

2-フェノキシ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： 0453

CAS No. 122-99-6

2003年7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

2-フェノキシ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： 0453

本文

本文目次

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

II-3	観察・検査項目及び方法	7
II-3-1	動物の一般状態の観察	7
II-3-2	体重測定	7
II-3-3	摂餌量測定	7
II-3-4	摂水量測定	7
II-3-5	尿検査	7
II-3-6	血液学的検査	7
II-3-7	血液生化学的検査	8
II-3-8	病理学的検査	8
(1)	剖検	8
(2)	臓器重量	8
(3)	病理組織学的検査	8
II-4	数値処理と統計学的方法	9
II-4-1	数値の取り扱いと表示	9
II-4-2	母数の取り扱い	9
II-4-3	統計方法	9
III	試験成績	11
III-1	生死状況	11
III-2	一般状態	11
III-3	体重	11
III-4	摂水量	12
III-5	摂餌量	12
III-6	被験物質摂取量	13
III-7	尿検査	13
III-8	血液学的検査	13
III-9	血液生化学的検査	13
III-10	病理学的検査	13
III-10-1	剖検	13
III-10-2	臓器重量	14
III-10-3	病理組織学的検査	14
IV	考察及びまとめ	15
V	文献	18

要約

2-フェノキシエタノール（被験物質）のF344/DuCrj（Fischer）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。投与は、被験物質を各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。1群当たりの動物数は雌雄各5匹とし、被験物質投与群を5群、対照群を1群の計6群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも25000 ppm、17500 ppm、10000 ppm、4000 ppm、1600 ppmとした。観察、検査項目として、一般状態の観察、体重・摂水量・摂餌量の測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

試験の結果、25000 ppm群で動物の被験物質忌避が原因と考えられる摂水量の顕著な減少が投与期間初期に認められた。摂餌量の減少、体重増加の抑制も認められた。摂水量は、投与開始後3日目に最小値を示し、その後、増加に転じたが、対照群に比べて雄で33～90%、雌で32～83%と低値であった。摂餌量は、対照群に比べ、雄で49～82%、雌で38～85%と低値であった。最終計測時の体重は、雄で78%、雌で73%であった。血液系/造血器への影響として、雄にMCVとMCHの増加、血小板数の減少、雌にMCHCと血小板数の減少がみられ、病理組織学的検査で雌雄に骨髓の造血低下が認められた。腎臓と肝臓への影響として、血液生化学的検査で雌雄に尿素窒素の増加、雌にGOTとGPTの上昇がみられた。さらに、腎臓と肝臓の臓器重量の体重比が雌雄ともに高値を示したが、病理組織学的な変化は認められなかった。17500 ppm群では、25000 ppm群と同様に、摂水量と摂餌量の減少、体重増加の抑制が投与期間初期に顕著に認められた。投与期間中の摂水量は、対照群に比べて、雄で59～92%、雌で48～78%であり、摂餌量は、雄で71～89%、雌で70～86%であった。最終計測時の体重は、雄で90%、雌で89%であった。血液系/造血器への影響も、25000 ppm群と同様に、雄にMCVとMCHの増加、血小板数の減少、雌にMCHCと血小板数の減少が認められた。腎臓への影響として、雄の血液生化学的検査で尿素窒素の増加がみられ、雌の臓器重量で体重比の高値が認められた。10000 ppm群では、摂水量が減少を示し、投与期間中に雄で69～80%、雌で67～78%であった。摂餌量と体重は、対照群と比べて、僅少な差であった。投与期間中の摂餌量は雄で86～92%、雌で87～95%、最終計測時の体重は、雄で96%、雌で98%であった。血液系/造血器への影響は、雄のMCVとMCHの増加だけであった。4000 ppm群では、体重増加の抑制は認められず、最終計測時に雄で96%、雌で99%であった。その他、雌の血液学的検査でMCHの増加が認められた。1600 ppm群では、雌雄ともに被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

2-フェノキシエタノールの2週間混水投与による無毒性量（NOAEL）は、雄の血液系/造血器への影響をエンドポイントとして、1600 ppm（0.168～0.204 g/kg body weight/day）と考えられた。

以上の試験結果より、2-フェノキシエタノールの13週間混水投与試験のラットの投与濃度を、雌雄とも最高用量を20000 ppmとし、以下、公比 2で10000 ppm、5000 ppm、2500 ppm、1250 ppmに設定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

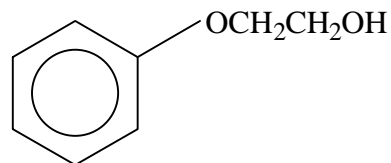
名 称 : 2-フェノキシエタノール (2-Phenoxyethanol)

I U P A C 名 : 2-フェノキシエタノール

別 名 : エチレングリコールモノフェニルエーテル

C A S . N o . : 122-99-6

I-1-2 構造式、示性式、分子量 (文献 1、2)



分 子 量 : 138.17

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1、2)

性 状 : わずかに芳香を有する無色透明で粘稠な液体

比 重 : 1.1094 (20/20°C)

融 点 : 10~12°C

沸 点 : 244.7°C (101.3kPa)

溶 解 性 : 水に可溶 (溶解度:2.7wt%)、メタノール及びアセトンに可溶

保 存 条 件 : 室温、暗所

I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WAR5157

製 造 元 : 和光純薬工業 (株)

グ レ ー ド : 和光特級

純 度 : 99.8% (和光純薬工業 (株) 検査成績書データ)

I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性

被験物質の特性・同一性の確認は、使用した 2-フェノキシエタノールについて、マススペクトルを質量分析計 (Hewlett Packard 5989B) により測定し、また赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により測定し、文献値と比較することにより行った。

その結果、被験物質のマススペクトルは、文献値 (文献 3) と同一の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提供資料 (文献 4) と同じ波長にピークを示すことが認められ、被験物質は 2-フェノキシエタノールであることを確認した。

それらの結果は、APPENDIX M 1 に示した。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性の確認は、使用した 2-フェノキシエタノールについて、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 (Shimadzu LC-10) により測定し、使用開始前と使用終了後のデータを比較することにより行った。

その結果、使用前後の測定結果に差はみられず、投与期間中の 2-フェノキシエタノールは安定であることを確認した。

それらの結果は、APPENDIX M 2 に示した。

I-4 試験動物

動物は、2-フェノキシ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：神奈川県厚木市古沢 795 番地) より購入した F344/DuCrj (Fischer) 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、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重の中央値に近い雌雄各 30 匹 (投与開始時体重範囲、雄：119～132g、雌：96～106g) を選別し、試験に供した。

なお、がん原性試験で使用する動物は、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の等の理由から F344/DuCrj (Fischer) ラットを使用することが決定している。当試験はがん原性試験の予備試験であるため、F344/DuCrj (Fischer) ラットを使用した。

II 試験方法

II-1 投与

II-1-1 投与経路

経口投与

II-1-2 投与方法

被験物質を飲水に溶解し、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。

II-1-3 投与期間

2002年6月25日より2002年7月9日までの2週間（14日間）とし、定期解剖直前まで連続投与した。

II-1-4 投与濃度

雌雄とも1600 ppm、4000 ppm、10000 ppm、17500 ppm及び25000 ppmの5段階の投与濃度を設定した。なお、対照群として市水をフィルターろ過し、紫外線照射し、脱イオンし、フィルターろ過した水（以下、脱イオン水という）のみの群を設けた。

II-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、水に可溶であり、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、がん原性試験の予備試験である13週間試験に使用する投与濃度を決定するために2週間（14日間）とした。

2週間試験における経口（混水）投与濃度は、予備試験の結果から決定した。予備試験では、6週齢のF344ラットを用い1500 ppm、4500 ppm、13500 ppmの濃度で2週間の飲水試験を実施した。その結果、全投与群の動物に毒性徴候は認められなかった。また、試験終了時の最高用量の13500 ppm群の体重は対照群に対し、雄は94%、雌は93%であり、体重増加の抑制はごく僅かであった。最低用量の1500 ppm群では試験終了時の体重は雌雄とも98%であった。以上の結果から、2週間試験の最高用量は13500 ppm以上に設定すべきであると考えた。かつ、2-フェノキシエタノールの水への溶解度は2.7% (w/w) であることから、この溶解度に近い25000 ppmを最高用量とした。また、最低用量はほとんど2-フェノキシエタノールの投与の影響が認められなかった1500 ppm付近の濃度であると考えた。従って2週間試験の最高用量は25000 ppmとし、以下、公比2.5で10000、4000、1600 ppmとした。さらに、25000 ppmと10000 ppmの間に17500 ppmを追加した。

II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

脱イオン水に被験物質を加え、マグネチックスターラ（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、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頻度に合わせて、毎週 2 回とした。

II-1-7 調製時における被験物質混合飲水の被験物質の濃度

被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、各濃度毎に調製容器内から 3 点サンプリングし、クロマトグラムを高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて分析し、確認した。

その結果、各群の調製濃度は、設定濃度に対し、98.9～101%の範囲にあり、ほぼ設定濃度どおりに調製された。

その結果は、APPENDIX M 3 に示した。

II-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における被験物質の投与状態での安定性は、試験に先立ち最高濃度（25000 ppm）及び最低濃度以下の濃度（100 ppm）について調製時及び調製後 5 日目に高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて分析し、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、5 日目には、25000 ppm で 104%、100 ppm で 101%であり、給水期間中における飲水中の被験物質の安定性は良好に維持されていた。

その結果は、APPENDIX M 4 に示した。

II-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 当たり一日摂取量（g/kg body weight/day）を算出した。

II-2 動物管理

II-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、雌雄各群 5 匹の動物を用いた。

雄		雌	
群名称	使用動物数 (動物番号)	群名称	使用動物数 (動物番号)
対 照 群	5 匹 (1001~1005)	対 照 群	5 匹 (2001~2005)
1600 ppm 群	5 匹 (1101~1105)	1600 ppm 群	5 匹 (2101~2105)
4000 ppm 群	5 匹 (1201~1205)	4000 ppm 群	5 匹 (2201~2205)
10000 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	10000 ppm 群	5 匹 (2301~2305)
17500 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	17500 ppm 群	5 匹 (2401~2405)
25000 ppm 群	5 匹 (1501~1505)	25000 ppm 群	5 匹 (2501~2505)

II-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、発育順調で、異常を認めない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こと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 5)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別した。また、全飼育期間を通じて、ケージにも個体識別番号を付した。なお、動物は検疫期間を含む全飼育期間、バリア区域 (AC-1 空調エリア) 内の独立した室 (雌雄とも 108 室) に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物との区別を行った。

II-2-3 飼育条件

動物は、全飼育期間を通して、設定温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (実測値 (平均 \pm 標準偏差) $22.9 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$)、設定湿度 $55 \pm 15\%$ (実測値 (平均 \pm 標準偏差) $53 \pm 1\%$)、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 / 時に設定した環境下で飼育した。全飼育期間を通じて、動物の状態に影響を与えるような環境変化は認められなかった。

動物は単飼ケージ (ステンレス製二連網ケージ、W170 × D294 × H176 mm) に収容した。

飼料は、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- γ 線照射滅菌飼料) を使用し、全飼育期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、検疫期間中は市水 (秦野市水道局供給) をフィルターろ過し、紫外線照射したものを自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間中は脱イオン水を給水瓶により自由摂取させ

た。投与期間中は所定の濃度に調製した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。また対照群については馴化期間と同様に脱イオン水のみを与えた。なお、給水瓶交換は週 2 回行った。

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）から分析データを入手し、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 番 1 号）の分析データを入手し、また、飲水については（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）に分析を委託し、それぞれ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た。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行い、動物の一般状態の詳細な観察は検疫開始日（導入時）、馴化開始日、投与開始直前（群構成時）、及び投与開始後 3 日目（1 週 3 日）、7 日目（1 週 7 日）、10 日目（2 週 3 日）及び 14 日目（2 週 7 日）に実施した。

II-3-2 体重測定

全動物について、検疫開始日（導入時）、馴化開始日、投与開始直前（群構成時）、投与開始後 3 日目（1 週 3 日）、7 日目（1 週 7 日）、10 日目（2 週 3 日）及び 14 日目（2 週 7 日）に体重を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

全動物について、週に 2 回、給餌量（0、3、7、10 日目）、残餌量（3、7、10、14 日目）を測定し、その差を給餌日数で除し、1 日当りの摂餌量を算出した。

II-3-4 摂水量測定

全動物について、週に 2 回、給水量（0、3、7、10 日目）、残水量（3、7、10、14 日目）を測定し、その差を給水日数で除し、1 日当りの摂水量を算出した。

II-3-5 尿検査

定期解剖前日に全動物について新鮮尿を採取して検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

検査方法：尿試験紙（バイエル社製）を用いて検査した。

II-3-6 血液学的検査

定期解剖時に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、及びクエン酸ナトリウム入り採血管（下記*印検査項目）に採血し、検査を行った。

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、*プロトロンビン時間、*活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球数、白血球分類

検査方法は APPENDIX N 1 に示した。

II-3-7 血液生化学的検査

定期解剖時に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、遠心分離して得られた血漿を用いて検査を行った。

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、リン脂質、GOT、GPT、LDH、 γ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

検査方法は APPENDIX N 1 に示した。

II-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

全動物について、以下に示した臓器の湿重量 (臓器実重量) を測定した。また、湿重量の体重比 (臓器重量体重比)、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳、甲状腺*

*：ホルマリン固定後、1日目に実重量を測定した。

(3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、以下に示した臓器を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄、リンパ節、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、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨

II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

体重については g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し、表示した。

摂餌量（摂水量）については g を単位とし、給餌（水）量及び残餌（水）量を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌（水）量から残餌（水）量を減じて摂餌（水）量とした。この値を計測期間の日数で除し、1 日当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。

2-フェノキシエタノールの体重 kg 当たり一日の摂取量は、摂水量に 2-フェノキシエタノールの設定濃度を乗じ、体重で除した値を g/kg (body weight)/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位まで表示した。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、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、血液生化学的検査については APPENDIX O 1 に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データにおいて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。

II-4-2 母数の取り扱い

体重、摂餌量、摂水量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測した。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。欠測となったデータは、血液学的検査と血液生化学的検査で麻酔死のため雄の 2 匹（1301、1401）と雌の 1 匹（2101）の全項目、さらに、雌 1 匹（2302）の血液が凝固したため、血液学的検査のプロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間の項目であった。

剖検データは、各群の全動物数を母数とした。

病理組織学的検査データは臓器別に母数とした。

II-4-3 統計方法

本試験で得られた測定値は原則として、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。

III 試験成績

III-1 生死状況

生死状況を TABLE 1, 2 に示した。

雌雄ともに死亡動物は認められなかった。

III-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で投与開始後 7 日目（1 週 7 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで、尿による外陰部周囲の汚染がほとんどの動物（4 匹～5 匹）に認められた。17500 ppm 群では 10 日目（2 週 3 日）に尿による外陰部周囲の汚染が 1 匹認められた。なお、4000 ppm 群で歯の異常伸びが 7 日目（1 週 7 日）に 1 匹認められたが、被験物質の影響と考えなかった。

雌では、25000 ppm 群で 3 日目（1 週 3 日）に立毛、尿による外陰部周囲の汚染及び糞少量がほとんどの動物（4～5 匹）に認められた。これらの所見のうち、糞少量は 10 日目（2 週 3 日）まで、立毛と尿による外陰部周囲の汚染は最終観察日（2 週 7 日）まで継続した。また、7 日目（1 週 7 日）からは、血様の鼻汁による顔面の汚染が 4 匹に認められたが、最終観察日（2 週 7 日）には 2 匹に認められるだけであった。17500 ppm 群では 3 日目（1 週 3 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで立毛が 1～2 匹、尿による外陰部周囲の汚染が 3～4 匹に認められた。また、7 日目（1 週 7 日）には糞少量が 1 匹、7 日目（1 週 7 日）から 10 日目（2 週 3 日）には血様の鼻汁による顔面の汚染が 1 匹認められた。10000 ppm 群では、3 日目（1 週 3 日）に立毛が 1 匹、7 日目（1 週 7 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで尿による外陰部周囲の汚染が 1～2 匹認められた。4000 ppm 群では 10 日目（2 週 3 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで尿による外陰部周囲の汚染が 1～2 匹に認められた。1600 ppm 群では特記すべき所見は認められなかった。

III-3 体重

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

雄では、25000 ppm 群で 3 日目（1 週 3 日）に体重の減少が認められ、7 日目（1 週 7 日目）も同様の値であった。10 日目（2 週 3 日目）以降は増加に転じたが、対照群と比較して低値であった。17500 ppm 群では 3 日目（1 週 3 日）に体重が減少したが、7 日目（1 週 7 日）からは増加した。しかし、7 日目（1 週 7 日）以降は対照群と比較して低値であった。10000 ppm 群と 4000 ppm 群は僅少であるが対照群と比較して低値を示した。1600 ppm 群は対照群と同様の値を示した。最終計測日（2 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して 25000 ppm 群：78%、17500 ppm 群：90%、10000 ppm 群：96%、4000 ppm 群：96%、1600 ppm 群：104%であった。

雌では、25000 ppm 群で 7 日目（1 週 7 日）まで体重の減少が認められ、10 日目（2 週 3

日)から増加に転じたが、対照群より低値であり、投与開始時の体重まで回復しなかった。17500 ppm 群では3日目(1週3日)に体重の減少が認められ、7日目(1週7日)からは増加したが、対照群より低値を示した。10000 ppm 群は僅少であるが対照群と比較して低値を示した。4000 ppm 群と1600 ppm 群は対照群と同様な値を示した。最終計測日(2週7日)における各投与群の体重は、対照群と比較して25000 ppm 群:73%、17500 ppm 群:89%、10000 ppm 群:98%、4000 ppm 群:99%、1600 ppm 群:101%であった。

III-4 摂水量

摂水量を TABLE 3, 4, FIGURE 3, 4, APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄では25000 ppm 群、17500 ppm 群で投与開始後3日目の摂水量が最小値を示し、その後回復傾向を示したが、全投与期間をとおして対照群より低値を示した。10000 ppm 群でも全投与期間の摂水量が対照群より低値を示した。4000 ppm 以下の群では対照群と同様な値を示した。投与期間中の投与群の摂水量は、対照群に対して25000 ppm 群:33~90%、17500 ppm 群:59~92%、10000 ppm 群:69~80%、4000 ppm 群:89~97%、1600 ppm 群:94~106%の範囲にあった。

雌でも雄と同様に25000 ppm 群、17500 ppm 群で投与開始後3日目の摂水量が最小値を示し、その後回復傾向を示したが、全投与期間をとおして対照群より低値を示した。10000 ppm 群でも全投与期間の摂水量が対照群より低値を示した。4000 ppm 以下の群では対照群と同様な値を示した。投与期間中の投与群の摂水量は、対照群に対して25000 ppm 群:32~83%、17500 ppm 群:48~78%、10000 ppm 群:67~78%、4000 ppm 群:89~132%、1600 ppm 群:95~98%の範囲であった。

III-5 摂餌量

摂餌量を TABLE 5, 6, FIGURE 5, 6, APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で全投与期間の摂餌量が対照群より低値を示した。17500 ppm 群では3日目(1週3日)から10日目(2週3日)に低値を示した。10000 ppm 群では3日目(1週3日)と7日目(1週7日)に低値を示した。4000 ppm 以下の群では対照群と同様な値を示した。投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して25000 ppm 群:49~82%、17500 ppm 群:71~89%、10000 ppm 群:86~92%、4000 ppm 群:91~98%、1600 ppm 群:100~107%の範囲であった。

雌では25000 ppm 群で全投与期間の摂餌量が対照群より低値を示した。17500 ppm 群では3日目(1週3日)と最終計測日(2週7日)に低値を示した。10000 ppm 群では対照群に対して僅かであるが全投与期間で低値を示した。4000 ppm 以下の群では対照群と同様な値を示した。投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して25000 ppm 群:38~85%、17500 ppm 群:70~86%、10000 ppm 群:87~95%、4000 ppm 群:97~101%、1600 ppm 群:102~107%の範囲にあった。

Ⅲ-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体重 kg 当たりの被験物質一日摂取量 (g/kg body weight/day) を APPENDIX E 1, 2 に示した。

被験物質一日摂取量は、雄で 25000 ppm 群 : 1.385~3.237、17500 ppm 群 : 1.563~2.060、10000 ppm 群 : 0.843~0.969、4000 ppm 群 : 0.394~0.494、1600 ppm 群 : 0.168~0.204、雌では、25000 ppm 群 : 1.435~3.610、17500 ppm 群 : 1.384~2.193、10000 ppm 群 : 0.959~1.123、4000 ppm 群 : 0.507~0.653、1600 ppm 群 : 0.191~0.228 の範囲にあった。

Ⅲ-7 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で pH の低下と蛋白の陽性度の減少が認められ、pH の低下は 17500 ppm 群でも認められた。

雌では、25000 ppm 群と 17500 ppm 群で pH の低下が認められた。

Ⅲ-8 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で MCV、MCH の増加、並びに血小板数の減少が認められた。このうち MCV は 10000 ppm 群まで、MCH は 4000 ppm 群まで、血小板数は 17500 ppm 群まで同様の変化が認められた。その他、10000 ppm 群で単球の増加が認められたが、投与濃度に対応した変化でないため被験物質の影響と考えなかった。

雌では、25000 ppm 群で MCHC の減少と血小板数の減少が認められた。このうち MCHC は 17500 ppm 群でも、血小板数は 17500 ppm 群と 1600 ppm 群にも同様の変化が認められた。

Ⅲ-9 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX G 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で総コレステロールと尿素窒素の増加、並びに無機リンの減少が認められた。17500 ppm 群では尿素窒素の増加が認められた。

雌では、25000 ppm 群でグルコースの減少、GOT、GPT の上昇並びに尿素窒素の増加が認められた。

Ⅲ-10 病理学的検査

Ⅲ-10-1 剖検

定期解剖動物の剖検所見を APPENDIX I 1, 2 に示した。

被験物質の投与による影響は認められなかった。

III-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 APPENDIX J 1, 2 (実重量)、K 1, 2 (体重比) に示した。

雄では、25000 ppm 群の胸腺、精巣、心臓、肺、脾臓に実重量の低値が認められ、腎臓、肝臓及び脳に体重比の高値が認められた。10000 ppm 群は肝臓に体重比の高値が認められた。

雌では、25000 ppm 群の胸腺、副腎、卵巣、心臓、肺及び脾臓に実重量の低値が認められ、体重比で胸腺と脾臓に低値、腎臓、肝臓及び脳に高値が認められた。17500 ppm 群では肺に実重量の低値、腎臓と肝臓に体重比の高値が認められた。

III-10-3 病理組織学的検査

定期解剖動物の病理組織学的所見を APPENDIX L 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で軽度な骨髄の造血低下が全動物に認められた。

雌では、25000 ppm 群で中等度な骨髄の造血低下が全動物に認められた。

雌雄ともに全投与群で上記変化以外の被験物質投与に関連した病理組織学的異常は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

(1) 用量・反応関係

25000 ppm 群

一般状態の観察では、雌雄のほとんどの動物に投与期間をとおして尿による外陰部周囲の汚染が認められ、雌には立毛と糞少量も認められた。

体重は雌雄ともに投与期間初期に減少した。しかし、投与期間後期には増加に転じたが、最終計測日の体重は、対照群に対して、雄で 78%、雌で 73%であり、増加抑制が顕著であった。

摂水量は、雌雄ともに投与 3 日目では、対照群に対して雄で 33%、雌で 32%と顕著な低値を示し、動物の被験物質に対する忌避が考えられた。しかし、その後に摂水量は増加し、最終計測日に雄で 82%、雌で 83%となり、本被験物質に対する忌避は強くなく、一時的なものであることが示唆された。

摂餌量も雌雄ともに投与期間初期に顕著な低値を示した（雄：49～82%、雌：38～85%）。臓器重量の実重量と体重比は、雌雄ともにいくつかの臓器で変化が認められた。これらのうち、雌雄の腎臓と肝臓の体重比の高値及び雌の胸腺と脾臓の実重量と体重比の低値以外は、解剖時の体重の低値に伴うものと考えた。雌雄の腎臓の体重比の高値は、血液生化学的検査で尿素窒素の増加を示していることから、被験物質の腎臓への影響に起因すると考えた。また、雌雄の肝臓の体重比の高値は、血液生化学的検査で雄の GOT と GPT は上昇しないが、雌の GOT と GPT の上昇が認められたことから、肝臓への影響に起因すると考えた。雌の胸腺と脾臓の実重量の低値は、摂餌量と摂水量の低下による動物の消耗による変化と考えられた。血液学的検査では、雄で MCV と MCH の増加、血小板数の減少、雌で MCHC と血小板数の減少が認められ、また、病理組織学的検査で骨髄の造血低下が認められたことから、造血に対する影響が示唆された。しかし、骨髄の造血低下がみられるものの、赤血球数とヘモグロビン濃度等が減少しなかったことから、摂水量の低下による血液濃縮も寄与すると考えられた。血液生化学的検査で総コレステロールの増加、無機リンとグルコースの減少が認められたが、被験物質の投与との関連は不明であった。尿検査での雌雄の pH の低下は、腎機能障害が考えられるが、原因は明確ではなかった。また、蛋白の陽性度の減少は、増加性変化でないため、毒性学的意義は不明であると考えた。

17500 pm 群

一般状態の観察では、雄のほとんどの動物に変化がみられなかったが、雌で尿による外陰部の汚染が投与期間をとおしてほとんどの動物にみられ、さらに、立毛、汚染及び糞少量も認められた。

体重は、雌雄ともに増加抑制が認められ、最終計測日には対照群に対して雄で 90%、雌で 89%であった。

摂水量も雌雄ともに投与期間初期に顕著な低値を示し、最終計測日には対照群に対して雄で

78%、雌で 69%であった。

摂餌量も投与期間をとおして低値を示した（雄：71～89%、雌：70～80%）。

血液生化学的検査では、雄で尿素窒素の増加が認められ、腎臓への影響が示唆されたが、臓器重量と病理組織学的検査で変化が認められなかった。一方、雌では、病理組織学的検査と血液生化学的検査に変化が認められなかったが、腎臓と肝臓の臓器重量で体重比の高値がみられた。血液学的検査では、雄で MCV と MCH の増加及び血小板数の減少がみられ、雌で MCHC と血小板数の減少が認められた。尿検査は、雌雄ともに pH の低下が認められた。

10000 ppm 群

一般状態の観察では、雄に著変がみられず、雌で尿による外陰部の汚染と立毛が散見されるだけであった。

体重は、雌雄ともに増加の抑制はほとんどがみられず、最終計測日に対照群に対して雄で 96%、雌で 98%であった。

摂水量は雌雄ともに低値を示した（雄：69～80%、雌：67～78%）。

摂餌量では、雄の投与期間前期に顕著な低値が認められたが、雄の投与期間後期と雌の全投与期間で僅少な減少であった（雄：86～92%、雌：87～95%）。

血液学的検査では、雄の MCV と MCH が増加した。臓器重量では、雄の肝臓の体重比が高値を示したが、血液生化学的検査及び病理組織学的検査に変化がみられなかった。

4000 ppm 群

一般状態の観察は雌に尿による外陰部汚染が散見されただけであった。

体重（最終計測日、対照群に対して雄で 96%、雌で 99%）、摂水量（雄：89～97%、雌：89～132%）、摂餌量（雄：91～98%、雌：97～101%）は対照群とほぼ同様の値を示した。

その他、雄の血液学的検査で MCH の増加がみられた。血液生化学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査には変化がみられなかった。

1600 ppm 群

血液学的検査で雌の血小板数の減少が示された。これは、10000 ppm と 4000ppm の両群に変化がみられなかったため、偶発的な変化と考えた。一般状態の観察、体重、摂水量、摂餌量、血液生化学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査には変化がみられなかった。

以上のように、2-フェノキシエタノールの 2 週間の経口（混水）投与によって、高用量群の 25000 ppm 群と 17500 ppm 群で投与濃度に対応して雌雄とも体重増加の抑制、摂水量と摂餌量の低値がみられた。特に、25000 ppm 群では、体重と摂餌量が投与期間前期に減少した。しかし、投与期間後期には増加に転じて回復傾向を示したが、最終計測日でも対照群との差は有意であった。摂水量は投与 3 日目に最小値を示し、その後、増加したが、体重と摂餌量と同

様に対照群との差は有意であった。この摂水量の顕著な減少は飲水忌避によると考えられた。また、体重増加の抑制と摂餌量の減少は、飲水忌避も寄与すると考えられる。しかし、文献ではラットの LD₅₀ は 1.26 g/kg body weight であり (文献 6)、本試験での被験物質摂取量が雄：1.385～3.237 g/kg body weight/day、雌：1.435～3.610 g/kg body weight/day と多いことから、体重増加の抑制と摂餌量の減少は被験物質摂取による毒性影響も起因していると考えられた。

被験物質の直接的な影響は、25000 ppm 群の腎臓と肝臓にみられた。血液生化学的検査での尿素窒素の増加は、腎臓への影響を示唆するものであり、GOT、GPT の上昇は肝臓への影響を示唆するものであり、いずれも臓器重量の体重比が高値を示した。しかし、腎臓と肝臓ともに病理組織学的に所見がみられなかった。25000 ppm 群と 17500 ppm 群は、血小板数の減少、雌の MCHC の減少、雄の MCV、MCH の増加が認められた。さらに、病理組織学的検査は骨髄の造血低下が認められた。これらは、主に、被験物質の血液系/造血器への影響と考えられた。10000 ppm 群と 4000 ppm 群の体重は、対照群と同様な値を示した。この両群の雌は、一般状態の観察で尿による外陰部周囲の汚染が散見された。なお、10000 ppm 群の雄で肝臓への変化を示唆する変化 (肝臓重量の増加) もみられたが、病理組織学的検査に所見は認められなかった。また、被験物質の血液系/造血器への影響と考えられる変化として、雄の MCV と MCH が増加した。雄の MCH の増加は 4000 ppm 群まで認められた。

(2) 無毒性量 (NOAEL) について

上記の結果より、2-フェノキシエタノールの 2 週間混水投与による無毒性量は、雄の血液系/造血器への影響をエンドポイントとして、1600 ppm (0.168～0.204 g/kg body weight/day) と考えられた。

(3) 13 週間試験の濃度決定

2-フェノキシエタノールの 13 週間混水投与試験のラットの投与濃度を以下のように設定した。全投与群の動物の生死に影響を与えるような重篤な毒性徴候は認められなかった。しかし、最高用量の 25000 ppm 群と 17500 ppm 群では摂水量の減少、摂餌量の低下及び体重増加の抑制が認められた。これらの投与群の定期解剖時体重は、対照群に比べて、25000 ppm 群では雄：78%、雌：73%、17500 ppm 群では雄：90%、雌：89%であった。10000 ppm、4000 ppm 及び 1600 ppm 群の体重値は対照群と同様の値を示した。以上の結果から、13 週間試験の最高用量は 17500 ppm よりも高く、大幅な体重増加の抑制が認められた 25000 ppm よりも低い濃度に、また最低用量は被験物質の影響が認められない 4000 ppm よりも低い濃度に設定すべきと考えた。従って 13 週間試験の用量は、最高濃度を 20000 ppm とし、以下、公比 2 で 10000、5000、2500、1250 ppm に設定した。

V 文献

1. Budavari S. Ed.(1996)
The Merck Index (12th edition), p1251
Merck Research Laboratories, Division of Merck & Co., Inc.
Whitehouse Station, NJ
2. 化学工業日報社 (2003)
14303 の化学商品, p741, 化学工業日報社, 東京
3. McLafferty, F.W.(1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6th edition), Entry Number 25888
John Wiley and Sons, Inc., New York, NY
4. 和光純薬工業 (株) 提供資料(1997)
赤外吸収スペクトル
5. 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
6. National Institute for Occupational Safety and Health (1997)
Registry of Toxic Effect of Chemical Substances
Accession number : KM0350000
NIOSH, Cincinnati, OH