

最 終 報 告 書

ペンタエリスリトールテトライソオクチレートの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号 : 7825 (115-190)

平成 17 年 5 月 23 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
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

Figure 1	Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA100	23
Figure 2	Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535	24
Figure 3	Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain WP2 <i>uvrA</i>	25
Figure 4	Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA98	26
Figure 5	Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1537	27

Figure 6	Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA100.....	28
Figure 7	Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535.....	29
Figure 8	Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain WP2 <i>uvrA</i>	30
Figure 9	Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA98.....	31
Figure 10	Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1537.....	32
Figure 11	Bacterial reverse mutation test (restudy) of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535.....	33
Tables		
Table 1	Summary data on dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester [Non-activation method: -S9].....	34
Table 2	Summary data on dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester [Activation method: +S9].....	35
Table 3	Summary data on bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester [Non-activation method: -S9].....	36
Table 4	Summary data on bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester [Activation method: +S9].....	37
Table 5	Summary data on bacterial reverse mutation test (restudy) of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester [Non-activation method: -S9].....	38

1. 要約

当該試験条件下において、ペンタエリスリトールテトライソオクチレート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。

ペンタエリスリトールテトライソオクチレートの変異原性について、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, TA98, TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2*uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を行った。

その結果、ペンタエリスリトールテトライソオクチレート処理では 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、陰性対照に比べ復帰変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。

一方、代謝活性化系非存在下および代謝活性化系存在下での陽性対照物質は、それぞれの試験菌株に対し明確な突然変異誘発作用を示した。

これら両試験系での試験結果は、用量設定試験、本試験および再試験において再現性が確認された。

12. 被験物質

12.1. 被験物質名

ペンタエリスリトールテトライソオクチレート (英名 : Hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester)

12.2. ロット番号

12.3. 純度

98.4% (GC%)

残り 1.6%不明 (各成分 1%未満)

12.4. 製造元

12.5. 保存条件

室温, 気密, 遮光.

12.6. 保存場所

安評センター被験物質保管庫 (C-3 : 22.2~29.8°C ; 平成 16 年 7 月 20 日~平成 16 年 10 月 26 日)

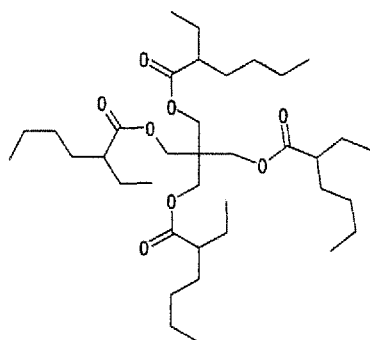
12.7. CAS No.

7299-99-2

12.8. 化学名

2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]propane-, 3-diyl -bis(2-ethylhexanoate)

12.9. 化学構造



- 12.10. 分子式
 $C_{37}H_{68}O_8$
- 12.11. 分子量
640.94
- 12.12. 物質の状態
形状：液体
色：無色透明
臭い：ほとんど臭いはないが、わずかに特異臭が有る。
- 12.13. 沸点
170°C (0.133 kPa)
- 12.14. 密度
 $d_{30} = 0.96$
- 12.15. 溶解性
水に対する溶解性：不溶
- 12.16. 安定性／反応性
安定性：安定
反応性：酸，アルカリで加水分解をうける。
- 12.17. 取り扱い上の注意
火気厳禁
作業場の換気を十分に行う。
保護眼鏡，保護手袋等の適切な保護具を使用する。
取り扱い後は，手，顔等を良く洗い，うがいをする。
- 12.18. 残余被験物質の処理
被験物質の一部 (0.5 g) を保存した後，残りは品質試験等の実施のため被験物質提供元へ返却した。
- 12.19. 安定性
被験物質提供元 () にて保管されていた同一ロットの被験物質について実施した品質分析の結果 (平成 17 年 5 月 17 日付報告)，安定性に関して問題はなかった。

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広く使用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)

ネズミチフス菌は昭和58年9月9日にカリフォルニア大学 から、
また、大腸菌については昭和58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。

平成15年9月16日～同年9月19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；設定温度-80℃）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）

デスメディア AN 培地（平成16年4月13日製造，Lot No. ANI340DT；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 を含む組成の溶液 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・7水塩	0.2	g
クエン酸・1水塩	2	g
リン酸二カリウム・無水塩	10	g
リン酸一アンモニウム	1.92	g
水酸化ナトリウム	0.66	g
グルコース	20	g
寒天 (BA-30A : Lot No. 40127 ; 伊那食品工業)	12.0	g
精製水	1000	mL

13.2.2. トップアガー (軟寒天)

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後, 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 ; 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 のバッ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. 218041 (予備試験), Lot No. 298714 (本試験および再試験) ; 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. 用量設定試験の場合, 培養開始までの間冷却ユニット (COOLPIPE 200D : タイテック) を用いて 4°C に保存し, その後ウォーターバスシェーカー (MM-10 : タイテック) を用い, 37°C の条件で 8 時間振盪 (100 回/分) 培養した. 本試験および再試験の場合, クールバスシェーカー (ML-10F : タイテック) を用いて培養開始までの間約 4°C に保存した後, 37°C の条件で約 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) を用いて計測した生菌数を以下に示した.

試験	生菌数 ($\times 10^9$ / mL)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
用量設定試験	3.09	3.17	4.07	2.64	1.60
本試験	2.75	3.09	3.43	2.17	1.07
再試験	-	2.05	-	-	-

13.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (Lot No. FSM-503 ; 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 (設定温度 -80°C) 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。

ロット番号	RAA-503
製造年月日	平成 16 年 5 月 21 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	209~236 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	28.85 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

本被験物質は水に不溶であるがアセトンに易溶であることから、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アセトン（分光分析用；含量 100.0%：Lot No. 501F1723；関東化学）に溶解させた。

用量設定試験では使用直前に調製原液 (200.0 mg/mL) を準備した。この 200.0 mg/mL 調製原液を使用溶媒で順次希釈し、80.00, 32.00, 12.80, 5.120, 2.048, 0.8192 および 0.3277 mg/mL 溶液を調製した後、速やかに処理を行った。

本試験では、使用直前に調製原液 (100.0 mg/mL 溶液) を準備した。この 100.0 mg/mL 調製原液を使用溶媒で順次希釈し、50.00, 25.00, 12.50, 6.250 および 3.125 mg/mL 溶液を調製した後、速やかに処理を行った。

-S9 処理の TA1535 のみの再試験においても本試験と同じ調製方法とした。調製した後、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（アセトン）で試験した。

13.6.2. 陽性対照

調製済み陽性対照コントロール（ポジコン AM：Lot No. M0003；オリエンタル酵母工業）を試験に使用した。購入後、超低温フリーザーに保存（-80℃）したものを用時解凍して試験に使用した。陽性対照物質名および用量を以下に示した。

陽性対照物質名

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	調製日	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	陽性対照 溶液濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	ロット番号
ネズミチフス菌 TA100	AF-2	2003.4.11	0.01	0.1	030411AF01
ネズミチフス菌 TA98	AF-2	2003.4.11	0.1	1.0	030411AF10
ネズミチフス菌 TA1535	NaN ₃	2003.4.10	0.5	5.0	030410N
ネズミチフス菌 TA1537	9-AA	2003.4.11	80	800	030411A9
大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	2003.4.11	0.01	0.1	030411AF01

《代謝活性化系存在下：+S9 処理》

ネズミチフス菌 TA100	2-AA	2003.4.10	1.0	10	030410A210
ネズミチフス菌 TA98	2-AA	2003.4.10	0.5	5.0	030410A205
ネズミチフス菌 TA1535	2-AA	2003.4.10	2.0	20	030410A220
ネズミチフス菌 TA1537	2-AA	2003.4.10	2.0	20	030410A220
大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>	2-AA	2003.4.10	10	100	030410A2100

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、平成3年)に準じて設定した。

13.6.3. 無菌試験

被験物質液(調製原液)ならびに S9 mix について無菌試験を実施した。すなわち、
調製原液 25 μL あるいは S9 mix 500 μL にトッパアガーを 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。

ペンタエリスリトールテトライソオクチレート調製原液ならびに S9 mix の無菌試験において、菌の増殖は認められなかった。

13.7. 用量設定試験（予備試験）

13.7.1. 用量

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 を最高用量とし、以下 2000, 800, 320, 128, 51.2, 20.5 および 8.19 μg /プレートの 8 用量を設定した。

13.7.2. 使用プレート数および識別

用量当たり 3 枚のプレートを用いた。

試験菌株の別、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。

13.7.3. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養条件

試験管に陰性対照および被験物質処理の場合は使用溶媒あるいは被験物質液を 25 μL 、陽性対照物質処理の場合は陽性対照物質溶液 100 μL を添加した。次いで、代謝活性化系非存在下 (-S9 mix) 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 mix) の場合、S9 mix を 500 μL 分注した。さらに、前培養した試験菌株の懸濁液 100 μL を加えた後、ウォーターバスシェーカー (MM-10: タイテック株式会社) を用いて設定温度 37°C 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、トップアガーを 2 mL 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) を用いて 37°C の条件で 48 時間各プレートを培養した。

13.7.4. 析出等の観察

各処理法において、処理開始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。

13.7.5. 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 ($\times 40$) 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を計測した。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。

13.8. 復帰突然変異試験 (本試験)

13.8.1. 用量

用量設定試験の結果, 両処理法 (±S9) ととも試験菌株に対する生育阻害作用および変異原性が認められず, 2000 µg/プレート以上において被験物質の析出が認められたことから, 本試験においては, 2500 µg/プレートを最高用量とし, 次の表に示した用量 (6 用量) を設定した.

《代謝活性化系非存在下: -S9 mix》

菌株	用量 (µg/プレート)					
TA100	78.1	156	313	625	1250	2500
TA1535	78.1	156	313	625	1250	2500
WP2 <i>uvrA</i>	78.1	156	313	625	1250	2500
TA98	78.1	156	313	625	1250	2500
TA1537	78.1	156	313	625	1250	2500

《代謝活性化系存在下: +S9 mix》

菌株	用量 (µg/プレート)					
TA100	78.1	156	313	625	1250	2500
TA1535	78.1	156	313	625	1250	2500
WP2 <i>uvrA</i>	78.1	156	313	625	1250	2500
TA98	78.1	156	313	625	1250	2500
TA1537	78.1	156	313	625	1250	2500

13.8.2. 使用プレート数および識別

13.7.2.に準じた.

13.8.3. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養条件

13.7.3.に準じた.

13.8.4. 析出等の観察

13.7.4.に準じた.

13.8.5. コロニー数計測

13.7.5.に準じた.

13.9. 復帰突然変異試験（再試験）

13.9.1. 用量

用量設定試験の-S9 処理の TA1535 のみで、雑菌汚染が認められたため、本試験との再現性を確認するために、-S9 処理の TA1535 のみの再試験を実施した。再試験においても本試験と同じ以下に示した用量とした。

《代謝活性化系非存在下：-S9 mix》

菌株	用量 (μg/プレート)					
	78.1	156	313	625	1250	2500
TA1535						

13.9.2. 使用プレート数および識別

13.7.2. に準じた。

13.9.3. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養条件

13.7.3. に準じた。ただし、各プレートの培養では恒温器（MT-62：池田理化）を用いた。

13.9.4. 析出等の観察

13.7.4. に準じた。

13.9.5. コロニー数計測

13.7.5. に準じた。

13.10. 結果の解析

復帰突然変異コロニー数が溶媒対照の 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。

14. 試験結果

14.1. 用量設定試験

結果を Figure 1～5 および Table 1, 2 に示した.

ペンタエリスリトールテトライソオクチレート処理での復帰変異コロニー数は, TA1535 (-S9 処理) 以外の試験菌株のいずれの用量においても明確な増加傾向は認められなかった. なお, -S9 処理の TA1535 の一部のプレートにおいて雑菌汚染が認められたため, コロニー数を計測しなかった. 各試験菌株のいずれの処理群においても, 試験菌株に対する生育阻害作用が観察されなかった.

一方, 陽性対照物質はそれぞれの菌株において, 陰性対照の 2 倍以上の復帰変異コロニーを誘発した.

14.2. 被験物質の析出等 (用量設定試験)

被験物質処理時, 両 ($\pm$ S9) 処理法の 2000 μ g/プレート以上の用量で油滴状の析出物が認められた. なお, プレインキュベーション終了後, -S9 処理の 2000 μ g/プレート以上の用量では, 認められた油滴状の析出物が消失していた.

コロニー計数時, 両処理法の 2000 μ g/プレート以上の用量では, 油滴状および油膜状の析出物が認められた.

14.3. 本試験

試験結果を Figure 6～10 および Table 3, 4 に示した.

被験物質処理群の場合, 代謝活性化系非存在下, 代謝活性化系存在下ともいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の明確な増加傾向は認められなかった. 各試験菌株のいずれの処理群においても, 試験菌株に対する生育阻害作用が観察されなかった.

一方, 陽性対照物質は各試験菌株に対し, 復帰突然変異を顕著に誘発した.

14.4. 被験物質の析出等 (本試験)

被験物質処理時, 両 ($\pm$ S9) 処理法の 1250 μ g/プレート以上の用量で油滴状の析出物が認められた. なお, プレインキュベーション終了後, -S9 処理の 1250 μ g/プレート以上の用量では, 認められた油滴状の析出物が消失していた.

コロニー計数時, 両処理法の 1250 μ g/プレート以上の用量では, 油滴状および油膜状の析出物が認められた.

14.5. 再試験

試験結果を Figure 11 および Table 5 に示した.

被験物質処理群の場合, 復帰変異コロニー数の明確な増加傾向は認められず, 生育阻害作用も観察されなかった.

一方、陽性対照物質は試験菌株に対し、復帰突然変異を顕著に誘発した。

14.6. 被験物質の析出等（再試験）

被験物質処理時、1250 μg /プレート以上の用量で油滴状の析出物が認められた。なお、プレインキュベーション終了後、1250 μg /プレート以上の用量では、認められた油滴状の析出物が消失していた。

コロニー計数時、1250 μg /プレート以上の用量では、油滴状および油膜状の析出物が認められた。

以上、用量設定試験、本試験および再試験において、代謝活性化系非存在下および代謝活性化系存在下の両試験系とも再現性が確認された。

15. 考察および結論

ペンタエリスリトールテトライソオクチレートの変異原性, すなわち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・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.

その結果, ペンタエリスリトールテトライソオクチレート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, 陰性対照と比較し復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった.

これら両試験系での試験結果は, 用量設定試験, 本試験および再試験において再現性が確認された.

また, 本被験物質ペンタエリスリトールテトライソオクチレート (Hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester) の遺伝毒性ならびに発がん性に関する報告はない.

類縁体であるPentaerythritol tetranitrateについては, 2 年間のラット発がん性試験で, Zymbal腺に新生物が低頻度で認められた¹⁾. また, ペンタエリスリトールは, 細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性²⁾, CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験で陰性³⁾と報告されている.

なお, 陰性対照群あるいは陽性対照群でのコロニー数は, いずれも当施設での背景データ (Appendix 1) の範囲内であり, 当該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, 当該試験条件下においてペンタエリスリトールテトライソオクチレート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.

16. 参考文献

- 1) Bucher JR, Huff J, Haseman JK, Eustis SL, Lilja HS and Murthy AS.: No evidence of toxicity or carcinogenicity of Pentaerythritol tetranitrate given in the diet to F344 rats and B6C3F1 mice for up to two years. J Appl Toxicol. 1990, 10(5):353-7.
- 2) 澁谷徹, 坂本京子, 加藤基恵, 堀谷尚古, 川上久美子, 松本容彦, 川嶋美以子, 中込まどか, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 3, 277-280, 1996.
- 3) 田中憲徳, 山影康次, 若栗忍, 中川ゆづき, 日下部博一, 橋本恵子, 化学物質毒性試験報告書 Vol. 3, 281-283, 1996.

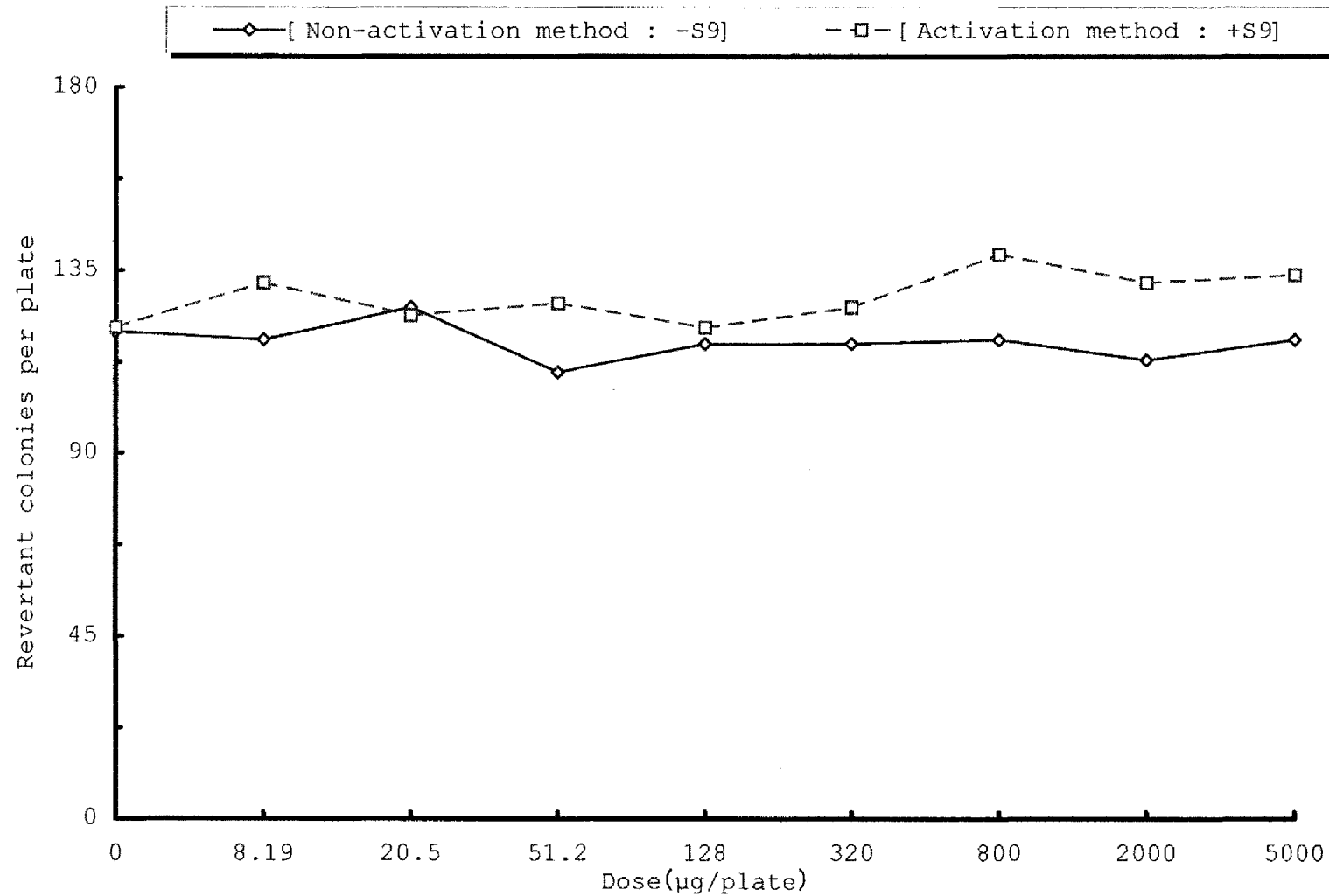


Figure 1. Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA100

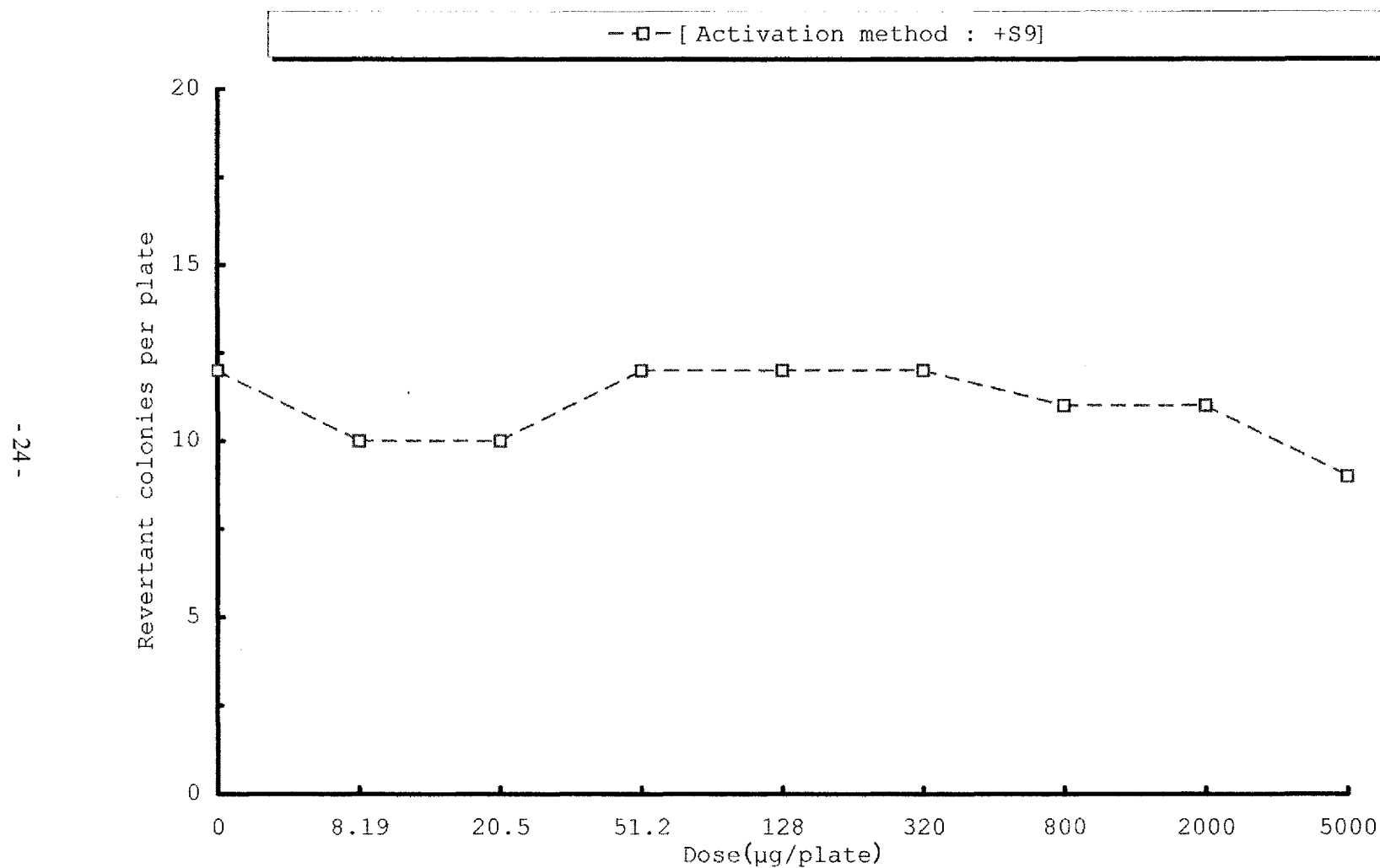


Figure 2. Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535

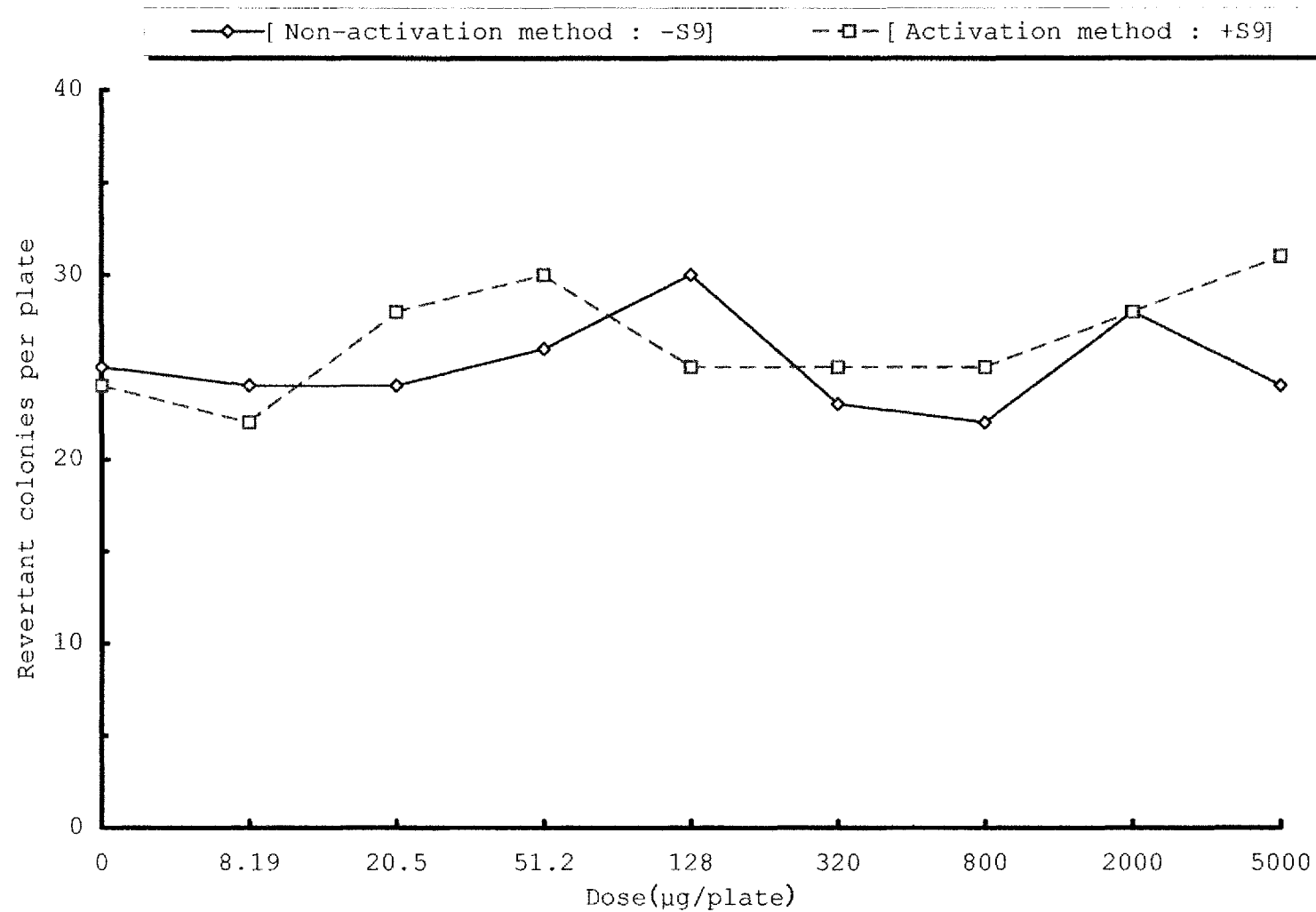


Figure 3. Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain WP2uvrA

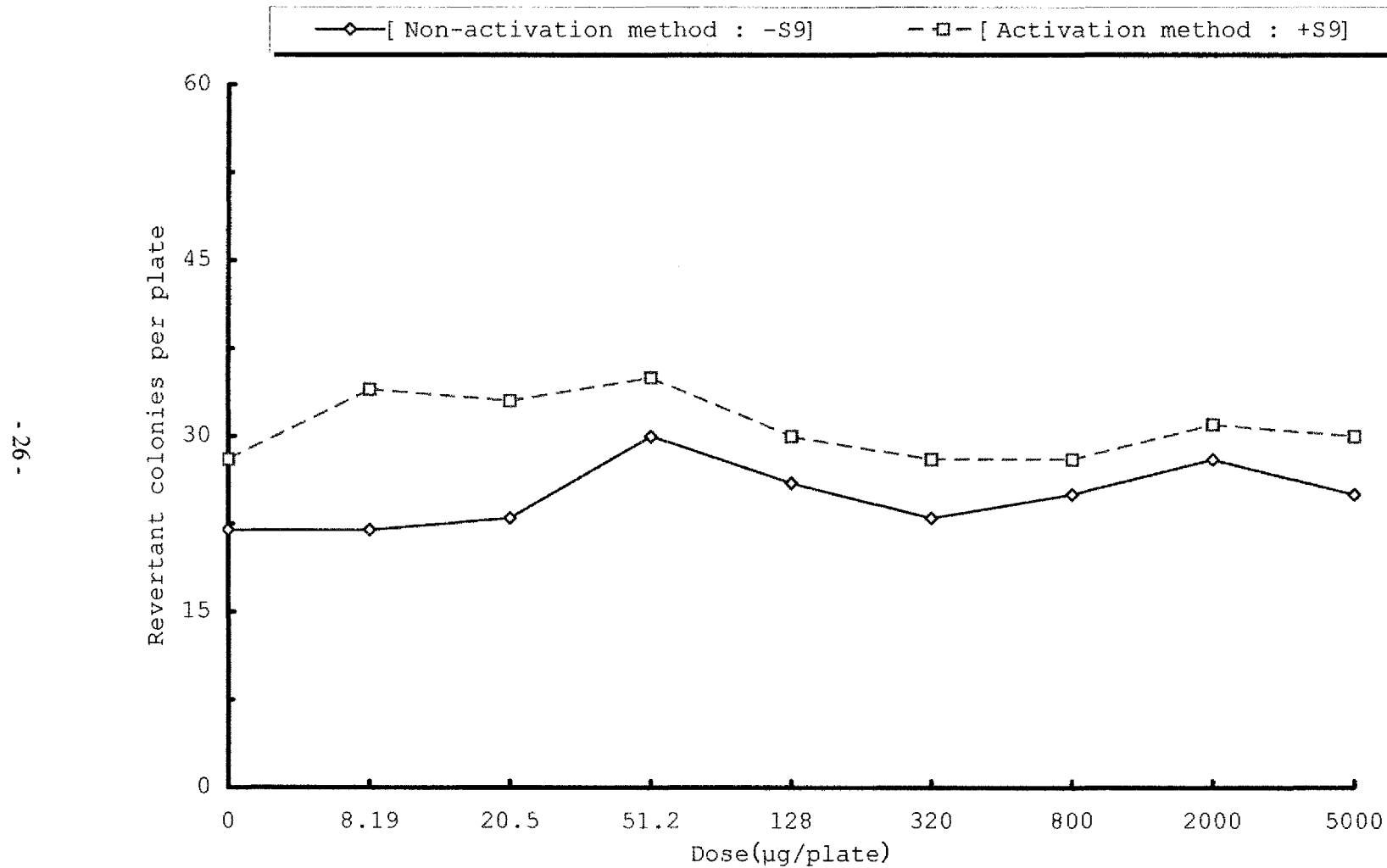


Figure 4. Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA98

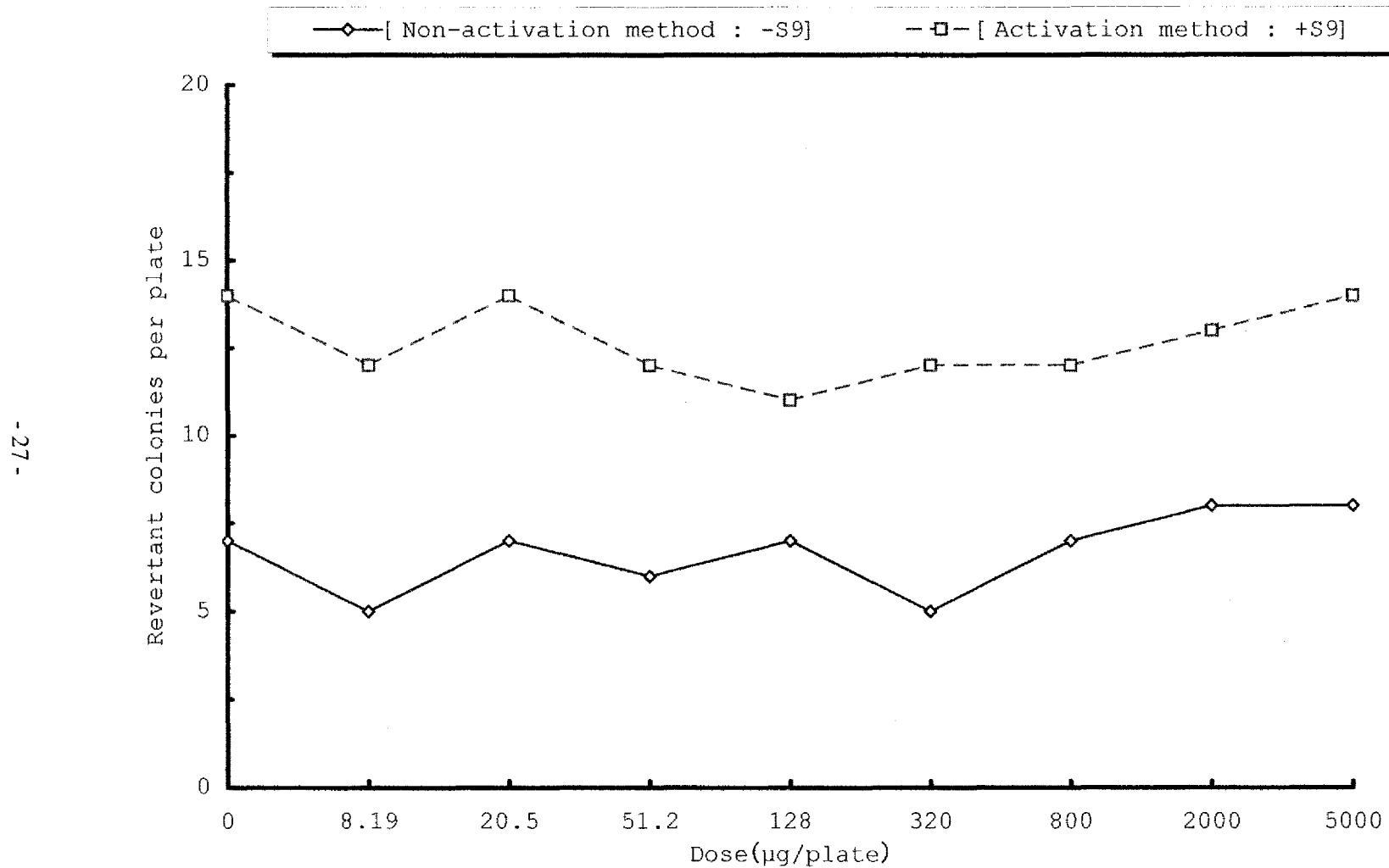


Figure 5. Dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[2-ethyl-1-oxohexyl]oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1537

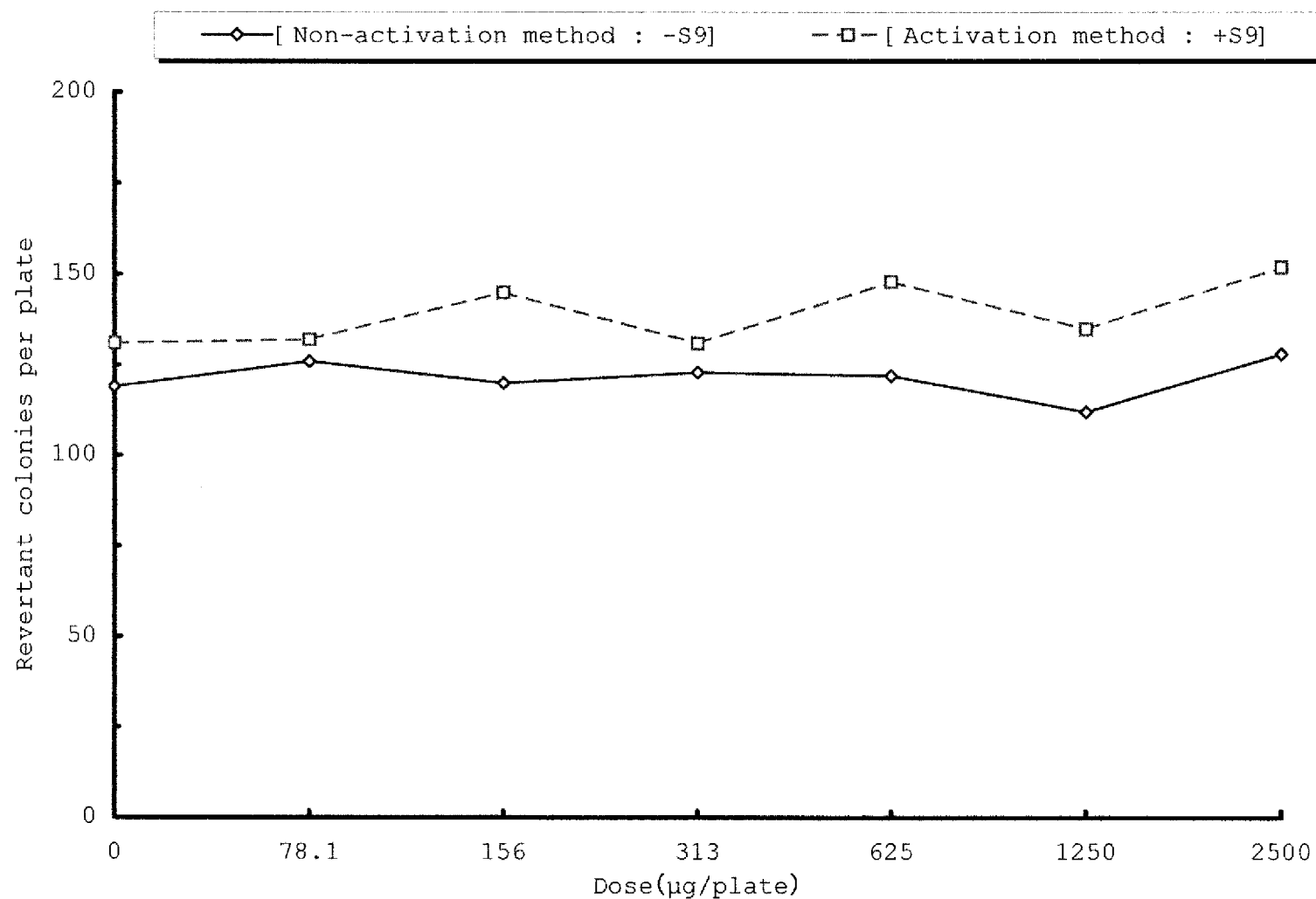


Figure 6. Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA100

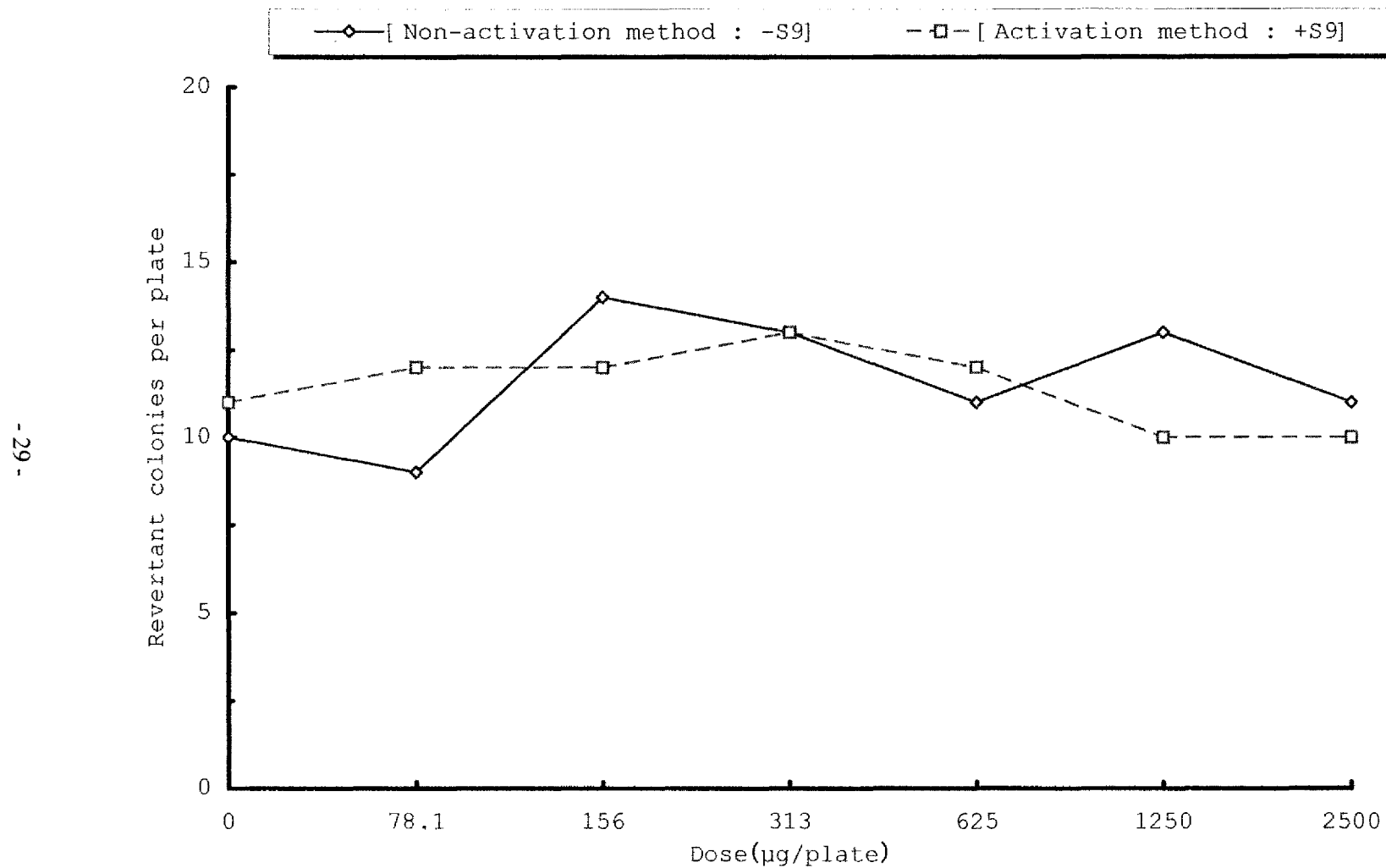


Figure 7. Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid,2-ethyl-,2,2-bis[[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535

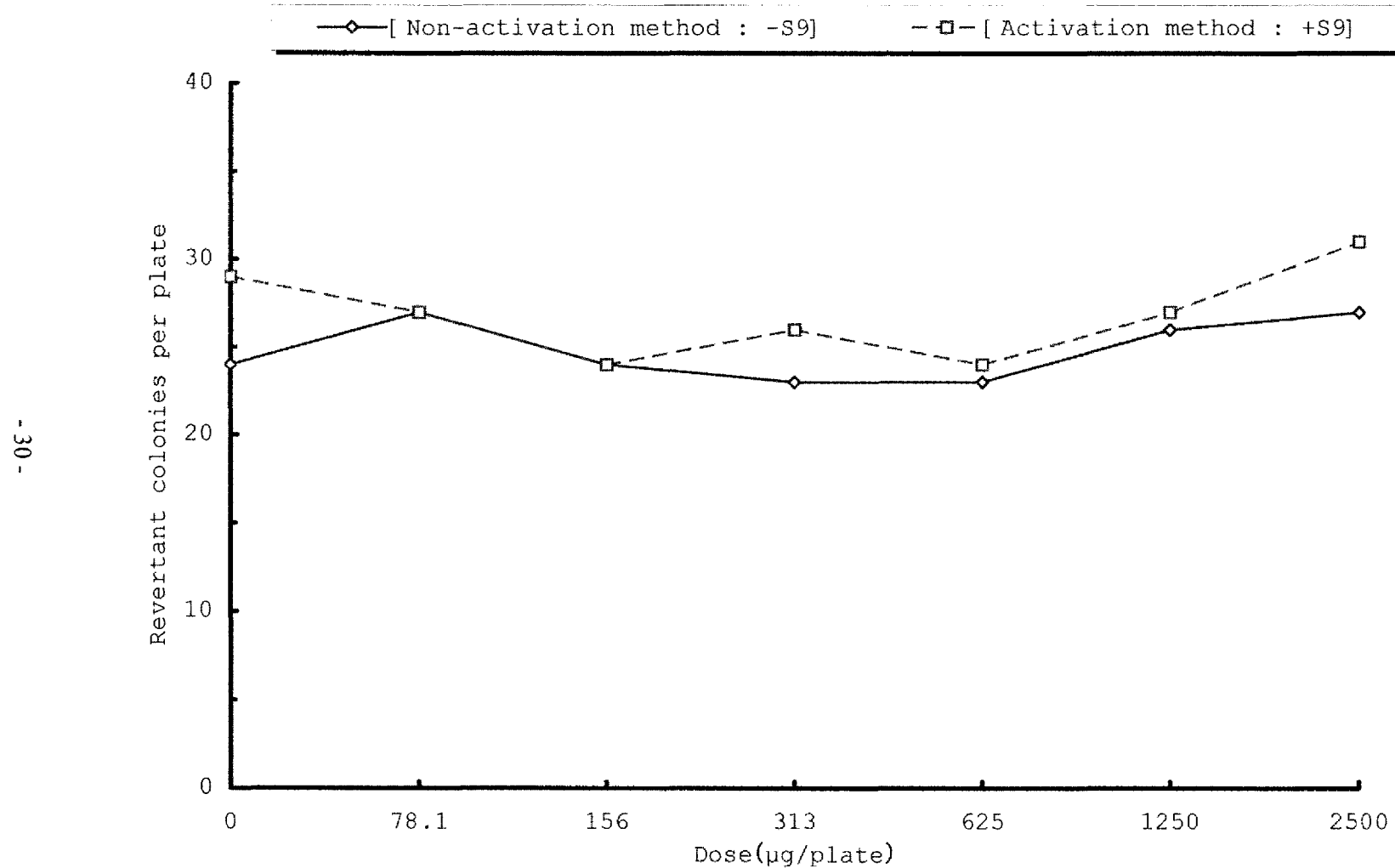


Figure 8. Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[2-ethyl-1-oxohexyl]oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain WP2uvrA

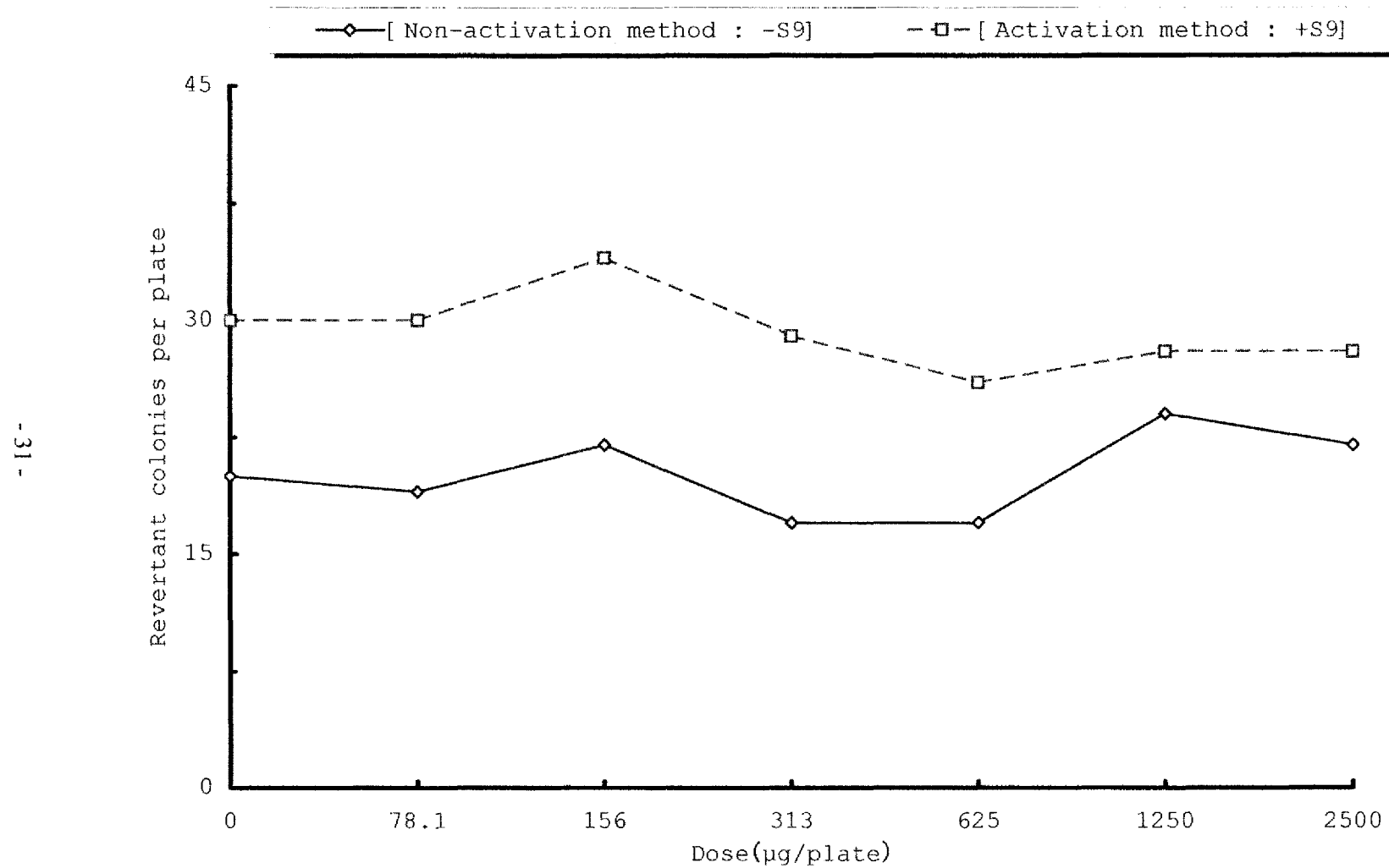


Figure 9. Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA98

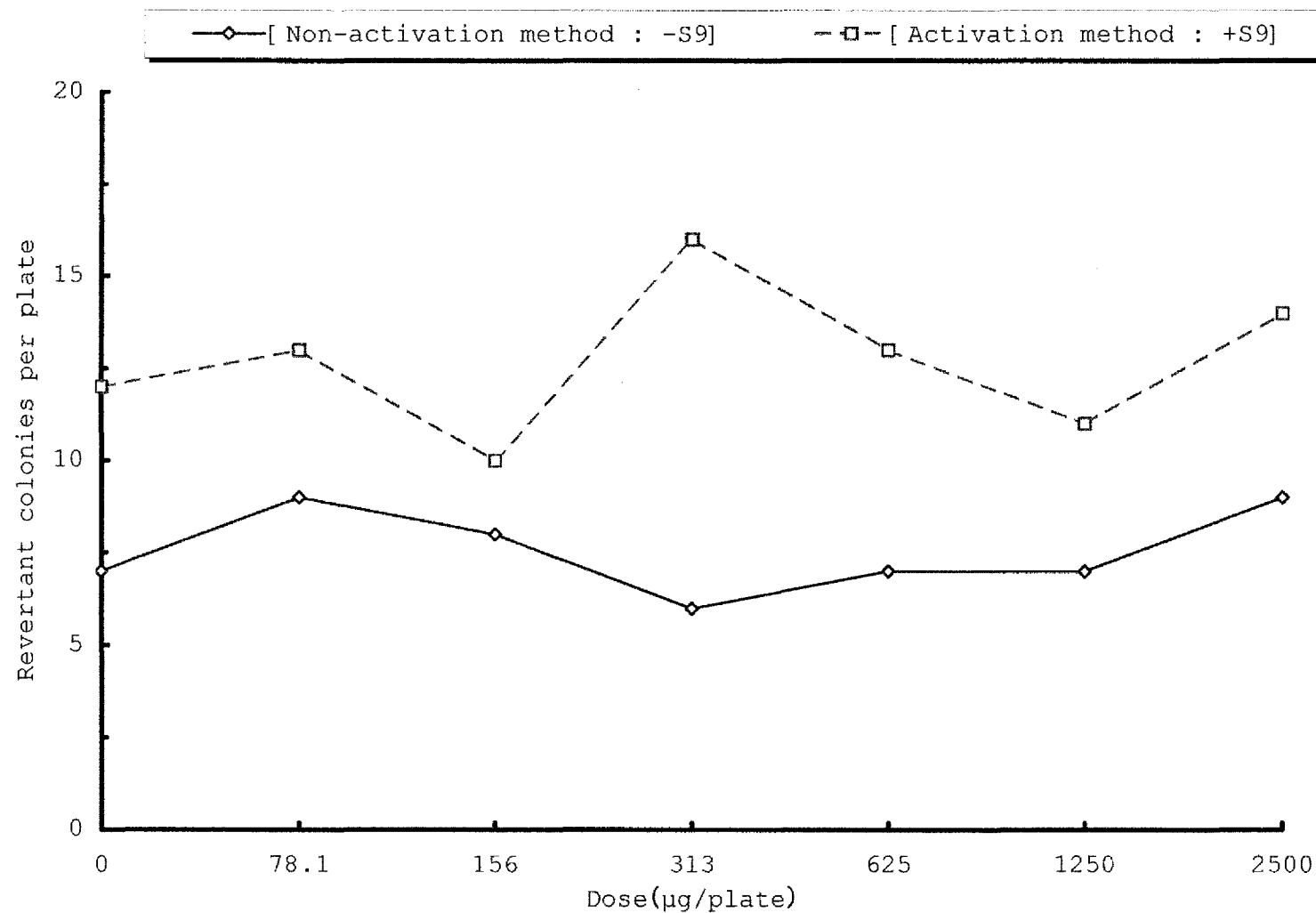


Figure 10. Bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1537

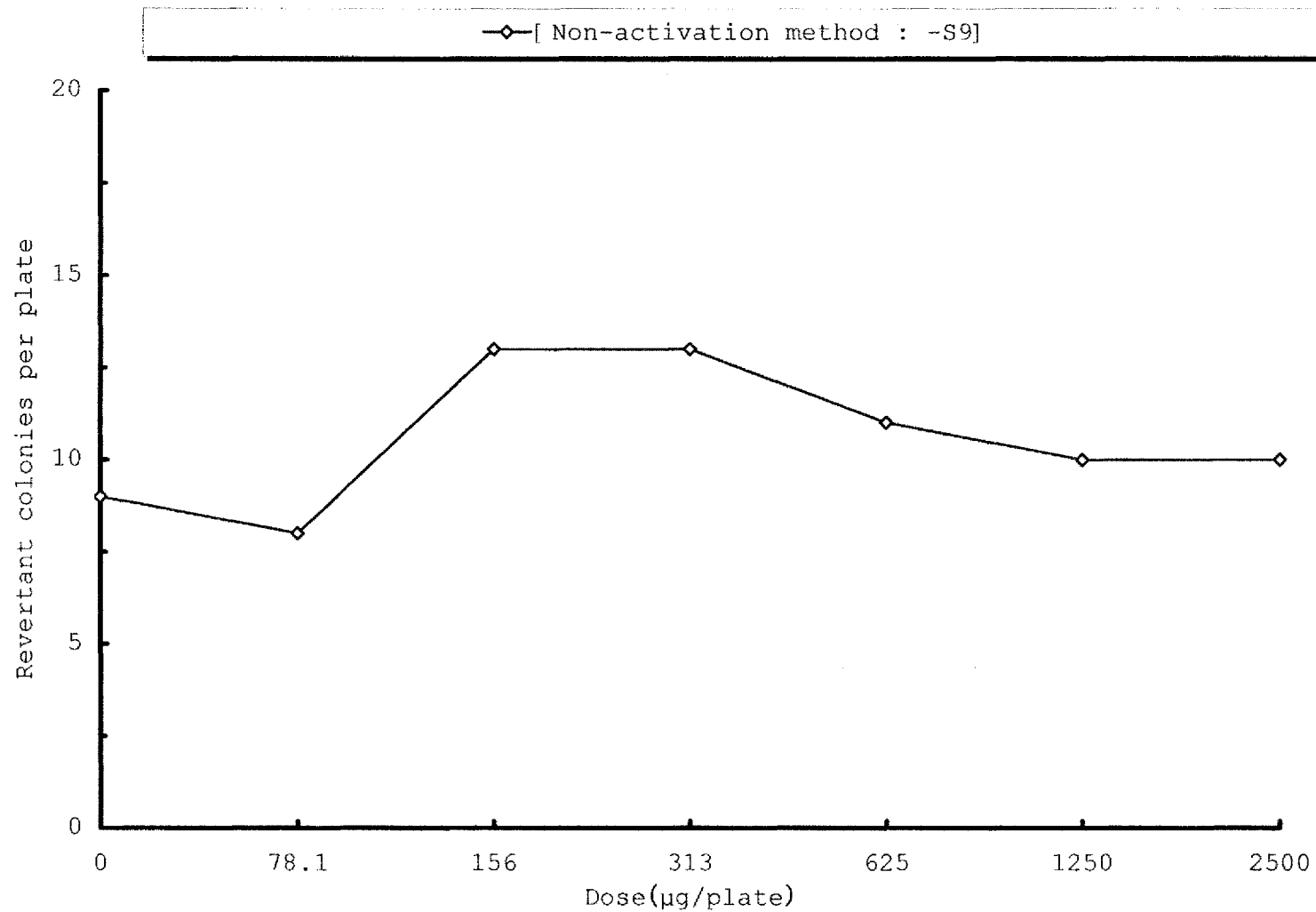


Figure 11. Bacterial reverse mutation test (restudy) of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[[2-ethyl-1-oxohexyl]oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester in strain TA1535

Table 1.

Summary data on dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy] methyl] -1,3-propanediyl ester
[Non-activation method : -S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2- bis[(2-ethyl-1- oxohexyl)oxy] methyl] -1,3- propanediyl ester	0	111	118	130	-	-	-	28	25	23	22	21	23	6	4	10
		[120	$\pm$	10]				[25	$\pm$	3]	[22	$\pm$	1]	[7	$\pm$	3]
	8.19	124	112	117	-	-	-	23	21	27	23	24	20	5	4	6
		[118	$\pm$	6]				[24	$\pm$	3]	[22	$\pm$	2]	[5	$\pm$	1]
	20.5	127	119	132	-	-	-	27	21	24	21	28	21	8	4	9
		[126	$\pm$	7]				[24	$\pm$	3]	[23	$\pm$	4]	[7	$\pm$	3]
	51.2	115	108	108	-	-	-	22	25	30	31	30	28	7	6	6
		[110	$\pm$	4]				[26	$\pm$	4]	[30	$\pm$	2]	[6	$\pm$	1]
	128	118	124	109	-	-	-	32	31	28	24	29	24	9	6	7
		[117	$\pm$	8]				[30	$\pm$	2]	[26	$\pm$	3]	[7	$\pm$	2]
	320	125	119	108	-	-	-	25	22	22	25	24	20	5	7	4
		[117	$\pm$	9]				[23	$\pm$	2]	[23	$\pm$	3]	[5	$\pm$	2]
	800	120	108	125	-	-	-	25	20	21	28	25	22	10	5	7
		[118	$\pm$	9]				[22	$\pm$	3]	[25	$\pm$	3]	[7	$\pm$	3]
	2000 +	109	116	113	-	-	-	28	26	31	24	30	31	11	8	5
		[113	$\pm$	4]				[28	$\pm$	3]	[28	$\pm$	4]	[8	$\pm$	3]
	5000 +	120	120	114	-	-	-	20	25	26	22	25	28	7	8	10
		[118	$\pm$	3]				[24	$\pm$	3]	[25	$\pm$	3]	[8	$\pm$	2]
Positive control		569	618	584 a)	-	-	-	151	143	160 a)	677	724	717 c)	223	174	193 d)
		[590	$\pm$	25]				[151	$\pm$	9]	[706	$\pm$	25]	[197	$\pm$	25]

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

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μ g/plate

c): AF-2, 0.1 μ g/plate d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 μ g/plate

- : Revertant colonies were not counted because some plates were contaminated with bacteria.

Table 2.

Summary data on dose-finding study of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy] methyl]-1,3-propanediyl ester
[Activation method : +S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2- bis[(2-ethyl-1- oxohexyl)oxy] methyl]-1,3- propanediyl ester	0	121	129	114	13	13	9	25	21	25	23	28	32	15	13	13
		[121	$\pm$	8]	[12	$\pm$	2]	[24	$\pm$	2]	[28	$\pm$	5]	[14	$\pm$	1]
	8.19	128	130	139	10	12	9	24	20	22	35	36	31	14	13	10
		[132	$\pm$	6]	[10	$\pm$	2]	[22	$\pm$	2]	[34	$\pm$	3]	[12	$\pm$	2]
	20.5	124	131	117	9	8	12	32	26	26	30	36	33	15	17	11
		[124	$\pm$	7]	[10	$\pm$	2]	[28	$\pm$	3]	[33	$\pm$	3]	[14	$\pm$	3]
	51.2	125	128	127	14	11	11	34	26	29	36	36	34	16	10	11
		[127	$\pm$	2]	[12	$\pm$	2]	[30	$\pm$	4]	[35	$\pm$	1]	[12	$\pm$	3]
	128	124	116	123	10	11	14	28	22	25	28	30	33	10	12	10
		[121	$\pm$	4]	[12	$\pm$	2]	[25	$\pm$	3]	[30	$\pm$	3]	[11	$\pm$	1]
	320	126	115	136	8	13	14	29	22	25	25	30	28	11	14	11
		[126	$\pm$	11]	[12	$\pm$	3]	[25	$\pm$	4]	[28	$\pm$	3]	[12	$\pm$	2]
	800	140	127	149	11	10	11	24	28	24	25	26	33	14	11	10
		[139	$\pm$	11]	[11	$\pm$	1]	[25	$\pm$	2]	[28	$\pm$	4]	[12	$\pm$	2]
	2000 +	137	131	129	10	12	11	25	25	33	30	34	29	13	15	12
		[132	$\pm$	4]	[11	$\pm$	1]	[28	$\pm$	5]	[31	$\pm$	3]	[13	$\pm$	2]
	5000 +	134	141	128	13	7	8	33	29	30	31	33	27	12	14	15
		[134	$\pm$	7]	[9	$\pm$	3]	[31	$\pm$	2]	[30	$\pm$	3]	[14	$\pm$	2]
Positive control		1117	1102	912 a)	282	299	330 b)	692	662	692 c)	372	357	347 d)	131	149	126 b)
		[1044	$\pm$	114]	[304	$\pm$	24]	[682	$\pm$	17]	[359	$\pm$	13]	[135	$\pm$	12]

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

a): 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 μ g/plate b): 2-AA, 2 μ g/plate c): 2-AA, 10 μ g/plate d): 2-AA, 0.5 μ g/plate

Table 3. Summary data on bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2, 2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1, 3-propanediyl ester
[Non-activation method : -S9] Exp. No. 7825 (115-190)

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
hexanoic acid, 2-ethyl-, 2, 2- bis[(2-ethyl-1- oxohexyl)oxy] methyl]-1, 3- propanediyl ester	0	125	117	116	11	9	9	22	23	27	21	19	21	7	6	8
		[119	$\pm$	5]	[10	$\pm$	1]	[24	$\pm$	3]	[20	$\pm$	1]	[7	$\pm$	1]
	78.1	138	125	114	5	11	11	28	29	24	16	22	19	13	5	9
		[126	$\pm$	12]	[9	$\pm$	3]	[27	$\pm$	3]	[19	$\pm$	3]	[9	$\pm$	4]
	156	117	111	132	14	14	13	27	23	23	25	21	21	8	7	8
		[120	$\pm$	11]	[14	$\pm$	1]	[24	$\pm$	2]	[22	$\pm$	2]	[8	$\pm$	1]
	313	118	131	119	12	14	12	20	26	23	15	16	20	5	6	6
		[123	$\pm$	7]	[13	$\pm$	1]	[23	$\pm$	3]	[17	$\pm$	3]	[6	$\pm$	1]
	625	107	138	122	15	9	9	24	24	21	14	18	18	8	6	7
		[122	$\pm$	16]	[11	$\pm$	3]	[23	$\pm$	2]	[17	$\pm$	2]	[7	$\pm$	1]
	1250 +	110	111	116	14	10	15	30	24	24	25	18	29	7	8	7
		[112	$\pm$	3]	[13	$\pm$	3]	[26	$\pm$	3]	[24	$\pm$	6]	[7	$\pm$	1]
	2500 +	128	136	119	13	10	10	30	23	27	20	21	25	6	10	11
		[128	$\pm$	9]	[11	$\pm$	2]	[27	$\pm$	4]	[22	$\pm$	3]	[9	$\pm$	3]
Positive control		721	696	805 a)	416	464	427 b)	166	146	145 a)	714	726	628 c)	211	199	206 d)
		[741	$\pm$	57]	[436	$\pm$	25]	[152	$\pm$	12]	[689	$\pm$	53]	[205	$\pm$	6]

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

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μ g/plate b): NaN₃; Sodium azide, 0.5 μ g/plate
c): AF-2, 0.1 μ g/plate d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 μ g/plate

Table 4. Summary data on bacterial reverse mutation test of hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl ester
[Activation method : +S9] Exp. No. 7825 (115-190)

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
hexanoic acid, 2-ethyl-, 2,2- bis[(2-ethyl-1- oxohexyl)oxy] methyl]-1,3- propanediyl ester	0	135	125	132	8	12	12	29	37	21	28	35	26	12	14	11
		[131	$\pm$	5]	[11	$\pm$	2]	[29	$\pm$	8]	[30	$\pm$	5]	[12	$\pm$	2]
	78.1	147	125	124	11	13	13	21	23	38	34	27	29	14	9	17
		[132	$\pm$	13]	[12	$\pm$	1]	[27	$\pm$	9]	[30	$\pm$	4]	[13	$\pm$	4]
	156	147	139	149	12	11	13	26	20	27	39	33	30	8	13	9
		[145	$\pm$	5]	[12	$\pm$	1]	[24	$\pm$	4]	[34	$\pm$	5]	[10	$\pm$	3]
	313	128	132	133	12	11	15	30	28	19	31	27	28	12	14	21
		[131	$\pm$	3]	[13	$\pm$	2]	[26	$\pm$	6]	[29	$\pm$	2]	[16	$\pm$	5]
	625	153	150	142	11	14	10	23	22	27	25	27	25	12	10	16
		[148	$\pm$	6]	[12	$\pm$	2]	[24	$\pm$	3]	[26	$\pm$	1]	[13	$\pm$	3]
	1250 +	123	131	152	9	9	11	27	31	23	25	28	30	8	11	14
		[135	$\pm$	15]	[10	$\pm$	1]	[27	$\pm$	4]	[28	$\pm$	3]	[11	$\pm$	3]
	2500 +	149	155	152	12	11	8	30	36	28	30	25	29	18	13	11
		[152	$\pm$	3]	[10	$\pm$	2]	[31	$\pm$	4]	[28	$\pm$	3]	[14	$\pm$	4]
Positive control		1105	1033	1002 a)	369	358	360 b)	698	687	776 c)	325	310	394 d)	125	143	118 b)
		[1047	$\pm$	53]	[362	$\pm$	6]	[720	$\pm$	49]	[343	$\pm$	45]	[129	$\pm$	13]

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

a): 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 μ g/plate b): 2-AA, 2 μ g/plate c): 2-AA, 10 μ g/plate d): 2-AA, 0.5 μ g/plate

Table 5. Summary data on bacterial reverse mutation test (restudy) of hexanoic acid, 2-ethyl-,2,2-bis[(2-ethyl-1-oxohexyl)oxy] methyl] -1,3-propanediyl ester [Non-activation method : -S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]		
		TA1535		
hexanoic acid, 2-ethyl-,2,2- bis[(2-ethyl-1- oxohexyl)oxy] methyl] -1,3- propanediyl ester	0	7	11	8
		[9	$\pm$	2]
	78.1	9	7	7
		[8	$\pm$	1]
	156	12	11	15
		[13	$\pm$	2]
	313	13	14	12
		[13	$\pm$	1]
	625	12	8	14
		[11	$\pm$	3]
	1250 +	9	11	11
		[10	$\pm$	1]
	2500 +	12	12	7
		[10	$\pm$	3]
Positive control		538	530	500 b)
		[523	$\pm$	20]

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

b): NaN₃; Sodium azide, 0.5 μ g/plate