トリプロピレングリコール（CAS No.24800440）のラットにおける
単回経口投与毒性試験

最終報告書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

NBR－1

目　　次

頁

要　約 …… 1

緒　言 …… 2

試験材料および試験方法

1．被験物質および媒体 …… 2

2．投与検体 …… 2

3．使用動物および飼育条件 …… 3

4．投与経路、投与方法、群構成および投与量 …… 4

5．観察および検査項目 …… 4

6．統計学的方法 …… 5

試験成績および考察

1．一般状態および死亡状況 …… 6

2．体重推移 …… 6

3．剖検所見 …… 6

資　料 …… 7

Table (1～5) …… 9

Fig.(1～2) …… 14

Table、Fig.　　の目次

頁

Table 1 General sign of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 9
Table 2 General sign of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 10
Table 3 Mortality and LD_{50} value of rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 11
Table 4 Body weight of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 12
Table 5 Body weight of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 13

Fig. 1 Body weight of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 14
Fig. 2 Body weight of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration ····· 15

要　　約

トリプロピレングリコール（CAS No.24800440）を雌雄ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は毒性試験OECDガイドラインにより限界用量とされている2000mg/kgを高用量とし、以下1000および500mg/kgとした。対照として、媒体の蒸留水投与群を設けた。

1．一般状態：死亡例はなく、異常症状は観察されなかった。

2．体重推移：各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示した。

3．剖検所見：いずれの例とも著変はみられなかった。

以上により、トリプロピレングリコールのLD_{50}値は雌雄とも2000mg/kg以上と考えられた。

緒　　言

トリプロピレングリコール（CAS No.24800440）が人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD毒性試験ガイドライン[1]に従ってトリプロピレングリコールを雌雄ラットに１回経口投与し、その毒性について検討した。

試験材料および試験方法

１．被験物質および媒体

被験物質であるトリプロピレングリコール（CAS No.24800440）は、分子式：$C_9H_{20}O_4$、分子量:192.0、沸点:268℃、比重(25℃):1.019、粘性率(25℃):56.2cp、引火点:140℃で、水にきわめて溶けやすい粘性の液体である。当試験には、平成４年８月11日に
から提供されたものを用いた（Lot No.
純度：98%以上）。入手後は少量ずつ分割し、遮光・気密条件下で試験施設の被験物質保管室の保管庫にデシケータ内で室温下に保管した。なお、投与終了後に残余被験物質の一部を製造元に送付して分析した結果、純度は98%以上であり、保管期間中の安定性が確認された。

媒体として、注射用蒸留水を用いた。注射用蒸留水（大塚注射用水、Lot No.0085N、製造元：株式会社大塚製薬工場、使用期限：1995年３月）は平成２年12月25日に購入し、入手後は試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温で保管した。

２．投与検体

被験物質を秤取し、蒸留水に溶解して必要濃度の投与検体液を用時調製した。投与後の残余検体液は廃棄した。

投与日までに投与検体液中の被験物質濃度測定が不可能であり、その後に測定法が確立した。そこで、投与終了後に投与時と同一条件で調製した検体液中の被験物質濃度を測定することにより、投与検体液中の被験物質濃度を推測した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の100.0～108.8%を示し、投与検体液中の被験物質濃度には問題がなかったと考えられた（Attached table 1）。

３．使用動物および飼育条件

（1）動物種、系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかであり、集積データも揃っているSprague-Dawley系雌雄ラット［Crj:CD(SD)］を用いた。動物は、平成４年９月16日に日本チャールス・リバー株式会社から４週齢で雌雄各31匹を購入した。入手後２日の体重範囲は、雄が79～88g、雌が65～79gであった。

（2）検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、５日間の検疫期間およびその後３日間の馴化期間を設けた。この間に、３回の体重測定および毎日一般状態の観察を行って検疫・馴化とし、一般状態および体重推移に異常の認められない動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与日に行った。なお、動物の体重変動範囲は、平均体重から±20%を越えないことを確認した。群分け後の残余動物は、投与日にエーテルで麻酔致死させた後に廃棄処分した。

動物は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクおよび色素による染毛法により、群分け後は色素による染毛法および耳パンチ法を併用して識別した。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

（3）環境条件および飼育管理

動物は、室温20～24℃、湿度40～70%、明暗各12時間（照明：午前６時～午後６時）、換気回数12回／時（フィルターにより除菌した新鮮空気）に設定した飼育室（Ｃ棟４号室）で飼育した。

検疫・馴化期間中および絶食期間中はステンレス製懸垂式ケージ（W:240xD:380xH:200㎜）を用いて１ケージあたり５匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ（W:755xD:210xH:170㎜）を用いて個別飼育した。ケージの受け皿および給水瓶の交換は１週間に２回以上、ケージおよび給餌器の交換は２週間に１回以上行った。なお、動物飼育室の清掃（床の掃き掃除）および500倍希釈次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

（4）飼料および飲料水

飼料は、入手後３カ月以内の固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、投与前日の夕刻（午後３時30分）から投与までの約19時間と投与後約６時間まで絶食させ、その後に飼料を与えた。飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし、群分け時から投与後約6時間までは絶水させ、その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ3カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査の結果、いずれも検査結果は試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4．投与経路、投与方法、群構成および投与量

(1) 投与経路および投与方法

トリプロピレングリコールは、経口的に人に摂取される可能性が考えられたため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスポーザブル注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として、10ml/kgで算出した。投与時刻は午前10時22分～10時43分の間で、投与回数は1回とした。投与開始時の体重範囲は、雄が114～121g、雌が94～100gであった。

(2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。

群	試験群	投与量 (濃度)	雄 (動物番号)	雌 (動物番号)
第1群	対照 (蒸留水)	0mg/kg (0%)	5 (001～005)	5 (051～055)
第2群	トリプロピレングリコール	500mg/kg (5%)	5 (101～105)	5 (151～155)
第3群	トリプロピレングリコール	1000mg/kg (10%)	5 (201～205)	5 (251～255)
第4群	トリプロピレングリコール	2000mg/kg (20%)	5 (301～305)	5 (351～355)

投与量設定の理由：予備試験（投与段階：0、20、200および2000mg/kg）の結果、2000mg/kg投与においても死亡発現はなく、一般状態、体重推移および剖検にも異常はみられなかった[2)]。そこで、当試験ではOECD毒性試験ガイドラインで限界用量とされている2000mg/kgを高用量とし、以下公比2で1000および500mg/kg群を設けた。なお、対照として被験物質と同一液量の媒体（蒸留水）を投与する群を設けた。

5．観察および検査項目

(1) 観察期間

観察期間は、投与後14日間とした。

(2) 一般状態

投与日は投与前および投与後6時間（投与後30分まで、投与後2、4および6時間）まで、投与翌日からの観察期間中は1日1回、一般状態および死亡の有無を観察した。

(3) 体重測定

投与日（投与直前）および投与後1、3、7、10ならびに14日の午前中に測定した。

(4) 剖　検

各動物とも、観察期間終了時にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、所見を記録した。

6．統計学的方法

(1) LD_{50}値

観察期間中の死亡率から、概略のLD_{50}値を推定した。

(2) 体重は、各群で平均値および標準偏差を算出した。

有意差検定は対照群と被験物質投与各群の間で多重比較検定を用いて行い、危険率5%未満を有意とした。［5%未満（$p<0.05$）と1%未満（$p<0.01$）とに分けて表示することとしたが、当試験では有意差は認められなかった。］すなわち、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較をDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は順位を利用した一元配置法による分析（Kruskal-Wallisの検定）を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用したDunnett法を用いて行った。

試験成績および考察

1．一般状態および死亡状況

観察期間を通じて、いずれの例とも異常症状はみられなかった（Table 1、2、Appendix 1-1～1-4、2-1～2-4）。

雌雄とも、高用量の2000mg/kgでも死亡発現はなかった（Table 3）。トリプロピレングリコールのLD_{50}値は、雌雄とも2000mg/kg以上であった。

2．体重推移

体重推移をTable 4、5およびFig.1、2に示した（Appendix 3-1～3-4、4-1～4-4）。

雌雄の各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、有意差は認められなかった。

3．剖検所見

雌雄各群とも、剖検で著変はみられなかった。

以上の如く、トリプロピレングリコールはガイドラインで限界用量とされている2000mg/kgの投与によって雌雄とも死亡発現はなく、一般状態の観察でも異常症状はみられなかった。また、体重推移に変動はなく、剖検でも著変はみられなかった。

したがって、トリプロピレングリコールのLD_{50}値は雌雄とも2000mg/kg以上と考えられた。

資　　料

1)OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS、SECTION 4、HEALTH EFFECTS、SHORT TERM TOXICOLOGY、401 Acute Oral Toxicity 〔（厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修、OECD毒性試験ガイドライン、薬業時報社、平成３年12月25日）から引用〕

2)　　「トリプロピレングリコール（CAS No.24800440）のラットにおける単回経口投与毒性試験の予備試験」の最終報告書（試験番号：4172P）（平成５年９月10日）（株式会社日本バイオリサーチセンター　羽島研究所）

Table 1. General sign of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration

Group (mg/kg)	Number of males and general sign	Hours after administration				Days after administration													
		0 ~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 2. General sign of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration

Group (mg/kg)	Number of females and general sign	Hours after administration				Days after administration													
		0-0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1000	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tripropyleneglycol	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 3. Mortality and LD_{50} value of rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration

Sex	Group (mg/kg)	Number of animals	Hours after administration				Days after administration														Total number of deaths	LD_{50} (mg/kg)
			0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	Control	5	0[a)]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2000<
	Tripropyleneglycol 500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Tripropyleneglycol 1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Tripropyleneglycol 2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	Control	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2000<
	Tripropyleneglycol 500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Tripropyleneglycol 1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Tripropyleneglycol 2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

a): Number of deaths.

Table 4. Body weight of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration

Group	Control	Tripropyleneglycol		
(mg/kg)	0	500	1000	2000
Number of males	5	5	5	5
Days after administration 0	116.4 ± 2.3	116.8 ± 2.4	117.0 ± 2.5	116.6 ± 1.9
1	134.8 ± 2.7	136.6 ± 4.6	134.2 ± 2.4	133.8 ± 2.4
3	157.6 ± 3.8	158.8 ± 4.1	159.2 ± 2.8	158.6 ± 5.1
7	199.4 ± 4.5	196.8 ± 6.0	199.0 ± 5.4	196.2 ± 9.0
10	227.6 ± 7.1	223.4 ± 8.2	228.4 ± 5.7	218.8 ± 10.6
14	264.8 ± 11.3	258.2 ± 11.2	263.2 ± 5.9	258.6 ± 14.4

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 5. Body weight of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration

Group	Control	Tripropyleneglycol		
(mg/kg)	0	500	1000	2000
Number of females	5	5	5	5
Days after administration 0	96.8 ± 2.4	96.2 ± 1.8	96.4 ± 2.3	97.0 ± 2.1
1	112.0 ± 2.3	110.6 ± 2.5	110.4 ± 4.0	112.2 ± 3.0
3	128.4 ± 1.5	129.0 ± 1.0	127.8 ± 5.5	130.0 ± 3.1
7	148.4 ± 3.8	148.4 ± 4.4	147.2 ± 7.6	148.8 ± 2.8
10	160.0 ± 5.5	158.2 ± 5.9	158.6 ± 7.7	158.8 ± 4.6
14	174.6 ± 5.1	172.0 ± 8.0	172.6 ± 11.6	172.6 ± 5.1

Each value shows mean (g) ± S.D.

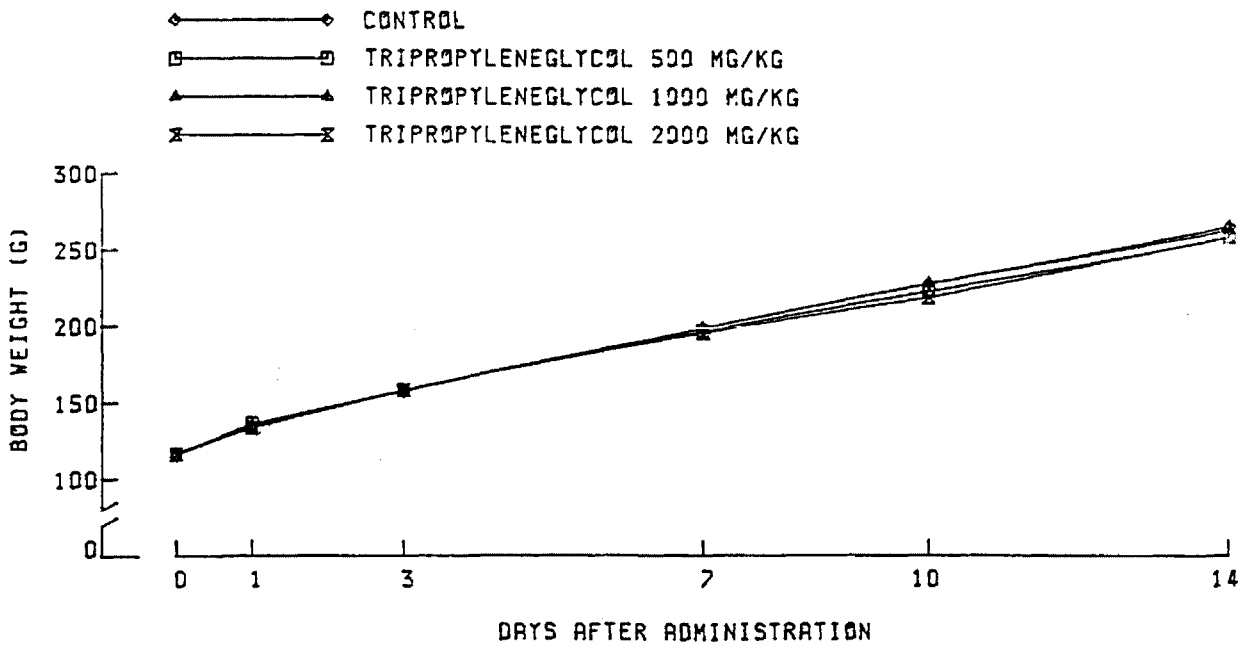

Fig.1. Body weight of male rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration.

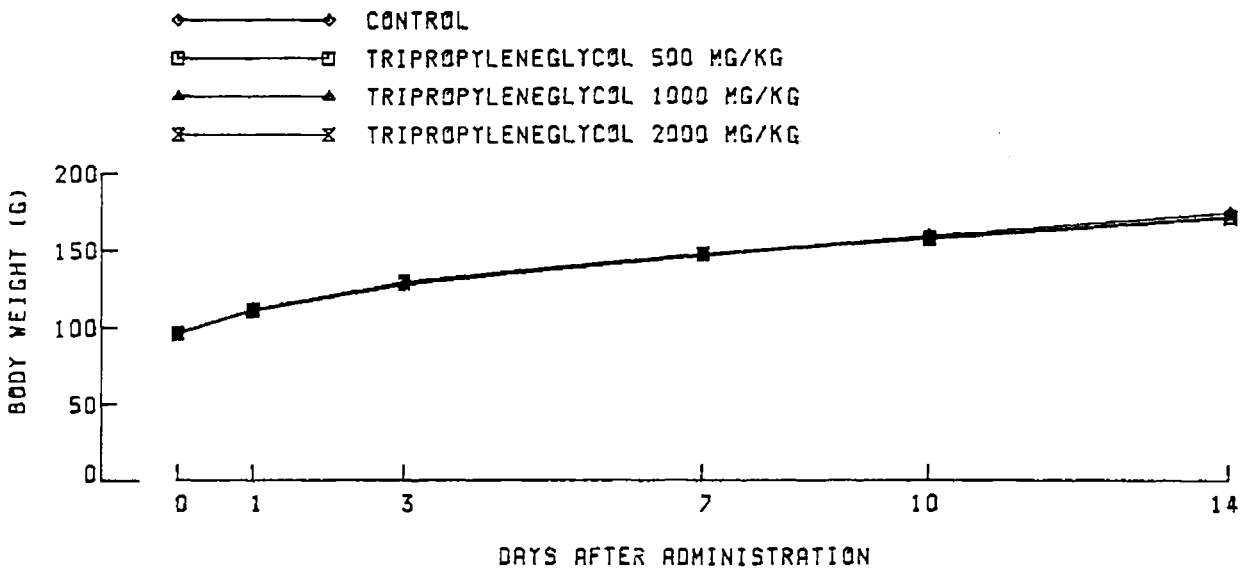

Fig.2. Body weight of female rats in single dose toxicity study of Tripropyleneglycol by oral administration.