

2-フェノキシエタノールのマウスを用いた経口投与
による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号： 0454

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マウスを用いた経口投与
による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号： 0454

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	摂水量測定	7
II-3-4	摂餌量測定	7
II-3-5	血液学的検査	7
II-3-6	血液生化学的検査	8
II-3-7	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	8
II-4-1	数値の取り扱いと表示	8
II-4-2	母数の取り扱い	9
II-4-3	統計方法	9
III	試験成績	10
III-1	生死状況	10
III-2	一般状態	10
III-3	体重	10
III-4	摂水量	10
III-5	摂餌量	11
III-6	被験物質摂取量	11
III-7	尿検査	11
III-8	血液学的検査	11
III-9	血液生化学的検査	12
III-10	病理学的検査	12
	III-10-1 剖検	12
	III-10-2 臓器重量	12
	III-10-3 病理組織学的検査	12
IV	考察及びまとめ	13
V	文献	16

要約

2-フェノキシエタノール（被験物質）のCrj:BDF₁マウス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、10000 ppm、7000 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群で著しい摂水量の減少、さらに、摂餌量の減少と体重増加の抑制が認められた。投与期間中の摂水量は、雄で23～58%、雌で27～53%であり、摂餌量は、雄で54～89%、雌で60～91%であった。最終計測時の体重は、雄で84%、雌で90%であった。血液生化学的検査で雌雄に尿素窒素の増加がみられ、尿検査で雄の蛋白の陽性度の増加が認められた。さらに、雄で腎臓の臓器重量の体重比が高値を示し、雌で実重量と体重比の高値を示した。これらの結果から、腎臓への影響が示唆されたが、病理組織学的な変化は認められなかった。10000 ppm群では、雌に摂水量の低値がみられたが、摂餌量と体重は、対照群とほとんど差がなかった。投与期間中の摂水量は、雄で61～78%、雌で63～73%であり、摂餌量は、雄で77～95%、雌で87～103%であった。最終計測時の体重は、雄で94%、雌で99%であった。腎臓の臓器重量は、雄の体重比及び雌の実重量と体重比に高値が認められた。7000 ppm群では、摂水量、摂餌量及び体重とも対照群と同様の推移を示した。しかし、腎臓の臓器重量は、雄の体重比及び雌の実重量と体重比に高値が認められた。4000 ppm群と1600 ppm群では、雌雄ともに被験物質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、腎臓重量をエンドポイントとして雌雄ともに4000 ppm（雄：0.681～0.769 g/kg body weight, 雌：0.758～0.857 g/kg body weight）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、雌雄とも最高濃度を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

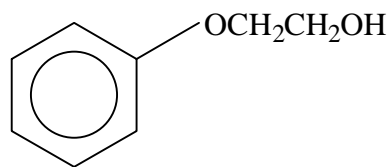
名 称 : 2-フェノキシエタノール (2-Phenoxyethanol)

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) により測定した。

その結果、被験物質のマスペクトルは、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 M1 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、使用開始前と使用終了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Crj:BDF₁マウス (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：14.6～18.4g、雌：12.4～17.2g) 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等の理由から Crj:BDF₁ マウス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、Crj:BDF₁ マウスを使用した。

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7月2日より2002年7月16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、7000 ppm、10000 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BDF₁マウスを用い、500 ppm、1500 ppm、4500 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4500 ppm群の体重は、対照群に対し、雄94%、雌95%であり、体重増加の抑制はごく僅かであった。最低用量の500 ppm群では試験終了時の体重は雄96%、雌97%であった。以上の結果から、2週間試験の最高用量は4500 ppm以上に設定すべきであると考えた。しかし、最高用量についての情報は不明であることから、溶解度に近い25000 ppm（2-フェノキシエタノールの水への溶解度は2.7%（w/w））を最高用量とした。従って2週間試験の用量は最高用量を25000 ppmとし、以下、公比2.5で10000、4000、1600 ppmとした。さらに4000 ppmと10000 ppmの間に7000 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、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、101～103%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 95.8%であった。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。

その結果について、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 当たりの一日摂取量（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)
7000 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	7000 ppm 群	5 匹 (2301~2305)
10000 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	10000 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 109 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区別した。

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) $22.8 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$)、設定湿度 $55 \pm 15\%$ (実測値 (平均 \pm 標準偏差) $55 \pm 1\%$)、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、W112 × D212 × H120 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）、馴化開始時、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、一日当りの摂水量を算出した。

II-3-4 摂餌量測定

全動物について、週に1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、一日当りの摂餌量を算出した。

II-3-5 尿検査

定期解剖前日に採取可能な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、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、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、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、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、
上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、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、小数点以下第 1 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、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、投与 3 日目（1 週 3 日）の雌の 1 匹（2104）と投与 10 日目（2 週 3 日）の雌の 1 匹（2105）の体重、摂餌量、摂水量であり、理由は給水ビンのノズル不良により当該動物が飲水できなかったためである。

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、雌の 2 匹（2301、2501）の全項目であり、理由は採血ミスであった。

剖検データは、各群の有効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検査不能臓器数を除いたものを母数とした。検査不能臓器は、雌の 1 匹（2505）の下垂体であり、理由は標本の欠落であった。

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。
雌雄とも死亡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 3 日目（1 週 3 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで 1 匹～2 匹に糞少量が認められた。また、10 日目（2 週 3 日）と最終観察日（2 週 7 日）には立毛が 1 匹に認められた。10000 ppm 以下の群では特記すべき所見はみられなかった。

雌では、25000 ppm 群で投与開始後 3 日目（1 週 3 日）から最終観察日（2 週 7 日）まで糞少量が 2 匹～4 匹に認められた。10000 ppm 以下の群では 1600 ppm 群の 3 日目（1 週 3 日）と 10 日目（2 週 3 日）に糞少量が 1 匹に認められた。

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 群で投与開始後 3 日目（1 週 3 日）に体重が減少し、7 日目から増加したが、最終計測日（2 週 7 日）まで対照群と比較して低値であった。10000 ppm 以下の群は対照群と同様の値であった。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 : 84%、10000 ppm 群 : 94%、7000 ppm 群 : 99%、4000 ppm 群 : 98%、1600 ppm 群 : 100%であった。

雌も雄と同様に、25000 ppm 群で投与開始後 3 日目（1 週 3 日）に体重が減少し、7 日目から増加したが、最終計測日（2 週 7 日）まで対照群と比較して低値であった。10000 ppm 以下の群は対照群と同様の値であった。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 : 90%、10000 ppm 群 : 99%、7000 ppm 群 : 100%、4000 ppm 群 : 100%、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 群と 10000 ppm 群の摂水量が投与開始後 3 日目（1 週 3 日）に最小値を示し、その後増加に転じたが、全投与期間をとおして対照群より低値を示した。7000 ppm 以下の群は対照群と同様の値を示した。投与期間中の各投与群の摂水量は、対照群に対し、25000 ppm 群 : 23～58%、10000 ppm 群 : 61～78%、7000 ppm 群 : 89～110%、4000 ppm 群 : 98～117%、1600 ppm 群 : 109%～117%の範囲にあった。

雌では、25000 ppm 群、10000 ppm 群及び 7000 ppm 群で全投与期間の摂水量が対照群より低値を示した。なお、25000 ppm 群及び 10000 ppm 群では投与開始後 3 日目（1 週 3

日)が最小値であった。4000 ppm以下の群は対照群と同様の値を示した。投与期間中の各投与群の摂水量は、対照群に対し、25000 ppm群：27～53%、10000 ppm群：63～73%、7000 ppm群：74～82%、4000 ppm群：90～98%、1600 ppm群：95～110%の範囲にあった。

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群の摂餌量が投与開始後3日目(1週3日)に最小値を示し、その後増加に転じたが、全投与期間をとおして対照群より低値を示した。10000 ppm群は、3日目(1週3日)に低値を示したが、その後、対照群と同様の値であった。7000 ppm以下の群は対照群と同様の値を示した。投与期間中の各投与群の摂餌量は、対照群に対し、25000 ppm群：54%～89%、10000 ppm群：77～95%、7000 ppm群：100～105%、4000 ppm群：95～100%、1600 ppm群：100～105%の範囲にあった。

雌では、25000 ppm群の摂餌量が投与開始後3日目(1週3日)に最小値を示し、その後増加に転じたが、全投与期間をとおして対照群より低値を示した。10000 ppm群は、3日目(1週3日)に低値を示したが、その後、対照群と同様の値であった。7000 ppm以下の群は対照群と同様の値を示した。投与期間中の各投与群の摂餌量は、対照群に対し、25000 ppm群：60%～91%、10000 ppm群：87～103%、7000 ppm群：97～107%、4000 ppm群：94～103%、1600 ppm群：100～114%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された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：1.263～2.911、10000 ppm群：1.186～1.345、7000 ppm群：1.165～1.247、4000 ppm群：0.681～0.769、1600 ppm群：0.292～0.331、雌で 25000 ppm群：1.720～3.218、10000 ppm群：1.372～1.633、7000 ppm群：1.072～1.249、4000 ppm群：0.758～0.857、1600 ppm群：0.332～0.373 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増加が認められた。

雌では、25000 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、全投与群で対照群との間に差を認めなかった。

雌では、25000 ppm 群で MCV の増加が認められた。

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 群で統計学的に有意ではないが、尿素窒素の増加傾向が認められた。10000 ppm 群でリン脂質の減少が認められた。

雌では、25000 ppm 群で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

定期解剖動物全動物の剖検所見を APPENDIX I 1, 2 に示した。

雄では、25000 ppm 群で胸腺の萎縮（1 匹）が認められた。

雌は被験物質投与による変化を認めなかった。

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 群で心臓に実重量の低値がみられ、腎臓と脳に体重比の高値がみられた。なお、腎臓の体重比の高値は、7000 ppm 群まで認められた。

雌では、25000 ppm 群で胸腺、副腎、心臓、脾臓に実重量の低値、腎臓に実重量の高値がみられた。体重比では心臓に低値、腎臓に高値がみられた。腎臓は、10000 ppm 群と 7000 ppm 群でも実重量と体重比の高値がみられた。

実重量、体重比とも低値を示した雌の心臓重量の意義は明らかでなかった。その他の臓器についても重量の変化がみられたが、それらは解剖時の体重の低値に伴うものと考えた。

III-10-3 病理組織学的検査

定期解剖動物の全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 群で胸腺の萎縮（1 匹）が認められた。

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、糞少量の動物が投与期間をとおして雌雄で認められた。さらに、雄には立毛が散見された。

体重は雌雄ともに投与開始 3 日目に減少した。7 日目からは増加に転じ、最終計測日の体重は、対照群に対して、雄で 84%、雌で 90%まで回復したが、投与開始時の体重値まで回復しなかった。

摂水量は、雌雄ともに顕著な低値を示し、特に投与開始後 3 日目は対照群に対して雄で 23%、雌で 27%であった。その後、徐々に摂水量は増加し、最終計測日に雄で 56%、雌で 51%となった。

摂餌量も雌雄ともに投与期間をとおして低値を示した。投与開始後 3 日目には、対照群に対して雄は 54%、雌は 60%であった。その後、摂餌量は増加し、最終計測日には対照群に対して、雄は 83%、雌は 91%まで回復した。

尿検査は雄で蛋白の陽性度の増加が認められた。また、血液生化学的検査で雌の尿素窒素の増加がみられ、雄でも統計学的に有意でないもののやや高い値を示した。さらに、雄で腎臓の体重比の高値、雌で腎臓の実重量と体重比の高値がみられた。これらの変化は、腎臓への影響を示唆するものと考えられたが、病理組織学的検査では変化が認められなかった。

臓器重量で雌の胸腺と脾臓の実重量の低値が認められ、剖検観察と病理組織学的検査で雄に 1 匹に胸腺の萎縮が観察された。これらの変化は、摂餌量と摂水量の低下による動物の消耗性変化であると考えた。

その他、尿検査では、雄に pH の低下がみられ、雌にも pH 低下を示す動物が多く認められた。この変化は、腎機能障害の関を示唆しているが、原因は明らかではなかった。血液学的検査では、雌で MCV の増加がみられたが、他の項目に変化がないため被験物質との関連は不明であった。

10000 pm 群

体重は、雌雄ともに対照群と同様の推移を示した。最終計測日には対照群に対して雄で 94%、雌で 99%であった。

摂水量は、雌雄ともに全投与期間で低値を示した。最終計測日には対照群に対して雄で 78%、雌で 73%であった。

摂餌量は、雌雄ともに投与初期に低値を示したが、その後は対照群と同様の値であった。(雄：77～95%、雌：87～103%)。

血液生化学的検査は、雄にリン脂質の減少がみられたが、投与濃度に対応していないため偶発的な変化と考えた。

臓器重量は、腎臓で雄の体重比の高値、雌の実重量と体重比で高値がみられ、25000 ppm と同様に、腎臓への影響を示唆された。しかし、病理組織学的検査では、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。その他、血液学的検査でも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。

7000 ppm 群

体重は雌雄ともに対照群と同様の推移を示した。最終計測日は対照群に対して雄で 99%、雌で 100%であった。

摂水量は、雄で対照群と同様の値を示したが、雌で低値を示した。最終計測日には対照群に対して雄で 110%、雌で 82%であった。

摂餌量は雌雄とも対照群と同様の値を示した。(雄：100～105%、雌：97～107%)

腎臓重量は、雄の体重比及び雌の実重量と体重比で高値がみられ、腎臓への影響が示唆された。しかし、病理組織学的検査では、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。血液学的検査、血液生化学的検査では、雌雄ともに対照群と同様の値を示した。

4000 ppm 群、1600 ppm 群

一般状態の観察は 1600 ppm 群の雌で 3 日目と 10 日目に糞少量が観察された。

体重、摂水量、摂餌量は雌雄とも対照群と同様の値を示した。

臓器重量、病理組織学的検査等の項目については、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。

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、最高用量群の 25000 ppm 群の雌雄は、体重増加の抑制、摂水量と摂餌量の低値が認められた。投与期間初期に減少した体重は、その後、回復傾向を示したが、最終計測日でも投与開始時よりも低値を示した。摂水量は投与 3 日目に最小値を示し、その後、増加したが、対照群との差は顕著であった。摂水量の低値は、雄では 10000 ppm 以上、雌では 7000 ppm 以上の群にみられ、飲水忌避も関与していると考えられた。被験物質の影響として、25000 ppm 群では血液生化学的検査で雌に尿素窒素の増加、尿検査で雄に尿蛋白の陽性度の増加、また、腎臓重量は、雄の体重比、雌の実重量と体重比の高値が認められ、腎臓への影響が示唆された。腎臓重量の変化は雌雄とも 7000 ppm まで認められたが、病理組織学的検査では、腎臓に変化がみられなかった。

(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、腎臓重量をエンドポイントとして、雌雄とも 4000 ppm (雄：0.681～0.769 g/kg body weight/day、雌：0.758～0.857 g/kg body weight/day) と考えられた。

(3) 13 週間試験の濃度決定

2 週間試験では、6 週齢の BDF₁ マウスを用い 1600 ppm、4000 ppm、7000 ppm、10000 ppm、25000 ppm の濃度で飲水試験を実施した。その結果、被験物質の投与による影響は腎臓に認められた。25000 ppm 群では、腎臓への影響を示す変化として、血液生化学的検査で尿素窒素の増加、尿検査で尿蛋白の陽性度の増加、また、腎臓重量は、雄の体重比、雌の実重量と体重比の高値が認められた。これらの変化は、投与濃度の低下に従って、軽減あるいは消失したが、7000 ppm 群まで認められた。これらの腎臓への影響は、動物の生死に係るような重篤なものではなかった。しかし、最高用量の 25000 ppm 群で大幅な摂水量の低下が全投与期間認められた。また、摂餌量の低下（対照群に比較し、雄：54～89%、雌：60～91%）と体重増加の抑制（定期解剖時体重は対照群に比較し、雄：84%、雌：90%）が認められた。10000 ppm 以下の投与群では僅かな摂水量の低下は認められるものの、摂餌量と体重増加の抑制はほとんど認められなかった。以上の結果、25000 ppm 群の摂水量は対照群に比較して 5 割程度低下していて消耗性変化がみられていることから、この濃度を 13 週投与した場合に、摂餌量の減少や体重増加の抑制を引き起こし、動物に重篤な影響を引き起こす可能性が示唆される。従って、13 週間試験の最高濃度は 25000 ppm よりも低い濃度に設定すべきであると考えた。以上の試験結果より、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 と設定した。

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