

2-アミノエタノールのマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0642

CAS No. 141-43-5

2010年6月29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マウスを用いた経口投与によるがん原性試験（混水試験）

試験目的

2-アミノエタノールをマウスに 104 週間経口（混水）投与し、がん原性を検索した。

試験法

本試験は、平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 1981 年 5 月 12 日採択）に準じて実施した。

GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

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
副所長 長野 嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

2-アミノエタノールのマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0642

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	3
- 1 被験物質の性状等	3
- 1 - 1 名称等	3
- 1 - 2 構造式及び分子量	3
- 1 - 3 物理化学的性状等	3
- 2 被験物質の使用ロット等	3
- 3 被験物質の特性・同一性、安定性	4
- 3 - 1 特性・同一性	4
- 3 - 2 安定性	4
- 4 試験動物	4
試験方法	5
- 1 投与	5
- 1 - 1 投与経路	5
- 1 - 2 被験物質の投与方法	5
- 1 - 3 投与期間	5
- 1 - 4 投与濃度	5
- 1 - 5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
- 1 - 6 被験物質混合飲水の調製方法	6
- 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	6
- 1 - 8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性	6
- 1 - 9 被験物質の摂取量	7
- 2 動物管理	7
- 2 - 1 各群の使用動物数	7
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法	7
- 2 - 3 飼育条件	8
(1) 飼育環境	8
(2) 飼料	8
(3) 飲水	8

- 3 観察・検査項目及び方法	9
- 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察	9
- 3 - 2 体重測定	9
- 3 - 3 摂餌量測定	9
- 3 - 4 摂水量測定	9
- 3 - 5 血液学的検査	9
- 3 - 6 血液生化学的検査	9
- 3 - 7 尿検査	10
- 3 - 8 病理学的検査	10
(1) 剖検	10
(2) 臓器重量	10
(3) 病理組織学的検査	10
- 4 数値処理と統計方法	11
- 4 - 1 数値の取り扱いと表示	11
- 4 - 2 統計処理	11
試験成績	13
- 1 生死状況	13
- 2 一般状態	13
- 3 体重	13
- 4 摂餌量	14
- 5 摂水量	14
- 6 被験物質摂取量	15
- 7 血液学的検査	15
- 8 血液生化学的検査	15
- 9 尿検査	16
- 10 病理学的検査	16
- 10 - 1 剖検	16
- 10 - 2 臓器重量	16
- 10 - 3 病理組織学的検査	17
- 10 - 4 死因	18

考察及びまとめ	19
- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、被験物質摂取量	19
- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
- 3 その他の影響	20
- 4 無毒性量 (NOAEL)	20
- 5 他文献との比較等	20
結論	22
文献	23
予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかったこと	25

要約

2-アミノエタノールのがん原性を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウスを用いた混水経口投与による 2 年間 (104 週間) の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、雌雄各群とも 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。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動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0 (対照群)、800、2000 及び 5000 ppm (重量比 w/w) 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、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

試験の結果、生存率の低下が、雄は 800 ppm 群と 5000 ppm 群で、雌は 2000 ppm 以上の投与群にみられたが、投与に関連した特定の死因の増加は認められず、投与による影響ではないと判断した。一般状態の観察では、投与と関連があると考えられる所見は認められなかった。体重と摂餌量は、雌雄すべての投与群とも対照群と同様の推移を示した。摂水量の低値が雄 5000 ppm 群の試験期間の後半に、雌 5000 ppm 群ではほぼ全投与期間を通して認められた。雌雄とも、投与群に腫瘍の発生増加及び腫瘍に関連した病変の発生増加は認められなかった (付表 1, 2)。また、腫瘍以外の毒性影響も認められなかった。従って、2-アミノエタノールのマウスに対する 2 年間の混水経口投与における無毒性量 (NOAEL) は、雄雌とも 5000 ppm (雄: 528 mg/kg 体重/日、雌: 656 mg/kg 体重/日) であった。

以上のように、B6D2F1/Crlj マウスを用いて、2-アミノエタノールの 2 年間 (104 週間) にわたる混水経口投与によるがん原性試験を行った結果、雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、2-アミノエタノールのマウスに対する発がん性はないと結論した。

付表 1 2-アミノエタノールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雄)

	投与濃度 (ppm)		0	800	2000	5000	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	1	4	6	a	
	脾臓	血管腫	1	3	1	0		
	肝臓	血管腫	2	1	4	2		
		肝細胞腺腫	15	10	10	5 *		
悪性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	9	7	9	6		
	リンパ節	悪性リンパ腫	5	5	5	5		
	肝臓	組織球性肉腫	1	4	1	2		
		肝細胞癌	8	11	7	5		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫 + 細気管支 - 肺胞上皮癌	11	8	12	11		
	肝臓	肝細胞腺腫 + 肝細胞癌	21	20	16	10 *		

付表 2 2-アミノエタノールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雌)

	投与濃度 (ppm)		0	800	2000	5000	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	3	0	1	1		
	肝臓	血管腫	3	0	2	1		
		肝細胞腺腫	2	1	5	3		
	下垂体	腺腫	11	4 *	6	9		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	1	1	1	3		
	ハーダー腺	腺腫	0	5 *	0	2		
悪性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	2	4	2	0	b	
	リンパ節	悪性リンパ腫	14	19	17	15		
	子宮	組織球性肉腫	7	6	8	8		

a : Peto 検定の有病率法のみ有意

b : Peto 検定の死亡率法のみ有意

* : p 0.05 で有意 ** : p 0.01 で有意 (Fisher 検定)
 : p 0.05 で有意增加 : p 0.01 で有意增加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)
 : p 0.05 で有意減少 : p 0.01 で有意減少 (Cochran-Armitage 検定)

試験材料

- 1 被験物質の性状等

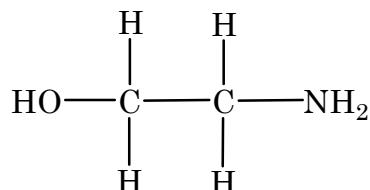
- 1 - 1 名称等

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： 室温で暗所に保管

- 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号： LTQ4405 (2006年6月30日～2008年1月18日)

TSK2767 (2008年1月18日～2008年7月4日)

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 試薬特級

純 度： 100.0% (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、ロットごとにマススペクトルを質量分析計(アジレントテクノロジーズ 5973N)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((株)島津製作所 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 1-1 に示した。

- 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ(アジレントテクノロジーズ 1090)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、各ロットとも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ったことを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示した。

- 4 試験動物

動物は、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 B6D2F1/Crlj マウス (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 227 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 200 匹 (群構成時体重範囲、雄 : 21.9 ~ 25.1g 、雌 : 17.8 ~ 20.9g) を選別し、試験に用いた。

なお、B6D2F1/Crlj マウス (SPF) を選択した理由は、遺伝的に安定していること、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 104 週間とし、さらに、それぞれの動物の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、800、2000 及び 5000 ppm(重量比 w/w)の 3 段階(公比 2.5)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、室温で液体であり、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、がん原性試験による調査の基準(安衛法)(文献 4)及び OECD 化学品テストガイドライン 451(発癌性試験)(文献 5)に従い、2 年間(104 週間)とした。

投与濃度は、13 週間試験(試験番号 0603)(文献 6)の結果をもとに設定した。13 週間試験は、B6D2F1/Crlj マウスの雌雄に、0(対照群)、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm(公比 2)の濃度の被験物質混合飲水を自由摂取させることによって行った。その結果、雌雄とも 10000 ppm 以上の群で 4 週以降に死亡(20000 ppm 群:雌雄とも 9 匹、10000 ppm 群:雄 5 匹、雌 2 匹)が認められた。また、生存例にも体重増加の抑制、摂水量の減少、腎臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、胸腺に萎縮、腎臓に水腎症や炎症性ポリープが認められた。5000 ppm 以下の投与群では、5000 ppm 群の雄 1 匹が第 1 週で死

亡したが、死亡時期が早期であることから投与による影響とは考えられなかった。その他には、雌 5000 ppm 群と 2500 ppm 群の生化学的検査に僅かな変動が認められるのみで、体重增加の抑制や病理組織学的变化は認められなかった。

以上の結果、10000 ppm 以上の投与濃度では、死亡がみられることから、がん原性試験の最高投与濃度としては高すぎると考えた。一方、5000 ppm では被験物質の 2 年間投与により腫瘍以外の原因により動物の寿命に影響を与えると考えられることから、5000 ppm をがん原性試験の最高投与濃度とした。最低投与濃度は、ラットのがん原性試験(試験番号 : 0641) の最低投与濃度 (800 ppm) との比較、及びラットと同様に日本産業衛生学会による 2-アミノエタノールの許容濃度を考慮して 800 ppm に設定した。

従って、がん原性試験の投与濃度は、5000 ppm を最高濃度とし、以下 2000 及び 800 ppm (公比 2.5) と決定した。

- 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 (w/w) 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の被験物質の濃度は、初回調製時及び 3 ヶ月ごとに、各投与濃度ごと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、高速液体クロマトグラフ (アジレントテクノロジーズ 1090) 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 95.0 ~ 108% 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 1-3 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、試験開始前に、最低投与濃度の 800 ppm と最高投与濃度の 5000 ppm の被験物質混合飲水で確認した。すなわち、マウス用給水瓶に充填した 800 ppm と 5000 ppm の被験物質混合飲水を動物飼育室内で室温保管 (4 日間) し、被験物質混合飲水調製時と保管期間後の被験物質濃度を、高速液体クロマトグラフ (アジレントテクノロジーズ 1090) を用いて測定した。被験物質混合飲水調製時と保管期間後の被験物質濃度を比較した結果、調製時の濃度を 100% とした場合に、4 日目で 800 ppm :

95.1%、5000 ppm : 99.4%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ほぼ安定であった。

その結果を APPENDIX 1-4 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 体重/日) を算出した。

- 2 動物管理

- 2 - 1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
対 照 群	50 匹 (1001 ~ 1050)	50 匹 (2001 ~ 2050)
800 ppm 群	50 匹 (1101 ~ 1150)	50 匹 (2101 ~ 2150)
2000 ppm 群	50 匹 (1201 ~ 1250)	50 匹 (2201 ~ 2250)
5000 ppm 群	50 匹 (1301 ~ 1350)	50 匹 (2301 ~ 2350)

- 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 7) 。

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 (雄 : 102 室、雌 : 103 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、全飼育期間を通して以下の環境で飼育した。各飼育室の温度、湿度は実測値(平均値±標準偏差)を<>内に記した。各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 <102室: 22.9 ± 0.3 、 103室: 22.8 ± 0.4 >

湿 度 : $55 \pm 15\%$ <102室: $54 \pm 1\%$ 、 103室: $54 \pm 2\%$ >

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(112(W)×212(D)×120(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固型飼料(30KGy-線照射滅菌飼料)を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

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)及びユーロフィンズサイエンティフィック社(東京都世田谷区下馬4-16-21)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、各投与群には脱イオン水を用いて所定の濃度に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

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

- 3 - 2 体重測定

体重測定は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回 (104 週にも測定) 行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖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、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回 (104 週にも測定) 紿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、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回 (104 週にも測定) 紿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 2 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、白血球分類

- 3 - 6 血液生化学的検査

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、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 2 に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、CK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

- 3 - 7 尿検査

投与 104 週の検査時まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラブスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

- 3 - 8 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：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 病理組織学的検査

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後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（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、胆嚢、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、腎、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 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、小数点以下第 1 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 体重/日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、血液生化学的検査は APPENDIX 2 に示した単位と桁数により表示した。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。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、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、血液生化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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1 ~ 4 に分け、²検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との²検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの担腫瘍動物数について、Peto 検定（文献 8）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス（注）を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法 + 有病率法（コンテックス 0~4 の総計で検定）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、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡 / 濒死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思うが、確かにない腫瘍

3：多分 4 だと思うが、確かにない腫瘍

4：死亡 / 濒死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

試験成績

- 1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

- 雄 -

800 ppm 群と 5000 ppm の生存率は、対照群に比べ低値を示した。なお、5000 ppm 群で 1 匹、投与初期（7 週）に死亡がみられたが、この系統に特徴的である先天的な腎臓病変（水腎症）によるものであり、投与による影響ではないと判断した。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：41 匹（82%）、800 ppm 群：31 匹（62%）、2000 ppm 群：37 匹（74%）、5000 ppm 群：33 匹（66%）であった。

- 雌 -

2000 ppm 群と 5000 ppm 群の生存率は対照群に比べ低値を示した。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：36 匹（72%）、800 ppm 群：29 匹（58%）、2000 ppm 群：23 匹（46%）、5000 ppm 群：24 匹（48%）であった。

- 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質投与と関連があると考えられる所見は、いずれの投与群にも認められなかった。

- 3 体重

体重の推移を TABLE C 1 ~ 4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

- 雄 -

すべての投与群の体重は、対照群と同様の推移を示した。

なお、最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して、800 ppm 群：95%、2000 ppm 群：96%、5000 ppm 群：98% であった。

- 雌 -

すべての投与群の体重は、対照群と同様の推移を示した。

なお、最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して、800 ppm 群：101%、2000 ppm 群：101%、5000 ppm 群：101% であった。

- 4 摂餌量

摂餌量を TABLE D 1 ~ 4 及び FIGURE 5, 6 に示した。

- 雄 -

すべての投与群の摂餌量は、対照群と同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：4.4g、800 ppm 群：4.3g (98%)、2000 ppm 群：4.3g (98%)、5000 ppm 群：4.3g (98%) であった。

- 雌 -

すべての投与群の摂餌量は、対照群と同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：3.9g、800 ppm 群：3.9g (100%)、2000 ppm 群：3.9g (100%)、5000 ppm 群：4.0g (103%) であった。

- 5 摂水量

摂水量を TABLE E 1 ~ 4 及び FIGURE 7, 8 に示した。

- 雄 -

5000 ppm 群では、試験期間の後半に摂水量の低値が散見された。800 ppm 群と 2000 ppm 群の摂水量は、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平均一日摂水量（対照群に対する相対比）は、対照群：4.0g、800 ppm 群：4.0g (100%)、2000 ppm 群：3.9g (98%)、5000 ppm 群：3.8g (95%) であった。

- 雌 -

5000 ppm 群では、ほぼ全投与期間を通して摂水量の低値が認められた。800 ppm 群と 2000 ppm 群では、投与期間中に摂水量の低値が散見された。

全投与期間における各群の平均一日摂水量（対照群に対する相対比）は、対照群：4.1g、800 ppm 群：3.8g (93%)、2000 ppm 群：3.8g (93%)、5000 ppm 群：3.6g (88%) であった。

- 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 TABLE F 1, 2 に示した。

- 雄 -

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、800 ppm 群 : 65 ~ 139、2000 ppm 群 : 156 ~ 338、5000 ppm 群 : 387 ~ 879 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、800 ppm 群 : 88、2000 ppm 群 : 212、5000 ppm 群 : 528 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、800 ppm 群の被験物質摂取量に対して、2000 ppm 群で 2.4 倍、5000 ppm 群で 6.0 倍であり、被験物質摂取量は設定用量比 (公比 2.5) とほぼ同様の値を示した。

- 雌 -

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、800 ppm 群 : 80 ~ 172、2000 ppm 群 : 200 ~ 426、5000 ppm 群 : 468 ~ 1014 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、800 ppm 群 : 110、2000 ppm 群 : 282、5000 ppm 群 : 656 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、800 ppm 群の被験物質摂取量に対して、2000 ppm 群で 2.6 倍、5000 ppm 群で 6.0 倍であり、被験物質摂取量は設定用量比 (公比 2.5) とほぼ同様の値を示した。

- 7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質投与によると思われる変化は雌雄とも認められなかった。

- 8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

- 雄 -

CK の高値が 5000 ppm 群に認められた。

その他、ALP の低値が 2000 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

被験物質投与によると思われる変化は認められなかった。

なお、カルシウムの低値が 800 ppm 群と 2000 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 9 尿検査

尿検査の結果を TABLE I 1, 2 に示した。

- 雄 -

被験物質投与によると思われる変化は認められなかった。

- 雌 -

ケトン体の陽性例の減少が 2000 ppm 群と 5000 ppm 群に認められた。

- 10 病理学的検査

- 10 - 1 剖検

剖検所見を TABLE J 1 ~ 6 に示した。

- 雄 -

投与群に特徴的な所見の発生増加は認められなかった。

- 雌 -

肝臓の白色斑が投与群に多くみられた（対照群 2 匹、800 ppm 群 4 匹、2000 ppm 群 7 匹、5000 ppm 群 9 匹）。卵巣の腫大が 2000 ppm 群と 5000 ppm 群に多くみられた（対照群 1 匹、800 ppm 群 3 匹、2000 ppm 群 5 匹、5000 ppm 群 5 匹）。リンパ節の腫大が投与群に多くみられた（対照群 3 匹、800 ppm 群 9 匹、2000 ppm 群 10 匹、5000 ppm 群 8 匹）。

- 10 - 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 K 1, 2 と TABLE L 1, 2 に示した。

- 雄 -

被験物質投与によると思われる変化は認められなかった。

なお、精巣の体重比の高値が 2000 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

被験物質投与によると思われる変化は認められなかった。

- 10 - 3 病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE M 1 ~ 6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数の結果を TABLE N 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE O 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE P 1, 2 に、転移性病変を TABLE Q 1, 2 に示した。また、本試験でみられた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ (試験毎の発生率 (最小% ~ 最大%) と平均発生率(%)、発生匹数/総匹数) を TABLE R 1, 2 に示した。

- 雄 -

1) 腫瘍性病変

< 肺 >

細気管支・肺胞上皮腺腫の発生は、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。各投与群における発生率 (800 ppm 群: 1 匹, 2%、2000 ppm 群: 4 匹, 8%、5000 ppm 群: 6 匹, 12%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 2% ~ 最大 18%) 内であった。また、細気管支・肺胞上皮腺腫と細気管支・肺胞上皮癌を合わせた発生には投与による発生増加は認められなかった。従って、この腫瘍の発生増加は被験物質投与による影響ではないと判断した。

その他、肝臓の肝細胞腺腫の発生と肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせてた発生は、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 5000 ppm 群に減少がみられた。

2) 非腫瘍性病変

投与群に非腫瘍性病変の有意な発生増加は認められなかった。

- 雌 -

1) 腫瘍性病変

< 子宮 >

子宮の組織球性肉腫の発生は、Peto 検定 (死亡率法) で増加傾向を示したが、2000 ppm 群と 5000 ppm 群における発生 (両群とも 8 匹、16%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 10% ~ 最大 32%) 内であることから、この腫瘍の発生増加は被験物質投与による影響ではないと判断した。

その他、ハーダー腺の腺腫の発生は、Fisher 検定で 800 ppm 群に増加を示したが、投与濃度に対応した変化でないことから、この腫瘍の発生増加は被験物質投与による影響ではないと判断した。また、下垂体の腺腫の発生は、Fisher 検定で 800 ppm 群に減少を示したが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

2) 非腫瘍性病変

投与群に非腫瘍性病変の有意な発生増加は認められなかった。

- 10 - 4 死因

病理学的にみた死亡 / 濕死の原因を TABLE S1, 2 に示した。

- 雄 -

雄では、800 ppm 群は白血病と肝臓腫瘍、5000 ppm 群は尿閉（排尿障害）、水腎症及び白血病による死亡 / 濕死が対照群より僅かに多くみられた。

- 雌 -

雌では、2000 ppm 群は白血病及び子宮腫瘍、5000 ppm 群は水腎症、白血病、肝臓腫瘍及び子宮腫瘍による死亡 / 濕死が対照群より僅かに多くみられた。

考察及びまとめ

2-アミノエタノールのマウスを用いた2年間の混水投与による経口試験(投与濃度:800、2000及び5000 ppm)によって、下記の結果を得た。

- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、被験物質摂取量

生存率の低下が、雄は800 ppm群と5000 ppm群に、雌は2000 ppm以上の群に認められた。しかし、生存率の低下は、雄では800 ppm群で白血病と肝臓腫瘍、5000 ppm群で尿閉(排尿障害)、水腎症及び白血病、雌では2000 ppm群で白血病及び子宮腫瘍、5000 ppm群で水腎症、白血病、肝臓腫瘍及び子宮腫瘍等のそれぞれの病変が合わさって増加したものであり、特定の病変によるものではなかった。また、病理組織学的検査の結果、いずれの死因/瀕死となる所見も被験物質投与に起因するものではなかった。従って、投与群にみられた生存率の低下は投与による影響とは考えられなかった。一般状態の観察では、投与と関連があると考えられる所見は、いずれの投与群にも認められなかった。体重と摂餌量は、雌雄すべての投与群とも対照群と同様の推移を示した。摂水量の低値が雄5000 ppm群の試験期間の後半に、雌5000 ppm群のほぼ全投与期間を通して認められた。なお、各投与群の平均被験物質摂取量は設定用量比(公比2.5)とほぼ同様の値を示した。

- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

本がん原性試験では、雌雄ともに、2-アミノエタノール混水経口投与による腫瘍の発生増加及び腫瘍に関連した病変の発生増加は認められなかった。

本試験の投与濃度は、予備試験である13週間試験(文献6)の結果をもとに設定した。がん原性試験の最高用量は、米国国立がん研究所(NCI)(文献9)、OECD化学品テストガイドライン(文献5)及び国際がん研究機関(IARC)(文献10)のがん原性試験のガイドラインでは、腫瘍以外の原因で動物の死亡率の上昇を引き起こさず、対照群と比較して10%程度の体重増加の抑制を引き起こす用量、即ち、最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)を選択することを定めている。

本試験では、雌雄とも最高投与濃度群である5000 ppm群でも体重増加の抑制はなく、毒性兆候も認められなかった。しかし、13週間試験(文献6)では、5000 ppm群で死亡もみられず、体重増加の抑制は認められなかつたが、10000 ppm以上の投与群では死亡がみられ、生存動物にも体重増加の抑制(最終体重は対照群に対し、10000 ppm群:雄88%、雌86%、20000 ppm群:雄68%、雌86%)が認められた。以上の結果から、5000 ppm以上の投与濃度での長期間投与は、腫瘍以外の原因で死亡率を上昇させると考えられた。従って、がん原性試験の最高投与濃度である5000 ppmはMTDに相当すると考えられる。

- 3 その他の影響

血液生化学的検査で雄の 5000 ppm 群に CK の高値が認められた。この群の定期解剖時に瀕死状態にある動物が 3 匹みられ、これらの動物の CK 値が顕著な高値を示したものであった。また、この群の他の動物には CK の高値はみられず、病理組織学的検査でも関連する組織、器官に異常はみられなかった。従って、雄の 5000 ppm 群の CK の高値は、この群の特徴的な変化ではないと判断した。また、雌の 2000 ppm 以上の群で尿中ケトン体の陽性例の減少が認められたが、減少性の変化であることから毒性学的意義は不明であった。

- 4 無毒性量 (NOAEL)

本がん原性試験の結果、雌雄とも最高投与濃度である 5000 ppm 群でも毒性影響は認められなかった。従って、2-アミノエタノールのマウスに対する 2 年間の混水経口投与による NOAEL は、雌雄とも 5000 ppm (雄 : 528 mg/kg 体重/日、雌 : 656 mg/kg 体重/日) であると判断した。

- 5 他文献との比較等

がん原性

信頼性のある評価として使用できる、がん原性試験、長期試験の報告はない。また、国際がん研究機関(IARC) 米国産業衛生専門家会議(ACGIH) ドイツ学術振興会(DFG) 日本産業衛生学会では 2-アミノエタノールのがん原性について評価を行っていない。

反復投与経口毒性

マウスに長期間経口投与した試験報告はなかった。

変異原性

- 微生物を用いた復帰突然変異試験では、ネズミチフス菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) 及び大腸菌 (WP2uvrA) を用いた試験で、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果を示した (文献 11)。その他にも、ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた試験において、陰性の結果報告がある (文献 12、13)。
- 酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae* JDI) を用いた遺伝子変換試験では、代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった (文献 13)。
- ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験では、弱い陽性を示し、ヒトリンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験では、陰性の結果を示した。また、ラット肝細胞株 (RL) を用いた

染色体異常試験で陰性の結果を示した(文献 13)。

- ・ チャイニーズハムスター胎児細胞を用いた形質転換試験で、陰性の結果を示した(文献 14)。
- ・ 経口投与されたマウスの骨髄細胞を用いた核試験では、陰性の結果を示した(文献 13)。

代謝等

2-アミノエタノールは消化管、呼吸器、皮膚から吸収され、主に肝臓に分布する。吸収された 2-アミノエタノールは、リン脂質に代謝されるほか、呼気中に二酸化炭素として、尿中にグリシン、セリン、尿素などの代謝物として排泄される。また、経口投与において 2-アミノエタノールの代謝系が飽和に達すると、過剰分は未変化体として尿中に排泄される。なお、2-アミノエタノールは生体内で定常的に生産され、尿中に排泄されている(文献 15)。

結論

B6D2F1/Crlj マウスを用いて、2-アミノエタノールの 2 年間（104 週間）にわたる混水経口投与によるがん原性試験を行った結果、雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、2-アミノエタノールのマウスに対する発がん性はないと結論した。

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, 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. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.
5. OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies", Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2006. 2-アミノエタノールのマウスを用いた経口投与による 13 週間毒性試験(混水試験)報告書. 神奈川: 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.
7. 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.
8. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2:311-426.
9. Sontag JM, Page NP, Saffiotti U. 1976. Guidelines for carcinogen bioassay in small rodents. Bethesda, MD: National Cancer Institute. NCI Carcinogenesis Technical Report Series No.1: 13-15.
10. Bannasch P, Griesemer RA, Anders F, Becker R, Cabral JR, Della Porta G et al. 1986. Long-term assays for carcinogenicity in animals. In: Long-term and Short-term Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. (Montesano R, Bartsch H, Vainio H, Wilbourn J, Yamasaki H. eds.). Lyon: IARC, IARC Scientific Publications No. 83: 34-36.

11. 日本化学物質安全・情報センター編. 1996. 労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集, 東京: 日本化学物質安全・情報センター, 127.
12. Dean BJ, Brooks TM, Hodson-Walker G, Hutson DH. 1985. Genetic Toxicology Testing of 41 Industrial Chemicals. *Mutat Res* 153: 57-77.
13. DFG. 1999. 2-Aminoethanol. In: Occupational Toxicants. Critical Data Evaluation for MAK Values and Classification of Carcinogens. (Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area (Chairman: Greim H.) ed). Vol. 12 Weinheim: VCH Verlag. Deutsche Forschungsgemeinschaft, 15-35.
14. Inoue K, Sunakawa T, Okamoto K, Tanaka Y. 1982. Mutagenicity tests and in vitro transformation assays on triethanolamine. *Mutat Res* 101: 305-313.
15. 製品評価技術基盤機構、化学物質評価研究機構編. 2008. 化学物質の初期リスク評価書 . 2-アミノエタノール. Ver. 1.0 No. 112, 東京: 製品評価技術基盤機構、化学物質評価研究機構 .

予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったことはなかった。

なお、試験計画書の内容と異なった項目について、以下に記載した。

被験物質の安定性、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の被験物質の安定性の測定に使用した高速液体クロマトグラフ（1090）、血液学的検査で使用した総合血液学検査装置（ADVIA120）及び尿検査で使用した尿試験紙（ウロラブスティックス）の製造会社の社名が変更されたため、本報告書はそれぞれ、新社名を記載した。