

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 13 週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号： 0460

CAS No. 122-99-6

2003年12月10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-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13週間毒性試験（混水試験）

試験目的

2-フェノキシ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として、2-フェノキシエタノールをマウスに13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408（げっ歯類における90日間反復経口投与毒性試験1998年9月21日採択）を参考に実施した。

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「試験施設が具備すべき基準」（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調査課
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
所長 松島 泰次郎
神奈川県秦野市平沢2445番地

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 13 週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号： 0460

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	6
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	8
II-3-5	血液学的検査	8
II-3-6	血液生化学的検査	8
II-3-7	尿検査	8
II-3-8	病理学的検査	8
	(1) 剖検観察	8
	(2) 臓器重量	9
	(3) 病理組織学的検査	9
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	10
II-4-3	統計方法	10
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	11
III-5	摂餌量	12
III-6	被験物質摂取量	12
III-7	血液学的検査	12
III-8	血液生化学的検査	12
III-9	尿検査	13
III-10	病理学的検査	13
	III-10-1 剖検	13
	III-10-2 臓器重量	13
	III-10-3 病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	14
V	文献	17

要約

2-フェノキシエタノールのがん原性を検索する目的で、Crj:BDF₁ マウスを用いて経口投与による2年間（104週間）のがん原性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13週間試験を実施した。投与は2-フェノキシエタノールを各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。被験物質投与群5群と対照群1群の計6群構成で、雌雄とも各群10匹の動物を用いた。投与濃度は雌雄とも1250、2500、5000、10000及び20000 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、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、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、20000 ppm 群では、雌雄とも全投与期間にわたり摂水量と摂餌量の低値及び体重増加の抑制がみられた。最終計測時の体重は、対照群に対し、雄で87%、雌で95%であった。被験物質の影響として、腎臓重量の増加（雄の体重比、雌の実重量と体重比の高値）が認められた。しかし、病理組織学的検査では腎臓に変化が認められなかった。血液系への影響として、雄の網赤血球比の増加、並びに雌のヘモグロビン濃度とMCHCの減少、さらに、MCVの増加がみられ、貧血を示唆したが、いずれも僅かな変化であった。10000 ppm 群では、雌雄とも全投与期間にわたり摂水量の低値がみられ、摂餌量も雌で投与後期に低値がみられた。しかし、体重は、対照群との間に差がみられなかった。腎臓の重量は、雄で体重比、雌で実重量と体重比の高値が認められた。5000 ppm 以下の群では、被験物質の影響と考えられる変化を認めなかったが、摂水量の低下がみられた。

2-フェノキシエタノールの13週間混水投与による無毒性量（NOAEL）は、腎臓重量の増加をエンドポイントとして、雌雄とも5000 ppm（雄：0.625～1.027 g/kg body weight per day、雌：0.852～1.015 g/kg body weight per 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マウスを用いたがん原性試験（混水試験）の投与濃度を、雌雄とも最高濃度を20000 ppmとし、以下10000 ppm、5000 ppm（公比2）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

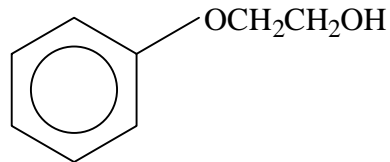
名 称 : 2-フェノキシエタノール (2-Phenoxyethanol)

I U P A C 名 : 2-フェノキシエタノール (2-Phenoxyethanol)

別 名 : エチレングリコールモノフェニルエーテル
(Ethylene glycol monophenyl ether)

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 : WAL4150

製 造 元 : 和光純薬工業 (株)

グ レ ー ド : 和光特級

純 度 : 99.9% (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) と同じ波数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 75 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 60 匹 (投与開始時体重範囲、雄：22.3~24.3g、雌：18.1~20.5g) 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9月10日より2002年12月11日または12日までの13週間(93~94日間)とし、定期解剖直前まで連続投与した。なお、被験物質混合飲水の交換頻度は週に2回とした。

II-1-4 投与濃度

雌雄とも1250、2500、5000、10000及び20000 ppmの5段階(公比2)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、がん原性試験の投与濃度を決定するための予備試験であるため、13週間とした(文献5)。

投与濃度は、2週間の予備試験(文献6)の結果に基づいて決定した。すなわち、2週間試験では、6週齢のCrj:BDF₁マウスを用い1600、4000、7000、10000、25000 ppmの濃度で飲水試験を実施した。その結果、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たもの

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割程度低下していることから、この濃度を13週間投与した場合に、生理的恒常性を維持できない可能性が示唆された。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るべきであると考えられる。最低用量は投与の影響が認められない4000 ppm 以下に設定すべきと考えた。

同一投与用量範囲で、ラットとマウスの毒性影響の用量-反応関係等を評価することは、げっ歯類の本物質に対する感受性の種差を比較・検討する上で重要であると考えて、13週間試験の用量はラットの13週間試験の投与用量と同様に、最高用量を20000 ppm とし、以下、公比2で10000、5000、2500、1250 ppm とした。

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、初回調製時に各濃度の調製容器内から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、101～102%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の被験物質の投与状態での安定性は、本試験の予備試験（文献6）において、25000 ppm 及び100 ppm の被験物質混合飲水をマウス用給水瓶に充填し、室温保存（5日間）したものについて、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 当たりの一日本摂取量 (g/kg body weight per 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 10 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	10 匹 (1001~1010)	対 照 群	10 匹 (2001~2010)
1250 ppm 群	10 匹 (1101~1110)	1250 ppm 群	10 匹 (2101~2110)
2500 ppm 群	10 匹 (1201~1210)	2500 ppm 群	10 匹 (2201~2210)
5000 ppm 群	10 匹 (1301~1310)	5000 ppm 群	10 匹 (2301~2310)
10000 ppm 群	10 匹 (1401~1410)	10000 ppm 群	10 匹 (2401~2410)
20000 ppm 群	10 匹 (1501~1510)	20000 ppm 群	10 匹 (2501~2510)

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 7)。

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 111 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) $52.0 \pm 1.6\%$)、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、動物の健康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。

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力し、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）の分析データを入力し、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 回行った。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）及び投与開始後は毎週 1 回（各週 7 日目）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）、及び投与開始後は毎週 1 回（各週 7 日目）に体重を測定した。なお、定期解剖動物の搬出時にも測定を行った。

II-3-3 摂水量測定

投与期間中の摂水量は、全動物について、毎週 1 回、給水量（各週 3 日目）及び残水量（各週 7 日目）を測定し、その差を給水日数で除し、1 日当たりの摂水量を算出した。

II-3-4 摂餌量測定

投与期間中の摂餌量は、全動物について、毎週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その差を給餌日数で除し、1 日当たりの摂餌量を算出した。

II-3-5 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。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18 時間以上）させた。

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

検査方法は APPENDIX N 1 に示した。

II-3-6 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。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18 時間以上）させた。

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、GOT、GPT、LDH、ALP、 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-3-7 尿検査

投与最終週（13 週目）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

検査方法は APPENDIX N 1 に示した。

II-3-8 病理学的検査

(1) 剖検観察

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

全動物について、以下に示した臓器を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、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。

摂水量及び摂餌量についてはgを単位とし、給水量（給餌量）、残水量（残餌量）を小数点以下第1位まで計測し、給水量（給餌量）から残水量（残餌量）を減じて摂水量（摂餌量）とした。この値を計測期間の日数で除し、1日当たりの平均摂水量（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 per 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、摂水量で給水瓶内の飲水が空のため給水瓶を交換した、あるいは測定時に飲水が空のため測定不能となったものが7件あった。

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、血液学的検査で、クロット形成のため測定不能となったものが1件（動物番号：2003）、血液生化学的検査で、検体量不足のため測定不能となったものが1件（動物番号：2103）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、標本の欠落のため検査不能となったリンパ節の6件（動物番号：1506、2202、2207、2309、2310、2503）と下垂体の3件（動物番号：1001、1010、2010）であった。

II-4-3 統計方法

体重、摂水量、摂餌量、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等を基準として1~4にグレード分けし、 χ^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 χ^2 検定を行った。

なお、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、APPENDIX A 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。
雌雄ともに全投与群で被験物質に関連した変化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。

雄の体重は、20000 ppm 群で 1 週目に減少し、2 週目以降は増加したが、全投与期間を通して対照群より低い値を示した。10000 ppm 以下の群では対照群と同様の推移を示した。最終計測日における各投与群の体重は、対照群と比較して、20000 ppm : 87%、10000 ppm 群 : 97%、5000 ppm 群 : 97%、2500 ppm 群 : 101%、1250 ppm 群 : 97%であった。

雌の体重は、20000 ppm 群で 1 週目にごく僅かに減少し、2 週目以降は増加したが、全投与期間を通して対照群より低い値を示した。10000 ppm 以下の群は対照群と同様の推移を示した。最終計測日における各投与群の体重は、対照群と比較して、20000 ppm 群 : 95%、10000 ppm 群 : 99%、5000 ppm 群 : 99%、2500 ppm 群 : 100%、1250 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。

雄の摂水量は、20000 ppm 群と 10000 ppm 群で、全投与期間を通して対照群より低値を示した。5000 ppm 以下の群の摂水量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、20000 ppm 群 : 48~70%、10000 ppm 群 : 61~80%、5000 ppm 群 : 88~103%、2500 ppm 群 : 91~104%、1250 ppm 群 : 79%~103%の範囲にあった。

雌の摂水量は、20000 ppm 群と 10000 ppm 群で全投与期間を通して対照群より低値を示した。5000 ppm 以下の群でも全投与期間を通して対照群を僅かに下回った。投与期間中の各投与群の摂水量は、対照群に対し、20000 ppm 群 : 49~62%、10000 ppm 群 : 67~76%、5000 ppm 群 : 87~96%、2500 ppm 群 : 89~96%、1250 ppm 群 : 83~96%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。

雄の摂餌量は、20000 ppm 群でほぼ全投与期間を通した低値が認められた。10000 ppm 群では 1 週目に僅かな低値を示したが、2 週目以降は増加に転じ、対照群と同様の値を示した。5000 ppm 以下の群は全投与期間を通して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、20000 ppm 群：78～93%、10000 ppm 群：93～100%、5000 ppm 群：98～103%、2500 ppm 群：100～103%、1250 ppm 群：95～103%の範囲にあった。

雌の摂餌量は、20000 ppm 群でほぼ全投与期間を通した低値が認められた。10000 ppm 群では 7、8 週目及び 10～13 週目に僅かな低値がみられた。5000 ppm 以下の群では、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、20000 ppm 群：77～94%、10000 ppm 群：90～97%、5000 ppm 群：95～103%、2500 ppm 群：95～103%、1250 ppm 群：90～100%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 per day) を APPENDIX E 1, 2 に示した。

雌雄とも 10000 ppm 以上の群で公比よりも低い値を示した。被験物質一日摂取量は、雄で 20000 ppm 群：1.854～2.519、10000 ppm 群：0.974～1.456、5000 ppm 群：0.625～1.027、2500 ppm 群：0.308～0.528、1250 ppm 群：0.151～0.233、雌で 20000 ppm 群：2.232～2.760、10000 ppm 群：1.394～1.603、5000 ppm 群：0.852～1.015、2500 ppm 群：0.426～0.547、1250 ppm 群：0.215～0.254 の範囲にあった。

III-7 血液学的検査

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

雄では、20000 ppm 群に網赤血球比の増加がみられた。10000 ppm 以下の群では、対照群との間に差を認めなかった。

雌では、20000 ppm 群にヘモグロビン濃度と MCHC の減少、MCV の増加がみられた。10000 ppm 以下の群では、対照群との間に差を認めなかった。

III-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 9 (雄のみ)、APPENDIX G 1, 2 に示した。

雄では、20000 ppm 群に総コレステロール、リン脂質、カルシウム及び無機リンの減少、

ALPの上昇がみられた。10000 ppm 群では、リン脂質の減少がみられた。5000 ppm 群では総コレステロール、リン脂質、カルシウム及び無機リンの減少がみられた。なお、総蛋白の減少が 20000 ppm、5000 ppm 及び 1250 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではないため、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

雌では、各投与群とも対照群との間に差を認めなかった。

III-9 尿検査

尿検査の結果を TABLE 10, 11、APPENDIX H 1, 2 に示した。

雄では、20000 ppm 群と 10000 ppm 群に pH の低下がみられた。

雌では、20000 ppm 群に pH の低下がみられた。

なお、雌雄ともケトン体陽性度の増加が 10000 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではないため、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

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。

雌雄ともに全投与群で、被験物質投与に関連した変化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 TABLE 12, 13、APPENDIX J 1, 2 (実重量)、K 1, 2 (体重比) に示した。

雄では、20000 ppm 群の心臓、腎臓、肝臓及び脳に体重比の高値がみられた。腎臓の体重比の高値は、10000 ppm 群でもみられた。

雌では、20000 ppm 群と 10000 ppm 群に腎臓の実重量及び体重比の高値がみられた。

なお、雄では胸腺の実重量の低値が 20000 ppm 群と 1250 ppm 群、体重比の低値が 1250 ppm 群、雌では肺の体重比の低値が 1250 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではないため、被験物質の投与による影響とは考えなかった。また、雄の 20000 ppm 群の心臓、肝臓及び脳に体重比の高値が認められたが、解剖時体重の低値に伴うものと考えられた。

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。

雌雄ともに全投与群で、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

2-フェノキシエタノールのがん原性を検索する目的で Crj:BDF₁ マウスを用いて経口投与による2年間(104週間)のがん原性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13週間試験を実施した。投与は2-フェノキシエタノールを各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。被験物質投与群5群と対照群1群の計6群構成で、雌雄とも各群10匹の動物を用いた。投与濃度は雌雄とも1250、2500、5000、10000及び20000 ppmとした。

(1) 用量・反応関係

20000 ppm 群

体重は、雌雄ともに1週目に減少し、その後増加したが、全投与期間を通して低値を示した。最終計測日の体重は、対照群に対して、雄で87%、雌で95%となり、雌雄ともに増加抑制が認められ、雌よりも雄が顕著であった。摂水量は、雌雄ともに全投与期間を通して対照群よりも低値を示した。摂餌量も摂水量と同様に、雌雄ともにほぼ全投与期間を通して対照群よりも低値を示した。血液学的検査では、雄で網赤血球比の増加、並びに雌のヘモグロビン濃度とMCHCの減少、さらに、MCVの増加がみられた。これらの変化から貧血が示唆されたが、いずれも僅かな変化であり、病理組織学的検査で造血系臓器に対する影響はみられなかった。血液生化学的検査では、雄でカルシウム及び無機リンの減少がみられ、腎臓重量の高値(雄の体重比、雌の実重量及び体重比)がみられることから、被験物質投与による腎臓への影響を示唆するものと考えられた。その他、雄で総コレステロール及びリン脂質の減少がみられた。これらは、摂餌量の低下による低栄養状態によるものと推察された。しかし、これらの変化はいずれも僅かな変化であり、病理組織学的には変化がみられなかったことから、その毒性学的意義及び生体への影響は少ないものと考えられた。さらに、雄ではALPの増加がみられたが、他の関連した項目に変化がないため原因は不明であった。尿検査の雌雄のpHの低下は、摂水量不足による代謝性アシドーシス、被験物質の代謝物もしくは腎傷害による腎尿細管性アシドーシスが考えられた。病理組織学的検査ではいずれの臓器にも傷害を示唆する所見がみられなかった。一般状態の観察でも異常所見はみられなかった。

10000 ppm 群

体重は、雌雄ともに対照群と同様の推移を示した。摂水量は、雌雄ともに全投与期間で低値を示した。摂餌量は、雄の投与初期と雌の投与後期に僅かな低値を示した。血液生化学的検査では、雄にリン脂質の僅かな減少がみられた。臓器重量では、雄に腎臓の体重比、雌に腎臓の実重量と体重比の高値が、尿検査で雄にpHの低下が認められたが、病理組織学的検査では腎臓への影響を示唆する所見はみられなかった。一般状態の観察、血液学的検査及び病理組織学的検査では変化がみられなかった。

5000 ppm 群

体重と摂餌量は、雌雄ともに対照群と同様の推移を示した。摂水量は、雄では対照群と同様の値を示したが、雌では僅かに低値を示した。血液生化学的検査では、雄で総コレステロール、カルシウム及び無機リンの減少が認められたが、20000 ppm 群よりも僅かな変化であった。また、10000 ppm 群ではみられなく、用量関連性も認められなかったことから、その毒性的意義及び生体への影響はほとんどないと考えた。また、リン脂質の僅かな減少が認められたが、腎臓重量の変化は認められず、腎臓への影響はほとんどないと考えた。一般状態の観察、血液学的検査、尿検査、臓器重量及び病理組織学的検査では変化がみられなかった。

2500 ppm 群、1250 ppm 群

体重及び摂餌量は、雌雄ともに対照群とほぼ同様の値を示した。摂水量は、雄では対照群と同様の値を示したが、雌では僅かに低値を示した。一般状態の観察、血液学的検査、尿検査、臓器重量及び病理組織学的検査で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13週間の経口（混水）投与によって、最高用量群の20000 ppm 群では、雌雄とも摂水量と摂餌量の低下がみられ、雌雄に体重増加の抑制が認められ、雄が顕著であった。摂水量の低下は雄では10000 ppm 群、雌では全投与群に認められた。

被験物質の影響は、腎臓及び血液系にみられた。腎臓への影響として、腎臓重量の増加が認められたが、病理組織学的検査では変化が認められず、測定値も対照群と比べて僅かな変化であるため、腎臓への影響はほとんどないと考えた。これらの腎臓への影響は20000 ppm 群と10000 ppm 群で認められた。血液系への影響は、雄の20000 ppm 群のみにみられたが、造血器に病理組織学的な影響はみられず、血液系への影響は小さいと考えられた。

(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13週間混水投与による無毒性量は、腎臓重量の増加をエンドポイントとして、雌雄とも5000 ppm (雄:0.625~1.027 g/kg body weight/day、雌:0.852~1.015 g/kg body weight/day) と考えられた。

(3) 他の文献との比較

当物質のラットを用いた2週間経口（混水投与）試験（文献6）では、25000ppm投与群でpH低下、腎臓体重比の増加、尿素窒素の増加が雌雄ともにみられた。本試験でも2-フェノキシエタノールの投与により、20000ppm投与群の雄でカルシウム及び無機リンの減少がみられ、腎臓重量の高値（雄の体重比、雌の実重量及び体重比）がみられることから、被験物質投与による腎臓への影響が示唆された。しかし、ラットを用いた13週間経口（混水投与）試験（文献8）に認められた腎臓・膀胱の過形成は認められなかった。

(4) がん原性試験の濃度決定

13 週間試験の結果より、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がん原性試験（混水試験）の投与濃度を以下のように設定する。

20000 ppm 群の雄では体重増加の抑制がやや大きく、腎臓の体重比の高値がみられたが、病理組織学的検査で臓器への傷害を示唆する所見がみられなかったこと、また、雌でも腎臓の実重量と体重比に高値がみられたが、雄と同様に臓器への傷害を示唆する所見がみられなかったことから、20000 ppm をがん原性試験の最大耐量と考え、この濃度を最高濃度と設定した。最低濃度は、わずかな摂水量の低下が認められるものの、毒性徴候を表さない 5000 ppm であると判断した。

従って、がん原性試験は最高濃度を 20000 ppm とし、以下 10000 ppm、5000 ppm（公比 2）と決定した。

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, p741-742, 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, New York, NY
4. 和光純薬工業 (株) 提供資料 (2002)
赤外吸収スペクトル
5. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (1998)
OECD Guideline for the Testing of Chemicals 408 for “Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents”, OECD, Paris
6. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)
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) , 日本バイオアッセイ研究センター, 中央労働災害防止協会
神奈川
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