

# ポリソルベート80のラット における神経発生毒性試験

国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター  
総合評価研究室

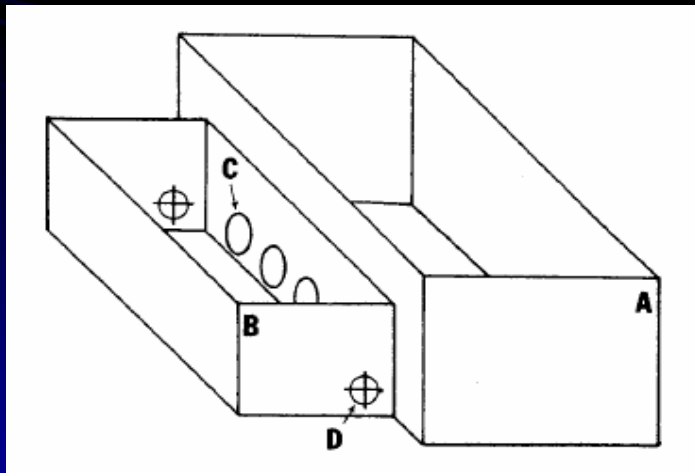
江馬 眞

(2007年3月23日、食品安全委員会添加物調査会)

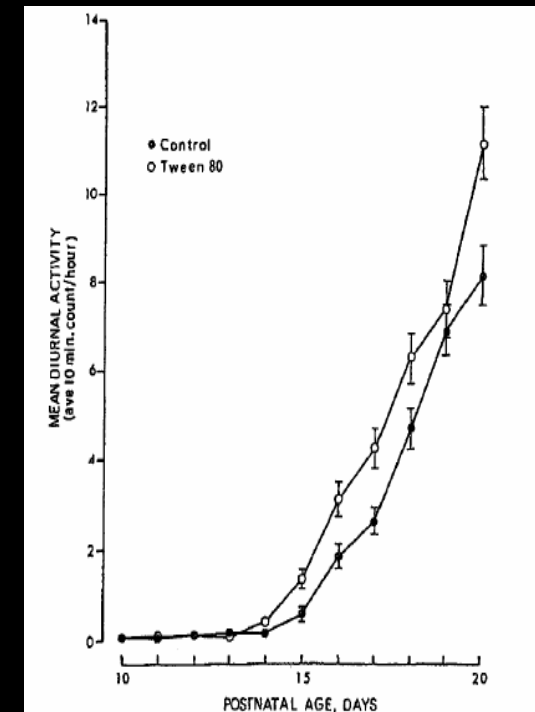
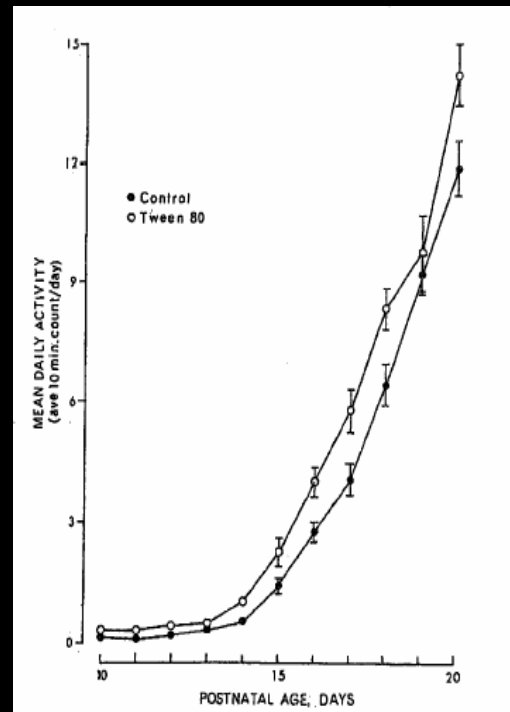
# 追加試験を必要とする根拠となった論文

Brubaker et al. (1982) Effect of Tween 80 on exploratory behavior and locomotor activity in rats.  
Life Sci, 30, 1965-1971.

雌SDラットの妊娠前14日間、交配・妊娠中及び授乳21日まで 0.125% (1.25 mL/L) のTween 80を飲水投与 (約100 mg/kg bw/day) したところ、生後10-20日の新生児の探索行動と運動量の増加が観察された。



Crofton et al. (1980) Life Sci, 26, 823-831.



# 本試験の概要

- OECD Draft TG426 (Developmental Neurotoxicity study) に準拠し、GLP下にて実施。
- CrI:CD(SD)ラット (20匹 / 群)
- 投与 : 飲水投与 (Brubaker et al. 1982と同じ)
- 高用量 : 7.5% (自発運動の亢進が報告されている0.125%の60倍量に相当)、摂水量に影響なく、母動物の摂餌量や体重に軽度な影響が予測される
- 中～低用量 : 1.0, 0.13, 0.018% (公比7.5)
- 対照群 (水のみ投与)
- 投与は妊娠0日から分娩後21日とする
- 生後4日に雄4、雌4匹に児数をそろえる

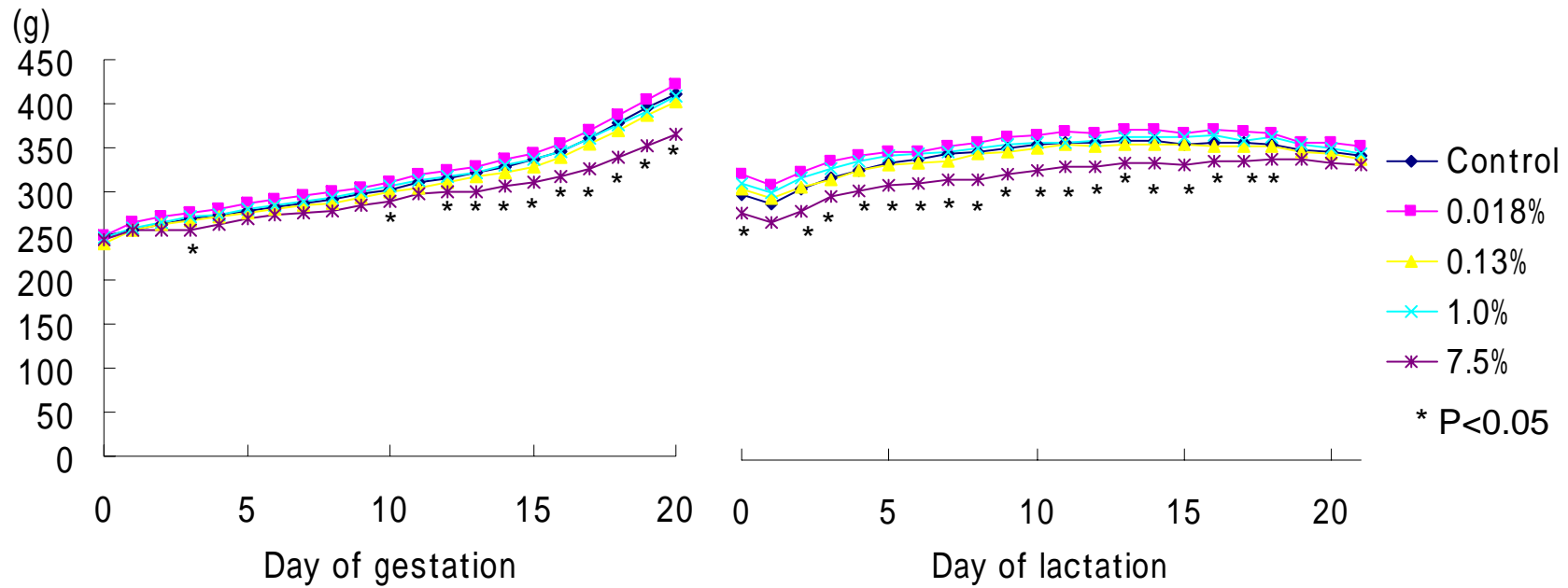
## 本試験における試験動物数

母動物の観察(一般状態観察、体重、飲水量、摂餌量)	20/群
繁殖・発生所見	20母体/群
児発育分化(耳介展開、毛生、切歯萌出、眼瞼開裂)	全生存児(雌雄各/群)
児反射反応(正向反射、負の走地性)	雌雄各20/群
離乳前児自発運動(PNDs 14-15, 17-18, 20-21の20:00, 2:00, 8:00, 14:00)	雌雄各20/群
児離乳時の器官重量測定、神経系病理組織学的検査	雌雄各10/群
離乳後児の一般状態観察、体重測定	全生存児(雌雄各30/群)
感覚機能検査(瞳孔反射、耳介反射、疼痛反射、空中正向反射)	雌雄各20/群
性成熟検査	雌雄各20/群
離乳後自発運動測定(PNDs 33-37, 60-66)	雌雄各20/群
条件回避学習試験(PNDs 23-27, 60-67)	雌雄各10/群
器官重量測定、神経系病理組織学的検査(PND 70)	雌雄各10/群

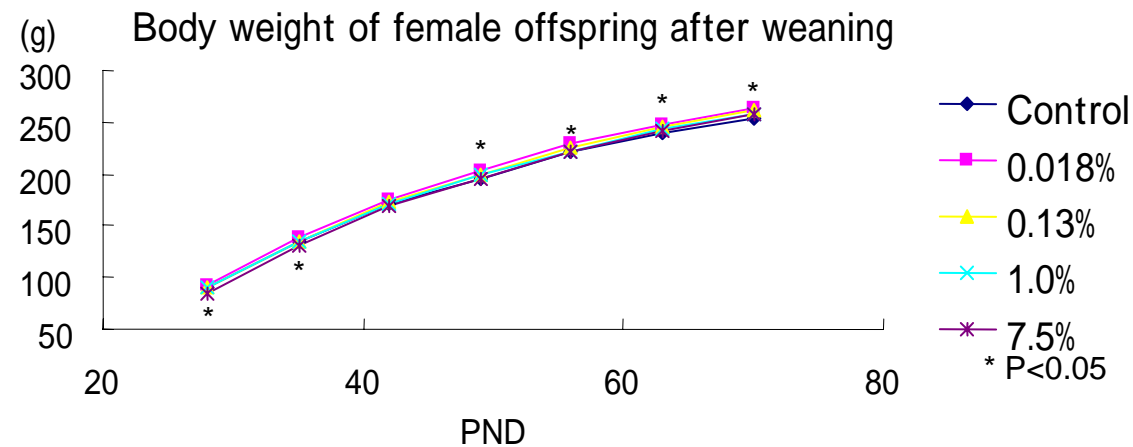
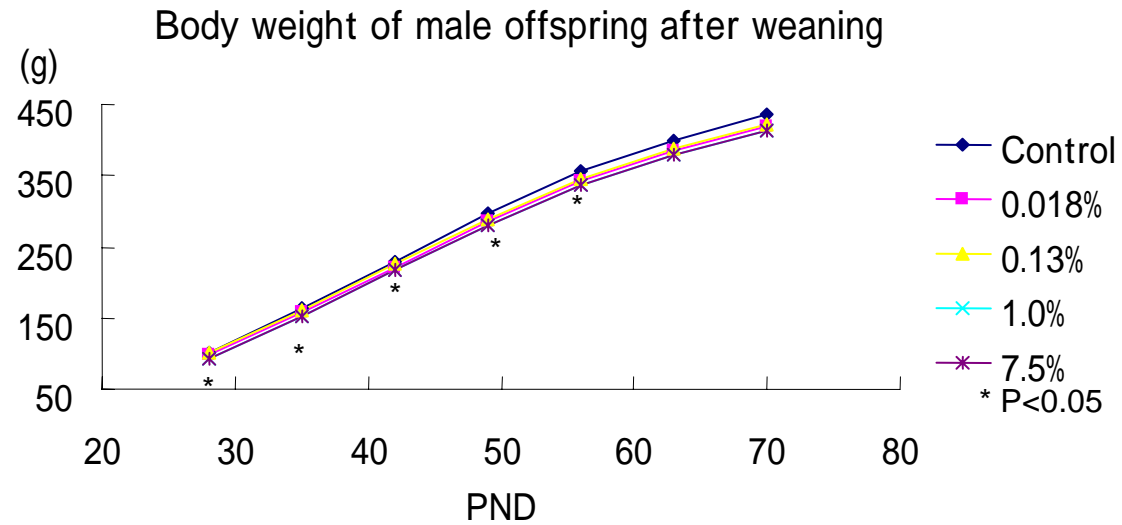
## 本試験における児動物の割り当て

児番号		児の割り当て数		検査
1m	1f	20	+ 20	離乳前自発運動（生後 14-15, 17-18, 20-21日） 反射反応（生後 5, 8日）  器官重量 / 神経病理学的検査（生後 22日）
		10	+ 10	
2m	2f	20	+ 20	感覚機能検査（生後23-26, 62-64日）  性成熟（ : 生後 35日 ~、 : 生後 25 ~ ）  器官重量 / 神経病理学的検査（生後 70日）
		20	+ 20	
		10	+ 10	
3m	3f	10	+ 10	条件回避学習（生後 23-27日）
3m	3f	10	+ 10	条件回避学習（生後 60-67日）
4m	4f	-	-	予備又は追加試験用の動物：剖検（生後 103-126日）

# ポリソルベート80を投与した母ラットの体重変化

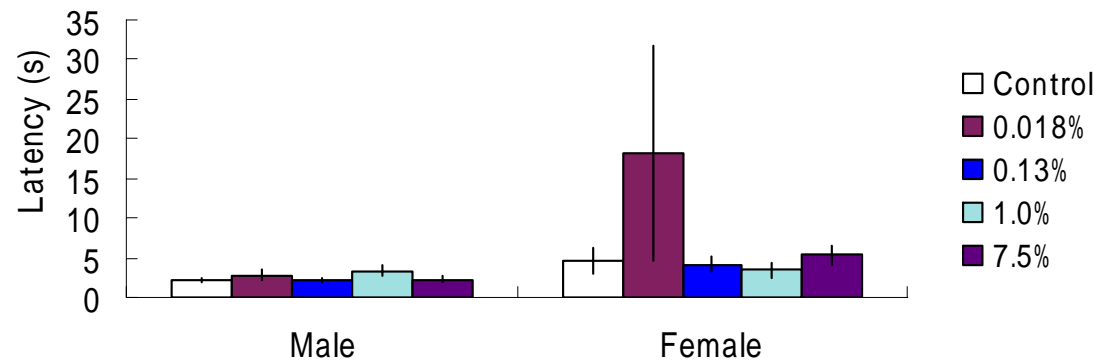


# ポリソルベート80を投与した児ラットの体重変化

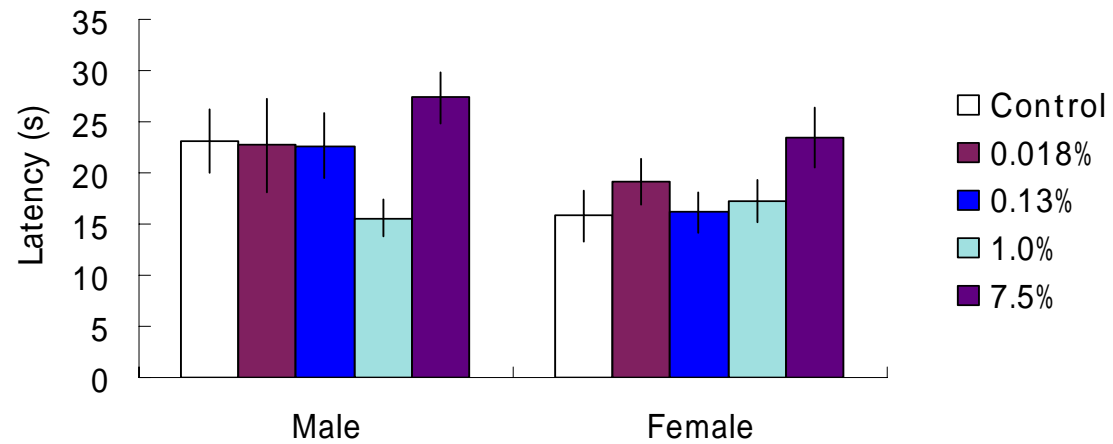


# ポリソルベート80を投与した児ラットの反射反応

## Surface righting reflex on day 5



## Negative geotaxis on day 8

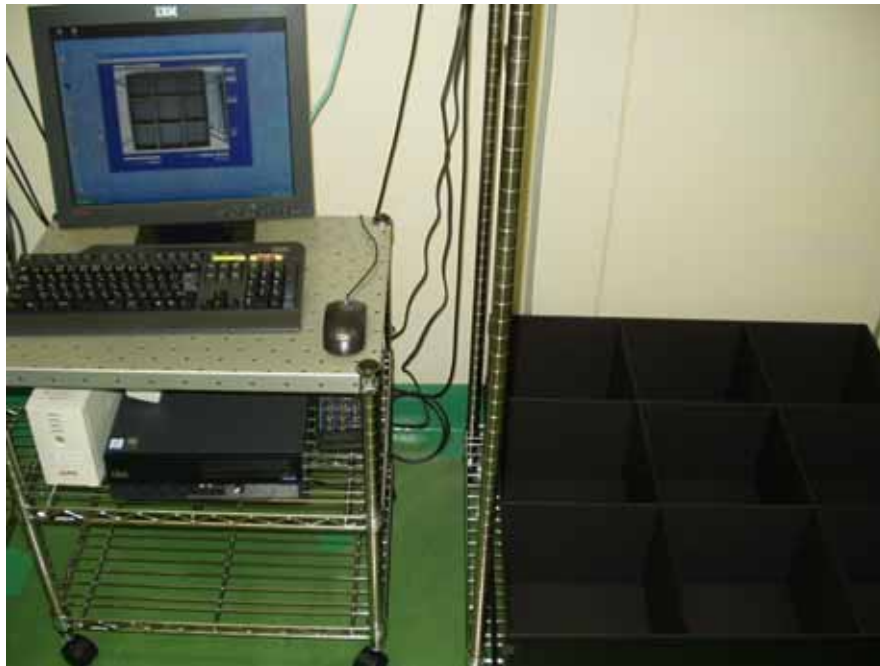




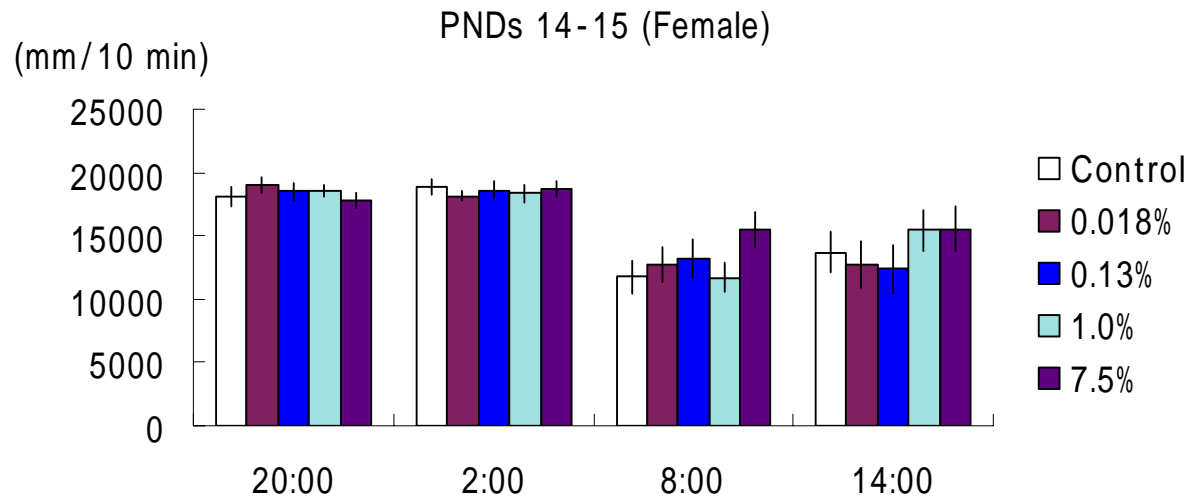
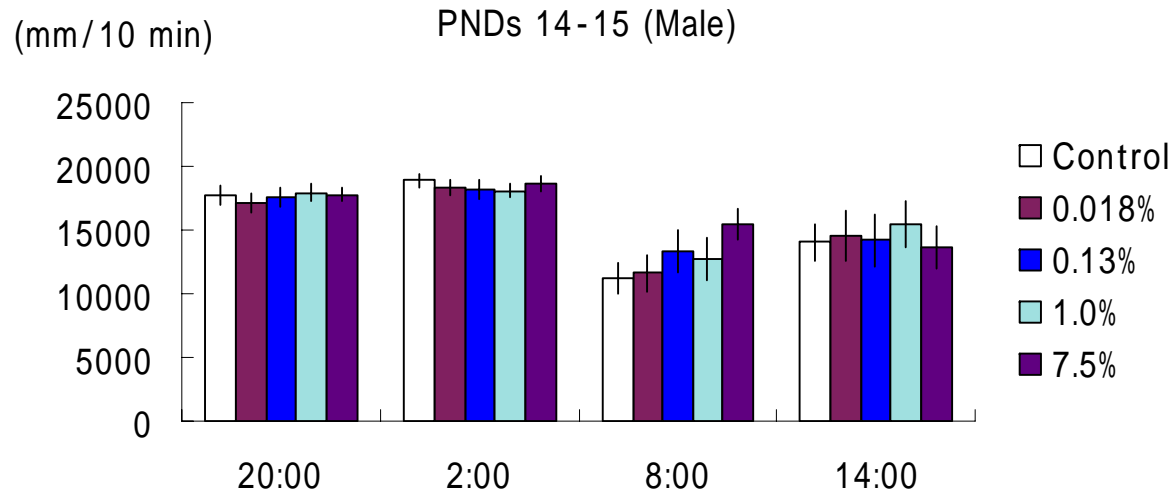
# 自発運動量測定

## 自動化による多数(雌雄各100)の児動物の測定

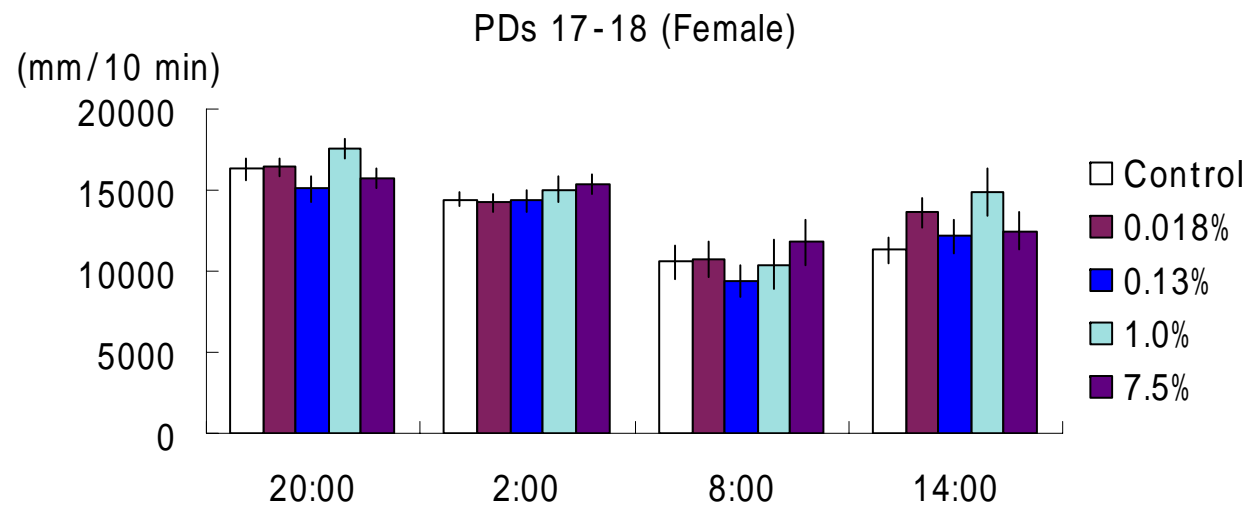
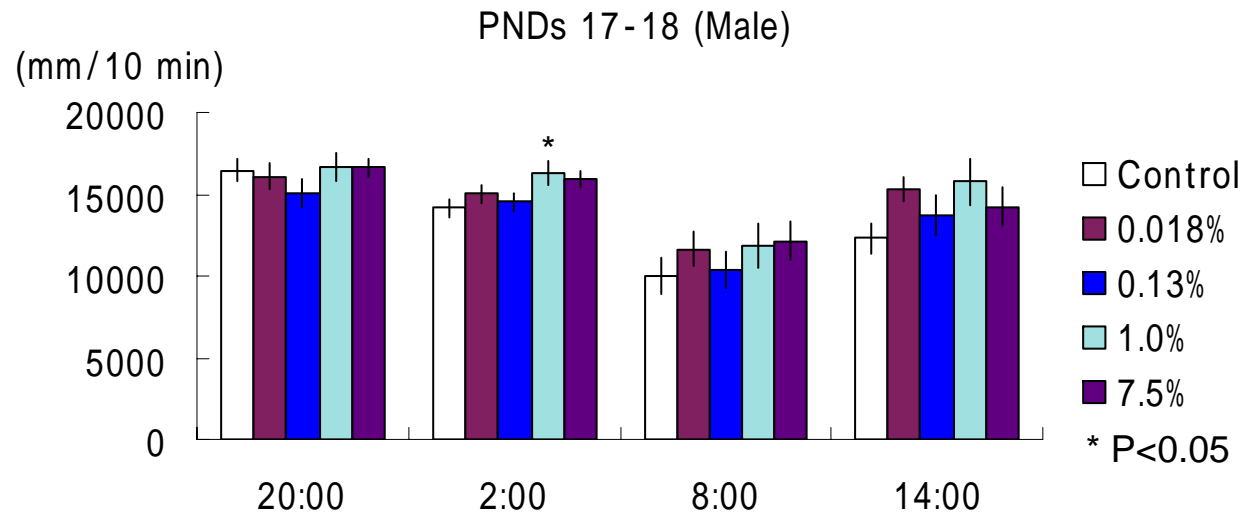
- 米国Actimetrics社  
(ビデオ式行動・運動解析装置、Big Brother)



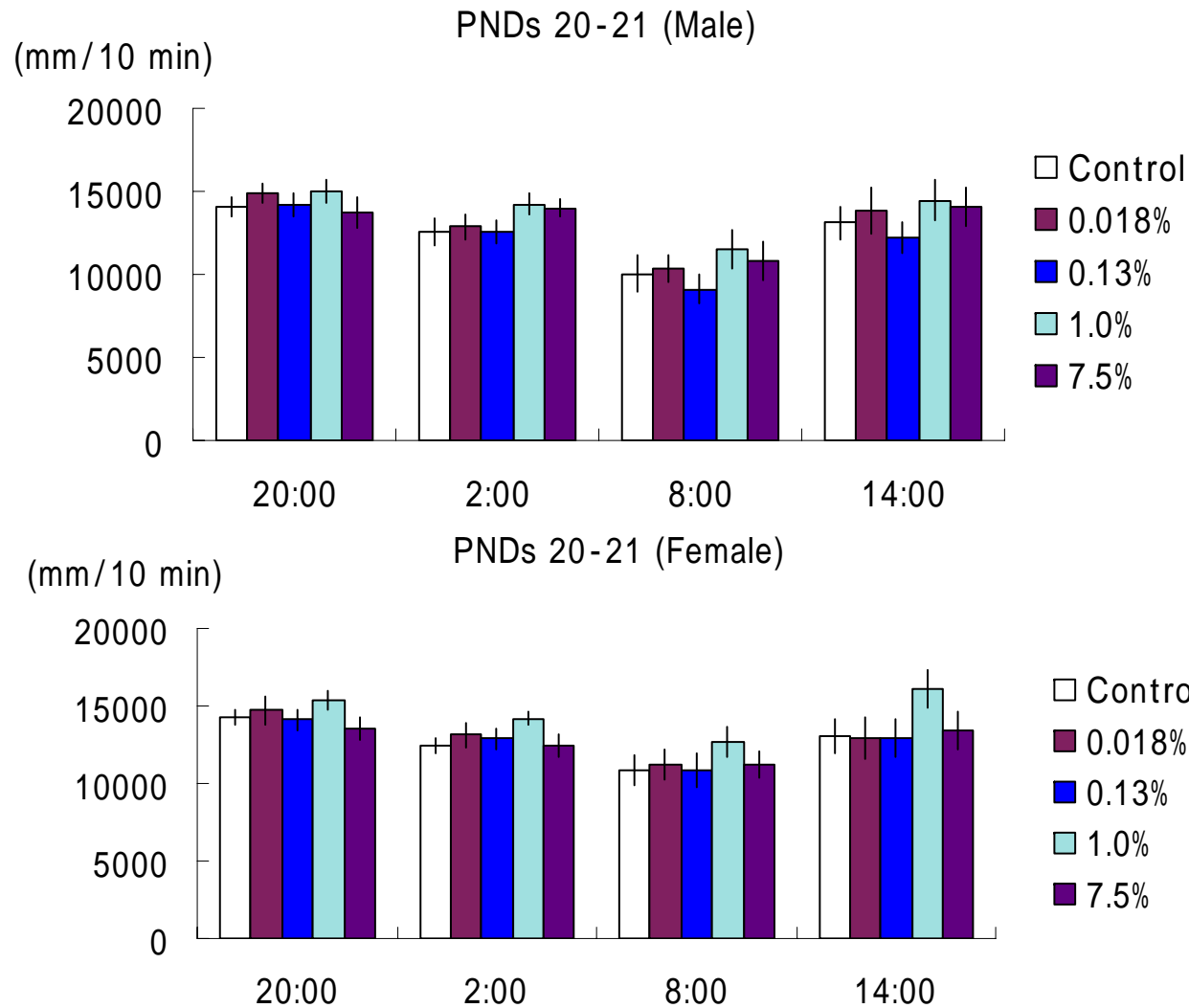
# ポリソルベート80を投与した児ラットの自発運動 (生後14-15日)



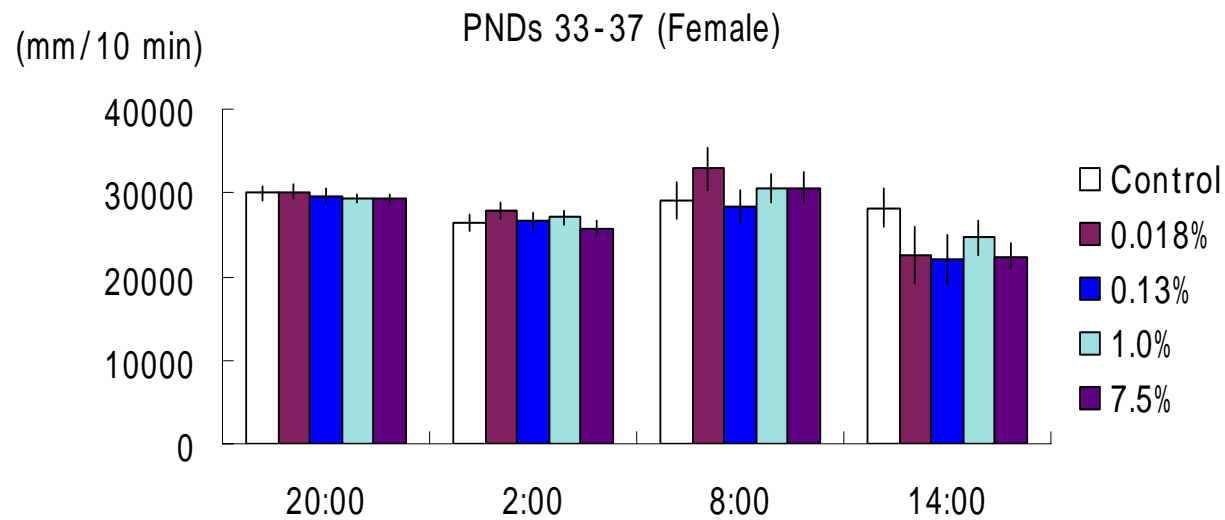
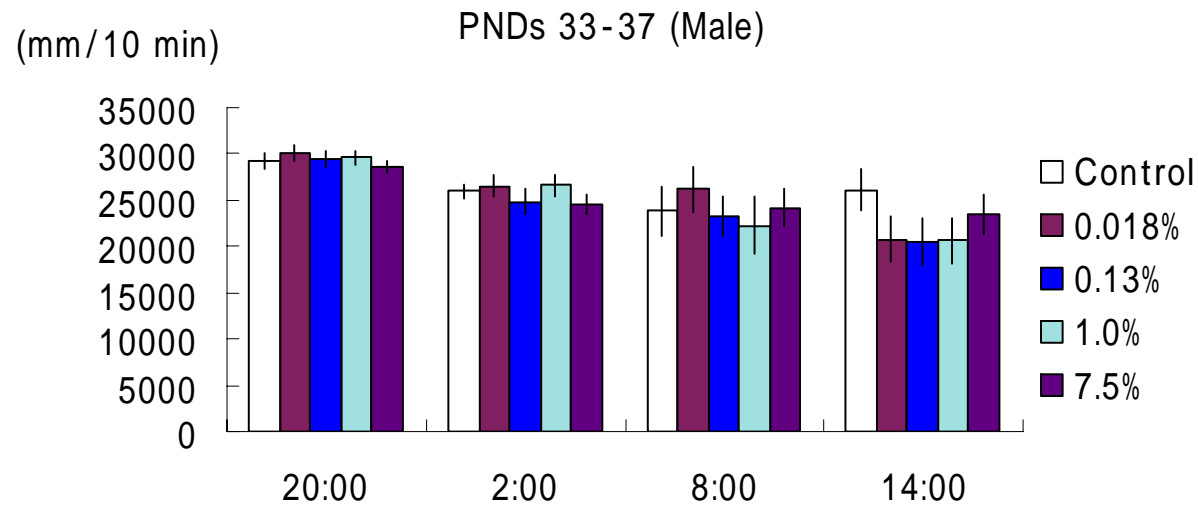
# ポリソルベート80を投与した児ラットの自発運動 (生後17-18日)



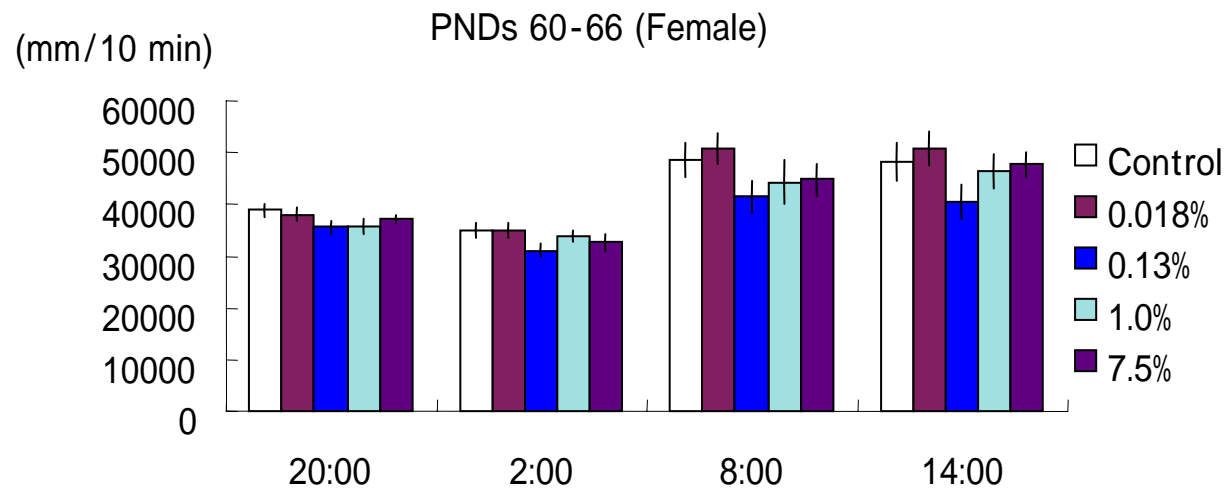
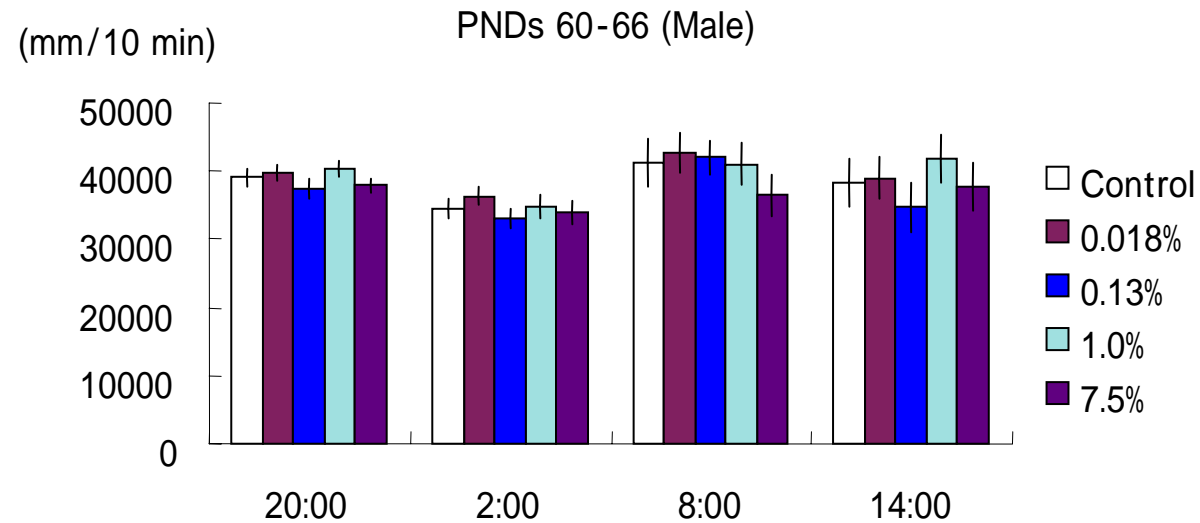
# ポリソルベート80を投与した児ラットの自発運動 (生後20-21日)



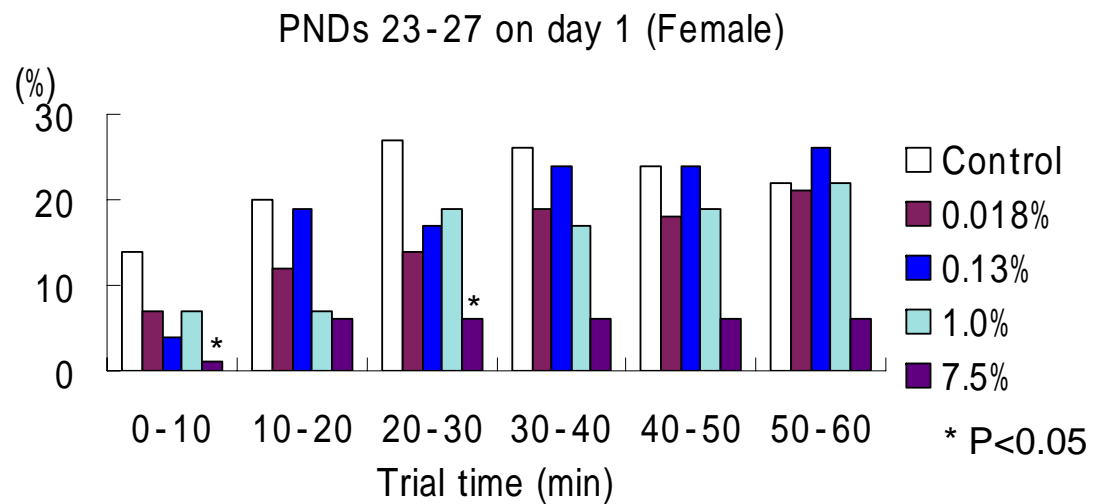
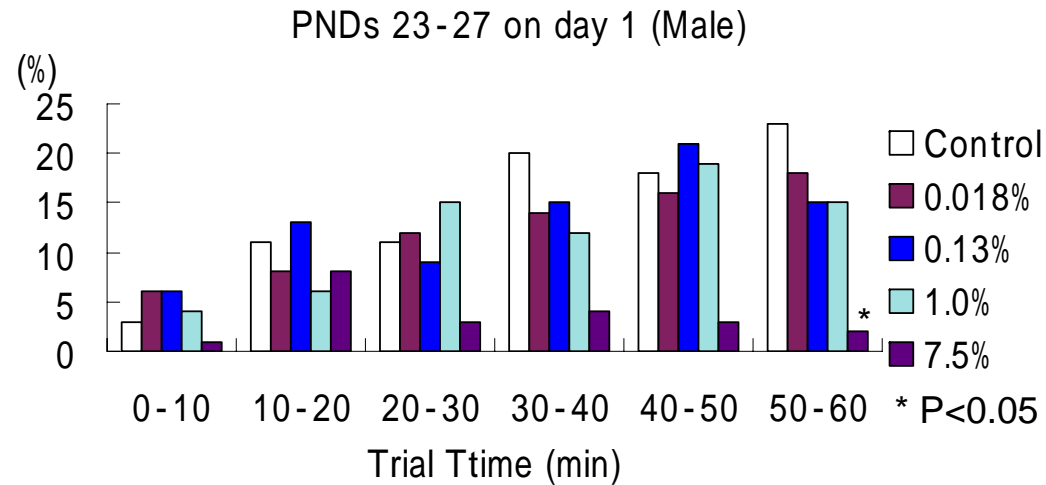
# ポリソルベート80を投与した児ラットの自発運動 (生後日33-37)



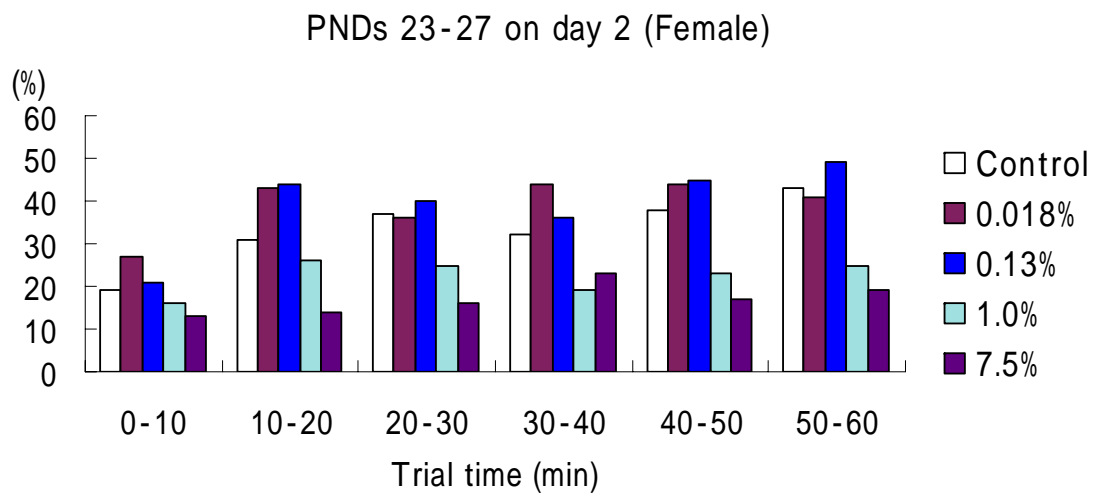
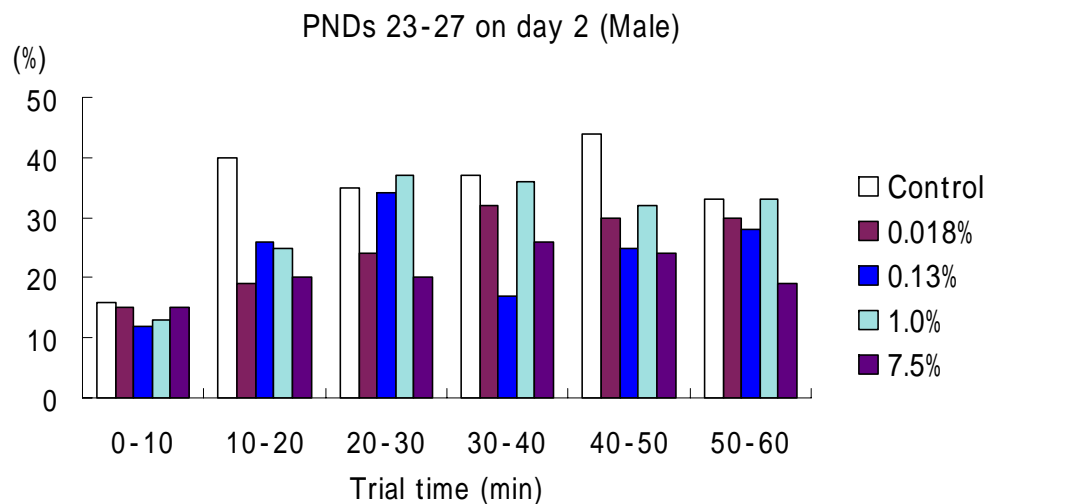
# ポリソルベート80を投与した児ラットの自発運動 (生後60-66日)



# ポリソルベート80を投与した児ラットの条件回避反応 (生後23-27日:第1日)

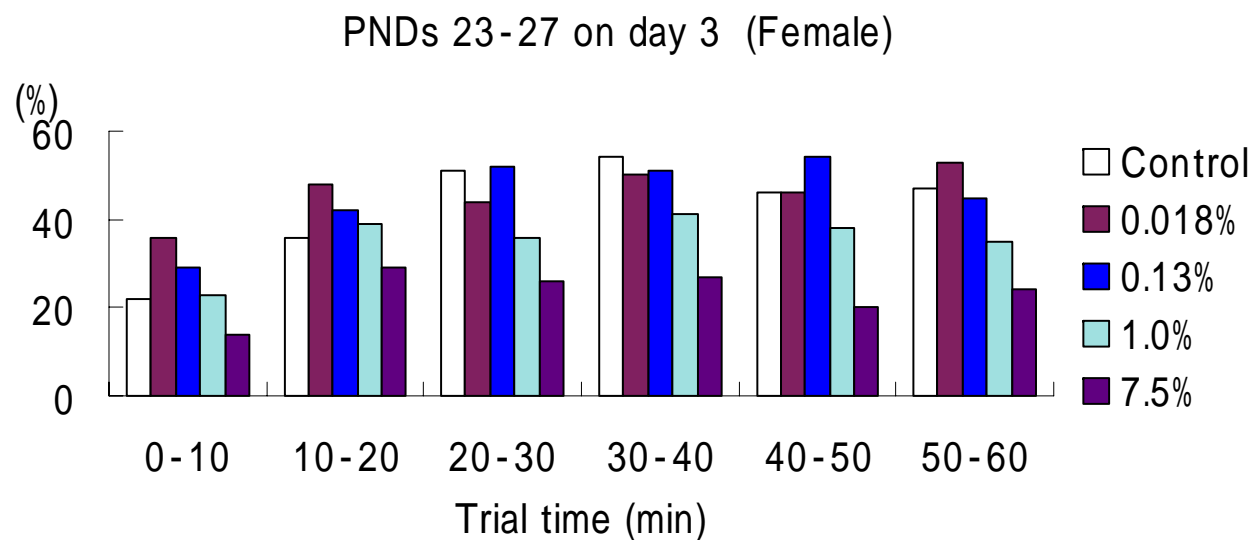
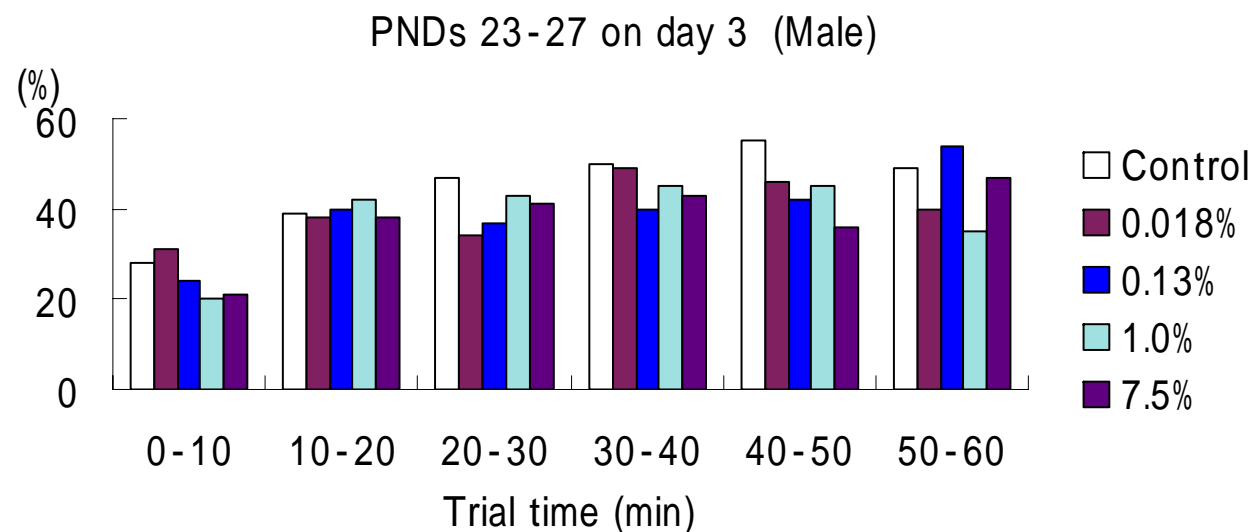


# ポリソルベート80を投与した児ラットの条件回避反応 (生後23-27日:第2日)





# ポリソルベート80を投与した児ラットの条件回避反応 (生後23-27日:第3日)



# 結果

- 母体毒性(軟便、体重・摂餌量・摂水量減少)が7.5%で認められた。
- 出生児数の低下、離乳前及び離乳後の児体重低下が7.5%でみられた。その他の生殖発生に関する指標にポリソルベート80(PS80)投与の影響は認められなかった。
- 児の発育分化に達する日齢にPS80の影響はみられなかったが、雄の毛生及び雌の眼瞼開裂の完了した日の児体重が7.5%で低かった。
- 性成熟にPS80の影響はみられなかった。
- 反射反応にPS80の影響はみられなかった。
- 感覚機能検査ではPS80の影響はみられなかった。
- 離乳前及び離乳後の児の自発運動にはPS80の影響はみられなかった。
- 生後23-27日の条件回避反応率の低下が7.5%でみられたが、生後60-67日の検査ではPS80の影響は認められなかった。
- 生後22日及び70日の児の神経系の病理組織学的検査ではPS80の影響はみられなかった。

## 結論

ポリソルベート80は母体毒性及び児体重の低下を惹起する7.5%投与群において、児に一過性の条件回避反応の低下を引き起こした。

本実験の無毒性量は1.0% ( 1.864 ml/kg bw/day ) と考えられた。