

期間終了時と同等値であることから、生理的変動範囲内の変化と判断した。同群の雌では、網状赤血球率に有意な低値が認められたが、軽微な変化であり、他の検査項目に有意差がみられないことから、生理的変動範囲内の変化と考えられた。

5. 血液化学検査 (Table 2)

1) 投与期間終了時検査

250 mg/kg 以上の投与群の雄では A/G 比の有意な高値、1000 mg/kg 投与群の雄でトリグリセライド及び尿素窒素に有意な高値、塩素の有意な低値、同群の雌では γ -GTP の有意な低値が認められた。

2) 回復期間終了時検査

1000 mg/kg 投与群の雌雄ともにいずれの検査項目にも有意差は認められなかった。

6. 雄の尿検査 (Table 3)

定量項目については、いずれの検査項目においても対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。定性項目については、主群及び回復群のいずれの動物にも異常はみられなかった。

7. 器官重量 (Table 4)

1) 投与期間終了時剖検例

絶対及び相対重量の双方に同一方向に有意差が認められた器官・組織はなかった。なお、以下の変化がみられた。500 mg/kg 投与群の雌で脾臓の相対重量に有意な高値、500 及び 1000 mg/kg 投与群の雌で腎臓の絶対重量に有意な高値が認められたが、用量との関連はなかった。

2) 回復期間終了時剖検例

1000 mg/kg 投与群の雌で甲状腺の絶対重量に有意な高値が認められた。

8. 剖検所見

1) 投与期間終了時剖検例

腺胃の暗赤色巣が 500 mg/kg 投与群の雌 2 例、精巢の小型化が 250 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられたが、出現頻度及び病理学的性状から偶発的变化と判断した。

2) 回復期間終了時剖検例

いずれの器官・組織においても、異常はみられなかった。

9. 病理組織学検査 (Table 5)

被験物質投与の影響が 1000 mg/kg 投与群の雄の胃にみられた。

1) 投与期間終了時剖検例

軽微又は軽度の前胃及び腺胃粘膜における細胞浸潤が 1000 mg/kg 投与群の雄 3 例、軽微又は軽度の腺胃の糜爛が 250 mg/kg 投与群の雌 2 例、500 mg/kg 投与群の雌 2 例及び 1000 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 1 例、腺胃における軽微又は軽度の globule leukocyte¹⁾ 数の増加が対照群の雄 1 例、500 mg/kg 投与群の雄 2 例及び 1000 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 1 例、軽微又は軽度の腺胃粘膜の肥厚が 1000 mg/kg 投与群の雄 3 例、軽微又は軽度の境界線の肥厚が対照群の雄 1 例、500 mg/kg 投与群の雄 2 例及び 1000 mg/kg 投与群の雄 5 例にみられた。これら変化のうち、腺胃粘膜における細胞浸潤、腺胃の糜爛、腺胃における globule leukocyte 数の増加及び境界線の肥厚の

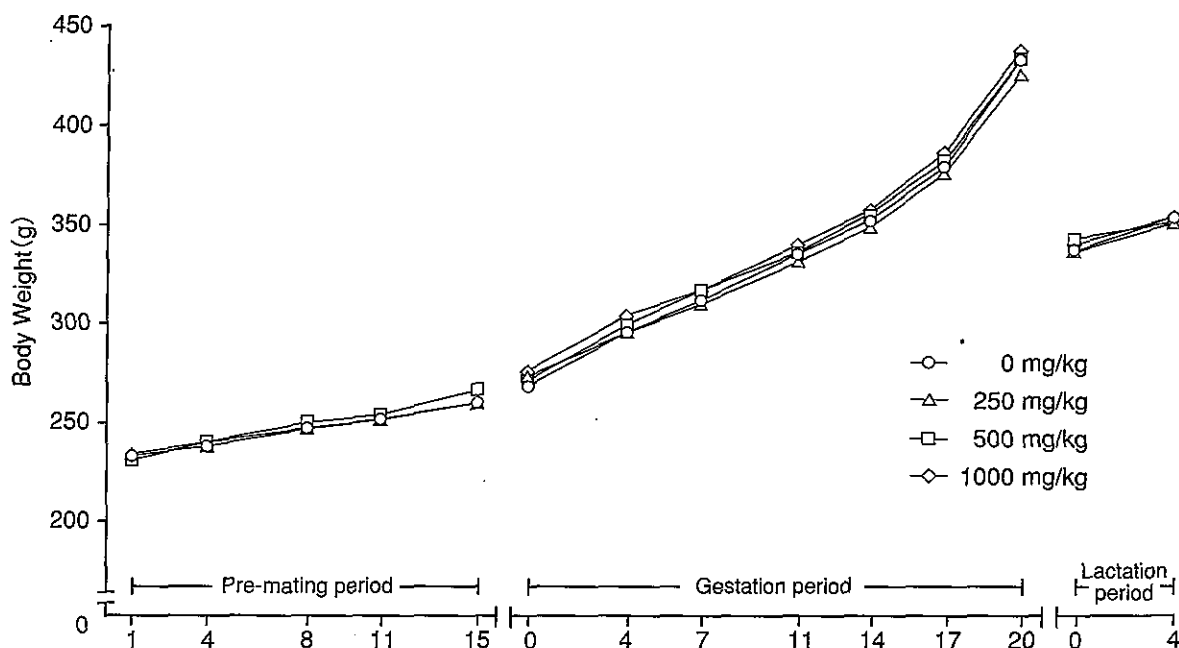


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

出現頻度が1000 mg/kg投与群の雄で増加し、所見の程度が増強した。

上記以外の所見は正常ラットでもしばしば認められる変化であること、あるいはその出現状況からいずれも偶発所見と判断した。

2) 回復期間終了時剖検例

軽微な腺胃の糜爛が対照群の雌1例、腺胃における軽微なglobule leukocyte数の増加が1000 mg/kg投与群の雄3例と雌1例、軽微な境界線の肥厚が1000 mg/kg投与群の雄5例にみられ、対照群と比べ腺胃におけるglobule leukocyte数の増加及び境界線の肥厚の出現頻度が1000 mg/kg投与群の雄で増加した。

10. 性周期 (Table 6)

性周期異常の動物はみられず、平均性周期日数には対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

11. 交配成績 (Table 6)

対照群の1組が交配開始7日に、他の組み合わせは交配開始後4日までに交尾が成立し、雌全例が妊娠した。したがって、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

12. 分娩成績及び分娩・授乳状態 (Table 7)

分娩状態では、妊娠21.5～22.5日に全例が正常に分娩し、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出産生児数及び出生率には対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。哺育状態では、いずれの母動物にも巣作り、児集め及び授乳行動に異常はみられなかった。

13. 出生児の観察 (Table 7)

性比の有意な低値が500 mg/kg投与群に、出生時の雄体重の有意な高値が250 mg/kg投与群に認められたが、いずれも用量との関連はなかった。外表異常を有する出生児として、痕跡尾が1000 mg/kg投与群に1例みられたが、出現頻度及び外表異常の種類から自然発生によるものと考えられた。

14. 出生児の生存率 (Table 7)

哺育4日生存率には対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

15. 出生児の体重 (Table 7)

出生時の雄体重に有意な高値が250 mg/kg投与群に認められたが、用量との関連はなかった。哺育4日の体重には対照群と各被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

16. 出生児の授乳4日剖検所見

いずれの出生児にも異常はみられなかった。

考察

1. 反復投与毒性

一般状態、機能検査、握力測定、自発運動量の測定、体重、摂餌量、尿検査(摂水量を含む)、血液学検査、剖検所見及び器官重量の結果に被験物質投与による影響は認められなかった。

詳細な一般状態の観察では、オープンフィールド内観察において1000 mg/kg投与群の雄で投与3, 4, 5及び6週に立ち上がり回数の低値が認められた。しかし、他の検査項目、特に自発運動量に異常はなく、回復終了時検査にも認められないことから可逆性の変化であった。

血液化学検査では、投与期間終了時検査において250 mg/kg以上の投与群の雄でA/G比の高値、1000 mg/kg投与群の雄でトリグリセライドの高値、尿素窒素の高値、塩素の低値、同群の雌ではγ-GTPの高値が認められたが、軽微な変化で関連検査項目に変動がなく、組織学的にも異常がないことから生理学的な変動範囲内の変化と判断した。

病理組織学検査では、投与終了時検査において1000 mg/kg投与群の雄に腺胃粘膜における細胞浸潤、腺胃の糜爛、腺胃におけるglobule leukocyte数の増加、腺胃粘膜の肥厚及び境界線の肥厚が観察され、被験物質の胃への刺激性が示唆された。これら胃の変化のうち、腺胃におけるglobule leukocyte数の増加及び境界線の肥厚が回復終了時検査においても観察されたが、所見の程度は軽減し、可逆性の変化であった。

2. 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は認められなかった。また、母動物の出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児数、死産児率、出産生児数、出生率及び性比に被験物質投与の影響は認められず、授乳期間中の授乳状態に異常は認められないことから、1000 mg/kg投与群においても雌雄動物の交尾能、授精能及び受胎能、母動物の妊娠維持、分娩及び哺育行動などの生殖機能への影響はないと考えられた。

出生児では、出生時の観察及び授乳4日剖検所見、体重及び生存率には被験物質投与による変化は認められないことから、1000 mg/kg投与群においても胚・胎児の成長と形態学的変化、生後の成長・発達への影響はないと考えられた。

これらの結果から、本試験条件下における2-アミノ-2-エチル-1, 3-プロパンジオールの反復投与毒性に対する無影響量は雄で500 mg/kg/day、雌で1000 mg/kg/day、生殖発生毒性に対する無影響量は雌雄親動物及び児動物ともに1000 mg/kg/dayと判断した。

文献

- 1) Isao Narama, Kiyokazu Ozaki, Syuuichi Matsushima and Tetsuro Matsuura: Eosinophilic Gastroenterocolitis in Iron Lactate-Overloaded Rats, *Toxicologic Pathology*, **27**(3):318-324 (1999).

連絡先

試験責任者: 石田 茂
試験担当者: 下山泰史, 畠山和久, 楠岡 修,
野田 毅, 勝亦俱慶
(株)ボゾリサーチセンター御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284
Tel. 0550-82-2000 Fax. 0550-82-2379

Correspondence

Authors: Shigeru Ishida (Study director)
Yasushi Shimoyama,
Kazuhisa Hatayama,
Osamu Kusuoka, Tsuyoshi Noda,
Toyohisa Katsumata
Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc.
1284, Kamado, Gotemba-shi, Shizuoka, 412-0039,
Japan
Tel +81-550-82-2000 Fax +81-550-82-2379

Table 1 Hematological examination in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Week 6 of administration (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Male						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	826 $\pm$ 25	847 $\pm$ 40	839 $\pm$ 25	807 $\pm$ 24	875 $\pm$ 31	830 $\pm$ 24*
Hb (g/dL)	15.6 $\pm$ 0.5	16.0 $\pm$ 0.5	15.6 $\pm$ 0.9	14.9 $\pm$ 0.7	16.2 $\pm$ 0.4	15.3 $\pm$ 0.4*
Ht (%)	45 $\pm$ 2	47 $\pm$ 2	45 $\pm$ 3	43 $\pm$ 2	47 $\pm$ 2	44 $\pm$ 1*
MCV (fL)	54.9 $\pm$ 0.7	55.0 $\pm$ 1.4	54.0 $\pm$ 2.2	53.8 $\pm$ 1.2	53.6 $\pm$ 1.3	53.3 $\pm$ 0.9
MCH (pg)	18.9 $\pm$ 0.5	18.8 $\pm$ 0.4	18.6 $\pm$ 0.7	18.5 $\pm$ 0.5	18.5 $\pm$ 0.4	18.5 $\pm$ 0.4
MCHC (%)	34.4 $\pm$ 0.7	34.2 $\pm$ 0.6	34.4 $\pm$ 0.4	34.4 $\pm$ 0.5	34.5 $\pm$ 0.4	34.6 $\pm$ 0.3
Reticulocyte (%)	1.9 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.4
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	103.5 $\pm$ 7.2	103.8 $\pm$ 9.2	113.1 $\pm$ 12.8	115.8 $\pm$ 10.3	101.9 $\pm$ 13.0	114.2 $\pm$ 12.1
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	83 $\pm$ 12	86 $\pm$ 13	91 $\pm$ 23	106 $\pm$ 17	107 $\pm$ 28	105 $\pm$ 22
Differential leukocyte counts (%)						
Lymph	85.9 $\pm$ 5.2	86.4 $\pm$ 5.1	85.6 $\pm$ 5.3	83.4 $\pm$ 6.9	86.9 $\pm$ 4.3	85.6 $\pm$ 3.8
Stab	0.4 $\pm$ 0.4	0.1 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.3	0.2 $\pm$ 0.3	0.2 $\pm$ 0.3	0.1 $\pm$ 0.2
Seg	11.9 $\pm$ 5.8	12.7 $\pm$ 4.6	13.4 $\pm$ 4.7	15.8 $\pm$ 6.7	11.5 $\pm$ 4.5	12.5 $\pm$ 4.3
Eosino	1.3 $\pm$ 1.0	0.7 $\pm$ 0.6	0.7 $\pm$ 0.6	0.2 $\pm$ 0.3*	0.9 $\pm$ 1.0	1.2 $\pm$ 1.0
Baso	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Mono	0.5 $\pm$ 0.5	0.1 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.4
Others	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
PT (S)	12.9 $\pm$ 0.8	12.9 $\pm$ 0.2	13.1 $\pm$ 0.7	12.3 $\pm$ 0.3	13.7 $\pm$ 0.2	13.2 $\pm$ 0.8
APTT (S)	17.5 $\pm$ 1.5	18.9 $\pm$ 0.9	18.6 $\pm$ 0.7	17.9 $\pm$ 0.6	19.5 $\pm$ 1.4	17.5 $\pm$ 2.0
Fibrinogen (mg/dL)	325 $\pm$ 14	319 $\pm$ 14	306 $\pm$ 19	336 $\pm$ 51	293 $\pm$ 30	305 $\pm$ 48
Item	Day 4 of lactation (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Female						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	694 $\pm$ 10	689 $\pm$ 65	717 $\pm$ 31	673 $\pm$ 31	800 $\pm$ 27	817 $\pm$ 25
Hb (g/dL)	14.1 $\pm$ 0.4	13.8 $\pm$ 0.8	14.4 $\pm$ 0.4	13.7 $\pm$ 0.6	15.6 $\pm$ 0.8	15.8 $\pm$ 0.6
Ht (%)	41 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	42 $\pm$ 1	40 $\pm$ 2	45 $\pm$ 3	46 $\pm$ 2
MCV (fL)	58.7 $\pm$ 1.4	58.6 $\pm$ 2.4	58.0 $\pm$ 2.1	59.6 $\pm$ 0.9	56.2 $\pm$ 2.7	56.1 $\pm$ 0.9
MCH (pg)	20.4 $\pm$ 0.4	20.1 $\pm$ 0.9	20.0 $\pm$ 0.6	20.4 $\pm$ 0.3	19.5 $\pm$ 0.8	19.4 $\pm$ 0.4
MCHC (%)	34.8 $\pm$ 0.7	34.3 $\pm$ 0.4	34.6 $\pm$ 0.5	34.2 $\pm$ 0.3	34.7 $\pm$ 0.5	34.6 $\pm$ 0.4
Reticulocyte (%)	4.7 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 2.3	3.9 $\pm$ 0.7	5.1 $\pm$ 1.2	1.9 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.1*
Platelet ($10^4/\mu\text{L}$)	126.4 $\pm$ 8.9	140.9 $\pm$ 19.8	128.3 $\pm$ 9.3	125.0 $\pm$ 15.5	104.7 $\pm$ 11.7	112.2 $\pm$ 5.2
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	100 $\pm$ 34	98 $\pm$ 26	130 $\pm$ 25	132 $\pm$ 41	55 $\pm$ 7	52 $\pm$ 11
Differential leukocyte counts (%)						
Lymph	68.9 $\pm$ 8.2	78.1 $\pm$ 7.4	80.6 $\pm$ 4.3*	71.8 $\pm$ 3.4	81.4 $\pm$ 8.3	83.3 $\pm$ 5.2
Stab	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.6	0.2 $\pm$ 0.3	0.1 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.4
Seg	30.1 $\pm$ 8.4	20.7 $\pm$ 7.6	18.3 $\pm$ 4.9*	26.7 $\pm$ 3.4	16.8 $\pm$ 7.6	14.3 $\pm$ 4.5
Eosino	0.7 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.5	0.2 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 1.4	1.7 $\pm$ 0.8
Baso	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Mono	0.3 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.5	0.3 $\pm$ 0.4
Others	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
PT (S)	12.6 $\pm$ 0.3	12.6 $\pm$ 0.3	13.0 $\pm$ 0.3	12.5 $\pm$ 0.6	12.2 $\pm$ 0.3	12.3 $\pm$ 0.2
APTT (S)	17.6 $\pm$ 3.0	16.1 $\pm$ 0.5	16.1 $\pm$ 1.3	15.0 $\pm$ 1.4	15.3 $\pm$ 1.9	15.2 $\pm$ 1.8
Fibrinogen (mg/dL)	362 $\pm$ 43	334 $\pm$ 83	359 $\pm$ 78	382 $\pm$ 70	231 $\pm$ 26	224 $\pm$ 25

Values are expressed as Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; * $p < 0.05$

Table 2 Blood chemical examination in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Week 6 of administration (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Male						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
AST(IU/L)	80 ± 10	78 ± 10	75 ± 9	73 ± 9	69 ± 6	77 ± 10
ALT(IU/L)	36 ± 8	35 ± 6	35 ± 4	31 ± 2	32 ± 5	33 ± 6
LDH(IU/L)	50 ± 11	47 ± 5	54 ± 16	50 ± 12	43 ± 10	50 ± 12
γ-GTP(IU/L)	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 1
AIP(IU/L)	415 ± 74	470 ± 85	514 ± 31	428 ± 57	354 ± 88	382 ± 84
TP(g/dL)	6.4 ± 0.1	6.3 ± 0.2	6.1 ± 0.3	6.2 ± 0.4	6.0 ± 0.5	6.0 ± 0.3
Albumin(g/dL)	2.7 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.2
A/G	0.73 ± 0.03	0.80 ± 0.03*	0.80 ± 0.05*	0.80 ± 0.03**	0.82 ± 0.02	0.81 ± 0.03
T. cho(mg/dL)	54 ± 16	50 ± 9	49 ± 8	55 ± 12	44 ± 8	50 ± 12
TG(mg/dL)	21 ± 13	32 ± 12	30 ± 9	49 ± 27*	26 ± 7	40 ± 16
PL(mg/dL)	84 ± 24	84 ± 12	81 ± 4	90 ± 14	74 ± 11	85 ± 16
T. bilirubin(mg/dL)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1
Glucose(mg/dL)	147 ± 22	149 ± 21	154 ± 29	156 ± 12	149 ± 17	148 ± 19
BUN(mg/dL)	15 ± 2	15 ± 2	17 ± 1	18 ± 1*	16 ± 2	15 ± 2
Creatinine(mg/dL)	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.29 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.05
Na(mmol/L)	146 ± 1	145 ± 1	144 ± 2	144 ± 1	144 ± 2	144 ± 1
K(mmol/L)	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.2	5.0 ± 0.1	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.4	4.6 ± 0.1
Cl(mmol/L)	108 ± 1	108 ± 2	108 ± 2	105 ± 1*	107 ± 2	105 ± 1
Ca(mg/dL)	9.7 ± 0.1	9.8 ± 0.1	9.7 ± 0.2	9.9 ± 0.4	9.6 ± 0.3	9.8 ± 0.2
P(mg/dL)	6.9 ± 0.3	6.9 ± 0.4	7.3 ± 0.4	7.2 ± 0.5	6.9 ± 0.5	7.1 ± 0.4
Item	Day 4 of lactation (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Female						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
AST(IU/L)	83 ± 12	80 ± 5	87 ± 26	85 ± 13	160 ± 169	106 ± 36
ALT(IU/L)	54 ± 6	48 ± 5	47 ± 13	51 ± 10	71 ± 55	58 ± 18
LDH(IU/L)	57 ± 10	73 ± 24	47 ± 12	59 ± 11	105 ± 121	70 ± 30
γ-GTP(IU/L)	1 ± 1	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 1*	2 ± 1	1 ± 0
AIP(IU/L)	320 ± 148	359 ± 168	335 ± 114	357 ± 101	218 ± 70	182 ± 43
TP(g/dL)	6.6 ± 0.3	6.5 ± 0.2	6.3 ± 0.3	6.4 ± 0.2	6.7 ± 0.4	6.9 ± 0.3
Albumin(g/dL)	3.0 ± 0.1	2.9 ± 0.2	2.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.1 ± 0.1
A/G	0.83 ± 0.04	0.82 ± 0.04	0.80 ± 0.02	0.81 ± 0.03	0.83 ± 0.03	0.83 ± 0.03
T. cho(mg/dL)	60 ± 10	57 ± 19	52 ± 2	63 ± 12	77 ± 19	63 ± 11
TG(mg/dL)	34 ± 34	44 ± 29	31 ± 17	31 ± 5	12 ± 4	10 ± 3
PL(mg/dL)	113 ± 7	111 ± 32	104 ± 13	121 ± 16	134 ± 23	120 ± 17
T. bilirubin(mg/dL)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0
Glucose(mg/dL)	144 ± 16	135 ± 11	127 ± 8	132 ± 4	142 ± 12	136 ± 15
BUN(mg/dL)	18 ± 3	17 ± 2	18 ± 4	20 ± 2	18 ± 5	19 ± 2
Creatinine(mg/dL)	0.32 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.34 ± 0.03
Na(mmol/L)	143 ± 1	142 ± 2	141 ± 1	141 ± 1	142 ± 1	142 ± 0
K(mmol/L)	4.8 ± 0.3	4.9 ± 0.4	4.8 ± 0.4	4.8 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.3
Cl(mmol/L)	110 ± 1	108 ± 2	109 ± 1	108 ± 2	111 ± 1	110 ± 1
Ca(mg/dL)	9.9 ± 0.2	10.2 ± 0.6	10.0 ± 0.3	10.3 ± 0.3	9.7 ± 0.2	9.9 ± 0.2
P(mg/dL)	7.5 ± 0.6	7.6 ± 1.5	8.1 ± 0.6	8.2 ± 1.0	5.4 ± 0.9	5.7 ± 0.5

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significant difference from control group; * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Table 3 Urinalysis of male rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item		Week 6 of administration (mg/kg)				Week 2 of recovery (mg/kg)	
		0	250	500	1000	0	1000
Male							
Number of animals		17	12	12	17	5	5
Volume (mL/24 hr)		20.6 ± 6.3	18.3 ± 3.4	17.4 ± 5.1	20.7 ± 3.7	13.4 ± 7.4	10.8 ± 4.3
Osmolality (mOsm/kg)		1923 ± 368	2090 ± 153	2106 ± 241	2035 ± 230	1854 ± 644	1877 ± 358
Water intake (mL/24 hr)		51 ± 14	44 ± 7	45 ± 8	49 ± 8	48 ± 18	52 ± 9
pH	6.5	1	0	0	0	0	0
	7.0	0	0	0	0	0	0
	7.5	5	0	0	0	1	2
	8.0	10	0	0	0	1	2
	8.5	1	12	7	9	3	1
	9.0	0	0	5	8	0	0
Protein	-	3	1	0	0	0	1
	-/+	13	8	4	0	2	3
	1+	1	3	7	13	3	1
	2+	0	0	1	4	0	0
Ketone body	-	15	10	5	6	2	3
	-/+	2	1	6	9	0	1
	1+	0	1	1	2	3	1
Glucose	-	17	12	12	17	5	5
Occult blood	-	13	10	11	16	4	4
	-/+	2	1	0	0	0	1
	1+	1	1	0	1	1	0
	2+	1	0	1	0	0	0
Bilirubin	-	17	12	12	17	5	5
Urobilinogen	-/+	17	12	12	17	4	5
	1+	0	0	0	0	1	0
Color	Yellow	17	12	12	17	5	5
RBC	-	13	9	12	17	5	5
	-/+	3	3	0	0	0	0
	1+	1	0	0	0	0	0
WBC	-	17	12	12	17	5	5
SEC	-/+	17	12	12	17	5	5
SREC	-	16	12	12	15	5	5
	-/+	1	0	0	2	0	0
Cast	-	17	12	12	17	5	5
PS	-	3	0	0	0	0	1
	-/+	6	7	6	12	3	3
	1+	7	5	6	3	2	1
	2+	1	0	0	2	0	0
CO	-	17	12	12	17	5	5

Values of volume, specific gravity and water intake are expressed as Mean ± S.D., other values are expressed as No. of animals
 SEC: Squamous cell epithelium, SREC: Small round epithelial cell, PS: Phosphate salts, CO: Calcium oxalate

Table 4 Absolute and relative organ weights in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Week 6 of administration (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Male						
Absolute organ weight						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
Body weight (g)	504 ± 33	487 ± 20	468 ± 32	517 ± 35	499 ± 33	516 ± 45
Brain (g)	2.14 ± 0.13	2.05 ± 0.09	2.09 ± 0.04	2.10 ± 0.04	2.16 ± 0.10	2.09 ± 0.11
Thyroids (mg)	24.9 ± 4.2	22.5 ± 4.1	24.9 ± 1.4	29.5 ± 5.2	24.5 ± 5.3	26.7 ± 3.5
Thymus (mg)	370 ± 58	302 ± 49	341 ± 49	391 ± 79	319 ± 128	406 ± 114
Heart (g)	1.42 ± 0.15	1.38 ± 0.10	1.37 ± 0.09	1.41 ± 0.09	1.47 ± 0.16	1.43 ± 0.15
Liver (g)	12.62 ± 1.50	13.01 ± 1.06	12.14 ± 1.05	14.38 ± 1.04	12.28 ± 1.19	13.11 ± 1.61
Spleen (g)	0.80 ± 0.13	0.75 ± 0.12	0.75 ± 0.10	0.82 ± 0.09	0.85 ± 0.14	0.85 ± 0.15
Kidneys (g)	3.50 ± 0.48	3.31 ± 0.21	3.18 ± 0.16	3.60 ± 0.34	3.25 ± 0.26	3.29 ± 0.18
Adrenals (mg)	67 ± 13	64 ± 6	64 ± 13	74 ± 8	63 ± 5	68 ± 9
Number of animals	12	12	12	12	5	5
Body weight (g)	494 ± 28	485 ± 32	488 ± 39	502 ± 29	499 ± 33	516 ± 45
Testes (g)	3.37 ± 0.26	3.33 ± 0.38	3.36 ± 0.30	3.25 ± 0.28	3.44 ± 0.28	3.30 ± 0.45
Epididymis (mg)	1246 ± 112	1231 ± 105	1246 ± 134	1250 ± 99	1351 ± 118	1395 ± 103
Relative organ weight						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
Brain (%)	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.41 ± 0.03
Thyroids (%)	4.9 ± 0.7	4.6 ± 0.8	5.3 ± 0.4	5.7 ± 0.9	4.9 ± 0.8	5.2 ± 0.5
Thymus (%)	74 ± 12	62 ± 11	73 ± 6	75 ± 11	63 ± 21	78 ± 19
Heart (%)	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.28 ± 0.02
Liver (%)	2.51 ± 0.23	2.67 ± 0.12	2.60 ± 0.15	2.78 ± 0.19	2.46 ± 0.18	2.53 ± 0.16
Spleen (%)	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.02
Kidneys (%)	0.69 ± 0.06	0.68 ± 0.03	0.68 ± 0.05	0.70 ± 0.04	0.65 ± 0.06	0.64 ± 0.04
Adrenals (%)	13 ± 2	13 ± 1	14 ± 3	14 ± 2	13 ± 1	13 ± 2
Number of animals	12	12	12	12	5	5
Testes (%)	0.68 ± 0.06	0.69 ± 0.07	0.69 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.69 ± 0.05	0.65 ± 0.13
Epididymis (%)	253 ± 28	254 ± 20	257 ± 33	250 ± 25	271 ± 15	272 ± 37
Item	Day 4 of lactation (mg/kg)				Day 14 of recovery (mg/kg)	
	0	250	500	1000	0	1000
Female						
Number of animals	5	5	5	5	5	5
Body weight (g)	299 ± 16	305 ± 11	306 ± 17	317 ± 10	281 ± 22	294 ± 8
Absolute organ weight						
Brain (g)	1.93 ± 0.08	1.94 ± 0.04	1.91 ± 0.05	1.96 ± 0.06	1.95 ± 0.05	2.01 ± 0.05
Thyroids (mg)	20.9 ± 1.8	19.6 ± 1.5	22.4 ± 6.1	20.0 ± 2.1	15.9 ± 1.8	20.4 ± 3.1*
Thymus (mg)	301 ± 74	262 ± 72	262 ± 56	333 ± 103	329 ± 51	360 ± 50
Heart (g)	0.99 ± 0.05	0.97 ± 0.09	1.01 ± 0.05	1.06 ± 0.12	0.95 ± 0.07	0.95 ± 0.07
Liver (g)	9.70 ± 1.09	10.25 ± 1.06	10.06 ± 0.73	10.72 ± 0.58	7.95 ± 0.49	7.75 ± 0.42
Spleen (g)	0.60 ± 0.05	0.62 ± 0.13	0.73 ± 0.07	0.65 ± 0.03	0.53 ± 0.09	0.48 ± 0.09
Kidneys (g)	2.00 ± 0.12	2.18 ± 0.04	2.33 ± 0.21*	2.36 ± 0.32*	2.09 ± 0.20	2.09 ± 0.10
Adrenals (mg)	87 ± 7	89 ± 10	99 ± 10	101 ± 15	76 ± 11	76 ± 7
Relative organ weight						
Brain (%)	0.65 ± 0.02	0.64 ± 0.03	0.62 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.70 ± 0.06	0.69 ± 0.04
Thyroids (%)	7.0 ± 0.3	6.4 ± 0.6	7.3 ± 1.7	6.3 ± 0.8	5.7 ± 0.4	6.9 ± 1.2
Thymus (%)	100 ± 22	86 ± 25	86 ± 17	105 ± 33	117 ± 15	122 ± 15
Heart (%)	0.33 ± 0.01	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.32 ± 0.02
Liver (%)	3.23 ± 0.20	3.36 ± 0.29	3.30 ± 0.28	3.38 ± 0.16	2.83 ± 0.17	2.64 ± 0.15
Spleen (%)	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.05	0.23 ± 0.01*	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.03	0.16 ± 0.03
Kidneys (%)	0.67 ± 0.04	0.72 ± 0.02	0.76 ± 0.08	0.74 ± 0.08	0.74 ± 0.06	0.71 ± 0.05
Adrenals (%)	29 ± 2	29 ± 4	33 ± 3	32 ± 4	27 ± 3	26 ± 2

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significant difference from control group; * $p < 0.05$

Table 5 Histopathological findings in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Week 6 of administration (mg/kg)								Day 14 of recovery (mg/kg)				
	0		250		500		1000		0		1000		
	P	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Male													
Number of animals necropsied		5			5			5			5		
Epididymis	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Cell debris/ duct	0	0	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Femur+marrow	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Fibrosis/ marrow	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Heart	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Myocarditis/ focal	0	2	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Kidney	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Basophilia/ tubular	0	3	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Eosinophilic body/ tubular cell	0	0	1	-	-	-	-	2	0	-	-	-	-
Liver	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Vacuolation/ hepatocyte/ periportal	0	3	0	-	-	-	-	4	1	-	-	-	-
Hematopoiesis/ extramedullary	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Microgranuloma	0	4	0	-	-	-	-	3	0	-	-	-	-
Lung (bronchus)	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Accumulation/ foam cell	0	1	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Pituitary	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Pseudocyst/ intermediate	1	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Spleen	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Hematopoiesis/ extramedullary	0	5	0	-	-	-	-	4	1	-	-	-	-
Stomach	(5)			(5)		(5)		(5)		(5)		(5)	
Cell infiltration	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
Erosion/ glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
Increased number/ globule leukocyte	0	0	1	0	0	2	0	2	2	0	0	3	0
Thickening/ mucosa/ glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
Thickening/ limiting ridge	0	1	0	0	0	2	0	0	5	0	0	5	0
Sternum+marrow	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Fibrosis/ marrow	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Testis	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Atrophy/ seminiferous tubular	0	0	0	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-
Urinary bladder	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Hyperplasia/ mucosal	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-

1:Slight 2:Mild P:Present (used when grading of severity was not done)

Numbers in parenthesis indicate No. of animals examined microscopically at this site.

Table 5 (Continued)

Item	Day 4 of lactation (mg/kg)								Day 14 of recovery (mg/kg)				
	0			250		500		1000		0		1000	
	P	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Female													
Number of animals necropsied		5			5			5			5		5
Femur+marrow	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Fibrosis/ marrow	0	1	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Heart	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Myocarditis/ focal	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Kidney	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Basophilia/ tubular	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Eosinophilic body/ tubular cell	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Liver	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Vacuolation/ hepatocyte/ periportal	0	2	0	-	-	-	-	3	0	-	-	-	-
Hematopoiesis/ extramedullary	0	1	0	-	-	-	-	3	0	-	-	-	-
Microgranuloma	0	4	0	-	-	-	-	3	0	-	-	-	-
Lung(bronchus)	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Accumulation/ foam cell	0	1	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-
Pituitary	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Pseudocyst/ intermediate	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Spleen	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Hematopoiesis/ extramedullary	0	1	4	-	-	-	-	0	5	-	-	-	-
Stomach	(5)			(5)		(5)		(5)		(5)		(5)	
Cell infiltration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erosion/ glandular stomach	0	0	0	2	0	2	0	1	0	1	0	0	0
Increased number/ globule leukocyte	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Thickening/ mucosa/ glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Thickening/ limiting ridge	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sternum+marrow	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Fibrosis/ marrow	0	1	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-
Urinary bladder	(5)			(0)		(0)		(5)		(0)		(0)	
Hyperplasia/ mucosal	0	0	0	-	-	-	-	1	0	-	-	-	-

1:Slight 2:Mild P:Present (used when grading of severity was not done)

Numbers in parenthesis indicate No. of animals examined microscopically at this site.

Table 6 Fertility and pregnancy data in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Administration period (mg/kg)			
	0	250	500	1000
Number of pairs examined	12	12	12	12
Estrous cycle	4.1 ± 0.3	4.3 ± 0.4	4.1 ± 0.1	4.1 ± 0.3
Irregular estrous cycle	0/12	0/12	0/12	0/12
Number of pairs with successful mating	12	12	12	12
Copulation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant females	12	12	12	12
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Days until copulation	2.7 ± 1.7	2.6 ± 1.2	2.4 ± 0.9	2.8 ± 1.1

a) Copulation index (%) = (Number of copulated animals/number of mated animals) × 100

b) Fertility index (%) = (Number of pregnant animals/number of copulated females) × 100

Values are expressed as Mean ± S.D.

Table 7 Delivery and litter data in rats treated orally with 2-amino-2-ethyl-1,3-propanediol in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Item	Administration period (mg/kg)			
	0	250	500	1000
Number of females examined	12	12	12	12
Number of females with liveborn	12	12	12	12
Gestation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Gestation period	22.0 ± 0.4	22.3 ± 0.3	22.1 ± 0.3	22.2 ± 0.4
Number of corpora lutea	17.3 ± 1.5	16.7 ± 2.1	17.4 ± 1.5	16.8 ± 2.2
Number of implantations	16.0 ± 1.5	15.7 ± 2.2	16.6 ± 1.9	16.1 ± 1.8
Implantation index (%) ^{b)}	92.9 ± 5.4	94.0 ± 5.1	95.1 ± 5.1	96.4 ± 5.9
Delivery index (%) ^{c)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of liveborn	15.3 ± 1.3	14.3 ± 3.0	14.8 ± 2.9	15.2 ± 1.7
Number of stillborn (%) ^{d)}	1.5 ± 3.8	0.6 ± 1.9	1.0 ± 2.4	1.1 ± 2.7
Number of live pups on day 0	15.3 ± 1.3	14.3 ± 3.0	14.8 ± 2.9	15.2 ± 1.7
Number of pups with external abnormalities (%) ^{e)}	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.5 ± 1.7
Live birth index (%) ^{f)}	98.5 ± 3.8	99.4 ± 1.9	99.0 ± 2.4	98.9 ± 2.7
Sex ratio ^{g)}	0.58	0.54	0.44*	0.55
Number of live pups on day 4	14.9 ± 1.2	13.8 ± 2.6	14.5 ± 2.6	14.8 ± 1.6
Viability index on day 4 (%) ^{h)}	97.9 ± 3.1	97.0 ± 4.8	98.1 ± 2.9	98.0 ± 5.3
Body weight of pups (g)				
on day 0 male	6.4 ± 0.5	6.9 ± 0.5*	6.7 ± 0.5	6.7 ± 0.4
female	6.2 ± 0.4	6.5 ± 0.5	6.3 ± 0.4	6.3 ± 0.4
on day 4 male	9.8 ± 0.8	10.9 ± 1.5	10.1 ± 1.2	10.1 ± 1.0
female	9.5 ± 1.0	10.2 ± 1.4	9.7 ± 1.2	9.5 ± 1.2

a) Gestation index (%) = (Number of females with liveborn/number of pregnant females) × 100

b) Implantation index (%) = (Number of implantations/number of corpora lutea) × 100

c) Delivery index (%) = (Number of females which delivered live pups/number of pregnant females) × 100

d) Number of stillborn (%) = (Number of stillborn pups/number of stillborn and liveborn pups) × 100

e) Number of pups with external abnormalities (%) = (Number of liveborn pups with external abnormalities/number of liveborn pups) × 100

f) Live birth index (%) = (Number of liveborn pups/number of stillborn and liveborn pups) × 100

g) Sex ratio = Number of males/number of liveborn pups

h) Viability index (%) = (Number of live pups on day 4/number of liveborn pups on day 0) × 100

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *p < 0.05

2-アミノ-2-エチル-1,3-プロパンジオールの細菌を用いる復帰変異試験

Reverse Mutation Test of 2-Amino-2-ethyl-1,3-propanediol in Bacteria

要約

2-アミノ-2-エチル-1,3-プロパンジオールの遺伝子変異誘発性の有無を検討するため、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (以下、*S. typhimurium* と略す) TA100, TA98, TA1535, TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli* (以下、*E. coli* と略す) WP2 *uvrA* の5菌株を用いて復帰変異誘発試験を実施した。

試験は濃度設定試験及び本試験を実施し、非代謝活性化系及び代謝活性化系存在下の条件で、ブレインキューベーション法で実施した。被験物質の溶媒には注射用水を用いた。なお、被験液の処理用量は濃度設定試験で 0.305～5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で8用量、本試験で 156～5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で6用量を設定した。

濃度設定試験において、菌株の種類に関わらず、代謝活性化系存在下で最高用量 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で白色結晶物の析出が認められた。同様に、本試験においても、菌株の種類に関わらず、代謝活性化系存在下で 2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の被験物質処理群で白色結晶物の析出が認められた。なお、非代謝活性化系存在下においては濃度設定試験及び本試験ともに、菌株の種類に関わらず、全被験物質処理群で沈殿及び結晶物の析出は認められなかった。また、菌株に対しての増殖抑制は濃度設定試験及び本試験の全被験物質処理群において、菌株の種類及び代謝活性化の有無に関わらず、認められなかった。一方、溶媒対照と比較して2倍以上かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加は濃度設定試験及び本試験の全被験物質処理群において、菌株の種類及び代謝活性化の有無に関わらず、認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において2-アミノ-2-エチル-1,3-プロパンジオールは細菌に対して復帰変異誘発性を示さない(陰性)と判定した。

方法

1. 試験菌株

試験菌株としてヒスチジン要求性の *S. typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537) 並びにトリプトファン要求性の *E. coli* WP2 *uvrA* の5種類を選択した。

これらの菌株はいずれも1997年10月9日に国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部から入手した。試験菌株は-80℃設定の超低温フリーザーで保存したものを用いた。各菌株は、アミノ酸要求性、紫外線(UV)感受性、膜変異(*rfa*)及びアンピシリン耐性因子pKM101(プラス

ミド)の有無について調べ、特性が維持されていることを確認した。

試験に際して、解凍した菌液をニュートリエントブロス No.2 (UNIPATH LTD.) を入れた培養用三角フラスコに一定量を接種し、37℃で約8時間振盪培養したものを検定菌液とした。なお、分光光度計を用いて660 nmの吸光度を測定し、試験菌液の増殖を確認した。

2. 培地の調製

1) 最少グルコース寒天平板培地(プレート)

最少グルコース寒天平板培地はオリエンタル酵母工業から購入し、試験に用いた。本プレート組成は、Vogel-Bonnerの最少培地Eを含む水溶液(最終濃度:0.02%硫酸マグネシウム7水塩, 0.2%クエン酸1水塩, 1%リン酸二カリウム無水塩, 0.192%リン酸一アンモニウム, 0.06%水酸化ナトリウム)に2%グルコース(和光純薬工業)及び1.5%の寒天(伊那食品工業)を加え、径90 mmの滅菌シャーレ当たり30 mLを分注して固めたものである。

2) アミノ酸添加軟寒天培地(トップアガー)

0.6 w/v%寒天粉末(Difco)及び0.6 w/v%塩化ナトリウム(和光純薬工業)の組成の軟寒天を調製し、これに、*S. typhimurium*用には0.5 mmol/L D-ビオチン(和光純薬工業)及び0.5 mmol/L L-ヒスチジン(和光純薬工業)水溶液、*E. coli*用には0.5 mmol/L L-トリプトファン(ナカライテスク)水溶液を1/10容量加え、トップアガーとした。

3. S9 mix

フェノバルビタール及び5,6-ベンゾフラボン(7週齢投与したSprague-Dawley系雄ラットに腹腔内投与した肝臓から調製されたS9並びに補酵素をオリエンタル酵母工業から購入し、S9 mixを調製した。

4. 被験物質

2-アミノ-2-エチル-1,3-プロパンジオール(ロット番号:HDE01, 製造元:東京化成工業, 東京)は純度99.4 wt%, 微黄色透明の粘性の液体で、冷暗所に保存した。

5. 被験液の調製

溶媒は、注射用水(日本薬局方, 大塚製薬工場)を用いた。被験物質を溶媒で希釈して原液(50.0 mg/mL)を調製し、次いで順次溶媒で希釈して各濃度の被験液を調製