

2-メチル-1-プロパノールのラットを用いた
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：0571

CAS No. 78-83-1

2006年3月31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-メチル-1-プロパノールのラット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-メチル-1-プロパ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-メチル-1-プロパノールをラットに 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）を参考にして実施した。

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 山本 静護
神奈川県秦野市平沢 2445

2-メチル-1-プロパノールのラットを用いた
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：0571

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 構造式及び分子量	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 被験物質の投与方法	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	7
(1)	飼育環境	7
(2)	飼料	7
(3)	飲水	7
Ⅱ-3	観察・検査項目及び方法	8
Ⅱ-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	8
Ⅱ-3-2	体重測定	8
Ⅱ-3-3	摂餌量測定	8
Ⅱ-3-4	摂水量測定	8
Ⅱ-3-5	血液学的検査	8
Ⅱ-3-6	血液生化学的検査	9
Ⅱ-3-7	尿検査	9
Ⅱ-3-8	病理学的検査	9
(1)	剖検	9
(2)	臓器重量	9
(3)	病理組織学的検査	9
Ⅱ-4	数値処理と統計方法	10
Ⅱ-4-1	数値の取り扱いと表示	10
Ⅱ-4-2	統計処理	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	摂餌量	11
Ⅲ-5	摂水量	12
Ⅲ-6	被験物質摂取量	13
Ⅲ-7	血液学的検査	13
Ⅲ-8	血液生化学的検査	13

Ⅲ-9	尿検査	14
Ⅲ-10	病理学的検査	14
Ⅲ-10-1	剖検	14
Ⅲ-10-2	臓器重量	14
Ⅲ-10-3	病理組織学的検査	15
Ⅳ	考察及びまとめ	16
Ⅳ-1	用量-反応関係	16
Ⅳ-2	無影響量 (NOEL)	17
Ⅳ-3	がん原性試験の濃度決定	17
Ⅴ	文献	18

要約

2-メチル-1-プロパノールの経口投与によるがん原性試験の投与濃度を決定することを目的として、2-メチル-1-プロパノールを F344/DuCr1Crlj (旧 F344/DuCrj) ラットに 13 週間経口 (混水) 投与して、その生体影響を検索した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、雌雄各群とも 10 匹とし、合計 120 匹を用いた。被験物質の投与は、2-メチル-1-プロパ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 2500、5000、10000、20000 及び 40000 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、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。

13 週間試験の結果、雌雄各群とも動物の死亡は認められなかった。一般状態の観察では、尿による外陰部周囲の汚染が雌の 40000 ppm 群で 2 匹に認められたのみであった。体重は雌雄ともすべての投与群で対照群とほぼ同様の推移を示した。摂餌量は、雄の 40000 ppm 群で低値がみられ、20000 ppm 群でも投与期間の多くの週で低値であった。10000 ppm 群と 5000 ppm 群でも投与期間前半に低値が散見された。雌は、40000 ppm 群で低値がみられ、20000 ppm 群では投与前半に、10000 ppm 群で投与 1 週目に低値であった。摂水量は雌雄とも 10000 ppm 以上の群で低値がみられた。血液系への影響として、血小板数の減少が雌の 40000 ppm 群で認められた。血液生化学的検査では、雌雄の 40000 ppm 群で総蛋白と電解質の僅かな減少がみられ、総蛋白の減少は雄の 10000 ppm 群と雌の 20000 ppm 群まで認められた。尿検査では、雌で蛋白の陽性度の増加が 40000 ppm 群で認められた。臓器重量では、腎臓の実重量の高値が雌の 20000 ppm 以上の群でみられ、体重比の高値が雄の 10000 ppm 以上の群と雌の 40000 ppm 群で認められた。なお、剖検観察と病理組織学的検査では、被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、2-メチル-1-プロパノールのラットに対する 13 週間混水投与による無影響量 (NOEL) は、雄の血漿中総蛋白と腎体重比への影響をエンドポイントとして 5000 ppm (0.352 g/kg body weight per day) であると考えた。

がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 30000 ppm を最高濃度とし、以下 10000 及び 3300 ppm (公比 3) とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

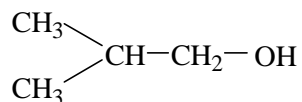
I-1-1 名称等

名 称： 2-メチル-1-プロパノール (2-Methyl-1-propanol)

CAS No. : 78-83-1

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1、2、3)

構 造 式：



分 子 量： 74.12

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1、2、3)

性 状： 無色透明の液体

比 重： 0.806 (15℃)

融 点： -108℃

沸 点： 107.9℃

溶 解 性： 水に 8.7%溶解する。アルコール、エーテルに可溶

保 管 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： KLH5528

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)

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 4) 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 5) と同じ波数にピークが認められ、被験物質は 2-メチル-1-プロパノールであることを確認した。

また、試験に使用した 2-メチル-1-プロパノール中には、不純物としてジイソブチルエーテルと 1-ブタノールが確認された。不純物の含有量は、ジイソブチルエーテルが 0.025%、1-ブタノールが 0.039%であった。

それらの結果は APPENDIX A 1 に示した。

I-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。

I-4 試験動物

動物は、2-メチル-1-プロパ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/DuCr1Cr1j (旧 F344/Cr1j) ラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 75 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 6 日間、馴化を 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 60 匹 (投与開始時体重範囲、雄：122～136g、雌：93～103g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCr1Cr1j 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。

II 試験方法

II-1 投与

II-1-1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

II-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。

II-1-3 投与期間

投与期間は13週間とし、定期解剖直前まで連続投与した。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、2500、5000、10000、20000及び40000 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。

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、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ため13週間とした。

各群の投与濃度は2週間の予備試験（試験番号0555）の結果（文献6）をもとに設定した。試験にはF344/DuCrIjラット(SPF)を用いた。被験物質投与群5群と対照群1群の計6群の構成で、雌雄各群とも5匹とし、合計60匹のラットを用いた。被験物質の投与は、2-メチル-1-プロパノールを混合した飲水を動物に2週間自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雌雄とも2500、5000、10000、20000及び40000 ppmの5段階（公比2）を設定した。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、臓器重量の測定及び剖検観察を行った。

その結果、雌雄各群とも動物の死亡は認められず、体重は、雌雄ともすべての投与群で対

照群とほぼ同様の推移を示した。摂餌量と摂水量は、雌雄とも 40000 ppm 群と 20000 ppm 群で低値あるいは低値傾向がみられた。また、雌の 10000 ppm 群でも摂水量の低値傾向がみられた。血液系への影響として、血小板数の減少が雄の 40000 ppm 群で認められた。血液生化学的検査では、雄の 40000 ppm 群で総蛋白とカルシウムの僅かな減少がみられ、総蛋白の減少は 10000 ppm 群まで認められた。臓器重量では、雌雄とも胸腺の実重量と体重比の低値が 40000 ppm 群で認められた。また、腎臓の体重比の高値が雄の 40000 ppm 群と雌の 10000 ppm 以上の群でみられた。剖検観察では、被験物質投与による変化は認められなかった

以上のように、2 週間試験では各投与群に動物の死亡はみられず、体重への影響も認められなかった。最高投与濃度である 40000 ppm 群は、雌雄とも摂餌量と摂水量に低下がみられ、血液学的検査及び臓器重量に 2-メチル-1-プロパノール投与による影響がみられたものの、この濃度で 13 週間試験を行った場合、動物に死亡を含む重篤な影響を及ぼすとは考えられなかった。従って、13 週間試験の投与濃度は、2 週間試験と同様に、雌雄とも 40000 ppm を最高濃度とし、以下、20000、10000、5000 及び 2500 ppm（公比 2）とした。

II-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。

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 96.2~105%の範囲にあった。従って、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。

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安定性は、本試験の予備試験である 2 週間試験（試験番号 0555）において、最低投与濃度の 2500 ppm と最高投与濃度の 40000 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 2500 ppm : 91.8%、40000 ppm : 93.9%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 A 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 1 日摂取量 (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、各群雌雄各 10 匹の動物を用いた。

群名称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
対照群	10 匹 (1001~1010)	10 匹 (2001~2010)
2500 ppm 群	10 匹 (1101~1110)	10 匹 (2101~2110)
5000 ppm 群	10 匹 (1201~1210)	10 匹 (2201~2210)
10000 ppm 群	10 匹 (1301~1310)	10 匹 (2301~2310)
20000 ppm 群	10 匹 (1401~1410)	10 匹 (2401~2410)
40000 ppm 群	10 匹 (1501~1510)	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、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)。

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。

II-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 : $23 \pm 2^\circ\text{C}$ < $22.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$ >

湿度 : $55 \pm 15\%$ < $55 \pm 2\%$ >

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 (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- γ 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。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) 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。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-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。

II-3-2 体重測定

体重測定は毎週1回行った。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。

II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は、毎週1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。

II-3-4 摂水量測定

摂水量は、毎週1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。

II-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）に採血した。EDTA-2 カリウム入り採血管の血液は全血を用いて、クエン酸ナトリウム入り採血管の血液は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 N 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、※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、白血球数、白血球分類

II-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 N 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、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

II-3-7 尿検査

投与 13 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（マルティステック、バイエル社製）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、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

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

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) 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、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（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

II-4 数値処理と統計方法

II-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、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、小数点以下第 3 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 N 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。

II-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、 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。

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—

すべての投与群で動物の死亡はみられなかった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1, 2 に示した。

—雄—

すべての投与群で被験物質投与による影響は認められなかった。

—雌—

尿による外陰部周囲の汚染が、40000 ppm 群で 6 週目に 2 匹、13 週目に 1 匹認められた。

Ⅲ-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—

すべての投与群で対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各群の体重は、対照群に対して、2500 ppm 群：103%、5000 ppm 群：102%、10000 ppm 群：100%、20000 ppm 群：98%、40000 ppm 群：96%であった。

—雌—

すべての投与群で対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各群の体重は、対照群に対して、2500 ppm 群：104%、5000 ppm 群：102%、10000 ppm 群：104%、20000 ppm 群：105%、40000 ppm 群：102%であった。

Ⅲ-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—

40000 ppm 群では全投与期間にわたり、20000 ppm 群でも投与期間の多くの週で摂餌量の低値がみられた。他の投与群では、10000 ppm 群で投与 1~4 週目に、5000 ppm 群でも投与期間前半に低値が散見されたが、それ以外は対照群との間に大きな差は認められなかつ

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：15.5 g（100%）、2500 ppm 群：15.5 g（100%）、5000 ppm 群：15.0 g（97%）、10000 ppm 群：14.7 g（95%）、20000 ppm 群：14.2 g（92%）、40000 ppm 群：13.1 g（85%）であった。

—雌—

40000 ppm 群は、全投与期間にわたり摂餌量の低値がみられた。20000 ppm 群では、投与前半に低値がみられた。他の投与群では、10000 ppm 群で投与1週目に低値がみられたのみで、対照群との間に大きな差は認められなかった。

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：10.1 g（100%）、2500 ppm 群：10.3 g（102%）、5000 ppm 群：10.0 g（99%）、10000 ppm 群：9.7 g（96%）、20000 ppm 群：9.4 g（93%）、40000 ppm 群：8.8 g（87%）であった。

Ⅲ-5 摂水量

摂水量を TABLE 5, 6、FIGURE 5, 6 及び APPENDIX E1, 2 に示した。

—雄—

40000 ppm 群と 20000 ppm 群は、ほぼ全投与期間にわたり、摂水量の低値がみられた。10000 ppm 群でも投与期間の多くの週で低値がみられた。他の投与群では、対照群との間に大きな差は認められなかった。

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：19.1 g（100%）、2500 ppm 群：19.2 g（101%）、5000 ppm 群：18.1 g（95%）、10000 ppm 群：16.7 g（87%）、20000 ppm 群：15.6 g（82%）、40000 ppm 群：14.6 g（76%）であった。

—雌—

10000 ppm 以上の群は、ほぼ全投与期間にわたり、摂水量の低値あるいは低値傾向がみられた。他の投与群では、やや低値傾向の週がみられたものの、対照群との間に大きな差は認められなかった。

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：17.7 g（100%）、2500 ppm 群：16.8 g（95%）、5000 ppm 群：16.1 g（91%）、10000 ppm 群：12.7 g（72%）、20000 ppm 群：11.2 g（63%）、40000 ppm 群：9.8 g（55%）であった。

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被験物質摂取量を APPENDIX F 1, 2 に示した。
—雄—

各投与群の1日当たりの被験物質摂取量 (g/kg body weight per day) は、2500 ppm 群 : 0.136~0.272 (平均 : 0.184) 、5000 ppm 群 : 0.260~0.536 (平均 : 0.352) 、10000 ppm 群 : 0.487~0.950 (平均 : 0.649) 、20000 ppm 群 : 0.882~1.861 (平均 : 1.237) 、40000 ppm 群 : 1.688~3.531 (平均 : 2.354) の範囲にあった。各投与群の被験物質摂取量の比率は、摂水量の低値にともない、10000 ppm 以上の投与群で設定用量比 (公比 2) より低い値を示した。

—雌—

各投与群の1日当たりの被験物質摂取量 (g/kg body weight per day) は、2500 ppm 群 : 0.216~0.340 (平均 : 0.276) 、5000 ppm 群 : 0.425~0.711 (平均 : 0.536) 、10000 ppm 群 : 0.703~1.078 (平均 : 0.832) 、20000 ppm 群 : 1.185~2.053 (平均 : 1.460) 、40000 ppm 群 : 2.178~4.018 (平均 : 2.624) の範囲にあった。各投与群の被験物質摂取量の比率は、摂水量の低値にともない、10000 ppm 以上の投与群で設定用量比 (公比 2) より低い値を示した。

Ⅲ-7 血液学的検査

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

—雄—

すべての投与群で被験物質投与による影響は認められなかった。

—雌—

血小板数の減少が 40000 ppm 群でみられた。

Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 8, 9 と APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雄—

総蛋白の減少が 10000 ppm 以上の群で、アルブミンとカルシウムの減少が 20000 ppm 以上の群で、ナトリウムとクロールの減少が 40000 ppm 群で認められた。その他、CK の低下が 10000 ppm 以上の群でみられたが、低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。

—雌—

総蛋白とアルブミンの減少が 20000 ppm 以上の群で、ナトリウムとカルシウムの減少が 40000 ppm 群で認められた。

Ⅲ-9 尿検査

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

—雄—

ケトン体の陽性例の増加が 5000 ppm 以上の群で認められた。

—雌—

pH の低下と蛋白の陽性度の増加が 40000 ppm 群で認められた。

Ⅲ-10 病理学的検査

Ⅲ-10-1 剖検

剖検所見を APPENDIX J 1,2 に示した。

—雄—

すべての投与群で被験物質投与による影響は認められなかった。なお、5000 ppm 群の 1 匹に腎臓の結節がみられたが、先天奇形によるものであった。

—雌—

すべての投与群で被験物質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 TABLE 12, 13 と APPENDIX K 1, 2、APPENDIX L 1, 2 に示した。

—雄—

腎臓の体重比の高値が 10000 ppm 以上の群で認められた。

—雌—

腎臓の実重量の高値が 20000 ppm 以上の群で、体重比の高値が 40000 ppm 群で認められた。また、脳の体重比の低値が 10000 ppm 以上の群でみられた。その他、副腎の体重比の低値が 10000 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-10-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変及びそれらの発生数を APPENDIX M 1, 2 に示した。

—雌雄—

すべての投与群で被験物質投与による影響は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

2-メチル-1-プロパノールのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrIjラットを用いた経口投与（混水）による2年間（104週間）の試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するための予備試験として本試験（13週間試験）を実施した。

本試験は、被験物質投与群5群と対照群1群の計6群の構成で、雌雄各群とも10匹とし、合計120匹を用いた。被験物質の投与は、2-メチル-1-プロパ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2500、5000、10000、20000及び40000 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、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。

IV-1 用量-反応関係

2-メチル-1-プロパノール投与の結果、雌雄各群とも動物の死亡は認められなかった。

一般状態の観察では、雄では被験物質投与による影響は認められず、雌でも尿による外陰部周囲の汚染が、40000 ppm群の2匹に認められたのみであった。

体重は、雌雄ともすべての投与群で対照群とほぼ同様の推移を示した。

摂餌量は、雄の40000 ppm群で低値がみられ、20000 ppm群でも投与期間の多くの週で低値であった。10000 ppm群と5000 ppm群でも投与期間前半に低値が散見された。雌は40000 ppm群で低値がみられ、20000 ppm群では投与前半に、10000 ppm群で投与1週目に低値であった。

摂水量は、雌雄とも10000 ppm以上の群で低値がみられた。

血液系への影響として、血小板数の減少が雌の40000 ppm群で認められた。

血液生化学的検査では、雄の40000 ppm群に総蛋白、アルブミン、ナトリウム、クロール及びカルシウムの僅かな減少がみられ、総蛋白の減少は10000 ppm群まで認められた。雌でも40000 ppm群に総蛋白、アルブミン、ナトリウム及びカルシウムの僅かな減少がみられ、総蛋白とアルブミンの減少は20000 ppm群まで認められた。

尿検査では、雌に蛋白の陽性度の増加が40000 ppm群で認められた。

臓器重量では、腎臓の実重量の高値が、雌の20000 ppm以上の群でみられ、体重比の高値が雄の10000 ppm以上の群と雌の40000 ppm群で認められた。

剖検観察と病理組織学的検査では、被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

IV-2 無影響量 (NOEL)

2-メチル-1-プロパノールの13週間混水投与による影響で最も低い用量まで認められた変化は、雄の血漿中総蛋白の減少と腎体重比の高値であり、これらの変化は10000 ppm 群まで認められた。従って、本試験における無影響量 (NOEL) は、雄の血漿中総蛋白と腎体重比への影響をエンドポイントとして5000 ppm (雄:0.260~0.536 g/kg body weight per day、平均:0.352 g/kg body weight per day) であると考えた。

IV-3 がん原性試験の濃度決定

13週間試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下の通り決定した。

本試験では、最高濃度である40000 ppm 群でも、雌雄とも摂餌量と摂水量の低値がみられたが、死亡や体重増加の抑制は認められなかった。また、雄に腎臓体重比の高値、雌に腎臓の実重量と体重比の高値や尿蛋白の陽性度の増加等の変化がみられたが、剖検観察や病理組織学的検査では変化を認めなかった。従って、本被験物質は高濃度の投与でも雌雄とも明らかな毒性兆候を示さず、低毒性の物質であると考えた。

OECD 化学品テストガイドライン「408 げっ歯類における反復経口投与毒性試験」(文献8)では、低毒性の物質における限界試験の用量は1000 mg/kg とされており、これを著しく超える用量でのがん原性試験は合理的でないと考えられる。13週間試験での1日当たりの被験物質摂取量は、40000 ppm 群では雄1.688~3.531 g/kg、雌2.178~4.018 g/kg であり、この用量を著しく超えていた。しかし、20000 ppm 群では雄0.882~1.861 g/kg、雌1.185~2.053 g/kg であり、2年間の試験の場合、13週以降の体重増加にともない、この用量を下回ると考えられる。従って、2年間の投与期間を通して、雌雄とも1000 mg/kg あるいはこれをやや超える用量を摂取させることができる濃度は40000 ppm と20000 ppm の間の30000 ppm と推定した。従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも30000 ppm を最高濃度とし、以下10000及び3300 ppm (公比3) とした。

IV-4 他文献との比較

日本バイオアッセイ研究センターで、本試験に先立ち2-メチル-1-プロパノールのラットを用いた2週間毒性試験(混水試験)を、雌雄とも2500、5000、10000、20000及び40000 ppm の5段階の投与濃度で実施した。その結果、最も鋭敏なエンドポイントは、雄では血漿中総蛋白の減少、雌では腎臓重量(体重比)の高値であった。これらをエンドポイントとして無影響量(NOEL)は雌雄とも5000 ppm (雄:0.548 g/kg body weight per day、雌:0.623 g/kg body weight per day) であると考えた(文献6)。投与期間を13週間で実施した本試験でも、NOELは、雄の血漿中総蛋白と腎臓重量(体重比)をエンドポイント

として 5000 ppm (0.352 g/kg body weight per day) であると考えられ、投与期間の延長でより低濃度まで影響がみられることはなかった。

本試験で求めた NOEL は Schilling ら (文献 9) の結果と異なった。すなわち、彼等は、雌雄 Wistar ラットに 90 日間、2-メチル-1-プロパノールを 1000、4000 及び 16000 ppm の濃度で飲水投与した。その結果、血液、臨床化学的検査等すべての検査項目に被験物質投与に関する変化 (毒性的兆候) は認められなかった。従って、無毒性量 (NOAEL) を 16000 ppm (約 1450 mg/kg body weight per day) 以上と推定した。また、彼等は、16000 ppm よりも高い濃度の飲水投与はラットにとって palatability (飲水受容性) への影響があることを指摘した。本試験においても、飲水投与による被験物質摂取量は 10000 ppm 以上の投与群で設定用量比 (公比 2) よりも低い値を示しており、Schilling らの報告 (文献 9) と一致している。

V 文献

1. 化学工業日報社. 2004. 14504 の化学商品. 東京 : 化学工業日報社, 556.
2. (社)有機合成化学協会 編. 1997. 有機化合物辞典. 東京 : 講談社, 1031.
3. International Programme on Chemical Safety. 1987. Butanols: Four Isomers. Environmental Health Criteria 65. Geneva : World Health Organization.
4. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.
5. 和光純薬工業(株). 2004. 2-メチル-1-プロパノール, 赤外吸収スペクトル.
6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2005. 2-メチル-1-プロパ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. 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. OECD. 1998. OECD Guideline for Testing of Chemicals 408: "Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents", Paris : Organisation for Economic Co-operation and Development.
9. Schilling K, Kayser M, Deckardt K, Küttler K, Klimisch H-J. 1997. Subchronic toxicity studies of 3-Methyl-1-butanol and 2-Methyl-1-propanol in rats. Hum Exp Toxicol 16: 722-726.

IV 考察及びまとめ

2-メチル-1-プロパノールのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrIjラットを用いた経口投与（混水）による2年間（104週間）の試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するための予備試験として本試験（13週間試験）を実施した。

本試験は、被験物質投与群5群と対照群1群の計6群の構成で、雌雄各群とも10匹とし、合計120匹を用いた。被験物質の投与は、2-メチル-1-プロパ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2500、5000、10000、20000及び40000 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、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。

IV-1 用量-反応関係

2-メチル-1-プロパノール投与の結果、雌雄各群とも動物の死亡は認められなかった。

一般状態の観察では、雄では被験物質投与による影響は認められず、雌でも尿による外陰部周囲の汚染が、40000 ppm群の2匹に認められたのみであった。

体重は、雌雄ともすべての投与群で対照群とほぼ同様の推移を示した。

摂餌量は、雄の40000 ppm群で低値がみられ、20000 ppm群でも投与期間の多くの週で低値であった。10000 ppm群と5000 ppm群でも投与期間前半に低値が散見された。雌は40000 ppm群で低値がみられ、20000 ppm群では投与前半に、10000 ppm群で投与1週目に低値であった。

摂水量は、雌雄とも10000 ppm以上の群で低値がみられた。

血液系への影響として、血小板数の減少が雌の40000 ppm群で認められた。

血液生化学的検査では、雄の40000 ppm群に総蛋白、アルブミン、ナトリウム、クロール及びカルシウムの僅かな減少がみられ、総蛋白の減少は10000 ppm群まで認められた。雌でも40000 ppm群に総蛋白、アルブミン、ナトリウム及びカルシウムの僅かな減少がみられ、総蛋白とアルブミンの減少は20000 ppm群まで認められた。

尿検査では、雌に蛋白の陽性度の増加が40000 ppm群で認められた。

臓器重量では、腎臓の実重量の高値が、雌の20000 ppm以上の群でみられ、体重比の高値が雄の10000 ppm以上の群と雌の40000 ppm群で認められた。

剖検観察と病理組織学的検査では、被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

IV-2 無影響量 (NOEL)

2-メチル-1-プロパノールの13週間混水投与による影響で最も低い用量まで認められた変化は、雄の血漿中総蛋白の減少と腎体重比の高値であり、これらの変化は10000 ppm 群まで認められた。従って、本試験における無影響量 (NOEL) は、雄の血漿中総蛋白と腎体重比への影響をエンドポイントとして5000 ppm (雄:0.260~0.536 g/kg body weight per day、平均:0.352 g/kg body weight per day) であると考えた。

IV-3 がん原性試験の濃度決定

13週間試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下の通り決定した。

本試験では、最高濃度である40000 ppm 群でも、雌雄とも摂餌量と摂水量の低値がみられたが、死亡や体重増加の抑制は認められなかった。また、雄に腎臓体重比の高値、雌に腎臓の実重量と体重比の高値や尿蛋白の陽性度の増加等の変化がみられたが、剖検観察や病理組織学的検査では変化を認めなかった。従って、本被験物質は高濃度の投与でも雌雄とも明らかな毒性兆候を示さず、低毒性の物質であると考えた。

OECD 化学品テストガイドライン「408 げっ歯類における反復経口投与毒性試験」(文献8)では、低毒性の物質における限界試験の用量は1000 mg/kg とされており、これを著しく超える用量でのがん原性試験は合理的でないと考えられる。13週間試験での1日当たりの被験物質摂取量は、40000 ppm 群では雄1.688~3.531 g/kg、雌2.178~4.018 g/kg であり、この用量を著しく超えていた。しかし、20000 ppm 群では雄0.882~1.861 g/kg、雌1.185~2.053 g/kg であり、2年間の試験の場合、13週以降の体重増加にともない、この用量を下回ると考えられる。従って、2年間の投与期間を通して、雌雄とも1000 mg/kg あるいはこれをやや超える用量を摂取させることができる濃度は40000 ppm と20000 ppm の間の30000 ppm と推定した。従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも30000 ppm を最高濃度とし、以下10000及び3300 ppm (公比3) とした。

IV-4 他文献との比較

日本バイオアッセイ研究センターで、本試験に先立ち2-メチル-1-プロパノールのラットを用いた2週間毒性試験(混水試験)を、雌雄とも2500、5000、10000、20000及び40000 ppm の5段階の投与濃度で実施した。その結果、最も鋭敏なエンドポイントは、雄では血漿中総蛋白の減少、雌では腎臓重量(体重比)の高値であった。これらをエンドポイントとして無影響量(NOEL)は雌雄とも5000 ppm (雄:0.548 g/kg body weight per day、雌:0.623 g/kg body weight per day) であると考えた(文献6)。投与期間を13週間で実施した本試験でも、NOELは、雄の血漿中総蛋白と腎臓重量(体重比)をエンドポイント

として 5000 ppm (0.352 g/kg body weight per day) であると考えられ、投与期間の延長でより低濃度まで影響がみられることはなかった。

本試験で求めた NOEL は Schilling ら (文献 9) の結果と異なった。すなわち、彼等は、雌雄 Wistar ラットに 90 日間、2-メチル-1-プロパノールを 1000、4000 及び 16000 ppm の濃度で飲水投与した。その結果、血液、臨床化学的検査等すべての検査項目に被験物質投与に関する変化 (毒性的兆候) は認められなかった。従って、無毒性量 (NOAEL) を 16000 ppm (約 1450 mg/kg body weight per day) 以上と推定した。また、彼等は、16000 ppm よりも高い濃度の飲水投与はラットにとって palatability (飲水受容性) への影響があることを指摘した。本試験においても、飲水投与による被験物質摂取量は 10000 ppm 以上の投与群で設定用量比 (公比 2) よりも低い値を示しており、Schilling らの報告 (文献 9) と一致している。

V 文献

1. 化学工業日報社. 2004. 14504 の化学商品. 東京 : 化学工業日報社, 556.
2. (社)有機合成化学協会 編. 1997. 有機化合物辞典. 東京 : 講談社, 1031.
3. International Programme on Chemical Safety. 1987. Butanols: Four Isomers. Environmental Health Criteria 65. Geneva : World Health Organization.
4. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.
5. 和光純薬工業(株). 2004. 2-メチル-1-プロパノール, 赤外吸収スペクトル.
6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2005. 2-メチル-1-プロパ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. 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. OECD. 1998. OECD Guideline for Testing of Chemicals 408: "Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents", Paris : Organisation for Economic Co-operation and Development.
9. Schilling K, Kayser M, Deckardt K, Küttler K, Klimisch H-J. 1997. Subchronic toxicity studies of 3-Methyl-1-butanol and 2-Methyl-1-propanol in rats. Hum Exp Toxicol 16: 722-726.