食薬セ研第１２－１８８８号

２００２年　７月　８日

2-(1-メチルエトキシ)エタノールのラットを用いる急性経口投与毒性試験

厚生労働省医薬局審査管理課　委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目　　次】

要　約 …… 1
緒　言 …… 2
方　法 …… 3
1．被験物質 …… 3
2．使用動物および飼育方法 …… 3
3．投与検体の調製 …… 4
4．投与量の設定および投与方法 …… 4
5．観察および検査 …… 5
1）一般状態の観察 …… 5
2）体重測定 …… 5
3）病理学検査 …… 5
6．データ解析法 …… 6
結果および考察 …… 7
1．死亡動物 …… 7
2．一般状態 …… 7
3．体重推移 …… 7
4．病理学検査 …… 7
文　献 …… 8

Tables 1～5

【要　　約】

2-(1-メチルエトキシ）エタノール（以下 MEE と略記）の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS, SPF] ラットを用いる急性経口投与毒性試験を実施した。

1群5匹からなる5週齢の雌雄ラットに、MEE を 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与日（観察第1日）から14日間観察を行い、観察第15日に屠殺して剖検した。また、媒体対照群として、雌雄各5匹に日局注射用水を5 mL/kg の容量で投与し、同様に観察した。

その結果、MEE 投与群では、投与後3あるいは4時間から投与翌日にかけて赤色尿の排泄が雌雄全例で観察され、投与翌日に排便量の減少が散見された。また、投与翌日に対照群に比較して有意な体重減少が MEE 投与群の雌で認められ、同群の雄では投与翌日から観察第15日までの体重が対照群に比較して低い傾向を示した。剖検所見では、雌雄全例で肉眼的異常所見は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下における MEE の LD_{50} は、雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると判断された。

【緒　　言】

2-(1-メチルエトキシ）エタノール（別名 エチレングリコールイソプロピルエーテル）は、グリコールエーテル類の一種で、水にも有機溶媒にも溶けやすい物性から、インクやペンキ、レジン等の媒体や工業用の洗剤あるいは乳化剤等として広く用いられている。

OECD 既存化学物質安全性点検等に係る毒性調査の一環として、2-(1-メチルエトキシ)エタノールの安全性確認の資料を得るために、ラットを用いる急性経口投与毒性試験を実施したので、その結果を報告する。

本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン「[401] 急性経口毒性試験」（1987年2月24日採択）および「化学物質 GLP」（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号、平成12年3月1日改正、環保安第41号、生衛発第268号、平成12・02・14基局第1号）に準拠して実施した。

【方　　法】

1．被験物質

被験物質として用いた 2-(1-メチルエトキシ) エタノール（以下 MEE と略記）の性状は下記のとおりである。

化学名	2-(1-メチルエトキシ) エタノール	
別名	エチレングリコールイソプロピルエーテル	
英名	Ethanol, 2-(1-methylethoxy)-	
CAS No.	109-59-1	
分子量	104.15	
物理化学的性質	性　状：	透明液体
	融　点：	-60℃
	沸　点：	142.5 ℃
	蒸気圧（25℃）：	0.347 kPa
	溶解性：	水 20℃で完全溶解
		アセトン 常温で完全溶解
構造式	$(CH_3)_2CHOCH_2CH_2OH$	

本試験には、　　より提供された MEE（ロット番号　　純度 99.5 wt %以上、不純物 水分 0.1 %以下）を用いた。被験物質は、受領後、使用時まで被験物質受領保管室において室温で保管した。試験終了後に返却した被験物質について、提供者が再度品質試験を実施した結果、試験期間中の安定性は確認された（Appendix A）。

2．使用動物および飼育方法

4 週齢の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS, SPF] 雌雄ラットを、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて 9 日間予備飼育した。予備飼育中、動物の一般状態に異常は認められなかった。試験には、雌雄各10匹を用い、検疫終了時の測定体重をもとに体重別層化無作為抽出法により 1 群 5 匹からなる 2 群に分けた。投与時の週齢は、雌雄ともに 5 週齢であった（注）。

全飼育期間を通じ、動物を金属製金網床ケージ（220w×270d×190h mm）に 1 匹ずつ収容し、許容温度21.0～25.0℃、許容湿度40.0～75.0%、換気回数約15回／時、照明12時間（7 時～19時点灯）に制御された飼育室で、固型飼料（CE-2、日本クレア株式会社）お

（注）動物入荷日：2001年 6 月18日
入荷時匹数：雄13匹、雌13匹
入荷時体重：雄 78.6～88.1 g（平均 82.0 g）、雌 63.7～70.6 g（平均 67.4 g）
投　与　日：2001年 6 月27日
投与時体重：雄 120.9～144.7 g（平均131.5 g）、雌 104.3～112.7 g（平均109.0 g）

よび水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させて飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温湿度の実測値は、それぞれ 23.5～24.5℃、59.0～71.0%であった。また、供給した飼料および水には試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

動物の個体識別は、各動物の尾にフェルトペンで雄から雌に一連の番号を付した。また、各飼育ケージには個体識別の補助として試験計画番号、性別、投与量および動物番号を記入した動物カードを掛けた。

3．投与検体の調製

MEE を、日局注射用水（製造番号 9912ST、光製薬株式会社）に溶解して 40 w/v %溶液を調製し、翌日の投与時まで冷暗所（冷蔵庫内）に保管した。

本試験に先立ち、被験物質の 0.05 および 40 w/v %溶液について、冷暗所下（冷蔵庫内）における調製後 8 日間の安定性を確認した（Appendix B）。また、投与検体中の被験物質の含量を測定し、規定範囲内にあることを確認した（Appendix C）。なお、本投与検体は溶液であることから、均一性試験は実施しなかった。

調製検体中の被験物質濃度の測定は、各調製検体を 1 mLずつ採取し、メタノールで一定量とした後、メタノールで適宜希釈し、ガスクロマトグラフ（GC）法により測定した。同時に作成する検量線を用いて濃度を求めた。GC 条件を以下に示す。

分析カラム：　PoraPLOT Q（内径 0.53 mm、長さ 10m、膜厚 20μm）
　　（ジーエルサイエンス㈱）
昇温条件：　120 ℃（2分間）→ 20 ℃/min → 220℃
キャリアガス：　ヘリウム、100 kPa
水　　素：　60 kPa
空　　気：　50 kPa
注入温度：　250 ℃
検出器温度：　250 ℃
試料注入量：　1 μL

4．投与量の設定および投与方法

本試験に先立ち、予備試験（試験計画番号 A-00-059）を実施した。予備試験では、MEE の 1000 および 2000 mg/kg 投与群を設定し、雌雄とも 1 群あたり 3 匹を用い、単回経口投与後 7 日間観察した。その結果、1000 および 2000 mg/kg 投与群で投与日のみに赤色尿が認められたが、体重は全例で順調な増加を示したことから、毒性の発現は一過性で、且つ比較的軽微なものと考えられた。従って、本試験において 2000 mg/kg を投与しても死亡等の重篤な毒性を示す可能性は極めて低いと推察し、本試験の投与量として、

雌雄とも限度試験の投与量である 2000 mg/kg を設定したほか、MEE 投与群と同容量の媒体を投与する対照群を設けた。

投与容量は体重 1 kg当たり 5 mLとし、動物を投与前日の16時より絶食させた後、投与直前に測定した体重をもとに投与液量を算出し、ラット用胃管を用いて強制的に単回経口投与した。投与は 9 時48分～10時01分に行い、給餌は投与後約 3 時間に行った。

各群の投与物質、投与量、濃度、投与容量および動物番号は次の通りである。

投与物質	投与用量 (mg/kg)	濃度 (w/v %)	投与容量 (mL/kg)	動物番号 雄	動物番号 雌
日局注射用水	0	0	5	1～5	11～15
MEE	2000	40	5	6～10	16～20

5．観察および検査

1) 一般状態の観察

全例について、投与日（観察第 1 日）は投与後約 1 時間にわたり継続的に観察し、その後は約 1 時間毎に投与後 6 時間まで観察した。観察第 2 日以降は、毎日 1 回観察した。

2) 体重測定

全例について、投与日の投与直前、観察第 2 、 4 、 8 、11および15日に測定した。

3) 病理学検査

剖検は、観察第15日に全例をペントバルビタール・ナトリウム麻酔下で放血屠殺して実施した。剖検時に、脳、下垂体、眼球、甲状腺、心臓、気管、肺、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、消化管、生殖器、乳腺、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、大腿骨骨髄、膵臓、顎下腺、舌、食道、大動脈、ハーダー腺および皮膚の肉眼的観察を行った。これらのうち、雌雄各群の最も動物番号が若い 1 例（動物番号　雄：1 および 6 、雌：11および16）の主要器官・組織（脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、消化管、膀胱、骨髄）を 0.1 Mリン酸緩衝10%ホルマリン溶液で固定した。なお、剖検所見に変化が認められなかったため、組織学検査は実施しなかった。

6．データ解析法

体重について、群ごとに平均値と標準偏差を求め、各群の分散が、F-検定により等分散の場合は Student の t 検定法、不等分散の場合は Aspin-Welch の t 検定法を用いて、対照群に対する MEE 投与群の差について検定した（有意水準：5％）。

【結果および考察】

1．死亡動物

雌雄ともに、死亡例はなかった。

2．一般状態（Table 1、2）

投与後3あるいは4時間から投与翌日にかけて赤色尿の排泄が MEE 投与群の雌雄全例で観察され、投与翌日に排便量の減少が同群の雌雄で散見された。その後、観察第3日以降、全例で一般状態の変化はみられなかった。本被験物質のラットにおける吸入毒性で、血尿および溶血性貧血が報告[1,2,3]されていることから、本試験でみられた赤色尿は被験物質投与による影響であると考えられた。

3．体重推移（Table 3、4）

投与翌日に対照群に比較して有意な体重減少が MEE 投与群の雌で認められたが、その後、同群の体重は順調に増加した。また、MEE 投与群の雄においても、投与翌日から観察第15日までの体重が対照群に比較して低い傾向がみられた。

4．病理学検査（Table 5）

観察第15日に実施した剖検では、雌雄全例の器官・組織に肉眼的異常所見は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下での MEE 投与との関連を示唆する変化として、一過性の赤色尿と軽度の体重増加抑制が認められた。MEE の LD_{50} は、雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると判断された。

【文　　献】

1) Arts, J.H.E., Reuzel, P.G.J., Woutersen, R.A., Kuper, C.F., Falke, H.E., Klimisch, H.J.: Repeated-dose (28-day) inhalation toxicity of isopropylethylene glycol ether in rats. Inhalation Toxicology 4: 43-55 (1992)

2) Doe, J.E.: Further studies on the toxicology of the glycol ethers with emphasis on rapid screening and hazard assessment. Environmental Health Perspectives 57: 199-206 (1984)

3) Werner, H.W., Nawrocki, C.Z., Mitchell, J.L., Miller, J.W., von Oettingen, W.F.: Effects of repeated exposures of rats to vapors of monoalkyl ethylene glycol ethers. Journal of Industrial Hygiene and Toxicology 25(8): 374-379 (1943)

Table 1 Clinical findings in male rats after single oral administration of MEE

Dose (mg/kg)	Animal No.	Clinical findings	Hours after administration						Days of observation								
			0～1	2	3	4	5	6	2 [a]	3	4	5	6	7	8	9	10～15
0 (Water for injection)	1	No abnormality															
	2	No abnormality															
	3	No abnormality															
	4	No abnormality															
	5	No abnormality															
2000	6	Reddish urine	−	−	−	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		Decreased fecal volume	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	7	Reddish urine	−	−	−	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	8	Reddish urine	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		Decreased fecal volume	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	9	Reddish urine	−	−	−	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	10	Reddish urine	−	−	−	+	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−

[a], the next day of administration

+, positive; −, negative

Table 2 Clinical findings in female rats after single oral administration of MEE

Dose (mg/kg)	Animal No.	Clinical findings	Hours after administration						Days of observation								
			0～1	2	3	4	5	6	2 [a]	3	4	5	6	7	8	9	10～15
0 (Water for injection)	11	No abnormality															
	12	No abnormality															
	13	No abnormality															
	14	No abnormality															
	15	No abnormality															
2000	16	Reddish urine	−	−	−	+	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	17	Reddish urine	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	18	Reddish urine	−	−	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	19	Reddish urine	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		Decreased fecal volume	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	20	Reddish urine	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−

[a], the next day of administration

+, positive; −, negative

Table 3 Body weight changes in male rats after single oral administration of MEE

Dose (mg/kg)	Animal No.	Days of observation 1 [a]	2	4	8	11	15
0 (Water for injection)	1	133.9[b]	154.4	171.0	209.3	238.7	277.0
	2	126.2	143.7	156.5	192.3	214.3	242.3
	3	135.3	158.1	170.7	208.3	229.6	263.6
	4	135.1	156.7	179.0	219.7	240.8	268.6
	5	129.6	151.4	166.9	203.4	221.6	251.7
	Mean	132.0	152.9	168.8	206.6	229.0	260.6
	±S.D.	4.0	5.7	8.2	10.0	11.2	13.7
2000	6	130.8	132.4	121.5	160.5	179.0	216.0
	7	144.7	156.4	178.6	210.0	233.6	265.8
	8	120.9	132.6	150.0	186.1	205.9	236.8
	9	129.9	144.3	165.6	198.2	219.4	255.9
	10	128.1	143.7	164.6	202.5	224.9	264.8
	Mean	130.9	141.9	156.1	191.5	212.6	247.9
	±S.D.	8.6	9.9	21.8	19.4	21.3	21.3

[a], the day of administration; [b], g

Table 4 Body weight changes in female rats after single oral administration of MEE

Dose (mg/kg)	Animal No.	Days of observation 1 [a]	2	4	8	11	15
0 (Water for injection)	11	109.0[b]	125.7	139.0	155.1	162.1	173.1
	12	110.1	128.6	137.8	155.8	161.0	175.0
	13	112.2	131.4	149.4	172.4	180.1	198.6
	14	104.3	121.4	138.1	160.1	160.6	169.5
	15	106.2	132.7	143.0	162.3	168.4	177.4
	Mean	108.4	128.0	141.5	161.1	166.4	178.7
	±S.D.	3.1	4.6	4.9	7.0	8.3	11.5
2000	16	112.7	125.0	143.1	164.8	177.3	191.3
	17	109.1	120.3	137.4	156.1	163.6	176.6
	18	107.0	121.9	139.0	161.0	167.5	184.7
	19	111.0	119.6	139.8	164.2	173.9	185.1
	20	108.8	120.2	140.7	170.5	183.4	199.0
	Mean	109.7	121.4 *	140.0	163.3	173.1	187.3
	±S.D.	2.2	2.2	2.1	5.3	7.8	8.4

[a], the day of administration; [b], g

*, $p<0.05$, significantly different from water for injection treatment group values

Table 5 Macroscopic findings in rats after single oral administration of MEE

Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	Findings
Male	0 (Water for injection)	1	No abnormality
		2	No abnormality
		3	No abnormality
		4	No abnormality
		5	No abnormality
	2000	6	No abnormality
		7	No abnormality
		8	No abnormality
		9	No abnormality
		10	No abnormality
Female	0 (Water for injection)	11	No abnormality
		12	No abnormality
		13	No abnormality
		14	No abnormality
		15	No abnormality
	2000	16	No abnormality
		17	No abnormality
		18	No abnormality
		19	No abnormality
		20	No abnormality