

表7 亜酸化窒素含有ホイップクリーム 28 日間投与試験における群構成

性別	群	処置	亜酸化窒素	投与量 (g/kg)	推定亜酸化窒素量 (mg/kg)
雌	1	無処置	-	0	0
	2	クリーム	+	2.5	16.8
	3	クリーム	+	5	33.6
	4	クリーム	+	10	67.1
	5	クリーム	-	10	0
	6	クリーム	-(+空気)	10	0
雄	7	無処置	-	0	0
	8	クリーム	+	2.5	16.8
	9	クリーム	+	5	33.6
	10	クリーム	+	10	67.1
	11	クリーム	-	10	0
	12	クリーム	-(+空気)	10	0

一般状態の観察として、臨床症状の観察および行動機能検査を行い、その他体重測定、摂餌量測定、摂水量測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、眼科学的検査および病理学的検査を行った。

生存率については、投与期間中に誤投与による1例を除き、各投与群とも死亡動物は認められなかった。臨床症状および行動機能検査では、いずれの投与群においても投与によると思われる影響は観察されなかった。体重増加においては投与期間中、各投与群とも無処置対照群と同様に推移し、明らかな差を認めなかった(図6)。しかし、摂餌量および摂水量においては、雌雄ともに亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 投与群で投与期間中減少傾向を示した(図7、8)。摂餌量および摂水量の減少傾向は亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 投与群および亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg+空気投与群においても同様に認められており、この減少は亜酸化窒素の影響ではなく、クリームの大量投与による影響と考えられた。

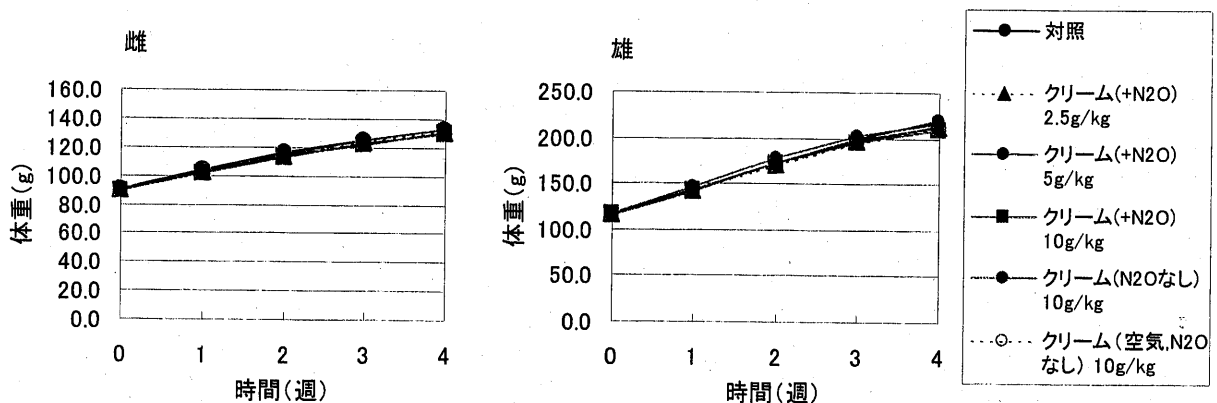


図6 亜酸化窒素含有ホイップクリーム 28 日間投与試験における体重変化

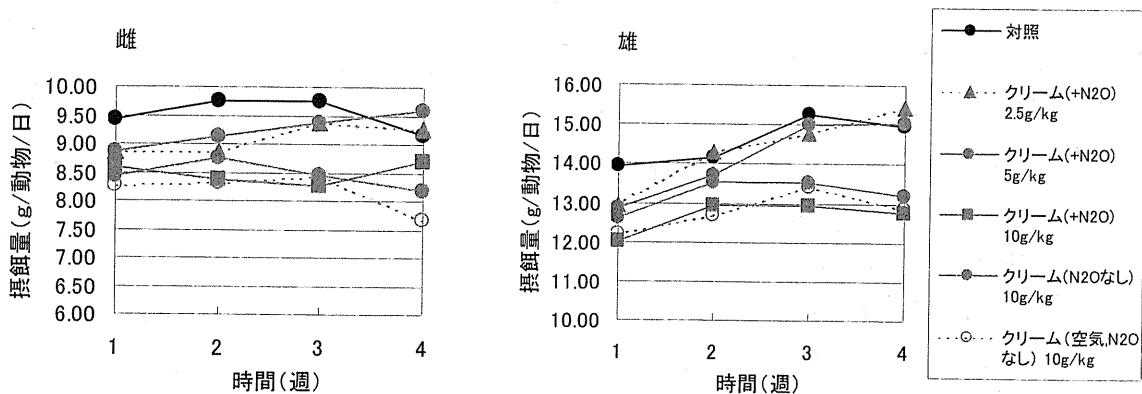


図7 亜酸化窒素含有ホイップクリーム 28日間投与試験における摂餌量変化

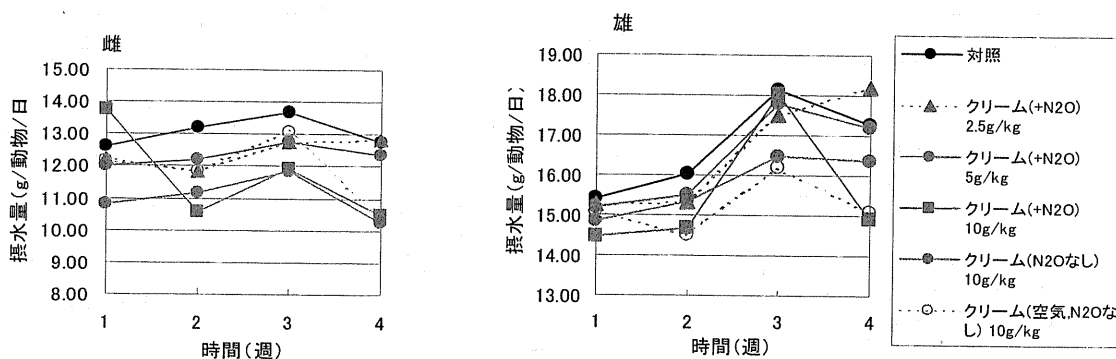


図8 亜酸化窒素含有ホイップクリーム 28日間投与試験における摂水量変化

表8 亜酸化窒素含有ホイップクリーム28日間投与の4週における尿検査所見

性別	群 NO.	処置	投与量 (g/kg)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	
雌	1	-	0	106.7 ± 7.1	294.7 ± 86.3	120.7 ± 27.6	
	2	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	2.5	90.8 ± 13.6	265.1 ± 48.0	91.7 ± 23.1	
	3	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	5	92.4 ± 21.7	255.4 ± 69.5	102.9 ± 33.7	
	4	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	10	79.5 ± 14.4	302.2 ± 107.3	62.8 ± 20.8	*, #
	5	クリーム(N <sub>2</sub> Oなし)	10	106.8 ± 31.4	290.4 ± 106.3	103.5 ± 40.3	\$
	6	クリーム(空気,N <sub>2</sub> Oなし)	10	65.6 ± 14.1	201.5 ± 72.0	58.1 ± 23.5	**, ##
雄	7	-	0	140.9 ± 38.8	375.1 ± 71.2	199.2 ± 32.1	
	8	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	2.5	107.9 ± 15.5	385.7 ± 147.1	137.4 ± 25.5	**
	9	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	5	106.5 ± 31.5	311.6 ± 104.8	116.0 ± 45.2	**
	10	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	10	121.4 ± 26.1	266.4 ± 75.6	114.1 ± 27.5	**
	11	クリーム(N <sub>2</sub> Oなし)	10	101.9 ± 19.4	278.2 ± 68.9	126.3 ± 31.3	**
	12	クリーム(空気,N <sub>2</sub> Oなし)	10	124.0 ± 35.6	282.2 ± 113.8	145.6 ± 42.6	*

\*, \*\*: 対照群1, 7に対し、P<0.05, 0.01を有意差ありとした。

#, ##: 対照群5に対し、それぞれP<0.05, 0.01を有意差ありとした。

\$, \$\$: 対照群6に対し、それぞれP<0.05, 0.01を有意差ありとした。

尿検査では、雌の亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 投与群でナトリウムおよび塩素において有意な低値を認めたが(表8)、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg+空気投与群においても同様に低値を示しており、この減少は亜酸化窒素による影響ではないと判断した。雄においては無処置対照群と比較して各投与群で塩素の有意な低値を認めたが、

亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 投与群および亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg + 空気投与群との間には差を認めないことから、クリームによる影響と推察され、亜酸化窒素の影響ではないと判断した。

血液学的検査では、雄の 5 g/kg 投与群で血小板数が有意な高値を示したが、用量相関が認められず、投与に起因した増加ではないと判断した。その他の検査項目においてはいずれの群においても明らかな差は認められなかった。本試験では、白血球数ならびに白血球数百分率とも差は認められなかった。なお、ラットを用いた吸入毒性試験において白血球数の減少が報告されているが (40、51、52)、これらについては後述する (図 11 [p.61]、図 15 [p.70]、表 18 [p.71] および図 16 [p.72])。

表9 亜酸化窒素含有ホイップクリーム28日間投与における血液生化学的検査所見

性別	群	処置	投与量 (g/kg)	BUN (mg/dl)	Mg (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
雌	1	-	0	22.9 ± 0.8	2.3 ± 0.1	133.0 ± 3.5	4.9 ± 0.3	97.6 ± 2.2
	2	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	2.5	21.3 ± 1.3	2.2 ± 0.1	133.8 ± 3.4	4.8 ± 0.2	98.5 ± 2.4
	3	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	5	23.1 ± 2.6	2.2 ± 0.1	131.2 ± 3.8	4.9 ± 0.2	96.6 ± 2.5
	4	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	10	21.5 ± 1.6	2.2 ± 0.2	130.6 ± 9.1	4.7 ± 0.4	96.5 ± 6.4
	5	クリーム(N <sub>2</sub> Oなし)	10	21.7 ± 3.1	2.2 ± 0.1	134.7 ± 1.4	4.9 ± 0.3	99.5 ± 1.2
	6	クリーム (空気,N <sub>2</sub> Oなし)	10	21.5 ± 1.7	2.3 ± 0.1	135.0 ± 1.0	4.9 ± 0.4	99.3 ± 0.9
雄	7	-	0	22.4 ± 1.9	2.1 ± 0.1	135.1 ± 0.8	5.1 ± 0.2	100.3 ± 1.1
	8	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	2.5	22.2 ± 1.1	2.1 ± 0.1	133.0 ± 1.9	5.0 ± 0.4	98.9 ± 1.3
	9	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	5	21.7 ± 1.6	2.2 ± 0.2	128.1 ± 6.6 *	4.8 ± 0.2	94.4 ± 3.9 *
	10	クリーム(+N <sub>2</sub> O)	10	20.7 ± 0.9 *	2.1 ± 0.1	132.2 ± 2.4 *	5.0 ± 0.3	98.0 ± 1.5 *
	11	クリーム(N <sub>2</sub> Oなし)	10	20.9 ± 0.6	2.0 ± 0.1	132.1 ± 2.3 *	5.0 ± 0.2	98.6 ± 1.3
	12	クリーム (空気,N <sub>2</sub> Oなし)	10	20.5 ± 0.6 *	2.0 ± 0.1	131.6 ± 2.2 **	5.1 ± 0.2	97.9 ± 1.8 *

\*, \*\*: 対照群7に対し、それぞれ P<0.05, 0.01を有意差ありとした。

血液生化学的検査では、雄の亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 投与群で尿素窒素が無処置対照群と比較して有意な低値を示したが (表 9)、亜酸化窒素非含有クリーム + 空気投与群においても同様に有意な低値を認めており、また、亜酸化窒素非含有クリームにおいても低値傾向を認めていることから、尿素窒素の低下はクリームの影響であり亜酸化窒素の影響ではないと判断した。雄の亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10、5.0 g/kg 投与群でナトリウムが無処置群と比較して有意な低値を示したが、亜酸化窒素非含有クリーム群および亜酸化窒素非含有クリーム + 空気投与群においても同様に認められていることからナトリウムの変動はクリームの影響であり亜酸化窒素の影響ではないと判断した。また、雄の亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10、5.0 g/kg 投与群で塩素が無処置群と比較して有意な低値を示したが、亜酸化窒素非含有クリーム + 空気投与群においても同様に認められており、さらに、亜酸化窒素非含有クリーム投与群においても低値傾向を認めていることから、塩素の変動はクリームの影響であり亜酸化窒素の影響ではないと判断した。

病理組織学的検査では無処置対照群を含む各群に散発的に病変が観察されたが、投与に関連したものは認められなかった。なお、ラットを用いた亜酸化窒素の吸入毒性試験において骨髓有核細胞数の減少が報告されているが (52)、本試験では亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 投与群においても認められなかった。

以上の結果、摂餌量、摂水量、尿検査および血液生化学的検査において投与に起因した

変化が認められたが、これらはクリーム of 投与に起因したものと推察され、亜酸化窒素によると考えられる影響はいずれの検査項目においても認められなかった。

本試験に使用した亜酸化窒素含有ホイップクリーム中の亜酸化窒素含有量を定量分析した結果、亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g 中には推定亜酸化窒素量として 67.1 mg が含有されていた。

従って、28 日間反復投与毒性試験の結果、本試験における亜酸化窒素の無毒性量 (NOAEL) は 67.1 mg/kg であると結論した。

## 2) 経口投与以外の曝露による試験報告

### ① 静脈内投与による急性毒性試験

Roberts らは、数種の不活性ガスを雌雄各 24 頭のブタに、麻酔下で静脈内投与した時の心肺反応について検討した。水溶性ガスとして、亜酸化窒素と二酸化炭素、比較的不溶性のガスとしてアルゴン、ヘリウムおよび窒素を試験ガスとして用いた (39)。試験ガスは 0.1 ml/kg/分 で大腿静脈から 30 分間投与し、終末呼気二酸化炭素濃度 (end-tidal CO<sub>2</sub>)、平均動脈圧、血行力学パラメーターおよび動脈血中ガスの変化を試験開始前と比較した。

表 10 に示したように、二酸化炭素は血漿への溶解性は亜酸化窒素の 1.5 倍ではあるが、両ガスとも比較的水溶性である。不溶性ガスであるアルゴン、ヘリウム、窒素と溶解性を比較すると、二酸化炭素で 24~80 倍、亜酸化窒素で 16~53 倍である。

表 10 試験ガスの水および血漿への溶解性 (オストワルト係数\*)

	分子量	水	血漿
CO <sub>2</sub>	44	0.6230-0.6420	0.6860-0.6990
N <sub>2</sub> O	44	0.4400-0.4780	0.4540
Ar	40	0.0270-0.0303	0.0241-0.0281
He	4	0.0096-0.0101	0.0086
N <sub>2</sub>	28	0.0137-0.0145	0.0131-0.0137

\*オストワルト係数; 37度、1 kg/cm<sup>2</sup>における溶媒 1 ml 中のガス ml

静脈内投与によって、二酸化炭素および亜酸化窒素投与では、死亡例はみられなかったが、窒素投与群では 4 頭中 3 頭が死亡し、2 頭は投与開始 20 分後に、1 頭は 30 分後に死亡した。アルゴン、ヘリウムおよび窒素投与群は全て、肺動脈性ガス塞栓症の臨床症状を呈した。このことは、平均肺動脈圧 (図 9) および終末呼気二酸化炭素濃度 (図 10) の変化からも言える。図 9 に示したように、比較的不溶性のガスであるアルゴン、ヘリウムおよび窒素を投与した時、平均肺動脈圧の有意な上昇が観察されたが、水溶性のガスではこの注入速度では非常にわずかな変化しかみられなかった。しかし、二酸化炭素では統計学的に有意な変化であった。図 10 は終末呼気二酸化炭素濃度を示しているが、不溶性ガスの投与により、可逆的ではあるが有意に二酸化炭素量が減少した。平均動脈圧と同様に、二酸化炭素投与群でわずかではあるが有意な変化がみられた。

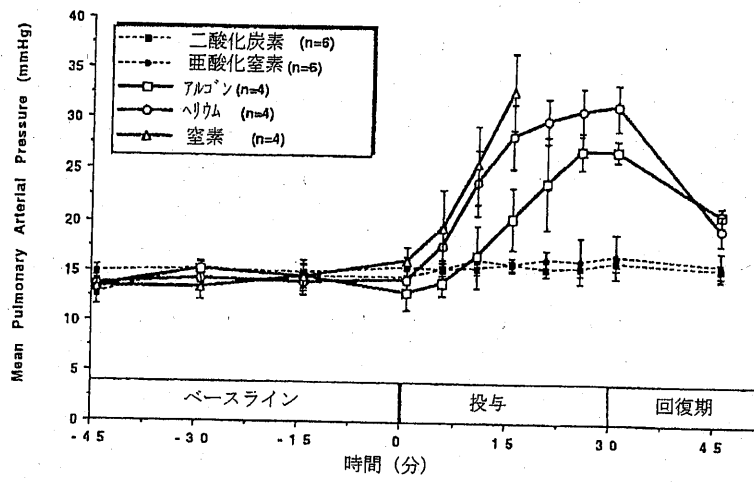


図 9 平均肺動脈圧の静脈性塞栓症に対する変化

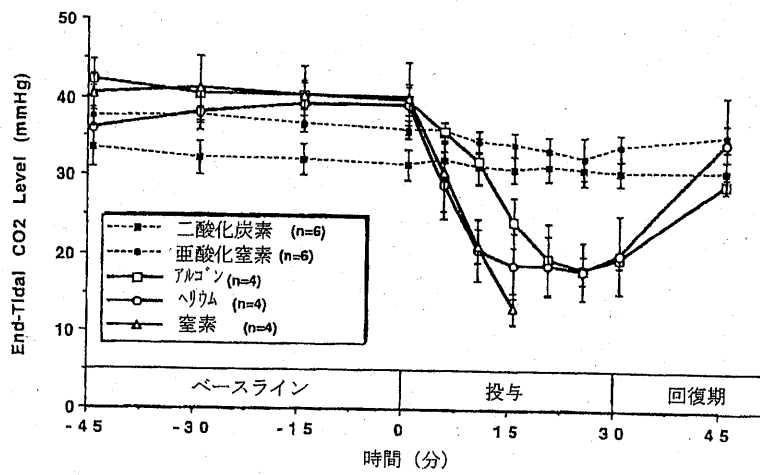


図 10 終末 (end-tidal) 呼気二酸化炭素濃度