

# 最終報告書

2-(1-Methylethoxy)-ethanol のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：5457（115-147）

平成 14 年 3 月 4 日

試験委託者  
厚生労働省 医薬局

財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター

## 目 次

1. 要約.....	3
12. 被験物質.....	7
13. 試験材料および方法.....	9
14. 試験結果.....	17
15. 考察および結論.....	19
16. 参考文献.....	20

Figures		F-1~2
Figure 1	Dose-survival curves of 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [short-term treatment]	F-1
Figure 2	Dose-survival curve of 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [continuous treatment]	F-2

Tables		T-1~5
Table 1	Results of growth inhibition test on 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [short-term treatment]	T-1
Table 2	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [short-term treatment : -S9]	T-2
Table 3	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [short-term treatment : +S9]	T-3
Table 4	Results of growth inhibition test on 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [continuous treatment]	T-4
Table 5	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [continuous treatment : 24h]	T-5

## 1. 要約

本試験条件下の *in vitro* 試験系において、2-(1-Methylethoxy)-ethanol は染色体異常を誘起しないものと判断した。

2-(1-Methylethoxy)-ethanol の変異原性について染色体異常誘発性の有無を検討するため、チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞株 (CHL/IU) を用いた *in vitro* 染色体異常試験を行った。

あらかじめ実施した細胞増殖抑制試験結果を基に、試験用量を設定した。染色体異常試験では短時間処理法-S9 および+S9 処理で 10 mM 相当の用量を含む 263, 525 および 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 3 用量について顕微鏡観察を実施した。

その結果、2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理群の場合、-S9 処理、+S9 処理の各用量群とも明確な染色体異常の誘発は認められなかった。従って、263, 525 および 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 3 用量を用いた連続処理法 24 時間処理での染色体異常試験を実施した。同試験法においても、2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理による染色体異常の誘発は認められなかった。

また、短時間処理法-S9 処理および連続処理法の陽性対照物質であるマイトマイシン C (MMC) ならびに同+S9 処理の陽性対照物質シクロホスファミド (CP) は、いずれも染色体構造異常を高頻度に誘発した。

## 12. 被験物質

## 12.1. 被験物質名

2-(1-Methylethoxy)-ethanol

## 12.2. ロット番号

## 12.3. 純度／含量

99.5 wt%以上

## 12.4. 不純物の名称および純度

水分：0.1%以下

## 12.5. 提供元

## 12.6. 保存条件

直射日光を避け、火気・熱源から遠ざけて保管した。

## 12.7. 保管場所

安評センター被験物質保存庫 (C-3)

## 12.8. 一般名

エチレングリコールイソプロピルエーテル  
グリコソルブ IP

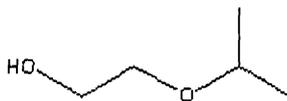
## 12.9. 化学名

Ethanol, 2-(1-methylethoxy)-

## 12.10. CAS No.

109-59-1

## 12.11. 化学構造



## 12.12. 分子式

C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

## 12.13. 分子量

104.15

**12.14. 物質の状態**

透明液体

**12.15. 沸点**

142.5°C

**12.16. 融点**

-60°C

**12.17. 溶解性**

20°C の水に完全に溶解する.

常温でアセトンに完全に溶解する.

**12.18. 蒸気圧**

0.347 kPa

**12.19. 取り扱い上の注意**

火気厳禁

吸入, 皮膚への接触を防ぎ, 目に入らぬよう適切な保護具を着用した.

**12.20. 残余被験物質の処理**

被験物質の一部を保管した後, 残りは被験物質提供元に返却した. 返却被験物質を提供元の において分析した結果, 提供時と比較して特に異常は認められなかった.

### 13. 試験材料および方法

#### 13.1. 試験細胞株

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験に広く使用されていることから、試験細胞株としてチャイニーズ・ハムスターの肺由来の線維芽細胞株 (CHL/IU 細胞) を選択した。

CHL/IU 細胞は昭和 59 年 11 月 15 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、一部についてはジメチルスルホキシド (DMSO : GC 用 ; Merck KGaA ; 純度 99.7% 以上 ; Lot No. K23082678 651) を容量比で 10% 添加した後、液体窒素中に保存した。試験に際しては凍結した細胞を融解した後、3~5 日ごとに継代したものを使用した。

なお、細胞増殖抑制試験で継代数 28 あるいは 40【連続処理法で使用】の細胞を、染色体異常試験では同 30 あるいは 12【連続処理法で使用】の細胞を用いた。

#### 13.2. 培養液の調製

Eagle-MEM 液体培地 (IWAKI: 旭テクノグラス株式会社 ; Lot No. 99560006【用量設定試験-短時間処理法】, 99560007) に、メンブランフィルター (孔径 0.45  $\mu\text{m}$  : Featuring Corning and Costar Products) を用いて濾過除菌した非働化 (56°C, 30 分) 済み仔牛血清 (GIBCO Life Technologies, Inc. ; Lot No. 1075354, 296130【染色体異常試験-連続処理法】) を最終濃度で 10% になるよう添加した。調製後の培養液は使用時まで冷暗所 (4°C) に保存した。

#### 13.3. 培養条件

CO<sub>2</sub> インキュベーター (三洋電機メディカシステム株式会社) を用い、CO<sub>2</sub> 濃度 5%, 37°C の条件で細胞を培養した。

#### 13.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (キッコーマン株式会社 ; Lot No. CAM-444) を試験に使用した。

## 13.4.1. S9 の調製方法

調製の際の動物種、性、臓器、誘導物質ならびに誘導方法等を以下に示した。

ロット番号	RAA-444
調製日	平成 13 年 4 月 27 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	205 ~ 241 g
臓器	肝臓
誘導物質投与量 および投与回数	Phenobarbital (PB) および 5,6-Benzoflavone (BF) 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	25.65 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	0.3 mL
MgCl <sub>2</sub>	5 μmol/0.1mL
KCl	33 μmol/0.1mL
G-6-P	5 μmol/0.1mL
NADP	4 μmol/0.1mL
HEPES 緩衝液 (pH 7.2)	4 μmol/0.2mL
蒸留水	0.1 mL

## 13.5. 被験物質液の調製

本被験物質は水に易溶であり、かつ水溶液中で安定であるため、被験物質を注射用水 (株式会社大塚製薬工場 ; Lot No. K1C75) に溶解し、調製原液とした。この調製原液を使用溶媒を用いて順次希釈した後、速やかに処理を行った。

### 13.6. 対照群

#### 13.6.1. 陰性（溶媒）対照

使用溶媒で試験した。

#### 13.6.2. 陽性対照（短時間処理法-S9 処理）

注射用水（株式会社大塚製薬工場；Lot No. K0H76）5 mL に溶解したマイトマイシン C（MMC：協和醗酵工業株式会社；Lot No. 319AJD）を生理食塩液（日本薬局方生理食塩液：株式会社大塚製薬工場；Lot No. K9D89）を用いて希釈し、1 mL ずつ分注した後凍結保存したものを試験に用いた。試験用量は、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  とした。

#### 13.6.3. 陽性対照（短時間処理法+S9 処理）

注射用水（Lot No. K0H76）5 mL に溶解したシクロホスファミド（CP：塩野義製薬株式会社；Lot No. 9007）を生理食塩液（Lot No. K9D89）を用いて希釈し、1 mL ずつ分注した後凍結保存したものを試験に用いた。試験用量は 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  とした。

### 13.7. 細胞増殖抑制試験（予備試験）

#### 13.7.1. 試験用量

予備的な試験（8.51, 28.4, 94.5, 315 および 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 用量：公比 10/3）の結果、短時間処理法-S9 および+S9 処理とも細胞増殖抑制作用は観察されなかった。

本結果を参考に、細胞増殖抑制試験の用量として 10 mM 相当の用量を含む 6 用量（公比 5/3）を設定した（下表参照）。

試験系	用量数	試験用量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
短時間処理法-S9 処理	6	81.6~1050
短時間処理法+S9 処理	6	81.6~1050

#### 13.7.2. 使用ウエル数および識別

1 用量当たり 2 ウエルを用いた。

試験系および連番を明記することにより各ウエルを識別した。

## 13.7.3. 短時間処理法-S9 処理

12 ウェルのプレート（細胞培養用マルチプレート 12F:住友ベークライト株式会社）の各ウェルに培養液を用いて  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 1 mL を播種し、3 日間培養した。培養終了後、培養液 460  $\mu$ L を除いた後、溶媒あるいは被験物質液 60  $\mu$ L を加えた。6 時間被験物質に暴露させた後、各ウェルの培養液を除去し、ダルベッコリン酸緩衝液（Sigma-Aldrich Japan K. K. ; Lot No. 100K2311）を用いて細胞を洗浄した。新鮮な培養液 500  $\mu$ L を加え、さらに 18 時間培養を続けた後に細胞生存率（陰性対照に対する比）を求めた。

## 13.7.4. 短時間処理法+S9 処理

各ウェルに  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 1 mL を播種し、3 日間培養した。培養終了後、培養液 560  $\mu$ L を除き、S9 mix を 100  $\mu$ L 添加した後、溶媒あるいは被験物質液 60  $\mu$ L を加えた。

以下の操作は 13.7.3. に記載の方法に準じた。

## 13.7.5. 析出等の観察

各処理法において処理開始および処理終了時に析出等の有無を肉眼で観察した。

## 13.7.6. 50%細胞増殖抑制濃度の算出

細胞増殖抑制試験に供した各ウェルから培養液を除き、生理食塩液を用いて細胞を 1 回洗浄した。10%中性緩衝ホルマリン液（組織固定用：和光純薬工業株式会社；Lot No. DWR8722）を加えて約 10 分間細胞を固定した後、0.1%クリスタル・バイオレット（関東化学株式会社；Lot No. 107D2074）水溶液で 10 分間染色した。各ウェルを水洗した後、乾燥させた。各ウェルに色素溶出液（30%エタノール，1%酢酸水溶液）を 2.0 あるいは 3.0 mL 加え、5 分間放置した後、分光光度計（105-50 型：株式会社日立製作所）を用いて 580 nm での吸光度を測定した。陰性対照群での吸光度に対する比（=細胞生存率）を各用量群について求めた。

なお、細胞生存率の平均値は各ウェルの四捨五入する以前の値から求めた。

## 13.8. 染色体異常試験 (本試験)

## 13.8.1. 試験用量

細胞増殖抑制試験結果を基に、各試験系それぞれ3用量 (公比2:下表参照) を本試験の用量に設定した。

試験系	試験用量 (μg/mL)		
短時間処理法-S9 処理	263	525	1050
短時間処理法+S9 処理	263	525	1050

## 13.8.2. 使用プレート数および識別

1用量当たり2枚のプレートを用いた。

試験系および連番を明記することにより各プレートを識別した。

## 13.8.3. 短時間処理法-S9 処理

直径 60 mm のプレート (細胞培養用シャーレ:住友ベークライト株式会社) に  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 5 mL ( $4 \times 10^4$  細胞) を播種し、3日間培養した。培養終了後、培養液 2.3 mL を除いた後、溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液 300 μL を加えた。6時間各物質に暴露させた後、各プレートの培養液を除去し、ダルベッコリン酸緩衝液 (Sigma-Aldrich Japan K. K.; Lot No. 100K2311) を用いて細胞を洗浄した。新鮮な培養液 3 mL を加え、さらに18時間培養を続けた後に染色体標本作製した。

## 13.8.4. 短時間処理法+S9 処理

各プレートに  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 5 mL を播種し、3日間培養した。培養終了後、培養液 2.8 mL を除き S9 mix を 500 μL 添加した後、溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液 300 μL を加えた。以下の操作は13.8.3.に記載の方法に準じた。

## 13.8.5. 析出等の観察

各処理法において処理開始および処理終了時に析出等の有無を肉眼で観察した。

#### 13.8.6. 標本の作製

染色体標本作製の2時間前に最終濃度で0.2 µg/mLとなるようコルセミド溶液 (GIBCO Life Technologies, Inc. ; Lot No. 1094585) を添加し, 細胞分裂を中期で停止させた. 次いで, 培養液を遠心管に全量移した後, 0.25% トリプシン溶液 (GIBCO Life Technologies, Inc. ; Lot No. 1091254) を用いてプレートから細胞を剥離し, 遠心管内の培養液に加えた. 細胞懸濁液を1000 r/min で5分間遠心分離して培養液を除いた後, 37°C に保温しておいた75 mmol/L 塩化カリウム水溶液を5 mL 加え, 37°C 中で16分間低張処理を行った. 遠心分離により低張液を除いた後, 4°C に冷却した固定液 (メタノール3容 : 酢酸1容) で細胞を固定した. 固定液を3回交換した後, 新しい固定液を適量加えて細胞浮遊液とし, 脱脂洗浄済みのスライドガラス上に1~2滴ずつ滴下した. スライド標本を十分乾燥させ, 1/100 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 6.8 : Merck KGaA ; Lot No. TP392174 927) を用いて希釈した1.2% ギムザ染色液 (Merck KGaA ; Lot No. 040408362) で12分間染色した. スライドを軽く水洗した後, 乾燥させた.

1プレート当たり2~3枚の染色体標本作製した.

#### 13.8.7. 細胞増殖抑制度の測定

染色体標本作製時に陰性対照, 各被験物質処理群および陽性対照の各プレートについて, ATP フォトメーター (ルミテスターC-100LU : キョコマン株式会社) を用いて細胞増殖に関するデータを採取した.

なお, 細胞生存率の平均値は各プレートの四捨五入する以前の値から求めた.

#### 13.8.8. 染色体の観察

各プレート当たり100個, すなわち1用量当たり200個の分裂中期像を顕微鏡下 (×600) で観察し, 染色体の形態的变化としてギャップ (gap), 染色分体切断 (ctb), 染色体切断 (csb), 染色分体交換 (cte), 染色体交換 (cse) およびその他 (oth) の構造異常に分類した. ただし, 染色分体あるいは染色体上に非染色性領域が存在し, 染色体切断様の像が認められる場合, その非染色性領域が当該染色体の分体幅未満, かつ本来の位置からずれていない場合にのみギャップとして計数した. また, 数的異常として1用量当たり200個の分裂中期像を観察し, 倍数体等の出現数についても計数した.

全ての標本をコード化した後, マスキング法で観察した.

## 13.9. 追加試験（連続処理法：24 時間処理）

短時間処理法において陰性と判定されたことから、以下に示す代謝活性化によらない条件での連続処理法 24 時間処理を実施した。

## 13.9.1. 陽性対照（連続処理法：24 時間処理）

注射用水（株式会社大塚製薬工場；Lot No. K1C75）5 mL に溶解したマイトマイシン C（MMC：協和醗酵工業株式会社；Lot No. 339AJH）を生理食塩液（日本薬局方生理食塩液：株式会社大塚製薬工場；Lot No. K0B93）を用いて希釈し、1.5 mL ずつ分注した後凍結保存したものを試験に用いた。

試験用量は 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  とした。

## 13.9.2. 細胞増殖抑制試験（連続処理法：24 時間処理）

## 13.9.2.1. 試験用量

予備的な試験（8.51, 28.4, 94.5, 315 および 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 用量：公比 10/3）の結果、最高用量の 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  においても細胞増殖抑制作用は観察されなかった。

本結果を参考に、細胞増殖抑制試験の用量として 10 mM 相当の用量を含む 6 用量（公比 5/3）を設定した（下表参照）。

試験系	用量数	試験用量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
連続処理法 24 時間処理	6	81.6~1050

## 13.9.2.2. 使用ウェル数および識別

13.7.2. に準じた。

## 13.9.2.3. 連続処理法 24 時間処理

各ウェルに  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 1 mL を播種し、3 日間培養した。培養終了後、培養液 460  $\mu\text{L}$  を除いた後、溶媒あるいは被験物質液 60  $\mu\text{L}$  を加えた。さらに 24 時間培養を続けた。

## 13.9.2.4. 析出等の観察

13.7.5. に記載の方法に準じた。

## 13.9.2.5. 50%細胞増殖抑制濃度の算出

13.7.6. に記載の方法に準じた。

## 13.9.3. 染色体異常試験（連続処理法：24 時間処理）

## 13.9.3.1. 試験用量

細胞増殖抑制試験結果を基に、3 用量（公比 2：下表参照）を本試験の用量に設定した。

試験系	試験用量 (μg/mL)		
	連続処理法 24 時間処理	263	525

## 13.9.3.2. 使用プレート数および識別方法

13.8.2.に記載の方法に準じた。

## 13.9.3.3. 連続処理法 24 時間処理

各プレートに  $8 \times 10^3$  細胞/mL に調製した細胞浮遊液 5 mL を播種し、3 日間培養した。培養終了後、培養液 2.3 mL を除き、溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液 300 μL を加えた。さらに 24 時間培養を続けた後に染色体標本を作製した。

## 13.9.3.4. 析出等の観察

13.8.5.に記載の方法に準じた。

## 13.9.3.5. 標本の作製

13.8.6.に記載の方法に準じた。ただし、0.25%トリプシン溶液は Lot No. 1099108 を使用した。

## 13.9.3.6. 細胞増殖抑制度の測定

13.8.7.に記載の方法に準じた。

## 13.9.3.7. 染色体の観察

13.8.8.に記載の方法に準じた。

## 13.10. 結果の解析

最終評価はギャップのみ保有する細胞を含めない場合について行った。異常細胞の出現頻度を、Fisher の直接確率計算法（有意水準 0.05）を用いて検定した。また用量依存性については、Cochran Armitage の傾向検定（有意水準 0.05）を用いて検定した。陰性対照群と比較し被験物質処理群において有意差が認められ、かつ、試験用量に依存性が認められるか、あるいは再現性が確認された場合、陽性と判定した。ただし、最終的な判定は試験条件下での生物学的な妥当性も考慮して行った。

## 14. 試験結果

### 14.1. 細胞増殖抑制試験（短時間処理法）

#### 14.1.1. 細胞増殖抑制試験結果

試験結果を Figure 1 および Table 1 に示した。

いずれの処理群においても明確な細胞毒性作用は観察されなかった。

#### 14.1.2. 析出等の観察

被験物質暴露終了時、pH の変動、析出等の特筆すべき変化は、いずれの試験用量においても観察されなかった。

### 14.2. 染色体異常試験（短時間処理法）

#### 14.2.1. 短時間処理法-S9 処理

試験結果を Table 2 および Appendix 1 に示した。

2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理群での染色体構造異常および倍数性細胞の出現頻度はいずれの用量とも陰性対照群と同等であり、明確な増加傾向は観察されなかった。

また、10 mM 相当の 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理群においても顕著な細胞増殖抑制作用は観察されなかった。

一方、陽性対照物質 MMC で処理した細胞では染色体構造異常が多数観察され、その出現頻度は 36.5% であった。

#### 14.2.2. 短時間処理法+S9 処理

試験結果を Table 3 および Appendix 2 に示した。

2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理群での染色体構造異常および倍数性細胞の出現頻度はいずれの用量とも陰性対照群と同等であり、明確な増加傾向は観察されなかった。

また、10 mM 相当の 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理群においても顕著な細胞増殖抑制作用は観察されなかった。

一方、陽性対照の CP 処理群での染色体構造異常出現頻度は 33.5% であった。

#### 14.2.3. 被験物質の析出等

被験物質処理終了時、pH の変動、析出等の特筆すべき変化は、いずれの試験用量においても観察されなかった。

**14.3. 細胞増殖抑制試験 (連続処理法 24 時間処理)**

**14.3.1. 細胞増殖抑制試験結果**

試験結果を Figure 2 および Table 4 に示した.

いずれの処理群においても明確な細胞毒性作用は観察されなかった.

**14.3.2. 析出等の観察**

被験物質暴露終了時, pH の変動, 析出等の特筆すべき変化は, いずれの試験用量においても観察されなかった.

**14.4. 染色体異常試験 (連続処理法 24 時間処理)**

試験結果を Table 5 および Appendix 3 に示した.

2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理群での染色体構造異常および倍数性細胞の出現頻度はいずれの用量とも陰性対照群と同等であり, 明確な増加傾向は観察されなかった.

また, 10 mM 相当の 1050  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理群においても顕著な細胞増殖抑制作用は観察されなかった.

一方, 陽性対照物質 MMC で処理した細胞では染色体構造異常が多数観察され, その出現頻度は 36.0%であった.

**14.4.1. 析出等の観察**

被験物質暴露終了時, pH の変動, 析出等の特筆すべき変化は, いずれの試験用量においても観察されなかった.

## 15. 考察および結論

2-(1-Methylethoxy)-ethanol の変異原性、すなわち染色体異常誘発性の有無を検討するため、培養細胞 (CHL/IU) を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施した。

細胞増殖抑制試験結果を基に、短時間処理法-S9 処理ならびに同+S9 処理とも 10 mM 相当の 1050 µg/mL まで検討した。

その結果、2-(1-Methylethoxy)-ethanol 処理ではいずれの試験系とも染色体異常の誘発頻度は陰性対照群と同等の値を示し、明確な染色体構造異常の誘発は認められなかった。短時間処理法において陰性と判定されたことから、連続処理法 24 時間処理による染色体異常試験を実施した。連続処理法においても染色体異常誘発性は陰性と判定された。

本被験物質 2-(1-Methylethoxy)-ethanol の変異原性に関する報告はなかった。類縁体である Isopropyl acetate は復帰突然変異試験で陰性との報告があった<sup>1)</sup>。

Ethylene glycol monomethyl ether は培養細胞を用いた *gpt* 遺伝子突然変異試験で陽性との報告があるが<sup>2)</sup>、McGregor によるレビューでは復帰突然変異試験を含めた各種遺伝毒性試験で陰性と報告している<sup>3)</sup>。また、ラットを用いたコメット試験では精巣で陽性、骨髄で陰性との報告があった<sup>4)</sup>。

Ethylene glycol monomethyl ether acetate は復帰突然変異試験で弱陽性あるいは疑陽性<sup>1)</sup>、ショウジョウバエを用いた異数性検出試験で陽性<sup>5)</sup>との報告があった。

Ethylene glycol monobutyl ether は復帰突然変異試験で陰性<sup>1)</sup>あるいは陽性<sup>6,7)</sup>、培養細胞を用いる姉妹染色分体交換試験で陰性<sup>8)</sup>、培養細胞を用いる染色体異常試験で陰性<sup>8,9)</sup>、培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験で陽性<sup>10)</sup>との報告があった。さらに、マウスならびにラット小核試験で陰性<sup>11)</sup>との報告があった。吸入暴露でのガン原性試験においてマウスで陽性、ラットで疑陽性との結果が得られている<sup>11)</sup>。

なお、短時間処理法の陰性対照あるいは陽性対照での染色体異常出現頻度はいずれも当施設での背景データ (Appendix 4) の範囲内であり、本試験は適切な条件でなされたと判断された。

以上の試験結果から、本試験条件下において 2-(1-Methylethoxy)-ethanol のほ乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性は陰性と判定した。

16. 参考文献

- 1) Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K. : Environ. Mol. Mutagen, 19(suppl 21), 2-141, (1992).
- 2) Ma H., An J., Hsie A.W., Au W.W. : Mutat. Res., 298, 219-225, (1993).
- 3) McGregor D. : Occup. Hyg., 2, 213-235, (1996).
- 4) Anderson D., Dhawan A., Yu T.W., Plewa M.J. : Mutat. Res., 370, 159-174, (1996).
- 5) Osgood C., Zimmering S., Mason J.M. : Mutat. Res., 259, 147-163, (1991).
- 6) Hoflack J.C., Lambolez L., Elias Z., Vasseur P. : Mutat. Res., 341, 281-287, (1995).
- 7) Gollapudi B.B., Barber E.D., Lawlor T.E., *et al.* : Mutat. Res., 370(1), 61-64, (1996).
- 8) National Toxicology Program (NTP) : NTP No. 26, NIH Publ, No. 93-3349, (1993).
- 9) Elias Z., Daniere M.C., Marande, A.M., Poirot O., Terzetti F., Schneider O. : Occup. Hyg., 2, 187-212, (1996).
- 10) Chiewchanwit T., Au W.W. : Mutat. Res., 334, 341-346, (1995).
- 11) National Toxicology Program (NTP) : NTP TR 484, NIH Draft Publ, No. 98-3974, (1998).

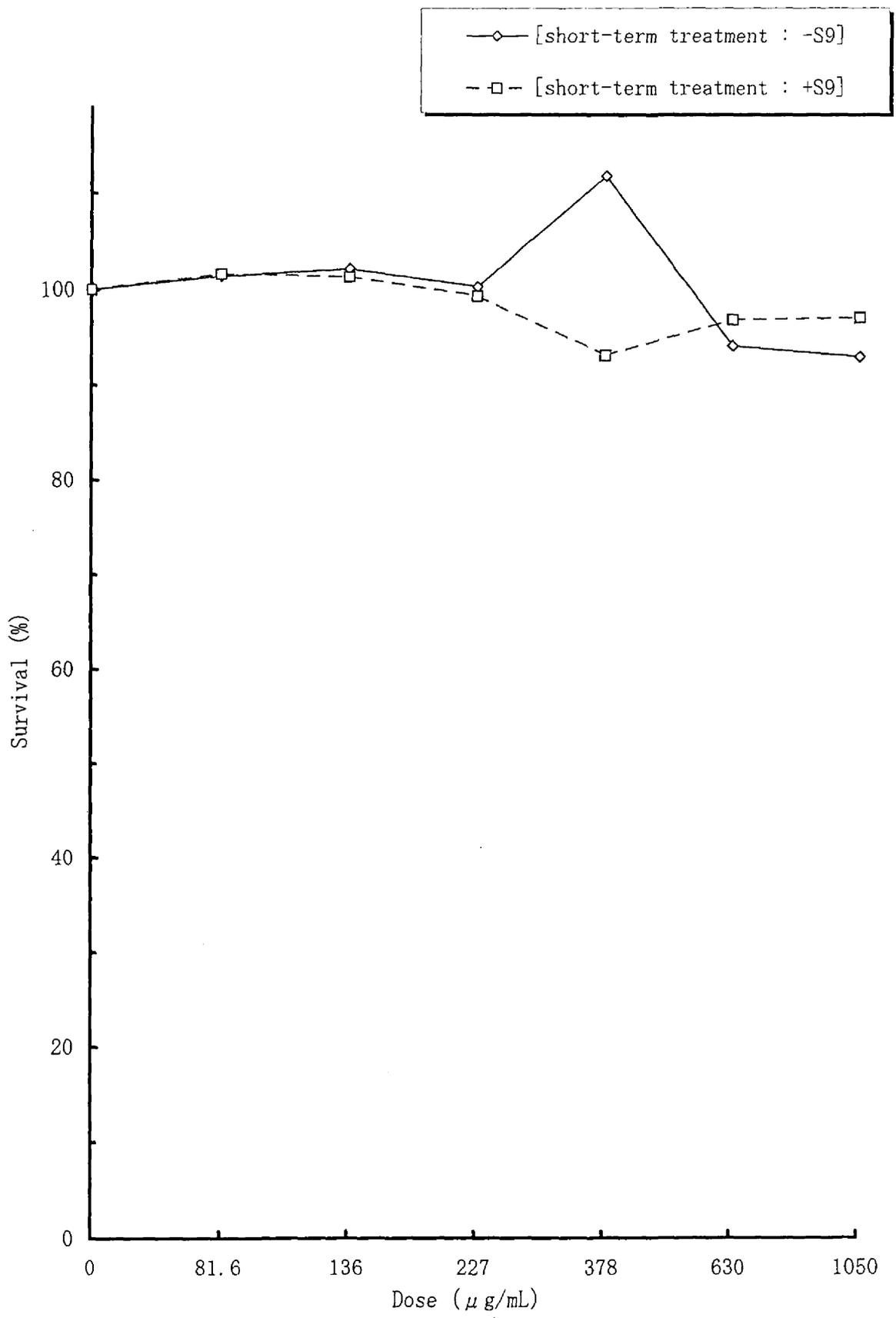


Figure 1. Dose-survival curves of 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [short-term treatment]

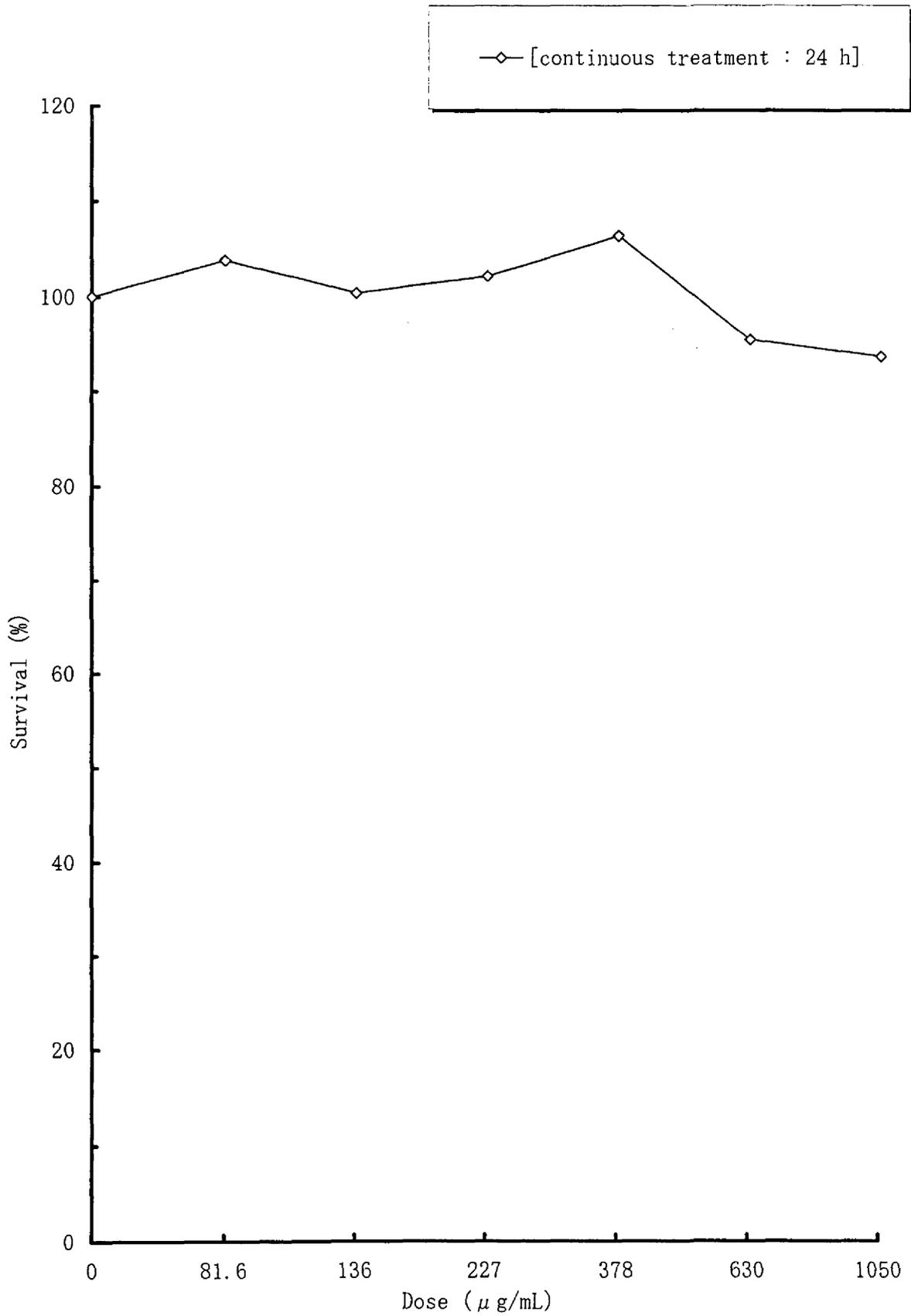


Figure 2. Dose-survival curve of 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [continuous treatment]

Table 1. Results of growth inhibition test on 2-(1-Methylethoxy)-ethanol  
[short-term treatment]

Exp. No. 5457 (115-147)

[short-term treatment : -S9]				[short-term treatment : +S9]			
Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Survival (%)	[ Mean ]	Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Survival (%)	[ Mean ]
D.W. a)	0	100.0 100.0	[ 100.0 ]	D.W. a)	0	100.0 100.0	[ 100.0 ]
Test substance	81.6	106.7 96.1	[ 101.4 ]	Test substance	81.6	98.0 105.3	[ 101.6 ]
	136	101.6 102.7	[ 102.2 ]		136	102.5 100.1	[ 101.3 ]
	227	100.1 100.5	[ 100.3 ]		227	98.6 100.1	[ 99.3 ]
	378	117.0 106.6	[ 111.8 ]		378	92.6 93.6	[ 93.1 ]
	630	94.0 94.2	[ 94.1 ]		630	89.2 104.5	[ 96.9 ]
	1050	91.6 94.3	[ 93.0 ]		1050	94.6 99.5	[ 97.1 ]

50% Growth inhibition dose was as follows:

[short-term treatment : -S9] ——— Not inhibited

[short-term treatment : +S9] ——— Not inhibited

a): Negative control

Table 2. Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol  
[short-term treatment : -S9]

Exp. No. 5457 (115-147)

Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Time of exposure (h)	Cell survival (%)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Number of cells with aberrations -gap(%)	Number of polyploid cells analyzed	Number of polyploid cells (%)	Final judgement
					gap	ctb	cte	csb	cse	oth				
D.W. a)	0	6	100.0	200	0	2	0	0	0	0	2 ( 1.0)	200	1 ( 0.5)	
Test substance	263	6	83.6	200	0	1	0	0	0	0	1 ( 0.5)	200	0 ( 0.0)	
	525	6	66.9	200	0	2	1	0	0	0	3 ( 1.5)	200	1 ( 0.5)	Negative
	1050	6	71.6	200	2	2	0	0	0	0	2 ( 1.0)	200	0 ( 0.0)	
MMC b)	0.1	6	61.2	200	7	32	46	0	0	0	73 ( 36.5) *	200	1 ( 0.5)	

Abbreviation: ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, oth: others

-gap: total number of cells with aberrations except gap

\*  $p < 0.05$  Significant difference from the control group (Fisher's exact test)

a): Negative control

b): Positive control (Mitomycin C)

Table 3. Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol  
[short-term treatment : +S9]

Exp. No. 5457 (115-147)

Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Time of exposure (h)	Cell survival (%)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Number of cells with aberrations -gap(%)	Number of polyploid cells analyzed	Number of polyploid cells (%)	Final judgement
					gap	ctb	cte	csb	cse	oth				
D.W. a)	0	6	100.0	200	0	0	0	0	0	0	0 ( 0.0)	200	1 ( 0.5)	
Test substance	263	6	95.5	200	0	1	0	0	0	0	1 ( 0.5)	200	0 ( 0.0)	
	525	6	100.2	200	2	2	0	0	0	0	2 ( 1.0)	200	0 ( 0.0)	Negative
	1050	6	95.8	200	0	1	2	0	0	0	3 ( 1.5)	200	3 ( 1.5)	
CP b)	12.5	6	66.6	200	3	12	59	0	0	0	67 ( 33.5) *	200	4 ( 2.0)	

Abbreviation: ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, oth: others

-gap: total number of cells with aberrations except gap

\*  $p \leq 0.05$  Significant difference from the control group (Fisher's exact test)

a): Negative control

b): Positive control (Cyclophosphamide)

Table 4. Results of growth inhibition test on 2-(1-Methylethoxy)-ethanol [continuous treatment]

Exp. No. 5457 (115-147)

[continuous treatment : 24 h]			
Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Survival (%)	[ Mean ]
D.W. a)	0	100.0 100.0	[ 100.0 ]
Test substance	81.6	104.7 102.9	[ 103.8 ]
	136	99.0 101.6	[ 100.3 ]
	227	98.7 105.3	[ 102.0 ]
	378	104.2 108.2	[ 106.2 ]
	630	99.8 90.8	[ 95.3 ]
	1050	95.1 91.8	[ 93.5 ]

50% Growth inhibition dose was as follows:

[continuous treatment : 24 h] ——— Not inhibited

a): Negative control

Table 5. Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-(1-Methylethoxy)-ethanol  
[continuous treatment : 24 h]

Exp. No. 5457 (115-147)

Compound	Dose ( $\mu$ g/mL)	Time of exposure (h)	Cell survival (%)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Number of cells with aberrations -gap(%)	Number of polyploid cells analyzed	Number of polyploid cells (%)	Final judgement
					gap	ctb	cte	csb	cse	oth				
D. W. a)	0	24	100.0	200	0	0	1	0	0	0	1 ( 0.5)	200	2 ( 1.0)	
Test substance	263	24	91.3	200	0	2	2	0	0	0	3 ( 1.5)	200	1 ( 0.5)	
	525	24	87.1	200	0	2	1	0	0	0	3 ( 1.5)	200	1 ( 0.5)	Negative
	1050	24	84.5	200	0	0	1	0	0	0	1 ( 0.5)	200	0 ( 0.0)	
MMC b)	0.05	24	75.4	200	9	31	56	0	0	0	72 ( 36.0) *	200	0 ( 0.0)	

Abbreviation: ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, oth: others

-gap: total number of cells with aberrations except gap

\*  $p \leq 0.05$  Significant difference from the control group (Fisher's exact test)

a): Negative control

b): Positive control (Mitomycin C)

## 最終報告書の訂正書 ( I )

表 題 : 2-(1-Methylethoxy)-ethanol のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号 : 5457 ( 115-147 )

訂 正 日 : 平成 14 年 5 月 21 日

下記事項につき最終報告書を訂正する.

### 記

最終報告書に記載の被験物質名を【2-(1-Methylethoxy)-ethanol】から【Ethanol, 2-(1-methylethoxy)-】へ読み替える.

訂正理由 : 既存化学物質の名称を統一するよう要請を受けた事による変更.

以 上