ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質及びウロビリノーゲンは、試験紙マルティスティックス®SG（バイエルメディカル株式会社）の呈

色の程度を、クリニテック®50（バイエルメディカル株式会社）で準定量的に計測した。尿沈渣は鏡検した。

13. 血液学的検査

主試験用の全生存動物について、4 週間反復投与終了後に血液学的検査を実施した。検査動物は採血前に一晩絶食させた。動物をエーテル麻酔下で開腹し、無処理の注射筒を用いて後大静脈より採血した。

血液学的検査は、EDTA 処理した血液試料を用いて、以下の項目について総合血液学検査装置アドヴィア 120（Bayer Corporation）で測定した。

測定項目（略号）：ヘマトクリット値（Ht）、血色素量（Hb）、赤血球数（RBC）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板数（PLT）、網赤血球数（Retics）、白血球数（WBC）及び白血球のディファレンシャルカウント；好中球（N）、リンパ球（L）、単球（M）、好酸球（E）、好塩基球（B）、大型非染色球（LUC）

血液凝固能を調べるために、プロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の測定検査も実施した。

14. 血液生化学的検査

主試験用の全生存動物について 4 週間反復投与終了後に前項の血液学的検査で採取した血液試料をヘパリン処理した血漿を用い、以下の項目を JCA-BM1250 自動分析装置にて測定した。

測定項目（略号）：アルカリホスファターゼ（ALP）、アスパラギン酸アミノトランスフ

ェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGTP)、クレアチニン (Creat)、尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)、血糖 (Gluc)、総コレステロール (T.Chol)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T.Bil)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、無機リン (P)、カリウム (K) 及び塩素 (Cl)

15. 免疫学的検査

主試験用の全生存動物について、4週間反復投与終了後に胸腺及び脾臓の半分について重量を測定し、免疫学的検査に供試した。免疫学的検査では、総合血液学検査装置アドヴィア 120 (Bayer Corporation) を用いた胸腺及び脾臓の細胞数計測及び FACS Calibur (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いたフローサイトメトリー解析 (リンパ球サブセット解析) を実施した。

16. 免疫グロブリン抗体価の測定

免疫グロブリン抗体価測定用の全生存動物について、4週間投与終了後最終屠殺 (採血) の6日前に、 2×10^8 のヒツジ赤血球 (SRBC, Seep Red Blood Cell, (株)日本生物材料センター) をエーテル麻酔下でラットに 0.5mL 静脈内投与した。採血はエーテル麻酔下で後大静脈より行い、血清を採取した後測定時まで凍結保存 (-70°C 以下) した。血清中のヒツジ赤血球特異的免疫グロブリン M クラス抗体 (抗ヒツジ赤血球免疫グロブリン M 抗体) の抗体価は、BD OptEIA™ Reagent Set B (BD) を使用して酵素免疫測定法 (ELISA)²⁾ で測定し、吸

光度が 0.5 を示す血清の希釈倍率をもって表した。

17. 臓器重量

主試験用の全生存動物について、4週間反復投与終了後に剖検し、以下の臓器の固定前の重量 (絶対重量) を測定して最終体重から比体重値 (相対重量) を算出した。測定項目: 脳、下垂体、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む、両側)、心臓、肺、肝臓、腎臓 (両側)、脾臓、副腎 (両側)、唾液腺 (両側の顎下腺・舌下腺を合わせたもの)、精巣 (両側)、精巣上体 (両側)、前立腺 (腹葉)、精囊・凝固線 (両側)、卵巣 (両側)、子宮

18. 剖検及び病理組織学的検査

主試験用の動物について、投与期間中の死亡動物を含めた全動物について剖検を実施した。4週間反復投与終了後の計画殺動物は、エーテルの深麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。

剖検時に全動物から以下の臓器及び組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。ただし、肺についてはホルマリン液を気管から注入した後に浸漬固定した。また、精巣は FSA 液 (ホルマリン・ショ糖・酢酸混合液) で 5~7 日間固定した後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

採取した臓器及び組織: 脳 (大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髓 (頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経 (片側)、下垂体、胸腺 (右側半分)、甲状腺及び上皮小体 (両側)、副腎 (両側)、脾臓 (半分)、骨及び骨髓 (胸骨、片側大腿骨及び頸部、胸部、腰部椎骨)、膝関節 (片側)、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、心臓、

大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔、副鼻腔、口腔粘膜及び中耳を含む）、舌、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺（腹葉）、精嚢（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（頸部を含む）、膣、眼球（両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）及び肉眼的異常部位

病理組織学的検査は、対照群と高用量群については上記の全臓器・組織を対象に、中・低用量群では標的組織と肉眼的異常部位について行った。組織標本は、上記の固定組織から定法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。

19. 肝臓の酸化ストレス(活性酸素関連物質)の測定

4週間反復投与終了後の主試験用計画殺動物より採取した肝組織（凍結試料）を用い、過酸化脂質及び8-ヒドロキシデオキシグアノシン（8-OH-dG）の測定を実施した。

過酸化脂質の測定では凍結試料の一部から肝ホモジネートを調製し、TBA法により分光光度計（UV-2200、島津製作所）にて過酸化物の吸光度を測定し、過酸化脂質濃度を算出した。8-OH-dGの測定では凍結試料の一部からDNAを抽出し、8-ヒドロキシデオキシグアノシン（8-OH-dG）測定用ELISAキット（日本油脂株式会社）を用い肝組織中の8-OH-dG濃度を測定した。

20. 有意差検定

各検査項目について、対照群と各被験物質投与群間の統計学的有意差の有無を危険率5及び1%レベルで解析した。

運動量、握力、体重、摂餌量、尿比重、尿量、血液学的検査項目、血液生化学的検査項目、胸腺及び脾臓の細胞数、フローサイトメトリーによるリンパ球、免疫グロブリン抗体価、臓器重量、過酸化脂質量及び8-OH-dG量のデータについては、先ずBartlettの等分散検定を行なった。この検定によって全用量群における分散が均一であるという判定が出た場合には、一元配置分散分析法を用いて群間の有意差の有無を調べた。その結果群間に有意差が認められた場合には、Dunnettの多重比較法を実施して対照群と各投与群間における有意差の有無を判定した。Bartlettの等分散検定で各群の分散が等しくないという判定が出た場合は、Kruskal-Wallisのノンパラメトリックな分散分析法を用いて群間の有意差の有無を調べた。その結果群間に有意差が認められた場合には、Dunnett型の多重比較法を用いて対照群と各投与群間における平均順位の有無を判定した。

詳細な状態の観察所見及び感覚運動反応のスコアならびに尿検査項目（尿比重、尿量を除く）については、Kruskal-Wallisのノンパラメトリックな分散分析法を用いて群間の有意差の有無を調べ、その結果群間に有意差が認められた場合には、Dunnett型の多重比較法を用いて対照群と各投与群間における平均順位の有無を判定した。ただし、詳細な状態の観察における糞の状態及び尿の状態については有意差検定を実施しなかった。

死亡率ならびに一般状態の観察所見、眼科学的検査所見及び剖検所見の発生頻度については、Fisher の直接確率計算法（片側検定）を用いて解析した。

C. 研究結果

1. 死亡率（表 1、2）

高用量群（40 mg/kg）において、雄では投与 1 週から死亡例が認められ、投与 4 週の累積死亡率は主試験用の動物で 10 匹中 6 匹、免疫グロブリン抗体価測定用動物で 8 匹中 5 匹であった。同群の雌では投与 2 週から死亡例が認められ、累積死亡率は主試験用の動物で 10 匹中 5 匹であった。また、免疫グロブリン抗体価測定用の雌動物では高用量群（24 mg/kg）で 8 匹中 1 匹が、主試験用の雌動物では中間用量群（8 mg/kg）で 10 匹中 1 匹が死亡した。

2. 一般状態（表 3、4）

高用量群（40 mg/kg）では、雄の主試験用動物で腹部膨満、異常呼吸音、体温低下、鼻周囲部及び外陰部被毛の汚れが、抗体価測定用動物で腹部膨満、異常呼吸音、軟便及び外陰部被毛の汚れの発生頻度が有意に増加した。その他、鎮静及び流涎が散見された。雌では、削瘦、腹部膨満、異常呼吸音、体温低下及び外陰部被毛の汚れの発生頻度が有意に増加した。その他、軟便、鼻・口周囲部の汚れが散見された。

中間用量群（8 mg/kg）では、雌雄の少数例に異常呼吸音が認められ、死亡した雌の 1 例では削瘦、腹部膨満及び軟便が観察された。

低用量群（1mg/kg）では、雌雄とも一般状態に異常はなかった。

2. 詳細な状態の観察（表 5、6）

詳細な状態の観察の結果、スコアの変動が認められた項目を表 5 及び 6 に示す。表にない項目は全ての動物でスコア 0 あるいは N（観察不能）であった。

高用量群（40 mg/kg）では、雌において探索行動の有意な減少が投与 4 週に、立ち上がり姿勢の有意な減少が投与 3 週に観察された。雄では特に異常はみられなかった。

その他の用量群では、排尿回数に有意差が観察されたが、用量相関性がないかあるいは単発的である等の理由から、被験物質投与に関連付けられる変化ではないと判断された。

3. 神経機能検査成績（表 7、8）

投与 4 週時に行った神経機能検査（FOB）では、雌雄ともいずれの用量群においても異常は認められなかった。

4. 体重変化（表 9、10）

高用量群（40 mg/kg）において、雄では抗体価測定用動物で投与 2 週より、雌では主試験用動物で投与 3 週より有意に低下（対照群に比べ約 15% 減）した。

中（8 mg/kg）及び低用量群（1 mg/kg）では、雌雄とも有意な変化はなかった。

5. 摂餌量（表 11、12）

高用量群（40 mg/kg）では、雌雄とも投与期間中の摂餌量が有意に減少あるいは減少傾向（対照群に比べ 10-20%前後の減少）を示した。

中用量群（8 mg/kg）では、雌の摂餌量に有意な減少（対照群に比べ約 10%減）がみられたが、雄では異常はなかった。

低用量群（1 mg/kg）では、雌雄とも摂餌量に異常はみられなかった。

6. 食餌効率 (表 13、14)

高用量群 (40 mg/kg) の食餌効率が雌雄とも減少傾向にあったが、投与期間中の平均値においては雄では対照群に比べ大きな違いは認められなかった。

その他の用量群では、雌雄とも特に異常はみられなかった。

7. 眼科学的検査成績 (表 15、16)

いずれの用量群においても投与4週時の検査において雌雄とも異常は認められなかった。

8. 尿検査成績 (表 17、18)

雌雄ともいずれの用量群においても尿検査値に異常はみられなかった。

9. 血液学的検査成績 (表 19、20)

高用量群 (40 mg/kg) では、雌において赤血球数及び単球の増加が認められたが、雄では異常はなかった。

その他の用量群では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる有意な変化はなかった。

10. 血液生化学的検査成績 (表 21、22)

高用量群 (40 mg/kg) では、雄において総蛋白とアルブミン値の有意な減少が、雌ではカリウムと塩素の有意な減少が観察された。

その他の用量群では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる有意な変化はなかった。

11. 免疫学的検査成績 (表 23-27)

高用量群 (40 mg/kg) では、雌において胸腺及び脾臓細胞数の減少が観察された。さらに、フローサイトメトリーによる解析では、雌において胸腺の幼若細胞数 (DN 細胞) とヘルパー T 細胞数の減少がみられ、脾臓では汎 T 細胞数、汎 B 細胞数、ヘルパー T 細胞数及び細胞傷害

性 T 細胞数の減少が観察された。一方、雄ではいずれの検査項目においても異常はみられなかった。

中 (8 mg/kg) 及び低用量群 (1 mg/kg) では、雌において胸腺の幼若細胞数 (DP 細胞) 及び細胞傷害性 T 細胞数の減少が観察されたが、雄では異常はなかった。

免疫グロブリン抗体価測定 (表 27) では、雌雄とも被験物質投与に関連すると考えられる変化はいずれの用量群においても認められなかった。

12. 肝臓の酸化ストレス (活性酸素関連物質) の測定成績 (表 28、29)

肝臓の酸化ストレスマーカーの解析では、雌雄とも有意な変化はいずれの用量群においても認められなかった。

13. 臓器重量 (表 30、31)

高用量群 (40 mg/kg) では、雌において胸腺の絶対・相対 (比体重値) 重量がともに有意に減少した。その他にも種々の臓器に統計学的に有意な変動がみられたが、体重減少に伴う絶対重量の減少あるいは相対重量の増加であり、被験物質投与に起因すると考えられる変化ではなかった。

その他の用量群では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる変化は認められなかった。

14. 剖検所見 (表 32、33)

高用量群 (40 mg/kg) では、雌雄とも消瘦、胸腺及び脾臓の萎縮、胃・消化管膨満 (腔内ガスあるいは液状物充満) あるいは肛門周囲の汚れなどの肉眼所見が認められ、特に途中死亡・切迫殺動物において顕著であった。

その他の用量群では、雌雄とも被験物質投与

に関連付けられる肉眼的異常は観察されなかった。

15. 病理組織学的検査成績 (表 34、35)

高用量群 (40 mg/kg) では、雌雄とも胸腺及び脾臓の萎縮、鼻炎、前胃のびらん・潰瘍の発生頻度が有意に増加した。その他、雄では喉頭炎、気管炎及び肺炎の発生頻度が、雌では十二指腸の粘膜上皮過形成の発生頻度が増加した。

中用量群 (8 mg/kg) では、雌において鼻炎の発生頻度が増加した。雄では、有意な変化はみられなかった。

低用量群 (1 mg/kg) では、雌雄とも被験物質投与に関連付けられる有意な所見は観察されなかった。

D. 考察

木材防腐剤として使用される化学物質のリスク評価を行うことを目的に、平成 16 及び 17 年度でクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤 (CCA) 及び銅・アルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤 (ACQ) を対象にして、ラットの反復経口投与毒性試験を実施した。平成 18 年度では、さらに CCA の代替剤であるアルキルアンモニウム化合物系木材防腐剤 (AAC) を対象にラットの反復経口投与毒性試験を実施し、その一般毒性、神経毒性及び免疫毒性を検索した。AAC (第 4 級アンモニウム塩のジデシルジメチルアンモニウムクロリド (DDAC)) を 0、1、8 及び 40 mg/kg の用量 (免疫グロブリン抗体価測定用の雌動物追加群では 0、0.2、1、8 及び 24 mg/kg) で、雌雄の Wistar 系ラットに 7 週齢から 4 週間に亘り毎日強制経口投与し、臨床症状観察、機能検査、眼科学的検査、尿検査、血液・

生化学検査、免疫学的検査及び病理学的検査を含む諸検査を実施した。その結果について以下のように考察した。

一般毒性：臨床症状及び死亡率では、中・高用量群の雌雄において投与初期から腹部膨満、異常呼吸音、体温低下、鼻周囲部被毛の汚れ、外陰部被毛の汚れあるいは軟便等が認められ、高用量群では雌雄とも約半数例が、中用量群では雌 1 例がそれぞれ死亡した。これらの症状は、AAC の有効成分ジデシルジメチルアンモニウムクロリド (DDAC) の四級アンモニウム系化合物の毒性情報^{3・5)}と一致し、本剤投与の影響と考えられた。

体重変化では、高用量群において雌雄とも摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められた。中用量群においても雌の摂餌量が軽度に減少したが、体重への影響はみられなかった。

血液・生化学的検査では、高用量群において雄ではアルブミンの減少を伴う低蛋白血症が認められ、雌では赤血球数と単球の増加ならびにカリウムと塩素の減少がみられた。これらの検査値の変動は摂餌量の減少に伴う体重増加抑制など一般状態の悪化に伴う二次的変化と推察した。

剖検所見では、高用量群において雌雄とも消瘦、胸腺・脾臓の萎縮 (重量減少)、胃・消化管の膨満あるいは肛門周囲の汚れなどが観察され、特に途中死亡動物において顕著であった。これらの肉眼変化は前述の臨床症状とも一致し、AAC 投与の影響を反映する所見と考えられた。

病理組織学的検査では、高用量群の雌雄において胸腺・脾臓の萎縮、鼻炎、前胃の糜爛・潰瘍が観察され、加えて、雄では喉頭・気管・肺の炎症が、雌では十二指腸粘膜上皮過形成が有意に増加した。これらの組織学的変化の内、前

胃の糜爛・潰瘍及び十二指腸粘膜の過形成は、AAC の有効成分である四級アンモニウム系化合物 DDAC に起因する変化と考えられた。四級アンモニウム系化合物は、粘膜刺激性を有するため、経口的に曝露されると胃・消化管粘膜の出血、潰瘍あるいは細胞増殖の亢進が惹起されることが報告されている^{3,5)}。加えて、ヒトでは声門（喉頭）や肺に浮腫が誘発されることが報告されている^{3,5)}。従って、高用量群にみられた上記の気道系の炎症も本剤投与の影響を反映する所見と推察した。胸腺・脾臓の萎縮に関しては、摂餌量の減少を伴う体重増加抑制や消化管障害に伴う一般状態の悪化あるいはストレスによる変化と考えられ、本剤の免疫系への影響を反映する所見ではないと推察した（免疫毒性の項参照）。

神経毒性: スコアリングによる詳細な状態の観察の結果、高用量群の雌で探索行動や立ち上がり姿勢の減少がみられたものの、一般状態の悪化に伴う二次的変化であると考えられた。また、投与 4 週時に行った神経機能検査では、AAC 投与による変化はいずれの用量群においても認められなかった。よって、本実験条件下では AAC 投与に起因すると考えられる特異的な神経毒性はみられなかった。

免疫毒性: 全投与群の雌に胸腺細胞数（幼若胸腺細胞及び細胞傷害性 T 細胞）の減少がみられたものの、末梢リンパ組織の脾臓における汎 B 細胞及び汎 T 細胞集団の減少が高用量群にのみ観察された。従って、中及び低用量群での胸腺細胞集団の減少は毒性学的意義がないものと考えられた。また、免疫グロブリン抗体価ではいずれの投与群にも変化はみられなかった。

上記の結果から、AAC による特異的な免疫毒性作用は認められないものと判断された。

E. 結論

ラットに AAC を 40 mg/kg の高用量で反復経口投与すると消化管あるいは気道系に傷害が惹起され、一般状態の悪化を招き、死亡することが判明した。また、本実験条件下では 8 mg/kg 前後が最大耐量（MTD）であり、1 mg/kg は無毒性量（NOAEL）と判定された。

F. 引用文献

- 1) 日本工業規格: 木材防腐剤に関する基準 JIS K 1570、2004.
- 2) Temple L et. al.: Volume 1 Chapter 9 ELISA to measure SRBC-specific serum IgM: Method and data evaluation. In: Method in Immunotoxicology, (Burlison GR, Dean JH, and Munson AE eds.), Wiley-Liss Inc., New York, pp 137-157, 1995.
- 3) BIBR Working Group: Benzalkonium chloride. Toxicity profile. The British Industrial Biological Research Association, 1989.
- 4) Cutler RA and Drobeck HP: Toxicology of cationic surfactants. In: Cationic Surfactants, Vol. 4 (Chapter 15), Jungermann E (ed.), Marcel Dekker, New York, 1970.
- 5) Grosselin RE, Smith RP, and Hodge HC: Clinical Toxicology of Commercial Products (5th ed.), Williams & Wilkins, Baltimore, 1984.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし