

既存化学物質の人健康影響に関する情報

(平成19年12月21日開催)

CAS No.	官報公示 整理番号	物質名称	試験名	ページ
103-44-6	2-372 2-575	2-エチルヘキシル=ビニル=エーテル	復帰突然変異試験	1
			染色体異常試験	23
			28日間反復経口投与毒性試験	47
4130-42-1	4-362	2,6-ジ-tert-ブチル-4-エチルフェノール	復帰突然変異試験	129
			染色体異常試験	157
			28日間反復経口投与毒性試験	187
2173-57-1	3-540	2-ナフチルイソブチルエーテル	復帰突然変異試験	269
			染色体異常試験	292
			28日間反復経口投与毒性試験	314

※ 本資料は試験受託機関より提出された最終報告書をもとに、要約あるいは抜粋等を行い作成したものである。

1. 要約

当該試験条件下において、2-ethylhexyl vinyl ether には遺伝子突然変異を誘起する作用がないものと判断した。

2-ethylhexyl vinyl ether の遺伝子突然変異誘発性を検討するため、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100 株, TA98 株, TA1535 株および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA 株を用いた復帰突然変異試験を行った。

2-ethylhexyl vinyl ether 処理では、0.610~5000 μg /プレートのいずれの用量においても、ラット肝マイクロソーム (S9) 添加の有無にかかわらず、陰性対照の2倍を超えるような復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質は、各試験菌株に対し明確な突然変異誘発作用を示した。

また、用量設定試験、同追加試験および本試験により、試験結果の再現性が確認された。

2. 表題

2-ethylhexyl vinyl ether の細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 試験目的

被験物質の *in vitro* における遺伝子突然変異誘発性を検討する。

4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP

ガイドライン

- 新規化学物質等に係る試験の方法について (平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121002 号, 平成 15・11・13 製局第 2 号, 環保企発第 031121002 号)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals 471 (21st July 1997: Bacterial Reverse Mutation Test)

GLP

- 新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について (平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121003 号, 平成 15・11・17 製局第 3 号, 環保企発第 031121004 号)
- OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997), ENV/MC/CHEM(98)17

5. 試験番号

9046 (115-197)

6. 試験施設

〒437-1213 静岡県磐田市塩新田 582-2

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター (略称 安評センター)

Tel: 0538-58-1266 Fax: 0538-58-1393

7. 試験委託者

〒100-8916 東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室

Tel: 03-3595-2298 Fax: 03-3593-8913

11. 試験日程

試験開始日：	平成17年7月13日
実験開始日：	平成17年7月27日
【用量設定試験】	
被験物質液調製日：	平成17年7月27日
被験物質処理日：	平成17年7月27日
コロニー計数日：	平成17年7月29日
【用量設定試験（追加試験）】	
被験物質液調製日：	平成17年8月10日
被験物質処理日：	平成17年8月10日
コロニー計数日：	平成17年8月12日
【本試験】	
被験物質液調製日：	平成17年8月23日
被験物質処理日：	平成17年8月23日
コロニー計数日：	平成17年8月25日
実験終了日：	平成17年8月25日
試験終了日：	平成18年9月11日

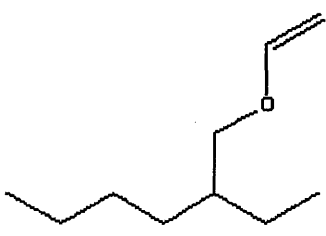
12. 被験物質

12.1. 被験物質名

2-ethylhexyl vinyl ether (2-エチルヘキシル=ビニル=エーテル)

12.2. ロット番号

05A001

- 12.3. 純度
99.9%
- 12.4. 提供元
日本カーバイド工業株式会社
- 12.5. 出荷年月日
2005年3月11日
- 12.6. 保存条件
遮光, 冷暗所 (1~9°C)
- 12.7. 保存場所
安評センター被験物質保管庫 (H-2 : 実測値 3.4~4.8°C, 2005年3月14日~2005年7月25日 ; 6号館2階被験物質調製室内バイオマルチクーラーch. 41 : 実測値 4.8~7.7°C, 2005年7月25日~2005年10月6日)
- 12.8. 化学名
2-ethylhexyl vinyl ether
- 12.9. CAS No.
103-44-6
- 12.10. 化学構造
- 
- The image shows the skeletal structure of 2-ethylhexyl vinyl ether. It consists of a six-carbon main chain (hexyl group) with an ethyl group attached to the second carbon. The first carbon of the main chain is part of a vinyl ether group, represented as a carbon atom double-bonded to another carbon atom and single-bonded to an oxygen atom, which is in turn single-bonded to the first carbon of the main chain.
- 12.11. 分子式
 $C_{10}H_{20}O$
- 12.12. 分子量
156.27
- 12.13. 物質の状態
無色透明液体
- 12.14. 溶解性
溶解度 : 0.05 g/100 g 水, 約 157 mg/mL DMSO (当施設の試験による)

12.15. 安定性／反応性

酸化剤, 重金属には不安定 (重合, 分解を起こす).
高温化では不安定.

12.16. 蒸気圧

3.3 kPa (25 mmHg)

12.17. 取り扱い上の注意

危険性: 可燃性液体で, 蒸気は爆発性ガスを作りやすい.

有害性: 蒸気は咽喉, 目, 鼻などの粘膜を刺激する.

軽度の麻酔作用がある.

液体が目に入ると粘膜を侵し, 炎症を起こす.

適切な保護具 (マスク・手袋等) を着用し, 吸い込んだり, 目, 皮膚および衣類に触れないようにした.

12.18. 毒性

急性経口毒性 (ラット): LD₅₀, 1350 mg/kg

12.19. 残余被験物質の処理

実験終了後, 1.0 g を資料保存施設管理責任者の管理下で安評センターに保存し, 残りは安定性分析のため, 被験物質等管理責任者を介して日本カーバイド工業株式会社に返却した. 分析の結果 (2005年11月22日付報告), 被験物質が試験期間中安定であったことが確認された.

13. 試験材料および方法

13.1. 試験菌株

細菌を用いる復帰突然変異試験において遺伝毒性ガイドラインでは試験菌株が指定されていることから, 試験菌株として次の5種類の菌株を使用した.

ネズミチフス菌	TA100	(ヒスチジン要求性の塩基対置換型)
ネズミチフス菌	TA98	(ヒスチジン要求性のフレームシフト型)
ネズミチフス菌	TA1535	(ヒスチジン要求性の塩基対置換型)
ネズミチフス菌	TA1537	(ヒスチジン要求性のフレームシフト型)
大腸菌	WP2 <i>uvrA</i>	(トリプトファン要求性の塩基対置換型)

ネズミチフス菌は1983年9月9日にカリフォルニア大学 (エイムス教授) から, また, 大腸菌については1983年3月16日に国立衛生試験所 (現 国立医薬品食品衛生研究所) から分与を受けた.

2004年9月6日~同年9月9日に菌株の特性検査を実施し, 規定の特性を保持して

いる菌株を試験に使用した。各菌株の菌懸濁液にジメチルスルホキシド (DMSO, GC 用, 純度 99.9%, Lot No. K30049278, Merck) を容量比 80 : 7 の割合で添加した後, 凍結保存用チューブに 0.2 mL ずつ分注した。これを液体窒素を用いて凍結した後, 超低温フリーザー (MDF-U71V, 三洋電機バイオメディカ; 設定値: -80°C, 基準値: -60°C 以下) に保存した。

13.2. 培地の調製

13.2.1. 最少グルコース寒天平板培地 (プレート)

テスメディア AN 培地 (2005 年 3 月 8 日製造, Lot No. ANI200CU, オリエンタル酵母工業) を試験に使用した。本プレートは, Vogel-Bonner 最少培地 E を含む溶液 30 mL を無菌的にシャーレに分注したものである。

最少グルコース寒天平板培地の組成を以下に示した。

硫酸マグネシウム七水和物	0.2	g
クエン酸一水和物	2	g
リン酸水素二カリウム	10	g
リン酸二水素アンモニウム	1.92	g
水酸化ナトリウム	0.66	g
D(+) グルコース	20	g
寒天 (BA-30A, Lot No. 40721, 伊那食品工業)	10.5	g
精製水	1000	mL

13.2.2. トップアガー

塩化ナトリウム 0.5 w/v% および寒天 (Bacto-agar, Lot No. 3069265, BD Diagnostic Systems) 0.6 w/v% を含む水溶液をオートクレーブで滅菌した。ネズミチフス菌を用いる試験の場合, 0.5 mmol/L L-ヒスチジン (Lot No. 308C2055, 関東化学) および 0.5 mmol/L D-ビオチン (Lot No. 301C2275, 関東化学) 水溶液を寒天溶液 10 容量に対し 1 容量加え, 大腸菌を用いる試験の場合, 0.5 mmol/L L-トリプトファン (Lot No. 008D2026 【用量設定試験】, Lot No. 211D2047 【本試験】 関東化学) 水溶液を同じく 1 容量加えた。

13.3. 試験菌株の前培養

内容量 200 mL のバツフル付三角フラスコに 2.5 w/v% ニュートリエントブロス (Nutrient Broth No. 2, Lot No. 298714, Oxoid) 培養液を 25 mL 分注し, これに融解した菌懸濁液を 50 μ L 接種した。フラスコをクールバスシェーカー (ML-10F, タイテック) に設置し, 培養開始までの間, 設定温度 4°C に静置した。その後, 37°C の条件で 8 時間振盪 (100 回/分) 培養した。試験毎に菌株の培養を実施し, 菌懸濁液は培養終了後速やかに使用した。

ATPフォトメーター (ルミテスターK-100, キッコーマン) を用い, 試験菌株の生菌数が 1.0×10^9 /mL以上であることを確認した. 生菌数を次の表に示した.

試験	生菌数 ($\times 10^9$ /mL)				
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
用量設定試験	3.50	3.22	4.70	3.92	1.47
追加試験	3.79	3.65	—	3.21	1.72
本試験	3.02	2.79	3.03	2.49	1.20

13.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (Lot No. FSM-523【用量設定試験および追加試験】, Lot No. FSM-526【本試験】, キッコーマン) を試験に使用した. 使用時まで超低温フリーザー (設定値: -80°C , 基準値: -60°C 以下) に保存した.

13.4.1. S9 の調製方法

S9 調製の際の動物種, 性, 臓器, 誘導物質ならびに誘導方法を以下に示した.

	用量設定試験, 追加試験	本試験
ロット番号	RAA-523	RAA-526
製造年月日	2005 年 6 月 17 日 (誘導物質投与開始後 5 日目)	2005 年 7 月 29 日 (同左)
使用動物	ラット: Sprague-Dawley 系	
性/週齢	雄/7 週齢	
体重	207~243 g	215~259 g
臓器	肝臓	
誘導物質	Phenobarbital (PB) および 5,6-Benzoflavone (BF)	
投与量 および 投与回数	PB: 30 mg/kg 1 回 (1 日目), 60 mg/kg 3 回 (2~4 日目) BF: 80 mg/kg 1 回 (3 日目)	
投与方法	腹腔内投与	
蛋白含量	26.05 mg/mL	25.58 mg/mL

13.4.2. S9 mix の組成

S9 mix 1 mL 中の量を以下に示した.

S9	0.1	mL
MgCl ₂	8	μmol
KCl	33	μmol
G-6-P	5	μmol
NADPH	4	μmol
NADH	4	μmol
Na-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100	μmol

13.5. 被験物質液の調製

本被験物質は水に難溶で DMSO に溶解することから、被験物質をモレキュラーシーブを用いて脱水処理を行った DMSO (Lot No. K31758278, Merck) に溶解し、調製原液とした。

用量設定試験では、使用直前に被験物質 400 mg を精密に量り、目盛付き試験管に移した後、約 6 mL の DMSO (使用溶媒) を加え、攪拌しながら溶解させた。さらに、DMSO を加えて 8 mL に定容し、調製原液 (50.0 mg/mL 溶液) を準備した。4.5 mL の DMSO にこの 50.0 mg/mL 調製原液 3 mL を加えることにより 20.0 mg/mL 溶液を調製した。以下同様な希釈を順次行うことにより、8.00, 3.20, 1.28, 0.512, 0.205 および 0.0819 mg/mL 溶液を調製した。調製後、速やかに使用した。また、用量設定試験 (追加試験) では、使用直前に被験物質 20.0 mg を精密に量り、目盛付き試験管に移した後、約 8 mL の DMSO (使用溶媒) を加え、攪拌しながら溶解させた。さらに、DMSO を加えて 10 mL に定容し、調製原液 (2.00 mg/mL 溶液) を準備した。3 mL の DMSO にこの 2.00 mg/mL 調製原液 3 mL を加えることにより 1.00 mg/mL 溶液を調製した。以下同様な希釈を順次行うことにより、0.500, 0.250, 0.125, 0.0625, 0.0313, 0.0156 および 0.00781 mg/mL 溶液を調製した。調製後、速やかに使用した。

本試験では、使用直前に被験物質 300 mg を精密に量り、目盛付き試験管に移した後、約 4 mL の DMSO (使用溶媒) を加え、攪拌しながら溶解させた。さらに、DMSO を加えて 6 mL に定容し、調製原液 (50.0 mg/mL 溶液) を準備した。3.0 mL の DMSO にこの 50.0 mg/mL 調製原液 3.0 mL を加えることにより 25.0 mg/mL 溶液を調製した。以下同様な希釈を順次行うことにより、12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.781, 0.391, 0.195, 0.0977, 0.0488, 0.0244, 0.0122 および 0.00610 mg/mL 溶液を調製した。調製後、速やかに使用した。

13.6. 対照群

13.6.1. 陰性 (溶媒) 対照

被験物質の溶媒である DMSO を使用した。

13.6.2. 陽性対照

調製済み陽性対照物質溶液 (保証期限: 2006 年 9 月 1 日, オリエンタル酵母工業) を試験に使用した。使用時まで超低温フリーザー (設定値: -80°C, 基準値: -60°C 以下) に保存した。陽性対照物質名および用量等を以下に示した。

- AF-2 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
 NaN₃ アジ化ナトリウム
 9-AA 9-アミノアクリジン塩酸塩
 2-AA 2-アミノアントラセン

《代謝活性化系非存在下: -S9 処理》

菌株	化合物名	陽性対照調製日	用量 (µg/プレート)	陽性対照溶液濃度 (µg/mL)	ロット番号
ネズミチフス菌 TA100	AF-2	2005.2.3	0.01	0.1	050203AF01
ネズミチフス菌 TA98	AF-2	2005.2.3	0.1	1.0	050203AF10
ネズミチフス菌 TA1535	NaN ₃	2005.2.2	0.5	5.0	050202N
ネズミチフス菌 TA1537	9-AA	2005.2.3	80	800	050203A9
大腸菌 WP2uvrA	AF-2	2005.2.3	0.01	0.1	050203AF01

《代謝活性化系存在下: +S9 処理》

ネズミチフス菌 TA100	2-AA	2005.2.2	1.0	10	050202A210
ネズミチフス菌 TA98	2-AA	2005.2.2	0.5	5.0	050202A205
ネズミチフス菌 TA1535	2-AA	2005.2.2	2.0	20	050202A220
ネズミチフス菌 TA1537	2-AA	2005.2.2	2.0	20	050202A220
大腸菌 WP2uvrA	2-AA	2005.2.2	10	100	050202A2100

なお, これらの用量は「安衛法における変異原性試験-テストガイドラインと GLP」(労働省安全衛生部化学物質調査課編, 1991 年) に準じて設定した。