

【技術分類】 4－4－4 評価／安全性／変異原性

【技術名称】 4－4－4－1 変異原性

【技術内容】

変異原性とは突然変異を引き起こす性質を指し、発がん性との高い相関関係がある。発がん性の試験には費用と期間を要するため、発がん性試験のスクリーニング試験として変異原性試験が広く用いられている。

香料を使用した製品に対する変異原性試験は、薬事法と食品衛生法で必要な試験となっている。試験項目には、Ames 試験、染色体異常試験、小核試験、DNA 損傷試験等のその他の試験法があり、規制によって求められる項目は異なってくる。特に Ames 試験は、リスク評価管理などの目的で最も多くの化学物質について行われている試験法である。

1) Ames 試験（復帰突然変異試験）

サルモネラなどのテスト菌と検体液を寒天培地上で培養することで、変異性を有する物質（変異原）によって突然変異を起こした菌のみが増殖しコロニーを形成する。突然変異を起こした菌 1 個に対してコロニーが 1 個できる。このコロニーは白く肉眼で観測されるので、その数を計測することによって変異原性が陽性か陰性か知ることができる。陽性の判断基準は、コロニー数が溶媒対照の 2 倍以上で、用量依存性が見られる場合とする。

2) 染色体異常試験

本試験では通常チャイニーズハムスターの繊維芽細胞株等を用い、変異原による染色体の構造的異常並びに数的異常を計測し変異原性を調べる。Ames 試験では DNA の塩基性配列の変化など比較的小さな変化を捉えているが、DNA によって大きな障害がもたらされ、染色体の構造異常として現れると予測される場合、本試験が行われる。

3) 小核試験

通常マウスやラットなどのげっ歯類を用い、その腹腔内に被験物質を投与または強制経口投与したのち、骨髓又は末梢血の幼若赤血球標本を作成する。多染性赤血球を観察して、小核を持つ細胞数によって判定する。

【図表 1】

検定物質	濃 度	検 定 に 使 用 し た 株	
		E.coli.B/r WP2 try ⁻ (2.9×10 ⁸ /Plate)	E.coli.B/D wp2 try ⁻ hcr ⁻ (1.8×10 ⁸ /Plate)
ママレモン (LAS系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
ワンダフルK (LAS系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
ファミリー (高級 アルコール系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
石鹼200番 (石鹼)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
リン酸緩衝液	20(μl)	—	—
AF-2	0.5(μg)	++	++

判定： —：対照（リン酸緩衝液）と同様

×1……原液

＋：ディスクの周辺に変異体コロニー

×10……10倍稀釈液

がやや多い

×100…100倍稀釈液

++：ディスクの周辺に変異体コロニー

がかさ状に多数あり

陽性対照

AF-2

出典：「大阪府「中性洗剤小委員会の審議結果について」 報道用資料 昭和52年5月11日」、合成洗剤の安全性に関する学術文献要旨集 1977年、大阪府著、日本石鹼洗剤工業会発行、157頁 表9 大腸菌の復帰突然変異に対する市販洗剤の影響（復帰変異テスト）

ファミリー：花王株式会社の登録商標

【図表1の説明】市販の中性洗剤の微生物に対する Ames 試験結果例を示す。試験には大腸菌が用いられ、AF-2は陽性対照である。いずれの試験サンプルも陰性であり、突然変異誘起性は認められなかった。

【図表 2】

検定物質	濃 度	検 定 に 使 用 し た 株	
		S. typhi TA98 (5.1×10^8 /plate)	S. typhi TA100 (1.5×10^8 /plate)
ママレモン (LAS系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
ワンダフルK (LAS系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
ファミリー (高級 アルコール系)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
石鹼200番 (石鹼)	×1	—	—
	×10	—	—
	×100	—	—
リン酸緩衝液	20 (μℓ)	—	—
4-NQO	0.2 (μg)	+	++

判定 —：対照（リン酸緩衝液）と同様

 +：ディスクの周辺に変異体コロニーがやや多い

 ++：ディスクの周辺に変異体コロニーがかさ状に多数あり

濃度 ×1：原液

 ×10：10倍希釈液

 ×100：100倍希釈液

陽性対照 4-NQO：4-ニトロキノリン-1-オキサイド

出典：「大阪府「中性洗剤小委員会の審議結果について」 報道用資料 昭和52年5月11日」、合成洗剤の安全性に関する学術文献要旨集 1977年、大阪府著、日本石鹼洗剤工業会発行、158頁 表10
サルモネラ菌の復帰突然変異に対する市販洗剤の影響（復帰変異テスト）

ファミリー：花王株式会社の登録商標

【図表2の説明】市販の中性洗剤の微生物に対するAmes試験結果例を示す。試験にはサルモネラ菌が用いられ、4-NQOは陽性対照である。いずれの試験サンプルも陰性であり、突然変異誘起性は認められなかった。

【図表 3】

群	薬 剤	投 与 量 mg/kg	マウス の 数	観察した 細胞 数	染 色 分 体			染 色 体		
					ギャップ	切 断	交 換	ギャップ	切 断	交 換
6 時間	ワンダフル K 投与群	8 0 0	3	1 5 0	3	0	0	0	0	0
		1 6 0 0	3	1 5 0	3	0	0	0	0	0
		3 2 0 0	3	1 5 0	3	2	0	0	0	0
	マイトマイシン C	5	3	1 5 0	3 6	3	2	5	2	1 1
	蒸 留 水		3	1 5 0	0	0	0	0	0	0
	無 処 置		3	1 5 0	1	0	0	0	0	0
2 4 時間	ワンダフル K 投与群	8 0 0	3	1 5 0	3	0	0	0	0	0
		1 6 0 0	3	1 5 0	3	1	0	0	0	0
		3 2 0 0	3	1 5 0	2	2	0	0	0	0
	マイトマイシン C	5	3	1 5 0	7 0	4 6	1 3	1 3	3	3 0
	蒸 留 水		3	1 5 0	1	0	0	0	0	0
	無 処 置		3	1 5 0	0	0	0	0	0	0
4 8 時間	ワンダフル K 投与群	8 0 0	3	1 5 0	1	0	0	0	0	0
		1 6 0 0	3	1 5 0	0	0	0	0	0	0
		3 2 0 0	3	1 5 0	0	0	0	0	0	0
	マイトマイシン C	5	3	1 5 0	9	4	6	1	2	2
	蒸 留 水		3	1 5 0	1	0	0	0	0	0
	無 処 置		3	1 5 0	0	1	0	0	0	0

出典：「大阪府「中性洗剤小委員会の審議結果について」 報道用資料 昭和 52 年 5 月 11 日」、合成洗剤の安全性に関する学術文献要旨集 1977 年、大阪府著、日本石鹼洗剤工業会発行、154 頁 表 6
ワンダフル K を 1 回投与したときのマウスの骨髄細胞の染色体に及ぼす影響

【図表 3 の説明】染色体異常試験の結果例を示す。市販の中性洗剤の経口投与によるマウス骨髄細胞の染色体および染色分体の異常の出現について、対照群との間に有意差はなく、突然変異誘起性は認められなかった。

【出典／参考資料】

化学品安全業務マニュアル 増補第 3 版 2002 年 6 月、西川洋三著、株式会社ダイヤリサーチマーテック発行、323 頁

「主な有害性・安全性試験方法の概要」、株式会社住化分析センターホームページ 2006 年 11 月 16 日検索、株式会社住化分析センター発行、http://www.scas.co.jp/substance/03_1.html

「トイレタリーにおけるニトロソアミンと突然変異原性について」、FRAGRANCE JOURNAL Vol. 7 No. 37 1979 年、井上邦夫著、有限会社フレグランスジャーナル社発行、44－51 頁

「大阪府「中性洗剤小委員会の審議結果について」 報道用資料 昭和 52 年 5 月 11 日」、合成洗剤の安全性に関する学術文献要旨集 1977 年、大阪府著、日本石鹼洗剤工業会発行、149－158 頁