

2-アミノエタノールのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号：0594

CAS No. 141-43-5

2006年7月7日

中央労働災害防止協会
日本バイオアッセイ研究センター

標題

2-アミノエタノールのラットを用いた経口投与による 2 週間毒性試験(混水試験)

試験目的

2-アミノエタノールの経口投与によるがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）の予備試験として、2-アミノエタノールをラットに 2 週間経口（混水）投与して、その生体影響を検索した。

) 試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 407（げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験 1995 年 7 月 27 日採択）を参考にして実施した。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

試験施設及び運営管理者

) 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
山本 静護
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2005 年 5 月 24 日
動物導入日	2005 年 6 月 2 日
群構成日	2005 年 6 月 16 日
被験物質投与開始日	2005 年 6 月 16 日
被験物質投与終了日	2005 年 6 月 30 日
定期解剖日	2005 年 6 月 30 日
試験終了日	2006 年 7 月 7 日

2-アミノエタノールのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号：0594

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	2
- 1 被験物質の性状等	2
- 1 - 1 名称等	2
- 1 - 2 構造式及び分子量	2
- 1 - 3 物理化学的性状等	2
- 2 被験物質の使用ロット等	2
- 3 被験物質の特性・同一性、安定性	3
- 3 - 1 特性・同一性	3
- 3 - 2 安定性	3
- 4 試験動物	3
試験方法	4
- 1 投与	4
- 1 - 1 投与経路	4
- 1 - 2 被験物質の投与方法	4
- 1 - 3 投与期間	4
- 1 - 4 投与濃度	4
- 1 - 5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	4
- 1 - 6 被験物質混合飲水の調製方法	5
- 1 - 7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度	5
- 1 - 8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	5
- 1 - 9 被験物質の摂取量	5

- 2 動物管理	6
- 2 - 1 各群の使用動物数	6
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法	6
- 2 - 3 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7
- 3 観察・検査項目及び方法	7
- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察	7
- 3 - 2 体重測定	7
- 3 - 3 摂餌量測定	8
- 3 - 4 摂水量測定	8
- 3 - 5 血液学的検査	8
- 3 - 6 血漿の保存	8
- 3 - 7 病理学的検査	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量	8
(3) 臓器の採取保存	9
(4) 病理組織標本の作製	9
- 4 数値処理と統計方法	9
- 4 - 1 数値の取り扱いと表示	9
- 4 - 2 統計処理	10
試験成績	11
- 1 生死状況	11
- 2 一般状態	11
- 3 体重	11
- 4 摂餌量	12
- 5 摂水量	12
- 6 被験物質摂取量	13
- 7 血液学的検査	13
- 8 病理学的検査	14
- 8 - 1 剖検	14

- 8 - 2 蔓器重量	14
考察及びまとめ	16
- 1 用量 - 反応関係	16
- 2 無影響量 (NOEL)	17
- 3 他の文献との比較	17
- 4 13週間試験の濃度決定	18
文献	19

要約

2-アミノエタノールの F344/DuCrI CrIj (旧 F344/DuCrj) ラットを用いた経口投与による 2 年間 (104 週間) のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。被験物質の投与は、2-アミノエタノールを混合した飲水を自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm (公比 2) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重、摂餌量及び摂水量の測定、血液学的検査、剖検及び臓器重量の測定を行った。

2-アミノエタノール投与の結果、一般状態の観察では、雌雄 20000 ppm 群に立毛、尿による外陰部周囲の汚染及び糞少量等が観察され、雄 1 匹、雌 3 匹が死亡した。雌 10000 ppm 群でも糞小粒及び立毛等の所見が観察された。なお、雄 10000 ppm 群では立毛と被毛の汚染がみられたが、これらの症状は 14 日目には消失した。動物の被験物質忌避が原因と考えられる摂水量の低値が、雄の 5000 ppm 以上、ならびに雌の 10000 ppm 以上の群で全投与期間を通して認められた。また、摂餌量の低値が、雄 10000 ppm 群と雌雄 20000 ppm 群で全投与期間を通して、雌 10000 ppm 群で投与期間前半に認められた。体重は、雄 20000 ppm 群で 11 日目まで、雌 20000 ppm 群で 7 日目まで、雌雄 10000 ppm 群で 4 日目まで減少がみられ、その後、増加に転じたが、投与終了時の体重は対照群よりも低値であった。5000 ppm 以下の投与群では、雌雄とも対照群とほぼ同様の推移を示した。血液学的検査で、雄では 10000 ppm 以上の群、雌では 20000 ppm で赤血球数、網赤血球比等の血液学的パラメータが変動し、摂水量低下に伴なう変化と考えられた。剖検観察では、胸腺の萎縮が雌雄 20000 ppm 群に認められた。臓器重量では、腎臓重量の増加が雌の 10000 ppm 以上の群、脾臓の重量低下が雌雄 10000 ppm 以上の群、胸腺の重量低下が雌雄 20000 ppm 群に認められた。また、肝臓重量の低下が雄の 10000 ppm 以上の群に認められた。

本試験における 2-アミノエタノールのラットに対する 2 週間の経口投与による無影響量 (NOEL) は、雄の脾臓と肝臓重量、雌の脾臓と腎臓重量への影響をエンドポイントとして 5000 ppm (雄: 399 ~ 494 mg/kg body weight per day、雌: 456 ~ 561 mg/kg body weight per day) であると考えられた。

以上の結果より、2-アミノエタノールの 13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 2 週間投与で 10% 前後の体重増加の抑制はあるが、13 週間の投与で死亡を含む重篤な障害が生じないと予想される 10000 ppm を最高投与濃度とし、以下、5000、2500、1250 及び 625 ppm (公比 2) とした。

試験材料

- 1 被験物質の性状等

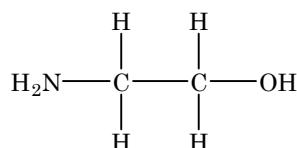
- 1 - 1 名称等

名 称： 2-アミノエタノール (2-Aminoethanol)

CAS No. : 141-43-5

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式：



分 子 量： 61.08

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 室温で無色透明な粘ちよう液体

比 重： 1.0117 (25 /4)

融 点： 10.3

溶 解 性： 水、メタノール、アセトンに易溶

保管条件： 室温暗所

- 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号： SDQ5459

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 試薬特級

純 度： 99.9% (和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

- 3 被験物質の特性・同一性、安定性

- 3 - 1 特性・同一性

被験物質の同一性は、マススペクトルを質量分析計 (Hewlett Packard 5989B) を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値(文献2)と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値(文献3)と同じ波数にピークが認められ、被験物質は2-アミノエタノールであることを確認した。

それらの結果はAPPENDIX A 1に示した。

- 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

それらの結果はAPPENDIX A 2に示した。

- 4 試験動物

動物は、2-アミノエタノールのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー(株) (厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795) の F344/DuCrjCrlj (旧 F344/DuCrj) ラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 37 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹(投与開始時体重範囲、雄：117～131g、雌：95～103g)を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrjCrlj ラット (SPF) を選択した理由は、遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

試験方法

- 1 投与

- 1 - 1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

- 1 - 2 被験物質の投与方法

投与は、被験物質を設定濃度に調製した被験物質混合飲水を、褐色ガラス製給水瓶に充填し、動物に自由摂取させた。なお、給水瓶の交換は週に 2 回実施した。

- 1 - 3 投与期間

投与期間は 2 週間とし、定期解剖直前まで連続投与した。

- 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm の 5 段階（公比 2）に設定した。なお、対照群として脱イオン水（市水（神奈川県秦野市水道局供給）をフィルターろ過し、紫外線照射、脱イオンしてさらにフィルターろ過したもの）のみの群を設けた。

- 1 - 5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

被験物質は常温で液体であり、かつ、水に可溶で水溶液中で安定であるため混水による経口投与とした。

投与期間は、がん原性試験の投与濃度を決定する 13 週間毒性試験の投与濃度を決定するために 2 週間とした。

投与濃度は予備試験の結果を参考に決定した。予備試験では、6 週齢の F344/DuCr1Cr1j ラット（雌雄とも各群 3 匹）を用い、50、500、5000 及び 50000 ppm の濃度で 2 週間の飲水投与試験を実施した。その結果、50000 ppm 群は摂水量の低下が顕著であり（対照群に比較して雌雄とも 7%）、汚染や立毛等の症状と著しい体重の低下（7 日目の体重は対照群に比較して雄 50%、雌 52%）がみられ、雌は 9 日目までに全匹が死亡し、雄も 9 日目に瀕死となった。5000 ppm 群では、摂水量が対照群に比べ雄 78%、雌 68% であったが、体重増加の抑制は少なく（雄 97%、雌 95%）、一般状態に変化を認めなかった。500 ppm 以下の

群では、雌にのみ摂水量の低下 (500 ppm ; 83%、 50 ppm ; 91%) がみられた。

以上の結果から、2週間試験の最高投与濃度は、50000 ppm 未満、5000 ppm 以上の範囲で、明らかな毒性兆候を示すと予想される濃度として雌雄とも 20000 ppm とし、以下、10000、5000、2500 及び 1250 ppm (公比 2) の 5 段階の濃度を設定した。

- 1 - 6 被験物質混合飲水の調製方法

被験物質に脱イオン水を加え、マグネチックスターラー (池田理化(株)製 1S 3GL 型) を用いて各設定濃度になるように被験物質を溶解した。なお、試験における濃度の表示は、ppm (重量対重量比) とした。また、調製頻度は給水瓶の交換に合わせ、週に 2 回とした。

- 1 - 7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度

被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、初回調製時に各投与濃度毎に調製容器内の被験物質混合飲水を 3 点サンプリングし、クロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて測定し、確認した。

その結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 98.4 ~ 104% の範囲にあった。従つて、被験物質混合飲水中の被験物質は、設定濃度に対してほぼ正確に調製されたことを確認した。

その結果を APPENDIX A 3 に示した。

- 1 - 8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

被験物質混合飲水中の被験物質の安定性は、本試験の投与開始前に、最低投与濃度の 1250 ppm と最高投与濃度の 20000 ppm の被験物質混合飲水を調製し、ラット用給水瓶に充填して動物飼育室内で室温保管 (4 日間) したものについて確認した。被験物質混合飲水調製時の被験物質濃度と保管期間後の被験物質濃度をガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) を用いて測定し、それぞれの測定結果を比較することにより確認した。

その結果、調製時の濃度を 100% とした場合に、4 日目で 1250 ppm : 98.4%、20000 ppm : 100% であり、給水期間中における被験物質混合飲水中の被験物質は安定であった。

その結果を APPENDIX A 4 に示した。

- 1 - 9 被験物質の摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量 (mg/kg body weight per day) を算出した。

- 2 動物管理

- 2 - 1 各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 5 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
対 照 群	5 匹 (1001 ~ 1005)	5 匹 (2001 ~ 2005)
1250 ppm 群	5 匹 (1101 ~ 1105)	5 匹 (2101 ~ 2105)
2500 ppm 群	5 匹 (1201 ~ 1205)	5 匹 (2201 ~ 2205)
5000 ppm 群	5 匹 (1301 ~ 1305)	5 匹 (2301 ~ 2305)
10000 ppm 群	5 匹 (1401 ~ 1405)	5 匹 (2401 ~ 2405)
20000 ppm 群	5 匹 (1501 ~ 1505)	5 匹 (2501 ~ 2505)

- 2 - 2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てるにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 4）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（雌雄とも 208 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

- 2 - 3 飼育条件

(1) 飼育環境

動物は、飼育期間を通して以下の環境で飼育した。飼育室の温度、湿度は実測値（平均値 ± 標準偏差）を < > 内に記した。飼育室内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度 : 23 ± 2 < 23.2 ± 0.2 >

湿 度 : $55 \pm 15\%$ < $51 \pm 1\%$ >

明暗サイクル : 12 時間点灯(8:00 ~ 20:00) / 12 時間消灯(20:00 ~ 8:00)

換気回数 : 15 ~ 17 回 / 時

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

ステンレス製 2 連網ケージ (170(W) × 294(D) × 176(H) mm / 匹)

(2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株) (千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2) の CRF-1 (30KGy- 線照射滅菌飼料) 固型飼料を使用し、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター(東京都渋谷区元代々木町 52-1)の分析データを使用ロットごとに入手し、試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

(3) 飲水

飲水は、検疫期間については市水(神奈川県秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間については、脱イオン水を給水瓶により自由摂取させた。投与期間については、各投与群には所定の濃度に脱イオン水を用いて調製した被験物質混合飲水を、対照群には脱イオン水のみを給水瓶により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所(神奈川県秦野市落合 729-5)に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

- 3 観察・検査項目及び方法

- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察

生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細な観察は、投与開始後 4(1週 4 日)、7(1週 7 日)、11(2週 4 日)、14(2週 7 日) 日目に行った。

- 3 - 2 体重測定

体重測定は、投与開始後 4(1週 4 日)、7(1週 7 日)、11(2週 4 日)、14(2週 7 日) 日目に行った。また、動物の死亡発見時及び切迫屠殺動物の搬出時にも体重(搬出時体重)を測定した。

- 3 - 3 摂餌量測定

摂餌量は体重測定に合わせ毎週 2 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

- 3 - 4 摂水量測定

摂水量は体重測定に合わせ毎週 2 回、給水量及び残水量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂水量を算出した。

- 3 - 5 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX K に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数

- 3 - 6 血漿の保存

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を冷凍保存した。

- 3 - 7 病理学的検査

(1) 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量(臓器実重量)を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率(臓器重量体重比)を算出した。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 臓器の採取保存

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

採取保存器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腔、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）肉眼的に変化のみられた器官及び組織

(4) 病理組織標本の作製

全動物について下記に示した器官、組織を切り出し、パラフィン包埋を行った。

標本作製器官・組織：脾臓、心臓、食道、胃、肝臓、腎臓、副腎、膀胱、胸腺、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

- 4 数値処理と統計方法

- 4 - 1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

摂水量は g を単位とし、給水量及び残水量を小数点以下第 1 位まで測定し、給水量値から残水量値を減じて摂水量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂水量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量は、摂水量に被験物質の設定濃度を乗じ、体重で除した値を、mg/kg body weight per day を単位として小数点以下第 1 位を四捨五入し、整数値の 1 の位までを表示した。

臓器実重量は、g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査は APPENDIX K に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

- 4 - 2 統計処理

各群の有効動物数は、供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数とした。

各検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査及び臓器重量の測定値は、対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett 型の多重比較を行った。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

試験成績

- 1 生死状況

生死状況を TABLE 1, 2 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

- 雄 -

20000 ppm 群に 1 匹の死亡 (13 日目) がみられた。

- 雌 -

20000 ppm 群に 3 匹の死亡 (8、9 及び 10 日目) がみられた。

- 2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1, 2 に示した。

- 雄 -

20000 ppm 群では、4 日目より立毛、尿による外陰部周囲の汚染、糞少量及び糞小粒がみられ、また、7 日目より被毛の汚染、14 日目には鼻血性分泌物も認められた。10000 ppm 群では、4 日目に被毛の汚染、4 日目から 11 日目にかけて立毛が認められた。5000 ppm 以下の投与群では、被験物質の投与によると思われる変化は認められなかった。

- 雌 -

20000 ppm 群では、4 日目以降に被毛の汚染、立毛、尿による外陰部周囲の汚染、糞小粒及び糞少量がみられ、また、7 日目以降に円背位、14 日目に鼻血性分泌物が認められた。10000 ppm 群では、4 日目より被毛の汚染、立毛、尿による外陰部周囲の汚染がみられ、また、4 日目から 11 日目にかけて糞小粒が認められた。5000 ppm 以下の投与群では、被験物質の投与によると思われる変化は認められなかった。

- 3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 1, 2 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

- 雄 -

20000 ppm 群では 11 日目まで、10000 ppm 群では 4 日目まで体重減少がみられ、その後、増加に転じたが、全投与期間を通して体重の低値が認められた。5000 ppm 以下の投与群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日(2 週 7 日)の各投与群の体重は、対照群に対して、1250 ppm 群: 96%、2500 ppm 群: 96%、5000 ppm 群: 96%、10000 ppm 群: 85%、20000 ppm 群: 51% であった。

- 雌 -

20000 ppm 群では 7 日目まで、10000 ppm 群では 4 日目まで体重減少がみられ、その後、増加に転じたが、全投与期間を通して体重の低値が認められた。5000 ppm 以下の投与群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日(2週7日)の各投与群の体重は、対照群に対して、1250 ppm 群:100%、2500 ppm 群:100%、5000 ppm 群:100%、10000 ppm 群:91%、20000 ppm 群:61% であった。

- 4 摂餌量

摂餌量を TABLE 3, 4、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

- 雄 -

10000 ppm 群と 20000 ppm 群では、全投与期間を通して対照群に比べ摂餌量の低値が認められた。5000 ppm 以下の投与群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の摂餌量は、対照群に対して、1250 ppm 群:95~97%、2500 ppm 群:92~96%、5000 ppm 群:90~95%、10000 ppm 群:67~88%、20000 ppm 群:28~53% の範囲にあった。

- 雌 -

20000 ppm 群では、全投与期間を通して対照群に比べ摂餌量の低値が認められた。10000 ppm 群では、投与開始後 4 日目と 7 日目に摂餌量の低値が認められた。5000 ppm 以下の群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の摂餌量は、対照群に対して、1250 ppm 群:96~103%、2500 ppm 群:96~101%、5000 ppm 群:88~98%、10000 ppm 群:62~94%、20000 ppm 群:25~72% の範囲にあった。

- 5 摂水量

摂水量を TABLE 5, 6、FIGURE 5, 6 及び APPENDIX E 1, 2 に示した。

- 雄 -

5000 ppm 以上の投与群では、全投与期間を通して対照群に比べ摂水量の低値が認められた。2500 ppm 以下の群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の摂水量は、対照群に対して、1250 ppm 群:92~94%、2500 ppm 群:84~90%、5000 ppm 群:78~81%、10000 ppm 群:48~72%、20000 ppm 群:15~64% の範囲にあった。

- 雌 -

10000 ppm 群と 20000 ppm 群では、全投与期間を通して対照群に比べ摂水量の低値が認められた。1250 ppm 群で投与後半に大幅な摂水量の増加がみられたが、その他の群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の摂水量は、対照群に対して、1250 ppm 群：105～183%、2500 ppm 群：95～108%、5000 ppm 群：81～87%、10000 ppm 群：50～77%、20000 ppm 群：9～65% の範囲にあった。

- 6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX F 1, 2 に示した。

- 雄 -

各投与群の被験物質摂取量は、10000 ppm 群の 4 日目、20000 ppm 群の投与期間前半で設定用量比（公比 2）よりも低い値を示した。

全投与期間における各群の 1 日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、1250 ppm 群：115～139、2500 ppm 群：218～268、5000 ppm 群：399～494、10000 ppm 群：657～908、20000 ppm 群：487～2345 の範囲にあった。

- 雌 -

各投与群の被験物質摂取量の比は、10000 ppm 群の 4 日目、20000 ppm 群の投与期間前半で設定用量比（公比 2）よりも低い値を示した。

全投与期間における各群の 1 日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、1250 ppm 群：166～245、2500 ppm 群：280～312、5000 ppm 群：456～561、10000 ppm 群：726～1095、20000 ppm 群：417～2255 の範囲にあった。

- 7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 7, 8 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

- 雄 -

MCV と網赤血球比の減少が 10000 ppm 以上の群で認められた。赤血球数の増加、ならびに MCH と血小板数の減少、また、ヘモグロビン濃度とヘマトクリット値の増加傾向が 20000 ppm 群で認められた。

- 雌 -

20000 ppm 群では、検査数が 2 例であるため、統計検定は実施しなかった。従って、20000 ppm 群の値は、対照群の実数値と比較することにより判断した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、ならびに血小板数と網赤血球比の減少が 20000 ppm 群で認められた。

- 8 病理学的検査

- 8 - 1 剖検

剖検所見を APPENDIX H 1 ~ 4 に示した。

- 雄 -

< 死亡動物 >

20000 ppm 群の死亡動物 (1 匹) に胸腺の萎縮と赤色斑が認められた。

< 定期解剖動物 >

20000 ppm 群の生存動物 4 匹中、3 匹に胸腺の萎縮が認められた。

その他の投与群では、被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

- 雌 -

< 死亡動物 >

20000 ppm 群の死亡動物 3 匹中、2 匹に胸腺の萎縮、3 匹に胸腺の赤色斑が認められた。

< 定期解剖動物 >

20000 ppm 群の生存動物 (2 匹) に胸腺の萎縮が認められた。

その他の投与群では、被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

- 8 - 2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE 9, 10 と APPENDIX I 1, 2、APPENDIX J 1, 2 に示した。

- 雄 -

脾臓に 10000 ppm 群と 20000 ppm 群で実重量と体重比の低値が、肝臓に 10000 ppm 群で実重量の低値、20000 ppm 群で実重量と体重比の低値がみられた。また、胸腺に 20000 ppm 群で実重量と体重比の低値がみられた。

その他、心臓と肺には 10000 ppm 群で実重量の低値、20000 ppm 群で実重量の低値と体重比の高値が、腎臓、副腎及び脳には 10000 ppm 群で体重比の高値、20000 ppm 群で実重量の低値と体重比の高値が、精巣には 10000 ppm 群で体重比の高値、20000 ppm 群で実重量の低値が示された。10000 ppm 群と 20000 ppm 群は解剖時体重が極めて低く、これら心臓、肺、腎臓、副腎、脳及び精巣に示された臓器重量の変化は、解剖時体重の低値が反映されたものと考えた。

- 雌 -

20000 ppm 群では、検査数が 2 例であるため、統計検定は実施しなかった。従って、20000 ppm 群の値は、対照群の実数値と比較することにより判断した。

腎臓に 10000 ppm 群で実重量と体重比の高値、20000 ppm 群で体重比の高値がみられた。胸腺に 20000 ppm 群で実重量と体重比の低値、脾臓に 10000 ppm 群で実重量の低値、20000 ppm 群で実重量と体重比の低値がみられた。

その他、副腎、心臓、肺、肝臓には、20000 ppm 群で実重量の低値と体重比の高値が、卵巣には 20000 ppm 群で実重量の低値が、脳には 10000 ppm 群で体重比の高値、20000 ppm 群で実重量の低値と体重比の高値が示された。10000 ppm 群と 20000 ppm 群は解剖時体重が極めて低く、これら副腎、心臓、肺、肝臓、卵巣及び脳に示された臓器重量の変化は、解剖時体重の低値が反映されたものと考えた。

考察及びまとめ

2-アミノエタノールの F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた経口投与による 2 年間(104 週間)のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。被験物質の投与は、2-アミノエタノールを混合した飲水を自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm (公比 2) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重、摂餌量及び摂水量の測定、血液学的検査、剖検及び臓器重量の測定を行った。

- 1 用量 - 反応関係

2-アミノエタノール投与の結果、20000 ppm 群の雄に 1 匹、雌に 3 匹の死亡が認められた。

一般状態の観察では、雌雄 20000 ppm 群で立毛、尿による外陰部周囲の汚染、糞少量、糞小粒、被毛の汚染、鼻血性分泌物等が認められ、動物の状態悪化が示された。雄 10000 ppm 群でも立毛と被毛の汚染がみられたが、これらの症状は 14 日目には消失した。一方、雌 10000 ppm 群では糞小粒、被毛の汚染、立毛、尿による外陰部周囲の汚染がみられた。

体重は、雌雄の 10000 ppm 以上の群で投与開始後に減少がみられ、その後、増加に転じたが、投与終了時体重は、雄 10000 ppm 群 : 85%、雄 20000 ppm 群 : 51%、雌 10000 ppm 群 : 91%、雌 20000 ppm 群 : 61% であり、対照群よりも低値であった。5000 ppm 以下の投与群では、雌雄とも対照群とほぼ同様の推移を示した。

摂餌量は、雄の 10000 ppm 以上の群、雌の 20000 ppm 群で全投与期間を通して対照群に比べ低値を示した。なお、雌 10000 ppm 群でも 4 日目と 7 日目に摂餌量の低値が認められた。

摂水量は、雄の 5000 ppm 以上の群、雌の 10000 ppm 以上の群で低値を示し、動物の被験物質忌避によるものと考えられた。

血液系への影響は、雄では 10000 ppm 以上の群、雌では 20000 ppm 群に認められた。すなわち、雄では MCV と網赤血球比の減少が 10000 ppm 以上の群で、また、赤血球数の増加、ヘモグロビン濃度とヘマトクリット値の増加傾向、ならびに MCH と血小板数の減少が 20000 ppm 群で認められた。雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、ならびに血小板数と網赤血球比の減少が 20000 ppm 群で認められた。雌雄に認められた赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加は、摂水量の低下による血液濃縮と考えられた。また、網赤血球比の減少は、血液濃縮のため赤血球を産生する必要がなくなったことにより生じた変化と推察される。雌雄に認められた血小板数の減少は、血小板の産生低下か、末梢での血小板破壊の亢進によるものかは不明であった。

剖検観察では、雄 20000 ppm 群の死亡動物 1 匹と生存動物 3 匹に胸腺の萎縮が認められた。雌 20000 ppm 群でも、死亡動物 2 匹と生存動物 2 匹に胸腺の萎縮が認められた。胸腺の萎縮は消耗状態を示唆する変化と考えられた。

臓器重量では、被験物質の毒性影響が示唆される腎臓重量の増加が、雌 10000 ppm 群(体重比) 20000 ppm 群(実重量と体重比) に認められた。その他、動物の消耗状態を示すと考えられる胸腺及び脾臓の重量低下が雌雄 20000 ppm 群(実重量と体重比) に、肝臓重量の低下が雄 20000 ppm 群(実重量と体重比) にみられた。また、10000 ppm 群でも脾臓の重量低下(雄では実重量と体重比、雌では実重量の低値) と肝臓重量の低下(雄で実重量) が認められた。

以上のように、被験物質の毒性影響が示唆される変化は、雌の 10000 ppm 以上の群に認められた腎臓重量の増加であった。雌雄とも 20000 ppm 群で認められた死亡を含む立毛、糞少量等の一般状態、体重低下、胸腺及び脾臓重量の低下、肝臓重量の低下(雄のみ) は、動物の状態悪化及び消耗を示唆し、被験物質を混入した飲水の忌避に伴なう変化の可能性がある。しかし、本試験での 20000 ppm 群の被験物質摂取量は、雄 487 ~ 2345 mg/kg body weight per day、雌 417 ~ 2255 mg/kg body weight per day であり、2-アミノエタノールの LD₅₀ 1720 mg/kg (文献 5) を考慮すると、被験物質摂取による毒性影響の可能性もある。

- 2 無影響量 (NOEL)

2-アミノエタノールの 2 週間混水投与により腎臓への影響が示唆された。また、胸腺、脾臓、肝臓の重量にも変化が認められ、被験物質投与による影響があった。その中で、最も低い用量まで認められた変化は、10000 ppm 群まで認められた雄の脾臓と肝臓重量の低下、雌の脾臓重量の低下と腎臓重量の増加であった。5000 ppm 群では投与による変化は雌雄とも認められなかった。従って、本試験における無影響量(NOEL) は、雄の脾臓と肝臓重量、雌の脾臓と腎臓重量への影響をエンドポイントとして 5000 ppm(雄 : 399 ~ 494 mg/kg body weight per day、雌 : 456 ~ 561 mg/kg body weight per day) であると考えられた。

- 3 他の文献との比較

2-アミノエタノールの経口投与による LD₅₀ は、ラットで 1720 mg/kg (文献 5) とされ、本試験の 20000 ppm 群の平均被験物質摂取量(雄 : 1260 mg/kg/day、雌 : 1273 mg/kg/day) は、この LD₅₀ に近い値であった。

Smyth ら (文献 6) は、ラットに 2-アミノエタノールを 90 日間混餌投与 (160、320、640、1280、2670 mg/kg/day に相当) した結果、640 mg/kg/day 以上の群で肝臓及び腎臓重量の増加、1280 mg/kg/day 以上の群で生存率低下、肝臓、腎臓、脾臓及び精巣組織の変性がみられたと報告した。本試験は被験物質を飲水に溶解し、自由摂取させた試験であり Smyth らの試験と投与方法は違うものの、死亡がみられた 20000 ppm 群の平均被験物質摂

取量は、雄：1260 mg/kg/day、雌：1273 mg/kg/day であり、Smyth らの報告とよく対応していた。また、本試験でも腎臓重量の増加が雌 10000 ppm 以上の群で認められている。

- 4 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下の通り決定した。

本試験では、最高濃度の 20000 ppm 群は雄 1 匹、雌 3 匹の死亡が認められることから、13 週間の投与濃度としては高すぎると考えた。10000 ppm 群では、摂水量の低下(雄 65%、雌 68%)、摂餌量の低下(雄 81%、雌 82%)、体重増加の抑制(雄 85%、雌 91%)がみられ、立毛や汚染等の症状が観察された。5000 ppm 群では、摂水量の低下(雄 79%、雌 84%)、摂餌量の低下(雄 93%、雌 94%)があつたが、体重増加の抑制は少なく(雄 96%、雌 100%)、一般状態に変化を認めなかつた。

以上の結果から、10000 ppm の濃度は、2 週間投与での体重増加の抑制が 10% 前後であるが、13 週間の投与でも死亡を含む重篤な障害が生じないと予想される。従つて、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 10000 ppm を最高投与濃度とし、以下、5000、2500、1250 及び 625 ppm (公比 2) とした。

V 文献

1. (社)有機合成化学協会 編. 1997. 有機化合物辞典. 東京: 講談社サイエンティフィック, 138.
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
3. 和光純薬工業(株). 2005. 2-アミノエタノール, 赤外吸収スペクトル.
4. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.
5. US National Institute for Occupational Safety and Health Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database.
6. Smyth, H. F. Jr, C. P. Carprnter, C. S. Weill (1951): Range-finding toxicity data: List . A. M. A. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med. 4: 119-122.