最終報告書

3-フェノキシトルエンのラットを用いる急性毒性試験

（試験番号：０４－２１４－１）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

目次

要約……1
目的……2
材料および方法……2
結果……5
考察……6
文献……7

添付資料

群別平均表

Table 1　死亡率…… 8
Table 2　一般状態…… 9
Table 3　体重……10
Table 4　剖検……11

要　約

3-フェノキシトルエンは，農薬の原料や感圧複写紙用溶剤として利用されている化学物質である[1]。本物質の経口毒性について，ラットの反復投与毒性および生殖発生毒性についてはすでに検討され，報告[2]されている。

今回，3-フェノキシトルエンの急性毒性について，SD 系[Crj:CD(SD)IGS]雌ラットを1群3匹として用い，固定用量を死亡状況を確認しながら段階的に単回経口投与する逐次法により検討した。

ステップ1として 300mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。ステップ2として，再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。そこで，ステップ3では用量を上げて 2000mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。ステップ4として，再度 2000mg/kg を投与した結果，3匹中1匹の死亡が認められた。

300mg/kg では，一般状態の変化は認められず，体重は順調な増加を示した。観察期間終了時の剖検において，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kg では，自発運動の低下，歩行異常，軟便および下腹部の汚れが認められ，6匹中1匹が投与後24時間以内に死亡した。生存例の体重は，観察4日にかけて増加抑制ないし減少を示す例が認められたが，その後は順調に増加した。剖検では，生存例の内部諸器官に肉眼的変化は認められなかった。死亡例では膀胱の尿貯溜が認められた。

以上の結果より，3-フェノキシトルエンのラット経口投与における概ねの致死量は2500mg/kg と推定され，化学物質危険度分類(GHS)ではカテゴリー5に分類された。

目　的

3-フェノキシトルエンについて，ラットの経口投与における急性毒性を明らかにする。

材料および方法

1．被験物質

3-フェノキシトルエン（CAS No. 3586-14-9）は，水に不溶の無色透明な液体である。試験には，　　の試薬（ロット番号　　純度 98.3%）を購入し，密栓して冷暗所（2～6℃）に保管・使用した。本被験物質の詳細は，Appendix 1 に示す。試験に使用した被験物質は，投与終了後に分析し，試験期間中安定であったことを確認した（Appendix 2）。分析は，　　に委託して実施した。

2．供試動物および飼育条件

SD 系[Crj:CD(SD)IGS]の SPF 雌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（神奈川県厚木市下古沢 795）より搬入（9 週齢の 16 匹，出荷時の体重範囲は 200～250g）し，5 日間試験環境に馴化させ，その間に臨床観察および体重測定による検疫を行ない，健康状態が良好であることを確認した。試験には，1 群の動物数を 3 匹とし，ステップ 4 まで実験ができるように，体重分布の中央値に近いものから 12 匹を選んで使用した。群分けは，ステップ 1 の投与前日の体重に基づく層化無作為抽出法により行ない，12 匹を 4 群に振り分けた。動物の個体識別は，ラックおよびケージへの標識札の貼付とピクリン酸溶液でラットの被毛の一部を染色する方法で行なった。群分け時の平均体重（体重の範囲）は，ステップ 1 で 258(246～267)g，ステップ 2 で 256(245～269)g，ステップ 3 で 256(252～263)g，ステップ 4 で 256(245～265)g，また投与時では，ステップ 1 で 231(221～237)g，ステップ 2 で 233(227～245)g，ステップ 3 で 232(229～237)g およびステップ 4 で 240(228～249)g であった。

動物は，馴化期間および投与後の観察期間とも，室温 22±3℃，湿度 55±10%，換気回数 10 回以上／時（オールフレッシュエアー方式），照明 12 時間／日（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定されたバリアーシステム動物室（第 8 室）で，ス

テンレス製金網ケージ（260W×380D×180Hmm）に，３匹ずつ収容して飼育した。飼料（固型飼料ラボＭＲストック，日本農産工業株式会社，Lot. No. 041158-2）と飲料水（孔径 1μm のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は，自由に摂取させた。給水には自動給水装置を用いた。

なお，動物の飼育期間中，動物室の温度は 21.6～22.0℃，湿度は 52～56%の範囲で推移（Appendix 3）し，また飼料および飲料水の汚染物質の分析値（Appendices 4&5）は，当研究所が定めた基準値以下であることが確認された。従って，動物の飼育期間を通じて，試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

３．投与用量および投与方法

投与用量は，OECD の試験法ガイドライン 423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9 参照）に従って，5，50，300 あるいは 2000mg/kg の固定量とし，逐次法により各ステップごとに死亡状況を確認しながら，概略の致死量が推定できるまで段階的に，ステップ１とステップ２は１日間隔，ステップ３はステップ２の２日後に，ステップ４はステップ３の４日後に投与を行なった。本物質の致死量に関する既存情報として，ラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験のための 14 日間の投与量設定試験で，500mg/kg で死亡が認められず，1000mg/kg では死亡が認められたとの報告[2)]があり，概略の致死量は 500mg/kg 以上と推定されたため，ステップ 1 の用量は 300mg/kg とした。

投与方法は，テフロン製胃ゾンデを用い，動物の胃内に単回投与した。なお，動物は各ステップ毎に，投与前日の午後５時から投与後３時間まで除餌し，飲料水のみを自由に摂取させた。投与は，午前中（ステップ１で 9:29～9:30，ステップ２で 9:22～9:23，ステップ３では 9:27～9:28，ステップ４では 9:49～9:50）に実施した。

４．投与液の調製

本被験物質は，水に不溶であるため，0.1% Tween 80 水溶液[Tween 80:DIFCO Laboratories（ロット番号 4293457），局方精製水：共栄製薬株式会社（ロット番号 181496)]に乳化して投与液とした（300mg/kg 群:3w/v%, 2000mg/kg 群:20w/v%）。

投与液の調製は投与直前に行なった。投与液量は，体重 1kg 当たり 10mL とし，各個体の投与液量は投与直前の体重より算出した。

5．観察事項

観察期間は投与後 14 日間とし，一般状態の観察および生死の確認は，観察 1 日（投与日）においては，投与後 1 時間までは継続して，その後は概ね投与後 2，4 および 6 時間に観察した。観察 2 日は午前，午後の各 1 回，観察 3 日以降は午前中に 1 回行なった。体重は，観察 1（投与直前），4，8 および 15 日に測定した。剖検は，死亡動物は発見後速やかに，生存動物は観察 15 日の観察終了後にエーテル麻酔により安楽死させ，内部器官を肉眼的に観察した。

6．致死量の推定および化学物質危険度分類

OECD の試験法ガイドライン 423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9 参照）に従って，各ステップでの死亡率から概略の致死量を推定し，化学物質危険度分類の万国共通分類法[Globally Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures(GHS)]に従って，毒性の最も強いカテゴリー1 から最も弱いカテゴリー5 のいずれかに分類した。

結　果

1．死亡率(Table 1)

ステップ 1 として 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。確認のため，ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。次に，ステップ 3 として 2000mg/kg を投与した結果，死亡は認められなかった。そこで，ステップ 4 として再度 2000mg/kg を投与したところ，3 匹中 1 匹の死亡が認められた。このことから，毒性の強さは，化学物質危険度分類(GHS)における 2000～5000mg/kg の範囲を示すカテゴリー5 に分類され，概ねの致死量は 2500mg/kg と推定された。

2．一般状態(Table 2, Appendix 6)

300mg/kg において，観察期間中，一般状態の変化は認められなかった。

2000mg/kg においては，ステップ 3 で観察 2 日に自発運動の低下および下腹部の汚れが認められた。自発運動の低下は観察 3 日には消失していたが，下腹部の汚れは観察 4 日までみられた。ステップ 4 では，3 匹中 1 匹で投与 4 時間以降に自発運動の低下および歩行異常が認められ，投与後 24 時間以内に死亡した。生存した 2 匹は観察 2 日に軟便が認められたほか，1 匹で下腹部の汚れが観察 3 日から観察 5 日にかけて認められた。

3．体重推移(Table 3, Appendix 7)

300mg/kg において，順調な体重増加を示した。

2000mg/kg では，投与後，観察 4 日にかけて増加抑制ないし減少を示す例が認められたが，その後は順調な増加を示した。

4．剖検(Table 4, Appendix 8)

300mg/kg において，観察期間終了時の剖検では内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kg において，生存例には内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。死亡した 1 匹は，膀胱の中等度尿貯溜が認められた。

考　察

3-フェノキシトルエンを雌ラットに，ステップ 1 として 300mg/kg を単回経口投与したが死亡は認められず，ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが，死亡は認められなかった。そこで，ステップ 3 として 2000mg/kg を投与したところ，死亡は認められなかった。さらにステップ 4 として 2000mg/kg を投与した結果 3 匹中 1 匹が死亡した。

300mg/kg では，一般状態の変化は認められず，体重は順調な増加を示した。観察期間終了時の剖検において，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kg では，自発運動の低下，歩行異常，軟便および下腹部の汚れが認められ，投与後 24 時間以内に 6 匹中 1 匹が死亡した。生存例の体重は，投与後，観察 4 日にかけて増加抑制ないし減少を示す例が認められたが，その後は順調に増加した。剖検では，死亡例に膀胱の尿貯溜が認められたが，生存例の内部諸器官には変化は認められなかった。

以上の結果により，3-フェノキシトルエンのラット経口投与における概ねの致死量は 2500mg/kg と推定され，化学物質危険度分類（GHS）ではカテゴリー5 に分類された。

文　献

1)　化学工業日報社編，新科学インデックス，化学工業日報社，東京，537，1994

2)　　3-フェノキシトルエンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験，化学物質毒性試験報告，5，677-688，1997.

Table 1 Mortality of female rats treated with benzene, 1-methyl-3-phenoxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Number of animals that died													Mortality	Category (GHS)	LD_{50} (mg/kg)
			1						2	3	4	5	6	7	8～15(days)			
			～0.5	～1	～2	～4	～6	～24 (hrs)										
1	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$0^a/3^b$		
2	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	5	2500
3	2000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3		
4	2000	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1/3		

a : Number of animals that died; b : Number of animals treated

Table 2 Clinical signs of female rats treated with benzene, 1-methyl-3-phenoxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade	1 ~0.5	1 ~1	1 ~2	1 ~4	1 ~6(hrs)	2	3	4	5	6	7~15(days)
1	300	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	300	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Decreased locomotor activity	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	1	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0
4	2000	Number of animals examined		3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
		Decreased locomotor activity	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		Abnormal gait	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		Soft stool	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0

Grade, 1 : Slight

Table 3 Body weights of female rats treated with benzene, 1-methyl-3-phenoxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Body weight (g)			
			1	4	8	15 (days)
1	300	3	231 ± 9 (3)	264 ± 9 (3)	273 ± 12 (3)	289 ± 9 (3)
2	300	3	233 ± 10 (3)	261 ± 14 (3)	267 ± 20 (3)	278 ± 20 (3)
3	2000	3	232 ± 4 (3)	237 ± 10 (3)	268 ± 3 (3)	288 ± 9 (3)
4	2000	3	240 ± 11 (3)	264 ± 22 (2)	271 ± 18 (2)	284 ± 8 (2)

Values represent mean body weight ± S.D. (number of animals examined)

Table 4 Incidence of necropsy findings of female rats treated with benzene, 1-methyl-3-phenoxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Fate	
				Terminal kill	Found dead
1	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
2	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
3	2000	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
4	2000	Number of animals examined		2	1
		No abnormalities detected		2	0
		Urinary bladder : Urine retention	2	0	1

Grade, 2 : Moderate