メタクリル酸（２－ヒドロキシプロピル）エステルの
ラットを用い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

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 …… 5

6．統計学的方法 …… 5

結果および考察

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

文　　献 …… 7

Table, Fig. の目次

頁

Table 1 Mortality and LD_{50} value of rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 9

Table 2 General sign of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 10

Table 3 General sign of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 11

Table 4 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 12

Table 5 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 13

Table 6 Necropsy finding of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 14

Table 7 Necropsy finding of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 15

Fig.1 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 16

Fig.2 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate ····· 17

要　　約

メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルを雌雄ラットに 1 回経口投与し，その毒性について検討した．投与量は OECD 毒性試験ガイドラインにより限界用量とされている 2000 mg/kgを高用量とし，以下 1000 および 500 mg/kgとした．対照として媒体（注射用水）投与群を設けた．

１．一般状態および死亡状況

死亡は，いずれの群にも発現しなかった．2000 mg/kg投与群では，雄で投与直後に流涎がみられた．500 および 1000 mg/kg投与群では，雌雄とも異常は観察されなかった．

２．体重推移

各投与群の雌雄とも，対照群とほぼ同様の体重推移を示した．

３．剖検所見

いずれの群の雌雄とも，異常はみられなかった．

以上の結果から，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの LD_{50} 値は，雌雄とも 2000 mg/kg以上と考えられた．

緒　　言

メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステル（CAS No.923-26-2）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（OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, SECTION 4, HEALTH EFFECTS, SHORT TETM TOXICOLOGY, 401 Acute Oral Toxicity[1]）に従ってメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルを雌雄ラットに 1 回経口投与し，その毒性について検討した．

方　　法

1．被験物質および媒体

被験物質のメタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステル（CAS No.923-26-2）は，分子量： 144.17，融点：-57 ℃，沸点： 96 ℃の無色透明の液体であり，水に溶けやすく，アセトンおよび DMSO にきわめて溶けやすい．当試験には，
から提供されたものを用いた（
Lot No.　　純度：98 %，ただし，不純物としてジプロピレングリコールモノメタクリレートを 2 %以下含有）．入手後は少量ずつ分割し，試験施設の被験物質保管室の室温・遮光条件下の保管庫に気密容器に入れて保管した．なお，反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の投与期間の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 99.0 %であり，使用期間中は安定であったことが確認された．

媒体として，注射用水を用いた．注射用水（株式会社大塚製薬工場，大塚注射用水，Lot No.4C76N，入手日：平成 6 年 5 月 26 日，使用期限：平成 11 年 2 月）は，入手後，試験施設の室温条件下の被験物質保管室に保管した．

2．投与検体

被験物質を秤取し，注射用水に溶解して必要濃度の投与検体を用時調製した．なお，投与終了後の残余検体は廃棄した．また，被験物質は純度換算しないで，投与量は原体重量で表示した．

なお，投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で滴定法により測定した．その結果，被験物質濃度は表示濃度の 96.9～97.8 %であり，設定した適正範囲内（表示濃度の± 10 %以内）を示した（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［（SPF），Crj：CD（SD）］を用いた．動物は，平成 6 年 12 月 14 日に日本チャールス・リバー株式会社（日野飼育センター）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 86～98 g，雌が 75～87 g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，4 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による記入法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，群毎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（E 棟 5 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：240 x D：380 x H：200 mm）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：755 x D：210 x H：170 mm）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 回以上行った．なお，動物飼育室の清掃（床の掃き掃除）および 0.02 %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 4 時 30 分）から投与までの約 18 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．使用し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，いずれの検査結果も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

メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルは，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10 ml/kgで算出した．投与時刻は午前10時51分～11時13分の間で，投与回数は1回とした．

投与日の週齢は約6週齢であり，体重範囲は雄が115～122 g，雌が97～104 g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）	動物数（動物番号）	
			雄	雌
第1群	対照（注射用水）	0 mg/kg（ 0 %）	5(001～005)	5(051～055)
第2群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	500 mg/kg（ 5 %）	5(101～105)	5(151～155)
第3群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	1000 mg/kg（10 %）	5(201～205)	5(251～255)
第4群	ﾒﾀｸﾘﾙ酸(2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾌﾟﾛﾋﾟﾙ)ｴｽﾃﾙ	2000 mg/kg（20 %）	5(301～305)	5(351～355)

投与量は，雄ラットを用いた予備試験（投与段階：0，80，400および2000 mg/kg）において，2000 mg/kg投与により投与直後に流涎がみられたのみで，死亡発現はなく，体重推移および剖検所見にも異常は認められなかった[2]．そこで，当試験では，OECD毒性試験ガイドライン（OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, SECTION 4, HEALTH EFFECTS, SHORT TERM TOXICOLOGY, 401 Acute Oral Toxicity[1]）で限界用量とされている2000 mg/kgを最高用量とし，以下公比2で1000および500 mg/kg投与群を設定した．また，対照として被験物質と同一液量の媒体（注射用水）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

生存動物は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た．

６．統計学的方法

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（$p<0.05$）を有意とした．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．

結果および考察

1．一般状態および死亡状況

死亡状況を Table 1 に示した．

いずれの群の雌雄においても，死亡は発現しなかった．メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルの LD_{50} 値は，雌雄とも 2000 mg/kg以上であった．

一般状態観察成績を Table 2 および 3（Appendix 1-1～1-4 および 2-1～2-4）に示した．

対照群，500 および 1000 mg/kg投与群では，雌雄とも観察期間中に異常はみられなかった．

2000 mg/kg投与群では，投与日の投与直後に流涎が雄 1 例にみられたが，投与後 2 時間以降には雌雄とも異常は認められなかった．

2．体重推移

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

各投与群の雌雄とも，対照群とほぼ同様の体重推移であり，いずれの測定日とも有意差はみられなかった．

3．剖検所見

剖検所見を Table 6 および 7（Appendix 5-1～5-4 および 6-1～6-4）に示した．

いずれの群の雌雄とも，異常はみられなかった．

以上のように，メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルはOECD毒性試験ガイドラインで限界用量とされている 2000 mg/kg投与によっても，雌雄ともに死亡発現はなく，LD_{50} 値は雌雄とも 2000 mg/kg以上と考えられた．一般状態では，2000 mg/kg投与群で流涎が雄の少数例にみられたが，投与直後に一過性に認められたのみで，軽度な変化と考え

られた．なお，2000 mg/kg投与しても，体重推移および剖検所見に異常はみられなかった．

文　　献

1) OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, SECTION 4, HEALTH EFFECTS, SHORT TERM TOXICOLOGY, 401 Acute Oral Toxicity (Adapted: 24. 02. 1987)

2) 「メタクリル酸（2-ヒドロキシプロピル）エステルのラットを用い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：402014P）（平成 8 年 4 月 16 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 Mortality and LD_{50} value of rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

Sex	Group (mg/kg)		Number of animals	Number of deaths																		Total number of deaths	LD_{50} (mg/kg)
				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		
Male	Control	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LD_{50}>2000
	2-hydroxypropyl methacrylate	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	Control	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	LD_{50}>2000
	2-hydroxypropyl methacrylate	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 2 General sign of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

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	0	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2-hydroxypropyl methacrylate	500	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2000	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Salivation	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 3 General sign of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

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	0	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2-hydroxypropyl methacrylate	500	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1000	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2000	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 4 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

Group		Control	2-hydroxypropyl methacrylate		
(mg/kg)		0	500	1000	2000
Number of males		5	5	5	5
Days after administration	0	118.4 ± 2.6	118.4 ± 2.4	118.0 ± 2.0	118.4 ± 2.1
	1	138.6 ± 4.6	137.0 ± 4.5	135.6 ± 2.6	134.8 ± 2.6
	3	165.0 ± 6.3	159.0 ± 5.0	160.4 ± 4.3	160.4 ± 4.6
	7	207.0 ± 10.6	196.8 ± 7.1	205.2 ± 6.2	202.0 ± 7.3
	10	233.2 ± 12.9	222.0 ± 10.6	233.6 ± 8.0	229.2 ± 7.4
	14	266.0 ± 14.6	256.2 ± 10.0	269.0 ± 10.0	264.0 ± 8.2

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 5 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate		
(mg/kg)	0	500	1000	2000
Number of females	5	5	5	5
Days after administration 0	99.8 ± 2.8	99.4 ± 2.4	99.2 ± 1.9	99.8 ± 3.1
1	115.0 ± 1.9	113.8 ± 2.6	116.0 ± 3.0	115.0 ± 5.0
3	134.2 ± 1.6	134.4 ± 4.3	137.0 ± 4.9	137.4 ± 6.2
7	159.8 ± 3.8	158.6 ± 6.3	159.6 ± 7.9	163.2 ± 9.9
10	171.2 ± 5.0	171.4 ± 10.7	171.0 ± 5.1	175.2 ± 10.7
14	184.8 ± 7.0	185.0 ± 11.9	185.6 ± 5.9	189.8 ± 12.4

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 6 Necropsy finding of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate		
(mg/kg)	0	500	1000	2000
Number of males	5	5	5	5
Normal	5	5	5	5

Table 7 Necropsy finding of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

Group	Control	2-hydroxypropyl methacrylate		
(mg/kg)	0	500	1000	2000
Number of females	5	5	5	5
Normal	5	5	5	5

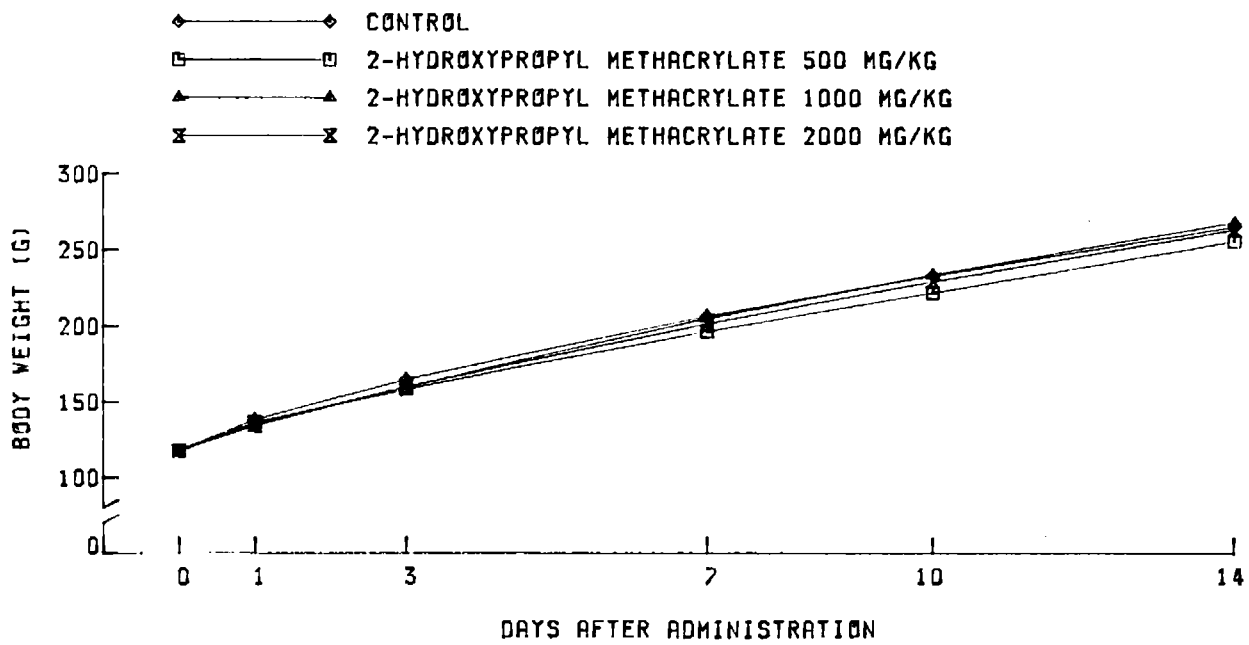

Fig. 1 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate

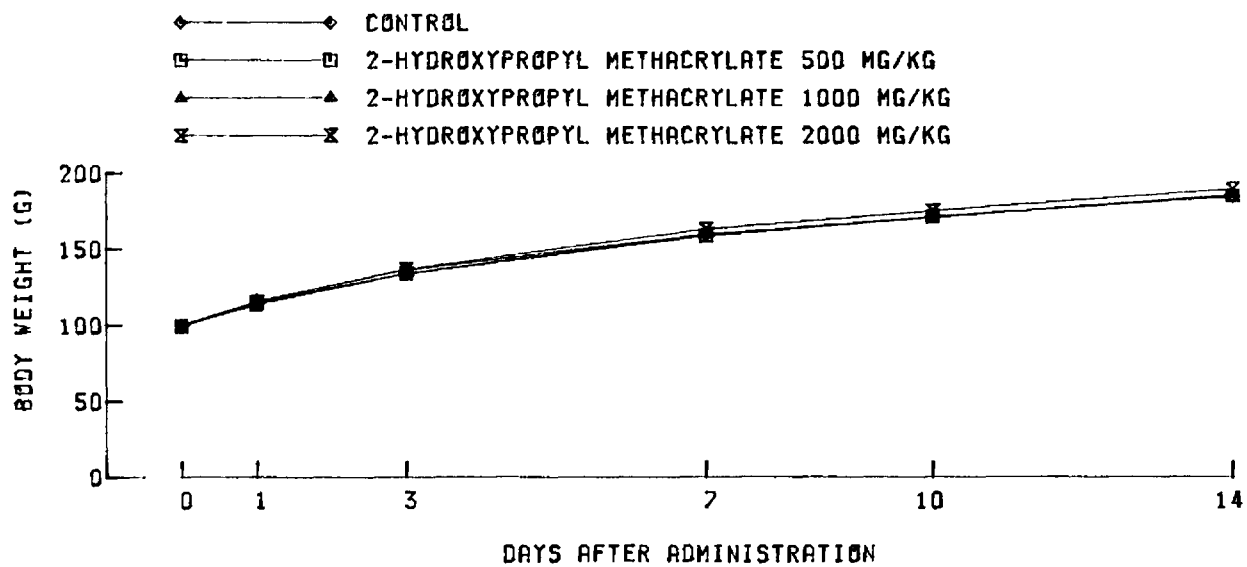

Fig. 2 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 2-hydroxypropyl methacrylate