

最終報告書

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号 : 9052 (115-203)

平成 18 年 9 月 19 日

試験委託者
厚生労働省 医薬食品局

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

目 次

| | |
|--------------------|----|
| 1. 要約..... | 4 |
| 13. 被験物質..... | 6 |
| 14. 試験材料および方法..... | 8 |
| 15. 試験結果..... | 14 |
| 16. 考察および結論..... | 15 |
| 17. 参考文献..... | 16 |

Figures

| | | |
|----------|---|----|
| Figure 1 | Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA100..... | 18 |
| Figure 2 | Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA1535..... | 19 |
| Figure 3 | Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain WP2 <i>uvrA</i> | 20 |
| Figure 4 | Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA98..... | 21 |
| Figure 5 | Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA1537..... | 22 |
| Figure 6 | Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA100..... | 23 |
| Figure 7 | Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA1535..... | 24 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figure 8 | Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain WP2 _{uvrA} | 25 |
| Figure 9 | Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA98 | 26 |
| Figure 10 | Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt in strain TA1537 | 27 |
| Tables | | |
| Table 1 | Summary data on dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt [Non-activation method: -S9]..... | 28 |
| Table 2 | Summary data on dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt [Activation method: +S9]..... | 29 |
| Table 3 | Summary data on bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt [Non-activation method: -S9]..... | 30 |
| Table 4 | Summary data on bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt [Activation method: +S9]..... | 31 |

1. 要約

当該試験条件下において、benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 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。

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 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。

その結果, benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 処理では, 8.19~5000 µg/プレート のいずれの用量においても, ラット肝ミクロソーム (S9) 添加の有無にかかわらず, 陰性対照の 2 倍以上の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, 用量設定試験ならびに本試験において, 試験結果の再現性が確認された。

13. 被験物質

13.1. 被験物質名

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt

13.2. 純度／含量

> 95%

(不純物)

Benzenesulfonic acid, 2-hydroxy-, tin (2+) salt: < 2%

Benzenesulfonic acid, 2,4-hydroxy-, tin (2+) salt: < 2%

13.3. 提供元

13.4. 製造年月日

2005年9月22日

13.5. 保存条件

室温

13.6. 保存場所

安評センター被験物質保管用室温保管庫

- 7号館2階被験物質調製室B内室温保管室 ch. 74

保存期間:2005年9月27日~2006年1月31日および2006年5月2日~同年5月9日(返却日)

実測値:12.5~22.6°C および 20.4~22.1°C

(電気配線工事中:2005年10月21日, 18:20~19:20, 実測値:20.4~20.7°C)

(電気年次点検期間中:2005年12月4日, 9:20~14:00, 実測値:13.2~15.6°C)

- 6号館2階被験物質調製室内スーパードライ ch. 40

保存期間:2006年1月31日~同年5月2日

実測値:21.9~25.8°C

13.7. 一般名

フェノールスルホン酸スズ

13.8. 化学名

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt

13.9. CAS No.

70974-33-3

13.10. 化学構造

$[\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{SO}_3]_2\text{Sn}$

13.11. 分子式

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_8\text{S}_2\text{Sn}$

13.12. 分子量

465.05

13.13. 物質の状態

白色結晶性の固体

13.14. 安定性

実験終了後、株式会社 大和化成研究所で残余被験物質を分析した結果、被験物質は実験期間中安定であったことが確認された (2006年5月19日付報告)。

13.15. 溶解度

水 : 420 mg/mL

13.16. 取り扱い上の注意

取り扱いに際しては、マスクおよび手袋を着用する。

13.17. 残余被験物質の処理

実験終了後、1 g の被験物質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、残りは被験物質等管理責任者を介して被験物質提供元に返却した。

14. 試験材料および方法

14.1. 試験菌株

細菌を用いる復帰突然変異試験のガイドラインで指定されている、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 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。

2005年8月30日~同年9月1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. K31758278, 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。

14.2. 培地の調製

14.2.1. 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11月8日製造, Lot No. ANI910KU, 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す。

| | | |
|------------------------------------|------|----|
| 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. 41201, 伊那食品工業) | 12.0 | g |
| 精製水 | 1000 | mL |

14.2.2. 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. 4246218, 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. 702W2180, 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. 211D2047, 関東化学) 水溶液を同じく 1 容量加えた。

14.3. 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。生菌数を以下の表に示す。

| 試験 | 生菌数 ($\times 10^9$ /mL) | | | | |
|--------|--------------------------|--------|-----------------|------|--------|
| | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 用量設定試験 | 4.42 | 4.56 | 3.98 | 2.79 | 2.04 |
| 本試験 | 4.67 | 3.82 | 5.02 | 3.26 | 1.99 |

14.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (Lot No. FSM-535, 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。

14.4.1. 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す.

| | |
|----------------|---|
| ロット番号 | RAA-535 |
| 製造年月日 | 2005年12月16日 (誘導物質投与開始後5日目) |
| 使用動物 | ラット: Sprague-Dawley 系 |
| 性/週齢 | 雄/7週齢 |
| 体重 | 175~239 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 | 25.14 mg/mL |

14.4.2. S9 mix の組成

S9 mix 1 mL 中の量を以下に示す.

| | |
|--------------------|----------|
| 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 |

14.5. 被験物質液の調製

本被験物質は水に易溶であることから, 被験物質を注射用水 (日本薬局方注射用水, Lot No. K5F75, 大塚製薬工場) に溶解させた.

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 の注射用水を加え, 攪拌しながら溶解させた. さらに, 注射用水を加えて 8 mL に定容し, 調製原液 (50.0 mg/mL 液) を準備した. 注射用水 4.5 mL 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 液を調製した. 以下同様に希釈を行い, 8.00, 3.20, 1.28, 0.512, 0.205 および 0.0819 mg/mL 液を調製した. 調製後 30 分以内に使用した.

本試験では、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 の注射用水を加え、攪拌しながら溶解させた。さらに、注射用水を加えて 8 mL に定容し、調製原液 (50.0 mg/mL 液) を準備した。注射用水 4 mL に、この 50.0 mg/mL 調製原液 4 mL を加えることにより、25.0 mg/mL 液を調製した。以下同様に希釈を行い、12.5, 6.25, 3.13 および 1.56 mg/mL 液を調製した。調製後 30 分以内に使用した。

なお、被験物質液は調製後 3 時間以内では発熱、発色、発煙等の変化がなかった。

14.6. 対照群

14.6.1. 陰性 (溶媒) 対照

被験物質の溶媒である注射用水を使用した。

14.6.2. 陽性対照

安評センターにて調製した次に示す陽性対照物質溶液 (使用期限: 2007 年 3 月 2 日) を試験に使用した。AF-2, 9-AA および 2-AA は、DMSO (Lot No. K31758278, Merck) を用いて調製し、NaN₃ は、注射用水 (日本薬局方注射用水, Lot No. 4B72N, 大塚製薬工場) を用いて調製した。各調製液を 0.5 mL ずつ分注した後、凍結 (設定値: -80°C, 基準値: -60°C 以下) 保存したものを試験に用いた。

| | |
|------------------|---|
| AF-2 | 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (含量 99.5%, Lot No. PKE1831, 和光純薬工業) |
| NaN ₃ | アジ化ナトリウム (純度 99.5%, Lot No. KLH1033, 和光純薬工業) |
| 9-AA | 9-アミノアクリジン塩酸塩 (純度 99.3%, Lot No. 16323JR, Sigma-Aldrich) |
| 2-AA | 2-アミノアントラセン (含量 95.0%, Lot No. KLH1058, 和光純薬工業) |

《代謝活性化系非存在下: -S9 処理》

| 菌株 | 陽性対照物質 | 調製日 | 用量 (µg/プレート) | 陽性対照物質溶液濃度 (µg/mL) |
|---------------------|------------------|----------|--------------|--------------------|
| ネズミチフス菌 TA100 | AF-2 | 2005.8.3 | 0.01 | 0.1 |
| ネズミチフス菌 TA98 | AF-2 | 2005.8.3 | 0.1 | 1.0 |
| ネズミチフス菌 TA1535 | NaN ₃ | 2005.8.3 | 0.5 | 5.0 |
| ネズミチフス菌 TA1537 | 9-AA | 2005.8.3 | 80 | 800 |
| 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i> | AF-2 | 2005.8.3 | 0.01 | 0.1 |

《代謝活性化系存在下：+S9 処理》

| 菌株 | 陽性対照物質 | 調製日 | 用量 (µg/プレート) | 陽性対照物質溶液濃度 (µg/mL) |
|---------------------|--------|----------|--------------|--------------------|
| ネズミチフス菌 TA100 | 2-AA | 2005.8.3 | 1.0 | 10 |
| ネズミチフス菌 TA98 | 2-AA | 2005.8.3 | 0.5 | 5.0 |
| ネズミチフス菌 TA1535 | 2-AA | 2005.8.3 | 2.0 | 20 |
| ネズミチフス菌 TA1537 | 2-AA | 2005.8.3 | 2.0 | 20 |
| 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i> | 2-AA | 2005.8.3 | 10 | 100 |

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。

14.6.3. 無菌試験

被験物質液（調製原液）ならびに S9 mix については無菌試験を実施した。すなわち、調製原液 100 µL あるいは S9 mix 500 µL にトップアガーを 2 mL 添加し、プレート上に注いだ。37°C の条件で 48 時間培養した後、雑菌汚染の有無を確認した。調製原液および S9 mix のいずれについても 2 枚のプレートを用いて無菌試験を実施した。

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 調製原液および S9 mix において、雑菌の増殖は認められなかった。

14.7. 用量設定試験（予備試験）

14.7.1. 用量

用量設定試験における被験物質の用量として、ガイドライン上定められた 5000 µg/プレートを最高用量とし、以下 2000, 800, 320, 128, 51.2, 20.5 および 8.19 µg/プレートを設定した。

14.7.2. 使用プレート数および識別方法

用量当たり 3 枚のプレートを用いた。

油性インクを用いて試験菌株、S9 mix の有無および用量を明記することにより各プレートを識別した。

14.7.3. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養条件

試験管に使用溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液を 100 µL、次いで代謝活性化系非存在下（-S9 処理）の場合、0.1 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液（pH 7.4）を 500 µL、代謝活性化系存在下（+S9 処理）の場合、S9 mix を 500 µL 分注した。さらに前培養した試験菌株懸濁液 100 µL を加えた後、ウォーターバスシェーカー（MM-10, タイ

テック) を用いて 37°C の条件で 20 分間振盪 (120 回/分, プレインキュベーション) した。振盪終了後, トップアガー 2 mL を添加し, 内容物を混合した。その後, 混合液をプレート上に注ぎ一様に広げた。恒温器 (SSV-R11DA, 池田理化) を用い, 各プレートを 37°C の条件で 48 時間培養した。

14.7.4. 析出等の観察

各処理法において, 処理開始時およびコロニー数計測時に析出等の有無を肉眼で観察した。

14.7.5. コロニー数計測

被験物質の生育阻害作用を確認するため, プレート上の試験菌株 (背景菌) の生育状態について実体顕微鏡 (×40) を用いて観察した。次いで, 復帰突然変異により生じたコロニー数を計数した。計測に際しては, コロニーアナライザー (CA-11, システムサイエンス) を用い, 面積補正ならびに数え落とし補正を実施してコロニー数を算出した。ただし, 被験物質の析出によりコロニーアナライザーの使用が不適切な場合は, 目視でコロニー数を計数した。

14.8. 本試験

14.8.1. 用量

用量設定試験の結果, -S9 処理および+S9 処理のいずれの菌株においても変異原性は認められなかった。試験菌株に対する生育阻害作用は, +S9 処理の TA1537 株においてのみ 5000 µg/プレートの用量で認められた。したがって, 本試験における被験物質の用量として, 5000 µg/プレートを最高用量とする以下の 6 用量を設定した。

《代謝活性化系非存在下: -S9 処理》

| 菌株 | 用量 (µg/プレート) | | | | | |
|---------------------|--------------|-----|-----|------|------|------|
| TA100 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA1535 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| WP2 _{uvrA} | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA98 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA1537 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |

《代謝活性化系存在下：+S9 処理》

| 菌株 | 用量 (µg/プレート) | | | | | |
|-----------------|--------------|-----|-----|------|------|------|
| TA100 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA1535 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| WP2 <i>uvrA</i> | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA98 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |
| TA1537 | 156 | 313 | 625 | 1250 | 2500 | 5000 |

14.8.2. 使用プレート数および識別方法

14.7.2.に記載した方法に準じた。

14.8.3. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養条件

14.7.3.に記載した方法に準じた。

14.8.4. 析出等の観察

14.7.4.に記載した方法に準じた。

14.8.5. コロニー数計測

14.7.5.に記載した方法に準じた。

14.9. 試験成立条件

- a. 陰性対照および陽性対照の平均復帰変異コロニー数は背景データから求めた基準値内であること
 - b. 陽性対照のコロニー数は同時陰性対照値の2倍を超えること
- 上記の条件を満たした場合に試験は成立したと判断した。

14.10. 結果の解析

復帰変異コロニー数が陰性対照の2倍以上に増加し、かつその増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に陽性と判定した。

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった。

15. 試験結果

15.1. 用量設定試験

結果を Figure 1~5 および Table 1, 2 に示した。

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 処理の場合、-S9 処理ならびに+S9 処理のいずれの試験菌株においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。試験菌株に対する生育阻害作用は+S9 処理の TA1537 株においてのみ、5000 µg/プレートで認められた。

一方、陽性対照物質は、各試験菌株に対して復帰突然変異を顕著に誘発した。

15.2. 被験物質の析出等 (用量設定試験)

処理開始時に、-S9 処理では 5000 µg/プレートで白色粉末状の析出物および白濁が認められた.+S9 処理では 2000 µg/プレート以上の用量で白濁が認められ、さらに 5000 µg/プレートでは白色粉末状の析出物が認められた。

コロニー数計測時においては、-S9 処理では析出等が認められなかったが、+S9 処理では 2000 µg/プレート以上の用量で白色粉末状の析出物が認められた。

析出物の影響により、+S9 処理の 2000 µg/プレート以上の用量ではコロニーアナライザーの使用が不適切であったため、目視でコロニーを計数した。

15.3. 本試験

結果を Figure 6~10 および Table 3, 4 に示した。

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 処理の場合、-S9 処理ならびに+S9 処理のいずれの試験菌株においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。試験菌株に対する生育阻害作用は+S9 処理の TA1537 株においてのみ、5000 µg/プレートで認められた。

一方、陽性対照物質は、各試験菌株に対して復帰突然変異を顕著に誘発した。

15.4. 被験物質の析出等 (本試験)

処理開始時に、-S9 処理では 2500 µg/プレート以上の用量で白色粉末状の析出物および白濁が認められた.+S9 処理では 1250 µg/プレート以上の用量で白濁が認められ、さらに 5000 µg/プレートでは白色粉末状の析出物が認められた。

コロニー数計測時においては、-S9 処理では析出等が認められなかったが、+S9 処理では 1250 µg/プレート以上の用量で白色粉末状の析出物が認められた。

析出物の影響により、+S9 処理の 2500 µg/プレート以上の用量ではコロニーアナライザーの使用が不適切であったため、目視でコロニーを計数した。

16. 考察および結論

Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt の遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため、細菌 (ネズミチフス菌および大腸菌) を用いたプレインキュベーション法による復帰突然変異試験を実施した。

ガイドライン上定められた最高用量である 5000 µg/プレートまで検討した結果、benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt 処理群では、代謝活性化系非存在下および代謝活性化系存在下のいずれにおいても、陰性対照の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

これら両処理法での試験結果は、用量設定試験ならびに本試験において再現性が確認

された。

これまでに本被験物質 benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt の遺伝毒性ならびに発がん性に関する報告はない。

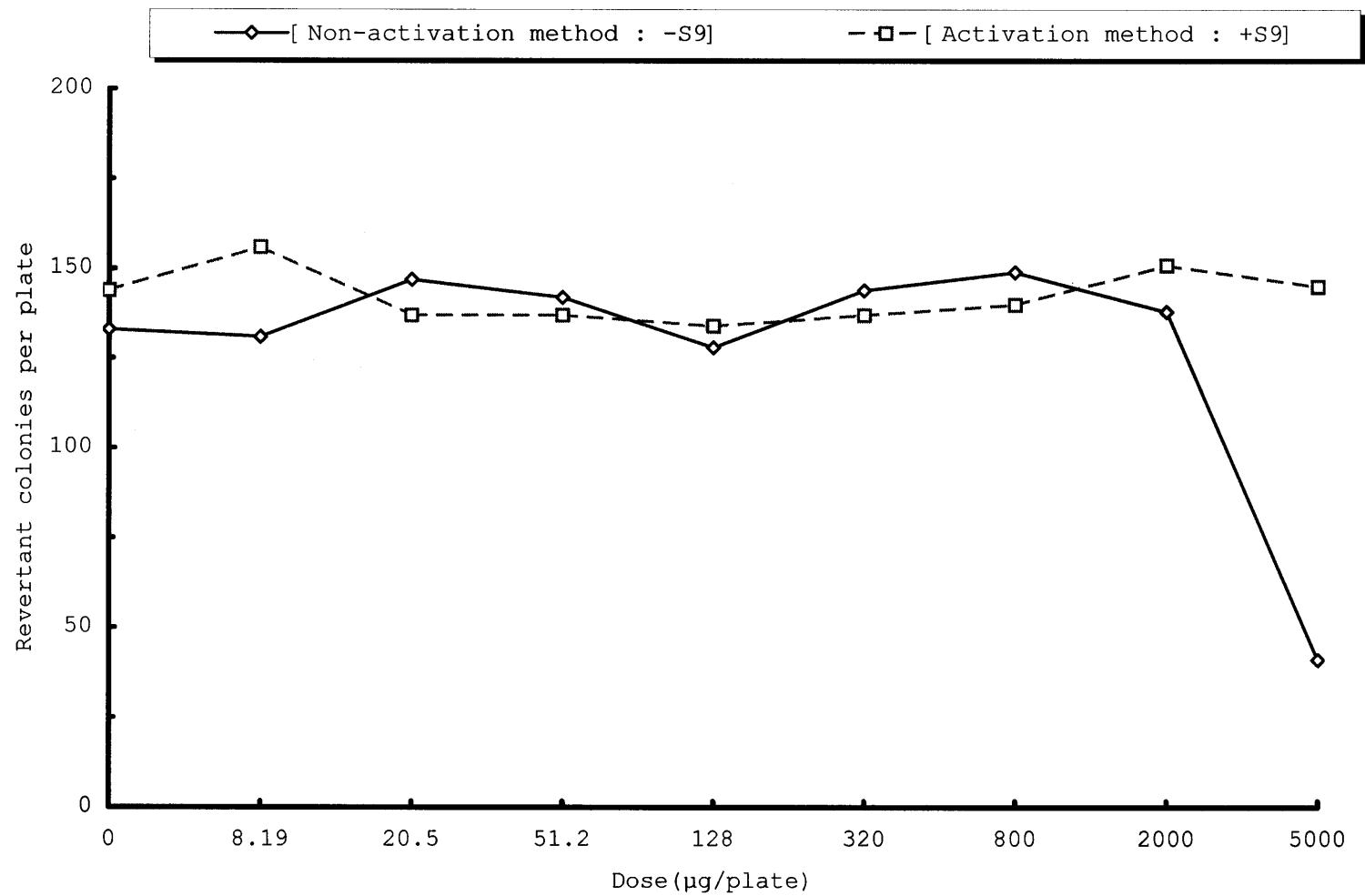
また、類縁体である 2-メチル-5-ニトロベンゼンスルホン酸については、細菌を用いる復帰突然変異試験で陽性¹⁾、CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験で陰性²⁾と報告されている。また、3-ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムについては、細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性³⁾、CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験で陰性⁴⁾と報告されている。

なお、陰性対照および陽性対照の平均復帰変異コロニー数は、いずれも当施設の背景データ (Appendix 1) から求めた基準値内であり、試験成立条件を満たしたことから、当該試験は適切な条件で実施されたものと判断した。

以上の試験結果から、当該試験条件下において、benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin (2+) salt の細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

17. 参考文献

- 1) 中嶋圓, 益森勝志, 板倉真由実, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 6, 303-307, 1998.
- 2) 中嶋圓, 益森勝志, 板倉真由実, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 6, 308-311, 1998.
- 3) 野田篤, 昆尚美, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 6, 329-332, 1998.
- 4) 野田篤, 昆尚美, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 6, 333-335, 1998.



- 18 -

Figure 1. Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA100

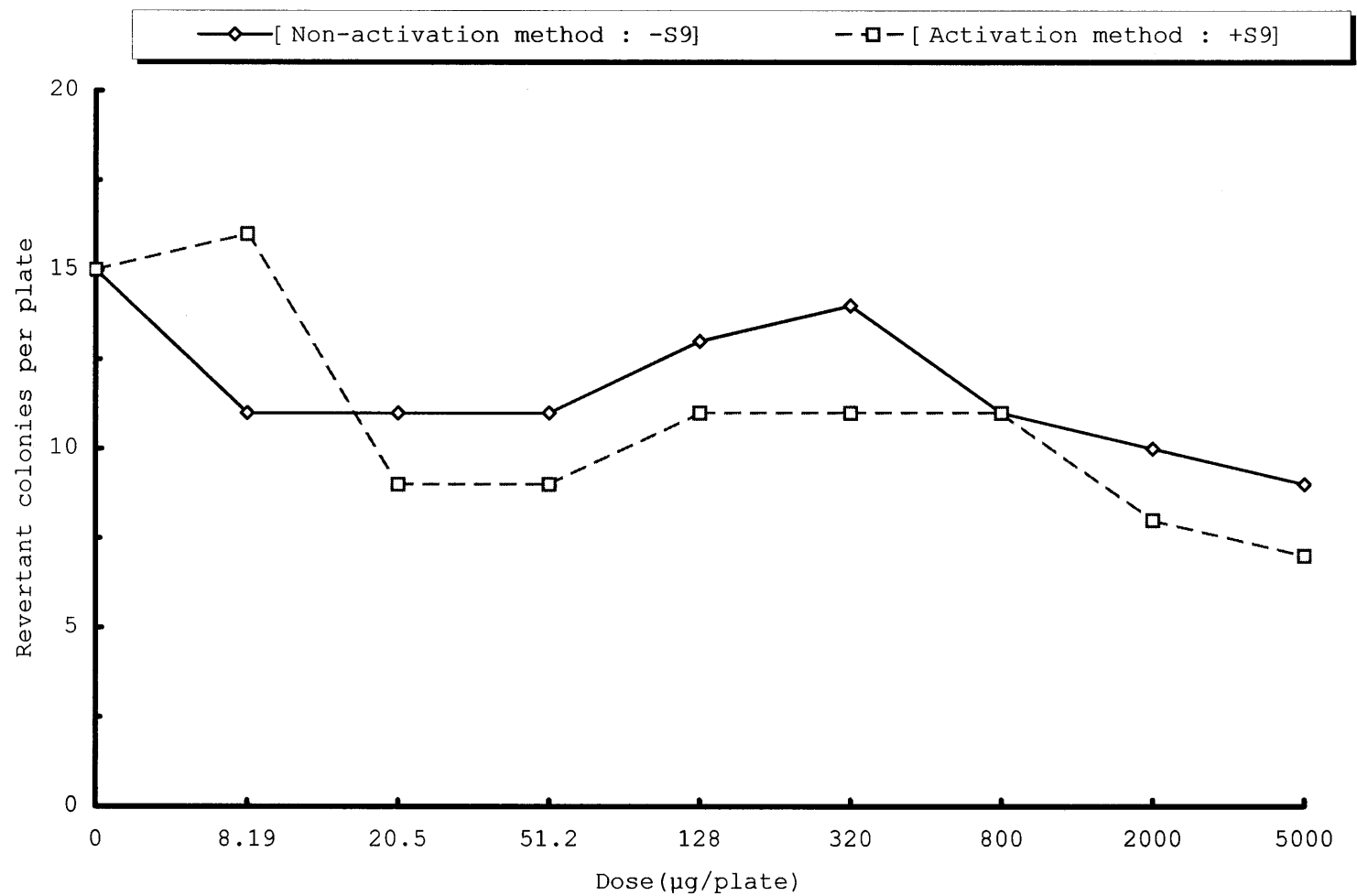
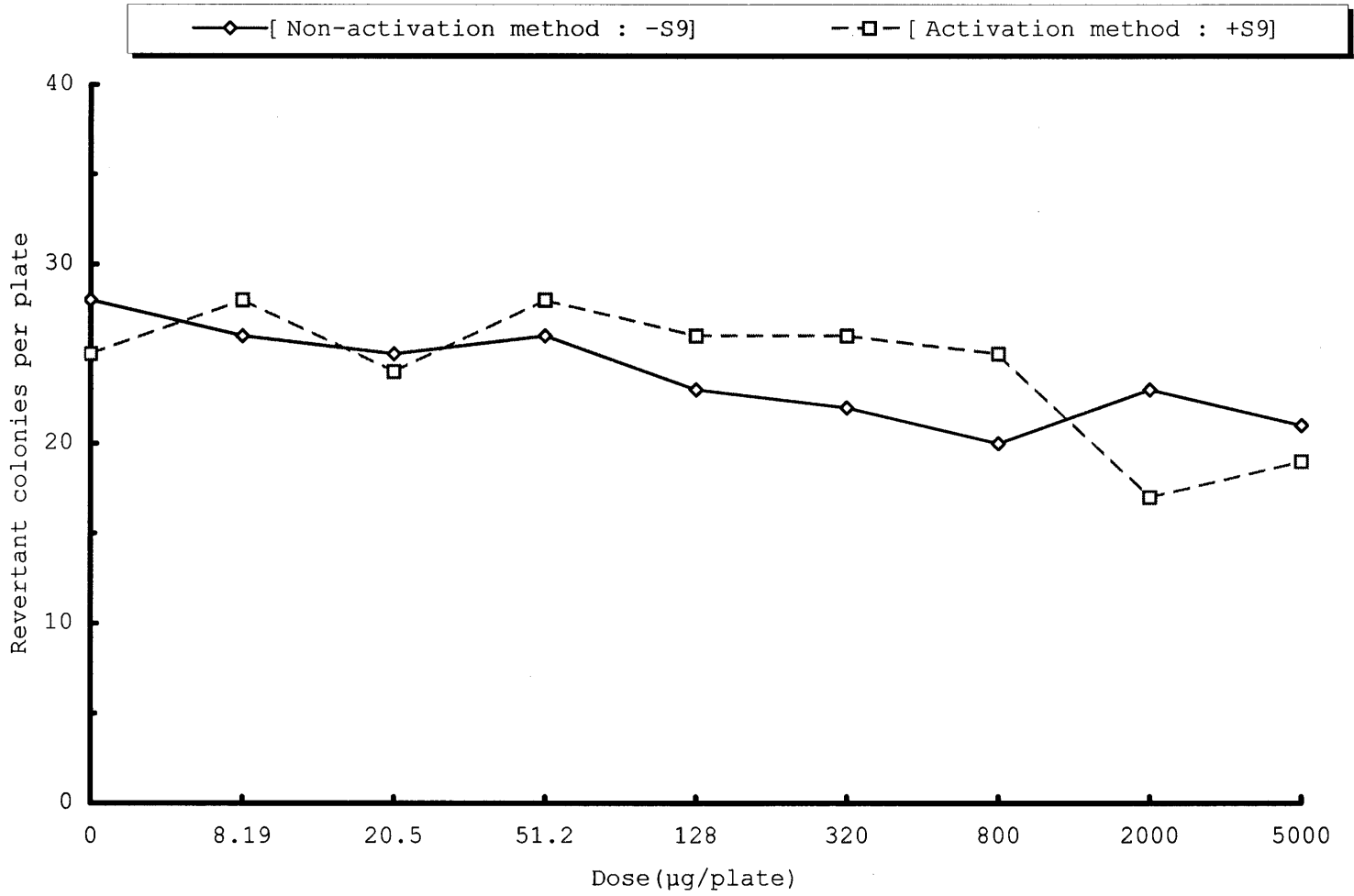


Figure 2. Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA1535



- 20 -

Figure 3. Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain WP2 *uvrA*

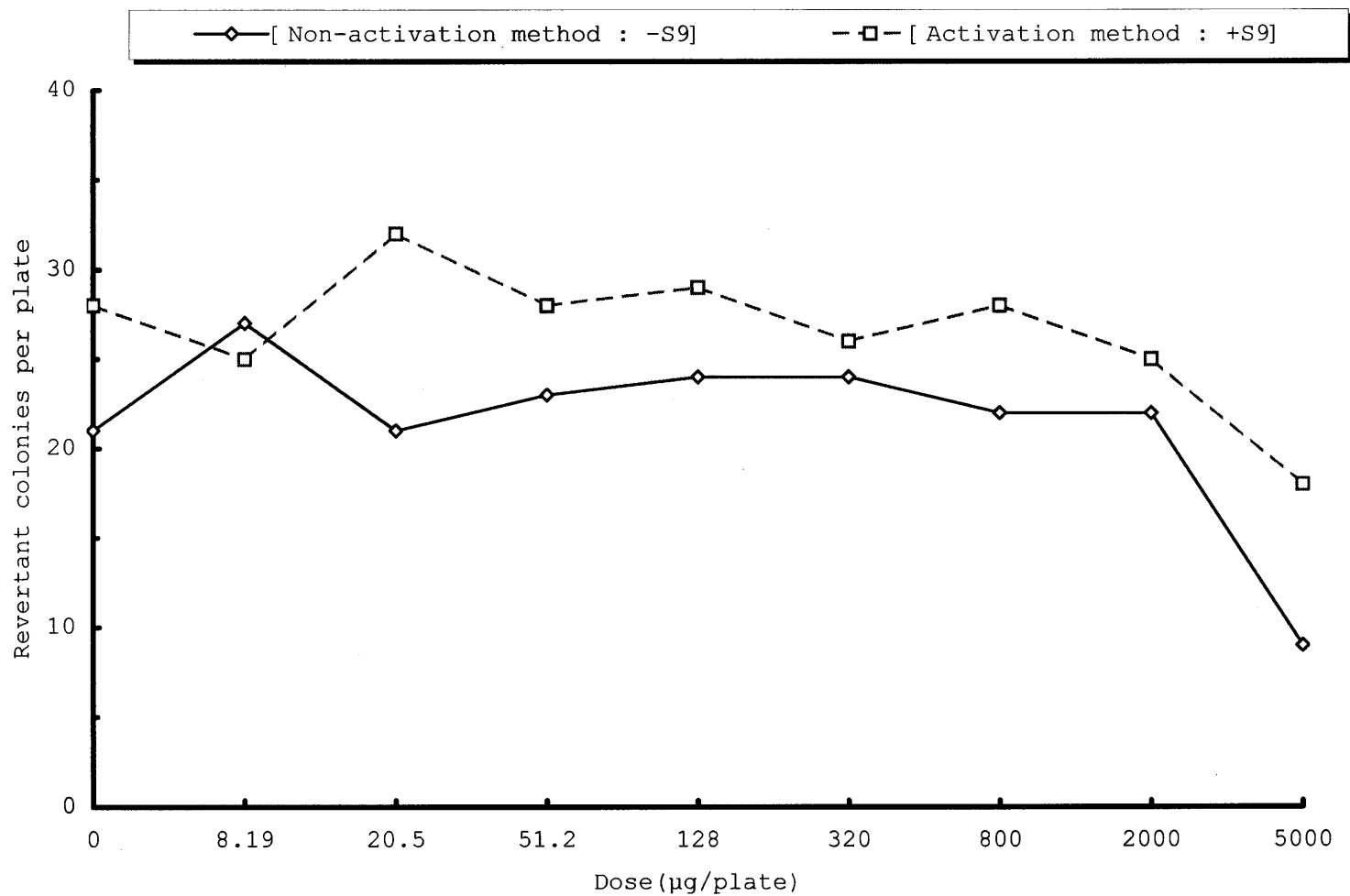


Figure 4. Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA98

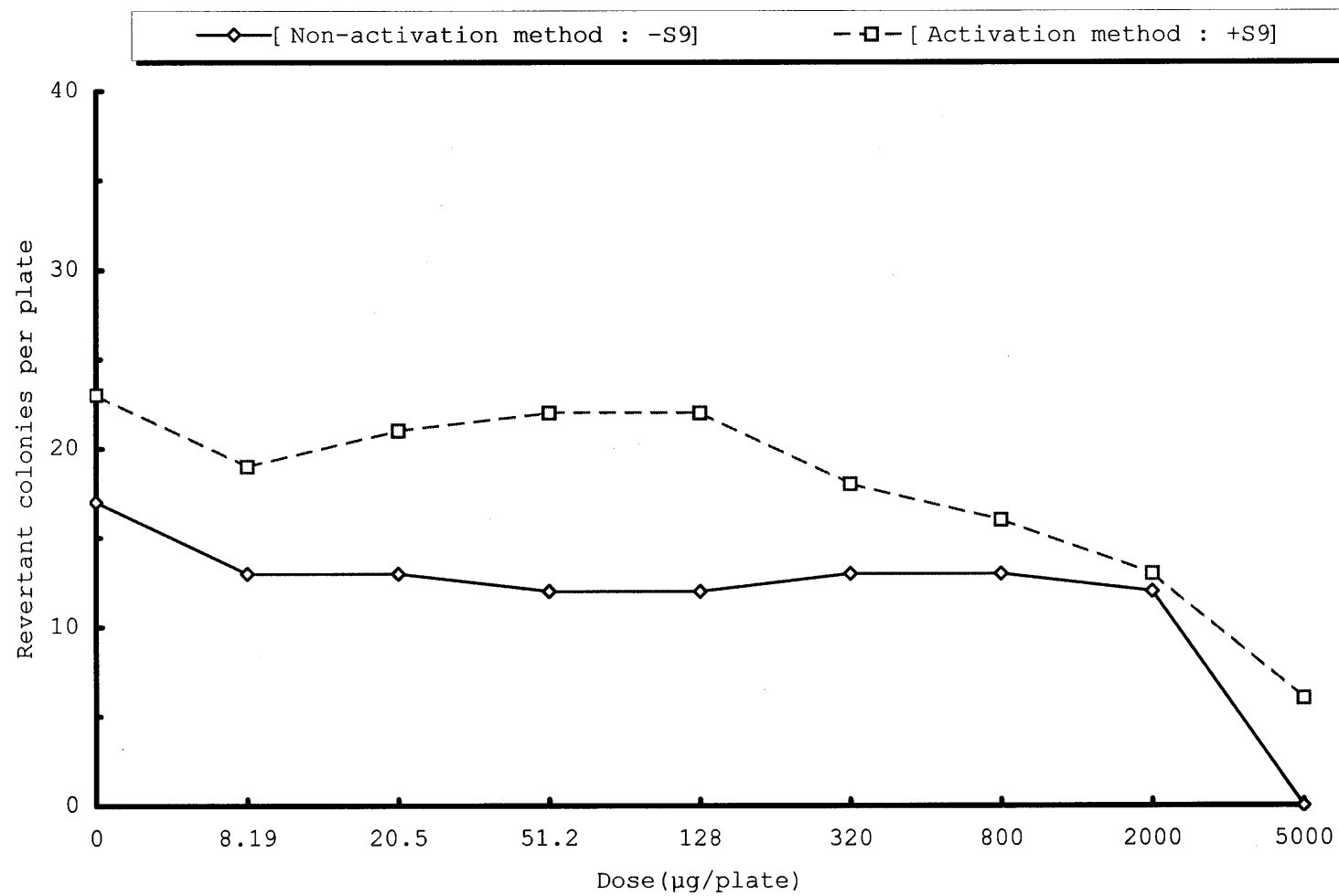
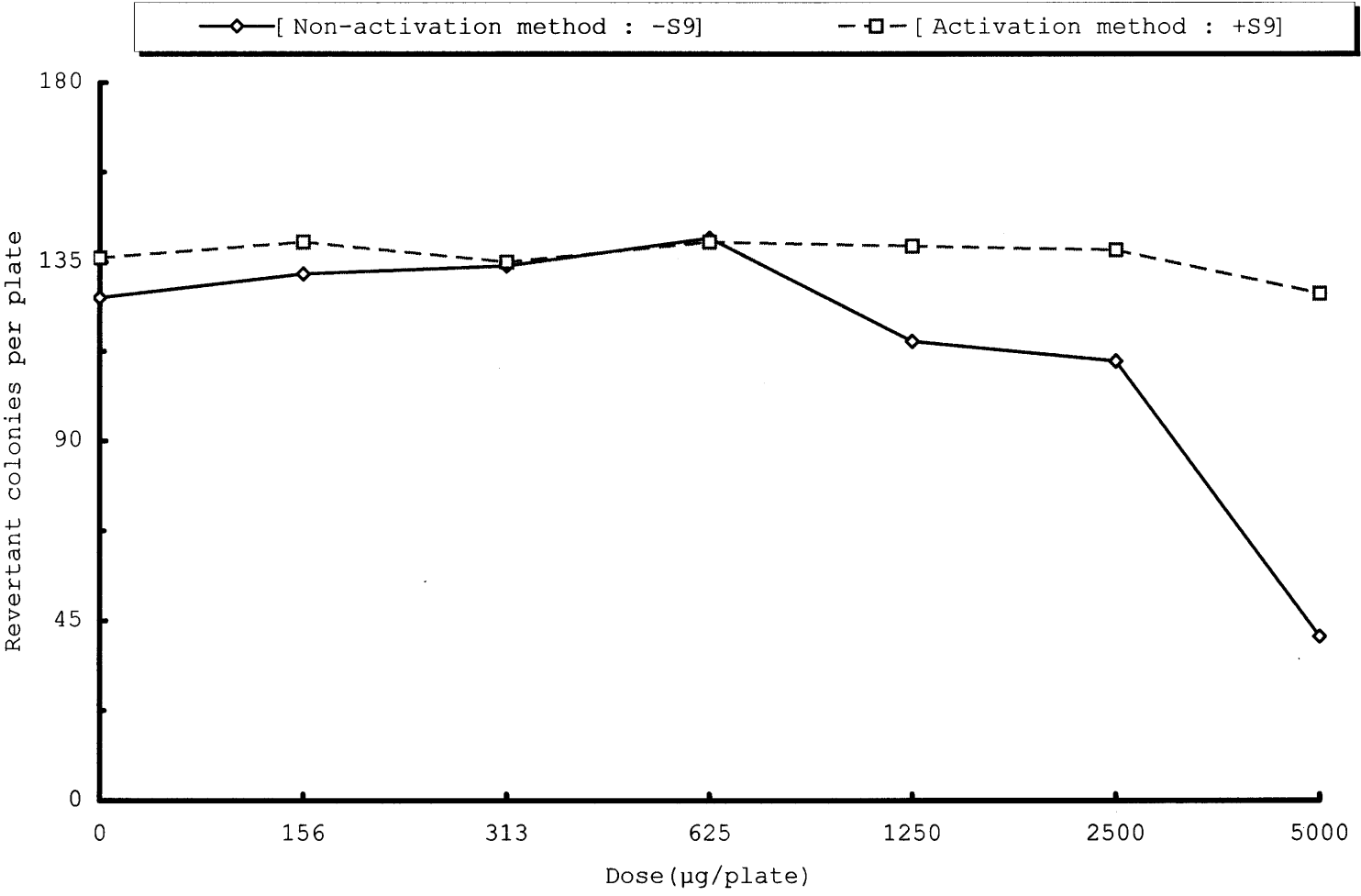


Figure 5. Dose-finding study of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA1537



- 23 -

Figure 6. Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA100

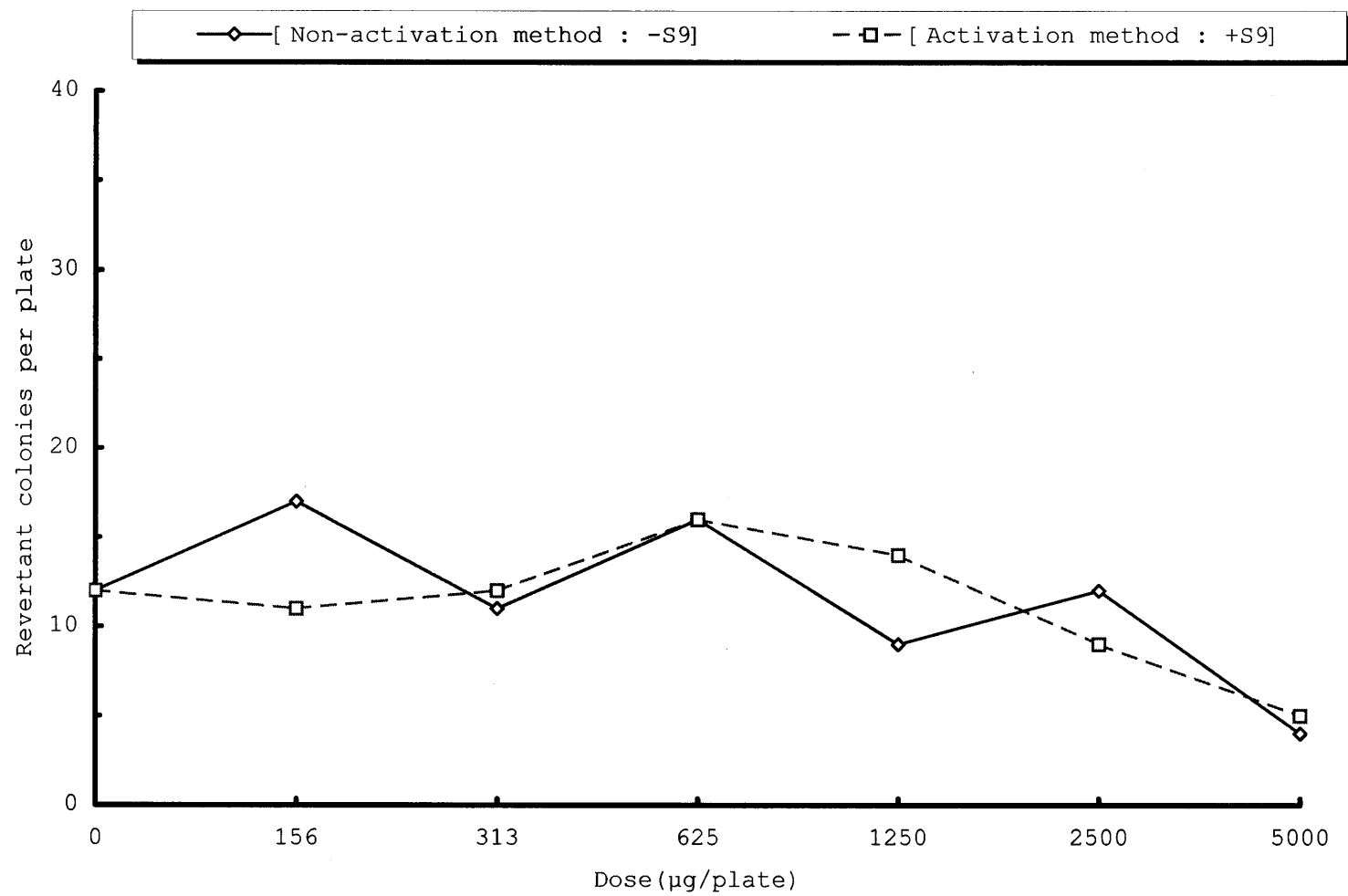


Figure 7. Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA1535

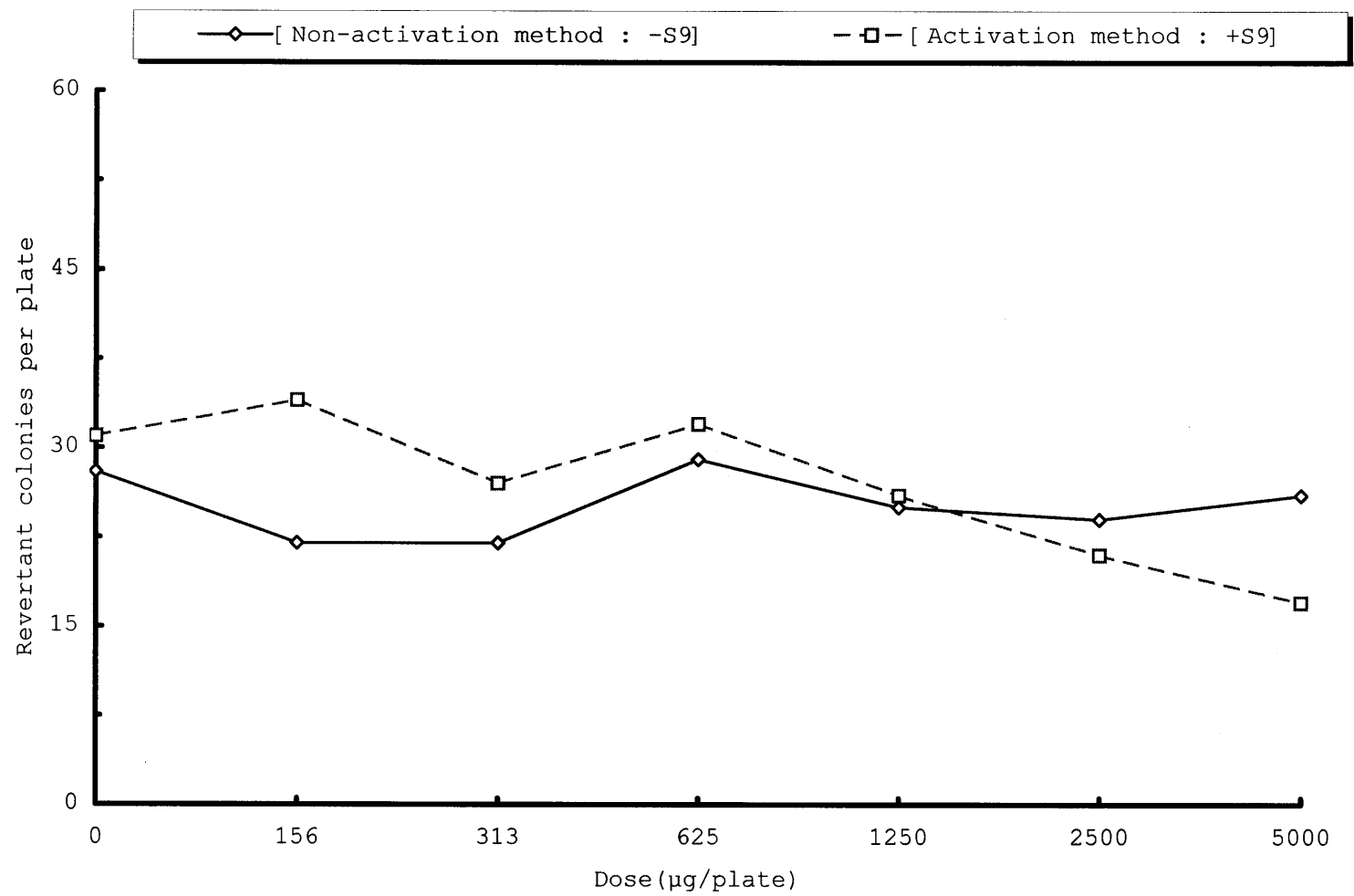


Figure 8. Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain WP2 *uvrA*

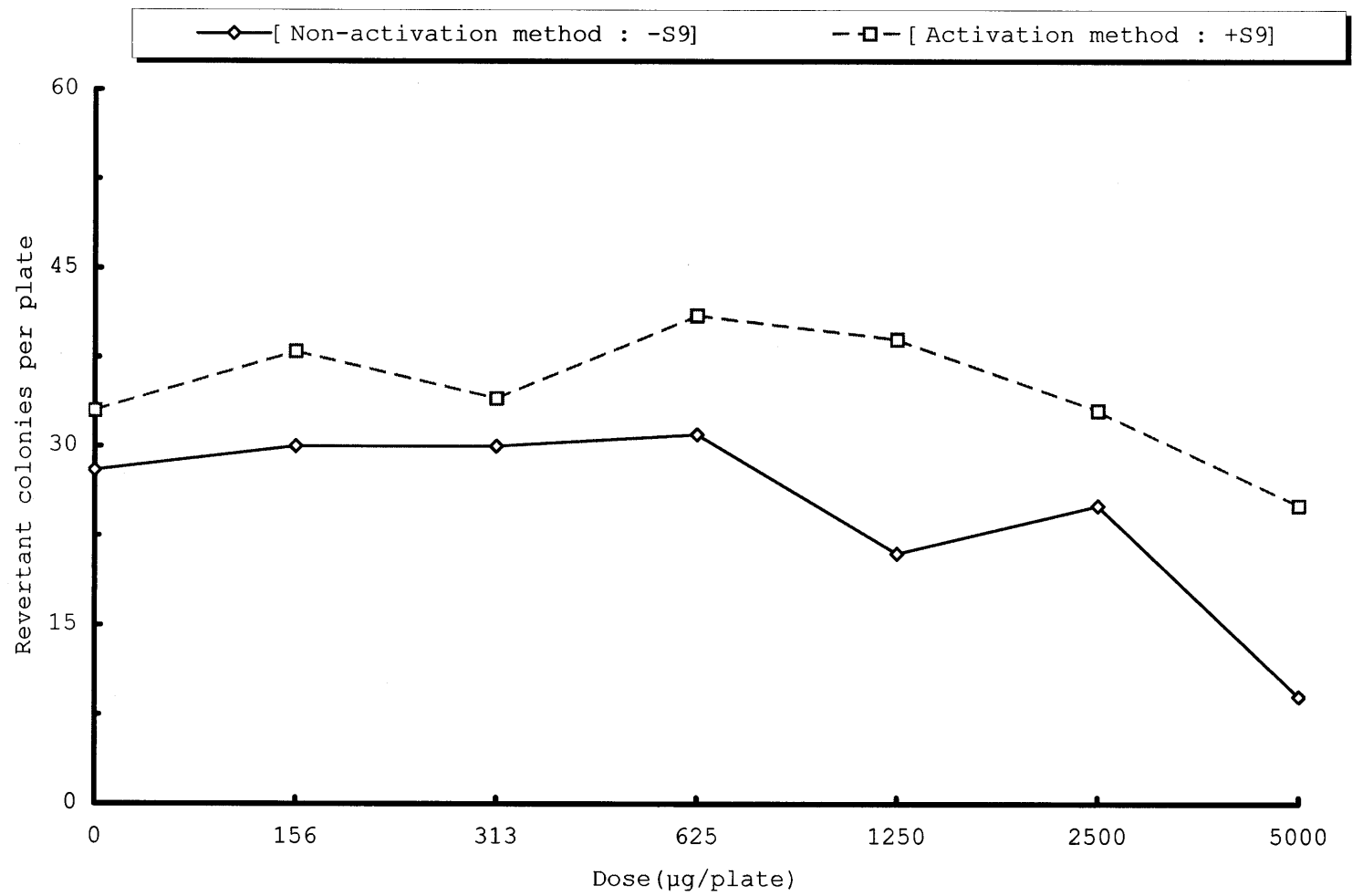


Figure 9. Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA98

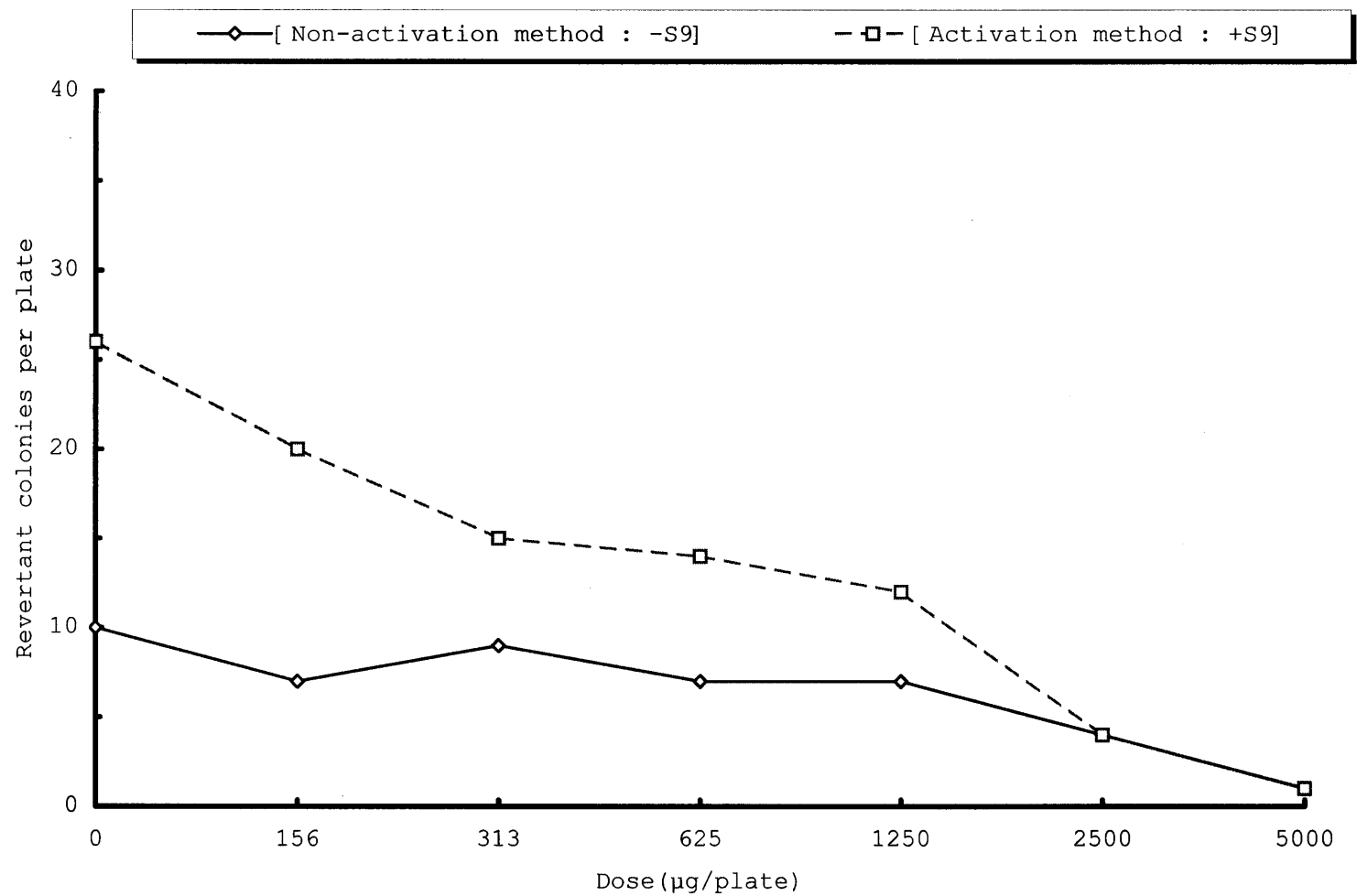


Figure 10. Bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid, 4-hydroxy-, tin(2+) salt in strain TA1537

Table 1. Summary data on dose-finding study of benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt
[Non-activation method : -S9]

| Compound | Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.] | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|---|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|----------------|-----------|
| | | TA100 | | | TA1535 | | | WP2uvrA | | | TA98 | | | TA1537 | | |
| Benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt | 0 a) | 152 [133 | 122 \pm | 126 16] | 12 [15 | 20 \pm | 14 4] | 26 [28 | 27 \pm | 30 2] | 24 [21 | 17 \pm | 22 4] | 18 [17 | 18 \pm | 15 2] |
| | 8.19 | 124 [131 | 122 \pm | 147 14] | 13 [11 | 10 \pm | 9 2] | 30 [26 | 26 \pm | 22 4] | 22 [27 | 27 \pm | 32 5] | 12 [13 | 10 \pm | 17 4] |
| | 20.5 | 140 [147 | 153 \pm | 148 7] | 9 [11 | 15 \pm | 10 3] | 27 [25 | 22 \pm | 25 3] | 19 [21 | 26 \pm | 19 4] | 15 [13 | 13 \pm | 10 3] |
| | 51.2 | 140 [142 | 134 \pm | 152 9] | 10 [11 | 9 \pm | 13 2] | 33 [26 | 20 \pm | 25 7] | 31 [23 | 17 \pm | 20 7] | 12 [12 | 13 \pm | 10 2] |
| | 128 | 133 [128 | 126 \pm | 126 4] | 9 [13 | 12 \pm | 17 4] | 27 [23 | 19 \pm | 24 4] | 18 [24 | 24 \pm | 30 6] | 16 [12 | 10 \pm | 9 4] |
| | 320 | 143 [144 | 159 \pm | 129 15] | 14 [14 | 14 \pm | 13 1] | 19 [22 | 17 \pm | 30 7] | 21 [24 | 25 \pm | 25 2] | 18 [13 | 9 \pm | 13 5] |
| | 800 | 146 [149 | 145 \pm | 157 7] | 6 [11 | 16 \pm | 11 5] | 21 [20 | 23 \pm | 17 3] | 25 [22 | 13 \pm | 28 8] | 14 [13 | 10 \pm | 15 3] |
| | 2000 | 146 [138 | 120 \pm | 149 16] | 12 [10 | 11 \pm | 6 3] | 21 [23 | 22 \pm | 27 3] | 23 [22 | 20 \pm | 23 2] | 15 [12 | 11 \pm | 9 3] |
| | 5000 | 53 [41 | 40 \pm | 29 12] | 9 [9 | 4 \pm | 13 5] | 27 [21 | 19 \pm | 17 5] | 7 [9 | 9 \pm | 10 2] | 0 [0 | 0 \pm | 0 0] |
| Positive control | 809 [778 | 736 \pm | 788 b) 38] | 579 [556 | 521 \pm | 569 c) 31] | 133 [127 | 122 \pm | 126 b) 6] | 741 [732 | 738 \pm | 718 d) 13] | 309 [304 | 249 \pm | 354 e) 53] | |

a): Negative control (Distilled water, 100 $\mu\text{L}/\text{plate}$)

b): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ c): NaN_3 ; Sodium azide, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$

d): AF-2, 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ e): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$

Table 2. Summary data on dose-finding study of benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt
[Activation method : +S9]

| Compound | Dose (µg/plate) | Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.] | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------|--|----------------|------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | | TA100 | | | TA1535 | | | WP2uvrA | | | TA98 | | | TA1537 | | |
| Benzenesulfonic acid,4-hydroxy-, tin(2+) salt | 0 a) | 149 [144 | 130 ± 13] | 154 [15 | 17 ± 2] | 13 [25 | 15 ± 4] | 28 [28 | 27 ± 6] | 20 [28 | 32 ± 6] | 21 [23 | 31 ± 6] | 29 [23 | 24 ± 6] | 17 [6] |
| | 8.19 | 140 [156 | 162 ± 14] | 165 [16 | 14 ± 2] | 18 [28 | 16 ± 3] | 31 [25 | 26 ± 5] | 28 [25 | 25 ± 5] | 30 [19 | 21 ± 4] | 23 [19 | 17 ± 4] | 16 [4] |
| | 20.5 | 142 [137 | 138 ± 6] | 131 [9 | 8 ± 2] | 12 [24 | 8 ± 6] | 30 [32 | 19 ± 7] | 22 [32 | 26 ± 7] | 30 [21 | 39 ± 4] | 21 [21 | 17 ± 4] | 25 [4] |
| | 51.2 | 147 [137 | 130 ± 9] | 134 [9 | 10 ± 1] | 8 [28 | 10 ± 6] | 23 [28 | 35 ± 3] | 25 [28 | 30 ± 3] | 29 [22 | 24 ± 4] | 27 [22 | 20 ± 4] | 19 [4] |
| | 128 | 146 [134 | 120 ± 13] | 137 [11 | 12 ± 1] | 11 [26 | 10 ± 6] | 21 [29 | 24 ± 6] | 33 [29 | 23 ± 6] | 30 [22 | 34 ± 6] | 26 [22 | 19 ± 4] | 20 [4] |
| | 320 | 123 [137 | 136 ± 14] | 151 [11 | 13 ± 2] | 9 [26 | 11 ± 4] | 24 [26 | 31 ± 4] | 24 [26 | 22 ± 6] | 33 [18 | 22 ± 6] | 26 [18 | 13 ± 7] | 14 [7] |
| | 800 | 129 [140 | 138 ± 12] | 152 [11 | 9 ± 2] | 11 [25 | 13 ± 5] | 22 [25 | 31 ± 5] | 22 [28 | 24 ± 7] | 23 [16 | 36 ± 3] | 18 [16 | 13 ± 3] | 17 [3] |
| | 2000 + | 152 [151 | 152 ± 2] | 149 [8 | 10 ± 3] | 10 [17 | 5 ± 4] | 22 [17 | 14 ± 4] | 16 [25 | 24 ± 3] | 28 [13 | 23 ± 3] | 11 [13 | 15 ± 2] | 12 [2] |
| | 5000 + | 160 [145 | 139 ± 13] | 135 [7 | 5 ± 2] | 9 [19 | 7 ± 5] | 24 [19 | 15 ± 5] | 17 [18 | 18 ± 2] | 20 [18 | 17 ± 2] | 8 * | 3 * | 7 * |
| Positive control | | 1550 [1516 | 1602 ± 107] | 1396 b) [435 | 395 ± 35] | 462 [636 | 447 c) ± 19] | 646 [636 | 648 ± 19] | 614 d) [440 | 429 ± 13] | 436 [199 | 454 e) ± 13] | 202 [199 | 211 ± 14] | 183 c) [14] |

a): Negative control (Distilled water, 100 µL/plate)

b): 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 µg/plate c): 2-AA, 2 µg/plate d): 2-AA, 10 µg/plate e): 2-AA, 0.5 µg/plate

* : Growth inhibition was observed.

+ : Visible precipitation was observed at the end of exposure period.

Table 3. Summary data on bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt
[Non-activation method : -S9]

| Compound | Dose (µg/plate) | Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.] | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------|---|---------------|-------------|--------------|---------------|-------------|--------------|---------------|------------|--------------|---------------|-------------|--------------|---------------|-------------|
| | | TA100 | | | TA1535 | | | WP2uvrA | | | TA98 | | | TA1537 | | |
| Benzenesulfonic acid,4-hydroxy-, tin(2+) salt | 0 a) | 139 [126 | 122 ± 12] | 117 [12 | 9 ± 5] | 9 [12 | 17 ± 5] | 34 [28 | 28 ± 6] | 22 [28 | 24 ± 4] | 27 [28 | 32 ± 4] | 10 [10 | 6 ± 4] | 13 [4] |
| | 156 | 133 [132 | 125 ± 7] | 139 [17 | 14 ± 4] | 22 [17 | 16 ± 4] | 27 [22 | 22 ± 6] | 16 [30 | 26 ± 4] | 33 [30 | 31 ± 4] | 9 [7 | 7 ± 2] | 6 [2] |
| | 313 | 145 [134 | 111 ± 20] | 146 [11 | 11 ± 3] | 9 [11 | 14 ± 3] | 19 [22 | 23 ± 3] | 25 [22 | 24 ± 9] | 41 [30 | 26 ± 9] | 9 [9 | 7 ± 2] | 10 [2] |
| | 625 | 143 [141 | 154 ± 14] | 127 [16 | 22 ± 5] | 13 [16 | 13 ± 5] | 22 [29 | 31 ± 6] | 34 [29 | 27 ± 6] | 30 [31 | 35 ± 4] | 8 [7 | 7 ± 1] | 7 [1] |
| | 1250 | 114 [115 | 119 ± 3] | 113 [9 | 9 ± 2] | 8 [9 | 11 ± 2] | 25 [25 | 30 ± 5] | 21 [25 | 29 ± 5] | 19 [21 | 16 ± 7] | 6 [7 | 8 ± 1] | 8 [1] |
| | 2500 | 120 [110 | 111 ± 11] | 98 [12 | 8 ± 4] | 13 [12 | 16 ± 4] | 20 [24 | 28 ± 4] | 23 [24 | 23 ± 4] | 23 [25 | 30 ± 4] | 5 [4 | 4 ± 1] | 3 [1] |
| | 5000 | 45 [41 | 39 ± 4] | 38 [4 | 3 ± 1] | 4 [4 | 5 ± 1] | 36 [26 | 22 ± 9] | 20 [26 | 7 ± 9] | 13 [9 | 8 ± 3] | 1 [1 | 3 ± 2] | 0 [2] |
| Positive control | | 887 [856 | 851 ± 29] | 830 b) | 520 [556 | 583 ± 32] | 565 c) | 165 [168 | 181 ± 11] | 159 b) | 768 [737 | 698 ± 36] | 744 d) | 422 [413 | 426 ± 20] | 390 e) |

a): Negative control (Distilled water, 100 µL/plate)

b): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 µg/plate

c): NaN₃; Sodium azide, 0.5 µg/plate

d): AF-2, 0.1 µg/plate

e): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 µg/plate

Table 4. Summary data on bacterial reverse mutation test of benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt
[Activation method : +S9]

| Compound | Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.] | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|---|-----------------------|------------------|----------------------|--------------|-------------------------|--------------|----------------------|-----------------|---------------------|--------------|-------------------------|--------------|----------------------|-----------------|-------------------------|
| | | TA100 | | | TA1535 | | | WP2uvrA | | | TA98 | | | TA1537 | | | |
| Benzenesulfonic acid,4-hydroxy-,tin(2+) salt | 0 a) | 121 [136 | 157 \pm 19] | 131 [12 | 13 \pm 1] | 11 [31 | 12 \pm 3] | 34 [31 | 30 \pm 3] | 28 [33 | 27 \pm 8] | 31 [26 | 42 \pm 4] | 24 [26 | 23 \pm 4] | 30 [26 | 23 \pm 4] |
| | 156 | 132 [140 | 155 \pm 13] | 132 [11 | 8 \pm 4] | 15 [34 | 9 \pm 6] | 40 [34 | 32 \pm 6] | 29 [38 | 37 \pm 1] | 38 [20 | 39 \pm 2] | 22 [20 | 21 \pm 2] | 18 [20 | 21 \pm 2] |
| | 313 | 136 [135 | 135 \pm 2] | 133 [12 | 9 \pm 3] | 12 [27 | 15 \pm 4] | 32 [27 | 26 \pm 4] | 24 [34 | 34 \pm 4] | 31 [15 | 38 \pm 7] | 23 [15 | 14 \pm 7] | 9 [15 | 14 \pm 7] |
| | 625 | 130 [140 | 145 \pm 8] | 144 [16 | 19 \pm 3] | 13 [32 | 15 \pm 6] | 36 [32 | 26 \pm 6] | 35 [41 | 29 \pm 10] | 48 [14 | 46 \pm 3] | 17 [14 | 12 \pm 3] | 14 [14 | 12 \pm 3] |
| | 1250 + | 130 [139 | 154 \pm 13] | 133 [14 | 11 \pm 4] | 12 [26 | 18 \pm 5] | 27 [26 | 21 \pm 5] | 31 [39 | 48 \pm 8] | 32 [12 | 37 \pm 4] | 14 [12 | 8 \pm 4] | 15 [12 | 8 \pm 4] |
| | 2500 + | 118 [138 | 145 \pm 18] | 152 [9 | 10 \pm 1] | 9 [21 | 9 \pm 4] | 17 [21 | 21 \pm 4] | 24 [33 | 34 \pm 6] | 26 [4 | 38 \pm 2] | 4 [4 | 2 \pm 2] | 5 [4 | 2 \pm 2] |
| | 5000 + | 124 [127 | 116 \pm 13] | 142 [5 | 8 \pm 4] | 1 [17 | 7 \pm 2] | 19 [17 | 15 \pm 2] | 16 [25 | 32 \pm 8] | 16 [1 | 27 \pm 2] | 3 * [1 | 0 * \pm 2] | 1 * [1 | 0 * \pm 2] |
| Positive control | | 1428 [1372 | 1322 \pm 53] | 1366 b) [430 | 405 \pm 21] | 441 [532 | 443 c) \pm 36] | 492 [532 | 543 \pm 36] | 561 d) [397 | 405 \pm 7] | 391 [200 | 394 e) \pm 30] | 224 [200 | 209 \pm 30] | 167 c) [200 | 167 c) \pm 30] |

a): Negative control (Distilled water, 100 $\mu\text{L}/\text{plate}$)

b): 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ c): 2-AA, 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ d): 2-AA, 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ e): 2-AA, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$

* : Growth inhibition was observed.

+ : Visible precipitation was observed at the end of exposure period.