

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート
のラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0743

CAS No. 111-15-9

2011年3月11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

目次

標題	i
試験目的	i
試験法	i
GLP 対応	i
動物福祉	i
試験委託者	i
試験施設及び運営管理者	ii
試験日程	ii
試験関係者一覧	ii
試資料の保管	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	iii
陳述書	iv
信頼性保証証明書	v
本文	vi
TABLES	A~L	2
FIGURES	1~5	
APPENDICES	1-1~3	

標題

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験

試験目的

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートの吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する予備試験として、エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートをラットに 13 週間全身暴露し、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 413 (亜慢性吸入毒性：90 日試験 1981 年 5 月 12 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。

動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本方針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

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
東京都千代田区霞が関 1-2-2

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート
のラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0743

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	2
- 1 被験物質の性状等	2
- 1 - 1 名称等	2
- 1 - 2 構造式及び分子量	2
- 1 - 3 物理化学的性状等	2
- 2 被験物質の使用ロット等	2
- 3 被験物質の特性・同一性、安定性	3
- 3 - 1 特性・同一性	3
- 3 - 2 安定性	3
- 4 試験動物	3
試験方法	4
- 1 投与	4
- 1 - 1 投与経路	4
- 1 - 2 被験物質の投与方法	4
- 1 - 3 投与期間	4
- 1 - 4 投与濃度	4
- 1 - 5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由	4
- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整	5
- 1 - 7 被験物質濃度の測定	5
- 2 動物管理	5
- 2 - 1 各群の使用動物数	5
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法	6
- 2 - 3 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

- 3	観察・検査項目及び方法	7
- 3 - 1	動物の生死及び一般状態の観察	7
- 3 - 2	体重測定	7
- 3 - 3	摂餌量測定	7
- 3 - 4	血液学的検査	7
- 3 - 5	血液生化学的検査	8
- 3 - 6	尿検査	8
- 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	9
- 4	数値処理と統計方法	9
- 4 - 1	数値の取り扱いと表示	9
- 4 - 2	統計処理	9
	試験成績	11
- 1	生死状況	11
- 2	一般状態	11
- 3	体重	11
- 4	摂餌量	11
- 5	血液学的検査	12
- 6	血液生化学的検査	12
- 7	尿検査	12
- 8	病理学的検査	13
- 8 - 1	剖検	13
- 8 - 2	臓器重量	13
- 8 - 3	病理組織学的検査	13
	考察及びまとめ	15
- 1	用量 - 反応関係	15
- 2	無毒性量 (NOAEL)	16
- 3	がん原性試験の濃度決定	16

文献 17

予見することのできなかつ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
画書に従わなかつたこと 18

要約

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのがん原性を検索する目的で F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた吸入による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、各群雌雄とも10匹とし、合計120匹を用いた。被験物質の投与は、エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートを1日6時間、1週5日間、13週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも0(対照群)、25、50、100、200及び400 ppm(v/v)(公比2)とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートの暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかったが、体重増加の抑制が雄の200 ppm以上の群と雌の100 ppm以上の群で認められた。

血液学的検査では、雄でMCHCの低値及び血小板数、網赤血球比の高値が400 ppm群に、雌でMCHとMCHCの低値が200 ppm以上の群に、ヘモグロビン濃度の低値が400 ppm群にみられた。

血液生化学的検査では、雄で総コレステロールの低値が200 ppm以上の群で、A/G比の高値及びトリグリセライド、ALTの低値が400 ppm群でみられた。雌では、総蛋白、総コレステロールの低値が200 ppm以上の群で、A/G比、クロールの高値及びリン脂質、ALTの低値が400 ppm群でみられた。

尿検査、剖検及び臓器重量の測定では、雌雄とも暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、雌雄とも200 ppm以上の群で鼻腔の嗅上皮に変化が認められた。すなわち、400 ppm群では雌雄で嗅上皮に萎縮と壊死、雄に少数例ながら扁平上皮化生がみられた。200 ppm群では雌雄とも嗅上皮に萎縮がみられた。100 ppm以下の群では、いずれの臓器、器官にも病理組織学的変化はみられなかった。

以上の結果より、本試験におけるエチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのラットに対する13週間吸入暴露による無毒性量(NOAEL)は、体重への影響をエンドポイントとして50 ppmであると考えられた。また、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも200 ppmを最高濃度とし、以下、50、12 ppm(公比4、少数点以下切り捨て)と決定した。

試験材料

- 1 被験物質の性状等

- 1 - 1 名称等

名 称： エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート
(Ethylene glycol monoethyl ether acetate)

IUPAC 名： 酢酸 2-エトキシエチル (2-Ethoxyethyl acetate)

CAS No. : 111-15-9

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式： $\text{CH}_3\text{-COO-CH}_2\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_3$

分 子 量： 132.16

- 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 無色澄明の液体

比 重： 0.975 (20)

沸 点： 156.4

蒸 気 圧： 1.2 torr (20)

溶 解 性： 水に溶解 (23g/100g、20)、芳香族炭化水素と混和

保 管 条 件： 室温で暗所に保管

- 2 被験物質の使用ロット等

製 造 元： 和光純薬工業(株)

規 格： 和光特級

純 度： 99.9%(和光純薬工業(株)検査成績データ)

使用ロット番号： KWJ3548

- 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、そのマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）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、被験物質はエチレングリコールモノエチルエーテルアセテート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、使用開始前及び使用終了後にそのガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（アジレントテクノロジー 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 1-2 に示した。

- 4 試験動物

動物は、エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート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 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、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 60 匹（群構成時体重範囲、雄：117～134g、雌：92～104g）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、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

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

- 1 - 2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

- 1 - 3 投与期間

投与期間は、1日6時間、原則として1週5日の暴露で13週間とし、計60回の暴露を行った。

- 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、25、50、100、200及び400 ppm (v/v) の5段階(公比2)に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

- 1 - 5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間はがん原性試験の投与濃度を決定するため、週5日の暴露で13週間とした。

投与濃度は、エチレングリコールモノエチルエステルアセテートをラットに吸入暴露した2週間毒性試験(試験番号0735)の結果(文献4)をもとに決定した。2週間試験は、雌雄ともに0(対照群)、50、100、200、400及び800 ppm (v/v) の濃度で実施した。その結果、動物の死亡はみられず、一般状態の変化も認められなかった。体重増加の抑制は雌雄ともに400 ppm以上の群でみられた(最終体重、400 ppm群の雄:対照群の93%、雌:同93%、800 ppm群の雄:同88%、雌:同89%)。800 ppm群で雌雄ともに観察された体重増加の抑制は、13週間試験ではさらに増強される可能性が高いと推測され、800 ppmは13週間試験の最高投与濃度としては高いと判断した。400 ppm群では、最終体重は対照群

と比較して 10% 以内の抑制であることから、400 ppm を最高投与濃度とした。

以上のことから、本試験の投与濃度は雌雄ともに 400、200、100、50 及び 25 ppm (公比 2) で実施することとした。

- 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示した。被験物質供給装置 (柴田科学(株)特注) の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。この被験物質の蒸気を清浄空気 (搬送空気) と混合しながら、循環式恒温槽で一定温度に冷却、再加温し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

- 1 - 7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ (株) 島津製作所 GC-14A) により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差 ((平均値 - 設定濃度) / 設定濃度 × 100) が 0.4% 以内、変動係数 (標準偏差 / 平均値 × 100) が 2.0% 以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

- 2 動物管理

- 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)
25 ppm 群	10 匹 (1101 ~ 1110)	10 匹 (2101 ~ 2110)
50 ppm 群	10 匹 (1201 ~ 1210)	10 匹 (2201 ~ 2210)
100 ppm 群	10 匹 (1301 ~ 1310)	10 匹 (2301 ~ 2310)
200 ppm 群	10 匹 (1401 ~ 1410)	10 匹 (2401 ~ 2410)
400 ppm 群	10 匹 (1501 ~ 1510)	10 匹 (2501 ~ 2510)

- 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 5）。

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（604 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

検疫期間中は検疫室（606 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（604 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値 ± 標準偏差）を < > 内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、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 : 検疫室 ; 23 ± 2 < 606 室 ; 22.4 ± 0.0 >
吸入試験室 ; 21 ± 2 < 604 室 ; 20.3 ± 0.1 >
吸入チャンバー内 ; 20 ~ 24

湿 度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 606 室 ; $54 \pm 1\%$ >
吸入試験室 ; $55 \pm 15\%$ < 604 室 ; $58 \pm 1\%$ >
吸入チャンバー内 ; 30 ~ 70% (ただし、投与群の湿度は暴露中及び暴露終了後 1 時間まで測定しなかった。)

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 : 検疫室・吸入試験室 ; 15 ~ 17 回 / 時
吸入チャンバー内 ; 12 ± 1 回 / 時

圧 力 : 吸入チャンバー内 ; 0 ~ - 20 × 10Pa

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 :

検疫期間 ; ステンレス製 2 連網ケージ (170(W) × 294(D) × 176(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (125(W) × 216(D) × 176(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (150(W) × 216(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 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中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株) から分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。また、飼料中の夾雑物は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、全飼育期間を通して、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。

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

体重測定は週 1 回行った。また、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。

- 3 - 4 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 3 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(APTT)*、白血球数、白血球分類

- 3 - 5 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 3 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

- 3 - 6 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(マルティスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス)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

- 3 - 7 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、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。ただし、精巣及び精巣上体はブアン溶液で固定後、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

なお、鼻腔については切歯の後端(レベル1)、切歯乳頭(レベル2)、第一臼歯の前端(レベル3)の3ヶ所(文献6)に加えて鼻前庭部の1ヶ所で切り出し(横断)、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、鼠径等)、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、精嚢、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

- 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。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第3位まで測定し、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。

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。

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 3 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。

- 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、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。

試験成績

- 1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

動物の死亡はみられなかった。

- 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

- 3 体重

体重の推移を TABLE D 1 ~ 4 及び FIGURE 2, 3 に示した。

- 雄 -

200 ppm 以上の群で投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、25 ppm 群：96%、50 ppm 群：100%、100 ppm 群：96%、200 ppm 群：92%、400 ppm 群：87%であった。

- 雌 -

100 ppm 以上の群で投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、25 ppm 群：96%、50 ppm 群：96%、100 ppm 群：92%、200 ppm 群：90%、400 ppm 群：83%であった。

- 4 摂餌量

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

- 雄 -

400 ppm 群は投与期間を通して、200 ppm 群は投与期間後半、それぞれ摂餌量がやや低値であった。

13 週間の平均摂餌量は、対照群：17.1 g、25 ppm 群：16.4 g、50 ppm 群：17.2 g、100 ppm 群：16.5 g、200 ppm 群：16.2 g、400 ppm 群：15.5 g であった。

- 雌 -

400 ppm 群は投与期間を通して、200 ppm 群と 100 ppm 群は投与期間後半、それぞれ摂

餌量がやや低値であった。

13 週間の平均摂餌量は、対照群：11.7 g、25 ppm 群：11.1 g、50 ppm 群：11.2 g、100 ppm 群：10.8 g、200 ppm 群：10.9 g、400 ppm 群：10.3 g であった。

- 5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

- 雄 -

MCHC の低値及び血小板数、網赤血球比の高値が 400 ppm 群でみられた。

その他、活性化部分トロンボプラスチン時間の変化が 400 ppm 群でみられたが、時間の短縮であり、毒性学的意義は不明であった。また、50 ppm 群で網赤血球比に有意な差がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

MCH と MCHC の低値が 200 ppm 以上の群で、ヘモグロビン濃度の低値が 400 ppm 群でみられた。

- 6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

- 雄 -

総コレステロールの低値が 200 ppm 以上の群で、A/G 比の高値及びトリグリセライド、ALT の低値が 400 ppm 群でみられた。

その他、トリグリセライドの低値が 25 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。

- 雌 -

総蛋白、総コレステロールの低値が 200 ppm 以上の群で、A/G 比、クロールの高値及びリン脂質、ALT の低値が 400 ppm 群でみられた。

- 7 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

- 雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、pH の低下が 50 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。

- 雌 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 8 病理学的検査

- 8 - 1 剖検

剖検所見を TABLE I 1, 2 に示した。

- 雌雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 8 - 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 J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。

- 雄 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、200 ppm 以上の群では各臓器で実重量の低値や体重比の高値がみられたが、これらの変化は 200 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。また、25 ppm 群と 100 ppm 群の肺の実重量も有意な低値となったが、それぞれ体重比は対照群と同様な値であり、これらの変化に生物学的意義はないものと考えた。

- 雌 -

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、100 ppm 以上の群では各臓器で実重量の低値や体重比の高値がみられたが、これらの変化は 100 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

- 8 - 3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE L 1, 2 に示した。

- 雄 -

鼻腔の嗅上皮に変化がみられた。

[400 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に萎縮（軽度）が 6 匹、壊死（軽度）が 2 匹、扁平上皮化生（軽度）が 1 匹にみられた。

嗅上皮の萎縮は、嗅上皮を構成する嗅細胞の数が減少したために嗅上皮の高さが減少した所見であり、レベル 2 の背側に分布する嗅上皮に認められた。嗅上皮の扁平上皮化生は傷害部位の嗅上皮が扁平上皮へ置きかえられた所見であり、レベル 2 の背側に分布する嗅上皮に認められた。

[200 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に萎縮（軽度）が 4 匹にみられた。この変化はレベル 2 の背側に分布する嗅上皮にみられた。

[100、50、25 ppm 群]

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 雌 -

鼻腔の嗅上皮に変化がみられた。

[400 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に萎縮（軽度）が 6 匹、壊死（軽度）が 1 匹にみられた。嗅上皮の萎縮は主としてレベル 2 の背側に分布する嗅上皮にみられ、一部の動物ではレベル 3 の背側や篩骨甲介に分布する嗅上皮にもみられた。嗅上皮の壊死は、レベル 3 の鼻中隔の背側に近い部分に分布する嗅上皮にみられた。

[200 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮の萎縮（軽度）が 2 匹にみられた。この変化は主としてレベル 2 の背側に分布する嗅上皮にみられた。

[100、50、25 ppm 群]

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

考察及びまとめ

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrIj ラットを用いた吸入による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、投与群5群、対照群1群の計6群(各群雌雄各10匹)を設け、エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートの投与濃度は、0(対照群)、25、50、100、200及び400 ppmとした。投与期間は1日6時間、1週5日間の投与(全身暴露による経気道投与)で13週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定、尿検査を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

- 1 用量 - 反応関係

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートの暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかったが、体重増加の抑制が雄の200 ppm以上の群と雌の100 ppm以上の群で認められた(最終体重はそれぞれの対照群に対し、雄:200 ppm群:92%、400 ppm群:87%、雌:100 ppm群:92%、200 ppm群:90%、400 ppm群:83%)。摂餌量は、雄では400 ppm群は投与期間を通して、200 ppm群は投与期間後半、雌では400 ppm群は投与期間を通して、200 ppm群と100 ppm群は投与期間後半、それぞれやや低値であった。

血液学的検査では、雄でMCHCの低値及び血小板数、網赤血球比の高値が400 ppm群に、雌でMCHとMCHCの低値が200 ppm以上の群に、ヘモグロビン濃度の低値が400 ppm群にみられた。当センターで本試験の予備試験として実施されたラットを用いた2週間毒性試験(文献4)では、雌の800 ppm群で軽度の貧血がみられ、雄の800 ppm群でもヘモグロビン濃度の低値がみられた。本試験の変化もそれぞれの群における貧血の傾向を示唆するものと考えられる。

血液生化学的検査では、雄で総コレステロールの低値が200 ppm以上の群で、A/G比の高値及びトリグリセライド、ALTの低値が400 ppm群でみられた。雌では、総蛋白、総コレステロールの低値が200 ppm以上の群で、A/G比、クロールの高値及びリン脂質、ALTの低値が400 ppm群でみられた。

尿検査、剖検及び臓器重量の測定では、雌雄ともエチレングリコールモノエチルエーテルアセテートの影響と思われる変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、雌雄とも200 ppm以上の群で鼻腔の嗅上皮に変化が認められた。すなわち、400 ppm群では雌雄で嗅上皮に萎縮と壊死、雄に少数例ながら扁平上皮化生がみられた。200 ppm群では雌雄とも嗅上皮に萎縮がみられた。100 ppm以下の群では、いずれ

の臓器、器官にも病理組織学的変化はみられなかった。

ラットを用いた2週間毒性試験(文献4)では、800 ppm 群の雄で精細管萎縮が認められ、また、エチレングリコールアルキルエーテル類の強制経口投与試験ではマウス、ハムスター及びモルモットに精巣毒性が報告されている(文献7)。しかし、最高濃度を400 ppmとした本試験では、ラットに精巣への影響は認められなかった。

- 2 無毒性量 (NOAEL)

エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのラットへの13週間吸入暴露により、投与群に体重増加の抑制及び血液学的検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査に変化がみられた。その中で、雌では100 ppm 群まで体重増加の抑制(100 ppm 群の最終体重は対照群に対し92%)がみられた。50 ppm 以下の群では、暴露に関連した明らかな毒性影響は認められなかった。従って、本試験におけるエチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのラットに対する13週間吸入暴露による無毒性量(NOAEL)は、体重への影響をエンドポイントとして50 ppm であると考えられた。

- 3 がん原性試験の濃度決定

本試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では動物の死亡はみられなかったが、400 ppm 群では雌雄とも体重増加の抑制が認められ、病理組織学的検査では鼻腔に変化(嗅上皮の萎縮、壊死、扁平上皮化生)がみられた。また、血液学的検査及び血液生化学的検査に変化がみられた。特に最終体重は対照群に対し、雄で87%、雌で83%であることから、400 ppm はがん原性試験における最大耐量を超えると考えた。200 ppm 群でも雌雄に体重増加の抑制、病理組織学的検査で鼻腔の変化が認められたが、最終体重は対照群の90%以上(雄:対照群の92%、雌:同90%)であり、鼻腔の変化は嗅上皮の萎縮のみであった。また、血液学的検査及び血液生化学的検査に変化がみられたが、いずれも軽度な変化であった。従って、がん原性試験の最高濃度は200 ppm が妥当と考えられた。また、本試験では、100 ppm 以下の群には鼻腔に病理組織学的変化がみられなかったが、投与期間が長期になった場合、低濃度でも鼻腔の変化が出現する可能性があることから、がん原性試験の最低濃度については、本試験の最低濃度の25 ppm より低い濃度が望ましいと考えられた。

以上のことから、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも200 ppm を最高濃度とし、以下、50、12 ppm(公比4、少数点以下切り捨て)と決定した。

文献

- 1) ACGIH. 2001. 2-Ethoxyethyl Acetate. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists. [CD-ROM 2007].
- 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). 2009. エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート, 赤外吸収スペクトル.
- 4) 日本バイオアッセイ研究センター. 2009. エチレングリコールモノエチルエーテルアセテートのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書. 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
- 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) Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. *Exp Toxic Pathol* 49: 97-104.
- 7) Nagano K, Nakayama E, Oobayashi H, Nishizawa T, Okuda H, Yamazaki K. 1984. Experimental Studies on Toxicity of Ethylene Glycol Alkyl Ethers in Japan. *Environ Health Perspect.* 57: 75-84.

予見することのできなかつ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つたこと

予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態はなかつた。

また、試験計画書では被験物質について、当初入手予定していたロット番号「PEJ4938」を記載していたが、実際に入手したものはロット番号「KWJ3548」に変更となった。試験には、ロット番号「KWJ3548」の被験物質を使用し、被験物質については特性・同一性、安定性の分析を行い、本報告書に記載した。分析結果から本試験への影響は全くないと考えた。