

EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

部分翻訳

**European Union**  
**Risk Assessment Report**  
**2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE**  
**CAS No: 3033-77-0**  
2008

欧州連合  
リスク評価書(2008年最終版)  
2,3-エポキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド

**2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE**

CAS No: 3033-77-0

EINECS No: 221-221-0

**RISK ASSESSMENT**

*Final report 2008*

Finland

国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部

2016年8月

本部分翻訳文書は、2,3-epoxypropyltrimethylammonium chloride (CAS No: 3033-77-0)に関する EU Risk Assessment Report, (2008)の、第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)関係」を翻訳したものである。

原文(評価書全文)は、

[http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk\\_assessment/REPORT/eptacreport314.pdf](http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk_assessment/REPORT/eptacreport314.pdf)

を参照のこと。

#### 4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)関係

##### 4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝、および分布

###### 4.1.2.1.1 動物試験

###### In vitro 試験

###### 経皮吸収

3-クロロ-2-ヒドロキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド(CHPTAC)の経皮吸収性が、 $2\text{-}^{14}\text{C}$  放射活性 CHPTAC を用いて、ヒトやマウスの生きた皮膚膜において調べられている(TNO, 2003)。この試験の結果から、2,3-エポキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド(EPTAC)が、最低でもどの経皮吸収されるかを予想することができる。EPTACは、CHPTAC と比べ、わずかに極性が高く、反応性の高いエポキシド基を有するため、角質層により広範に結合しやすい。したがって、ヒトの皮膚においては、皮膚の下層に吸収される量が少なく、全身的に利用される量も少なくなると考えられる。マウスの皮膚では、角質層が薄いため、どちらの化合物でも同等量が吸収され、皮膚に留まる量は非常にわずかであると考えられる。試験で設定された CHPTAC の濃度は、0.1、1、20 および 65%で、水が媒体として用いられた。 $^{14}\text{C}$ -テストステロンが、基準化合物として用いられた。曝露後 48 時間の時点で、レセプター液中の放射活性量、および、皮膚や角質層に残留する放射活性量が測定された。被験物質試料は、標識 CHPTAC と非標識 CHPTAC を混和して、放射能濃度が 2.46 MBq となる様に、また CHPTAC の濃度(パーセント)が上述の数値となる様に調製された。ヒトの皮膚試料は、51 歳の女性から、開腹手術の際に入手した。この皮膚試料は、切除から 1 時間以内に試験施設に運ばれ、その後すぐに培養液に入れられた。マウスの皮膚は、10 週齢の雄の NMRI マウスから採取した。皮下脂肪を取り除き、ヒトの皮膚は、厚さが約 0.5 mm となるまで部分的切除を行った。得られた皮膚膜の厚さは、マウスで  $0.437 \pm 0.08$  mm、ヒトでは  $0.531 \pm 0.043$  mm であった。2 画分モデルを採用し、基

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

底膜がレセプター液と接触し、角質層が空気にさらされる様にした。内側の面積が 0.64 cm<sup>2</sup> のガラス管を皮膚に接着させ、そこに 10 μL/cm<sup>2</sup> の割合で被験物質液を適用した。吸収を 48 時間測定し、その間、細胞の活性を、レセプター液中の乳酸塩の存在を指標としてモニターした。レセプター液試料(全容量の 1200 μL から合計 500 μL)を、被験物質濃度が 20% の場合を除き、1、2、4、6、8、20、24、28、44 および 48 時間の時点で回収した。乳酸塩測定のための対照試料の採取は、4、8、20、28 および 48 時間の時点で実施された。レセプター液試料を採取した後は、新鮮なレセプター液を加えて、元の容量に戻した。採取試料の放射活性を合算して、累積吸収量を確定した。流束定数は、DCTx-Ty/(x-y) と定義される。ここで、分子は、吸収曲線が線形を示す部分でのレセプター液中濃度の増加を示し、x は曲線の当該線形部分の始点、y は終点を示している。透過係数 [Kp = 流束定数 (μg × cm<sup>-2</sup> × h<sup>-1</sup>) / 適用濃度 (μg/cm<sup>3</sup>)] は、トリチウム標識した水を用いて決定した。物質収支を判定するため、試験終了時に、残留被験物質を綿棒を用いて取り除き、角質層をテープ剥離法により分離した。残余の皮膚細胞膜を KOH を用いて消化し、レセプター液を収集した。シンチレーション計数法により、総放射活性を、それぞれの画分において別々に測定した。

### 結果

上述の試験の結果を、マウスの皮膚については Table 4.1.2.1.1 [訳注: Table 4.4] に、ヒトの皮膚については Table 4.1.2.1.2 [訳注: Table 4.5] に要約した。

Table 4.4 Results of the skin permeation study in mouse skin

Concentration of CHPTAC	65%	20%	1%	0.1 %
Kp-values [cm h <sup>-1</sup> ]	0.026	0.107	0.065	0.151
Flux constants μg cm <sup>2</sup> h <sup>-1</sup>	18.5	21	0.61	0.15
Relative absorption (% in receptor fluid)	13.9	40.9	22.6	43.6
Mean total absorption (% of the radioactivity present in the receptor fluid, the receptor compartment wash and the skin (excluding tape strips))	13	44.9	29.2	45.0
Mean total absorption (% of the radioactivity present in the receptor fluid, the receptor compartment wash and the skin (including tape strips))	13.1	45.2	30.8	50.3

EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

Table 4.5 Results of the skin permeation study in human skin

Concentration of CHPTAC	65%	20%	1%	0.1 %
Kp-values [cm h <sup>-1</sup> ]	0.0005 × 10 <sup>-3</sup>	0.0009 × 10 <sup>-3</sup>	0.0015 × 10 <sup>-3</sup>	0.0022 × 10 <sup>-3</sup>
Flux constants µg cm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	0.36	0.18	0.014	0.002
Relative absorption (% in receptor fluid)	0.053	0.148	0.534	0.685
Mean total absorption (% of the radioactivity present in the receptor fluid, the receptor compartment wash and the skin (excluding tape strips))	0.46	0.46	3.74	5.79
Mean total absorption (% of the radioactivity present in the receptor fluid, the receptor compartment wash and the skin (including tape strips))	0.8	1.8	15.2	14.2

ヒトの皮膚細胞膜においては、テープ剥離実施後の皮膚中の放射活性量は、レセプター液中の放射活性量の 0.5～6.8 倍であった。マウスの皮膚における放射活性量は、レセプター液中の放射活性量の 1/5.3～1/17.6 倍であった。放射活性の平均回収率は、マウスやヒトの皮膚細胞膜を用いたこの試験においては、91.2～102.2%の間であった。

#### 4.1.2.1.2 他の情報

基本的な物理化学的性質の情報は得られており、それを基に毒物動態学的挙動を推定することができる。EPTAC の分子の大きさは小さめ(分子量 151.5 g/mol)であり、そのことが膜を介する吸収が起きやすい要因となっていると考えられる。EPTAC 分子は電荷を有するため、受動拡散による経皮吸収はわずかであると考えられる。毒性学的試験のデータからは、消化管や皮膚から、少なくともある程度吸収されることが示されている。分子が小さいため、EPTAC は、細胞密着帯の水分子透過孔に受動的に侵入することにより、消化管の膜を通過することが可能である。急性経皮毒性試験の知見からは、経皮経路での吸収が起こることが示されている。より重要な知見として、分子構造が非常に類似している CHPTAC について、*in vitro* の皮膚透過試験のデータが得られている。このデータにより、EPTAC の皮膚透過性に関する評価も可能となる。EPTAC は、陽イオン化したでんぷん粉塵中の残渣として、肺に入り込むことができる。理論的には、EPTAC は、エアロゾル化した水溶液の形でも、肺に侵入することができる。粒子の大きさに応じて、呼吸器系の様々な部位が、影響を受けると考えられる。大きな (> 10 µm) 粉塵粒子の場合、その多くは、鼻

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

咽頭の粘膜に留まるものと考えられる。その場合、残留している EPTAC は、粘液中に溶け込んで、直接的に循環血中に吸収されることも考えられるし、または咽頭に運ばれて、消化管へと入り込むことも考えられる。小さな( $< 1 \mu\text{m}$ )粒子の場合、それらは肺の気管気管支や肺泡領域に入り込み、EPTAC がそこで放出され、血中に吸収されたりリンパ循環により取り除かれたりするものと考えられる。

血管腔から細胞外もしくは細胞内画分へ EPTAC が移行することも考えられるが、膜透過性が低いため、その速度は遅いと考えられる。血管腔から細胞外もしくは細胞内画分への移行は、EPTAC が水分子透過孔を通過することで起こると考えられる。脂質への移行は、脂質/水分配係数が小さい( $\log P_{ow} = -1.23$ )ことから、緩慢であることが予想される。

EPTAC は、電子親和性の高いエポキシ基を有するため、主として肝臓で、エポキシドヒドロラーゼによる加水分解を受けることによって、または第 2 相酵素群による反応、すなわちグルタチオン S-トランスフェラーゼなどによる様々な抱合反応を受けることによって、代謝されると考えられる。このようにして生じた親水性代謝産物は、通常、尿中に効率的に排泄される。

### 4.1.2.1.3 トキシコキネティクス、代謝および分布の要約

吸入に関しては、データが無い場合、75%の吸収を想定することとなる。経口に関しては、50%が想定される。*In vitro* での皮膚透過試験で得られた知見では、ヒトの皮膚における透過率は、最高で 0.685%に達した。技術指針書(TGD)により、皮内に保持される量も考慮すべきと提言されていることから、5% $[0.685 + (0.685 \times 6.8)]$ の方がより適切であると思われる。ただし、この係数には、角質層に保持される量は考慮されていない。角質層に保持される量を考慮に入れると、平均吸収率は、0.1~15%の範囲となる。角質層に保持される割合を最も高く想定することは、剥離や洗浄といった要因、および化合物が外部へと失われる他の事象の要因があることを考えると、あまりにも保護的になりすぎると思われる。さらに、表皮による吸収は、水溶性が高く( $> 800 \text{ g/L}$ )、 $\log P$  が負であることから、緩慢であると考えられる。以上の理由から、リスクの総合評価に際し、吸収率を 6%とみなすこととする。

#### 4.1.2.2 急性毒性

##### 4.1.2.2.1 動物試験

###### In vivo 試験

###### 吸入

Dow(1984)が実施した試験では、4匹の雌ラットが、EPTACに7時間、目標濃度8.17 mg/Lで曝露されたが、死亡例や全身的影響は認められなかった。認められた影響は、眼の刺激症状だけであった。4時間LC<sub>50</sub>が示される様な、適切に実施された試験の情報は、得られていない。

###### 経皮

経皮毒性に関しては、わずかな情報しか得られていない。方法論の情報は、全く得られていない。各群3羽ずつ、2群のウサギに、EPTACの水溶液が、1500ないしは3000 mg/kg体重の用量で、経皮適用された(Shellengberger, 1962)。低用量群では、1羽が、適用の7日後に死亡した。高用量群では、2羽が、5時間後から2日目の間に死亡した。LD<sub>50</sub>は、1500~3000 mg/kg 体重の間と推算された。この試験の信頼性は乏しい。報告内容が不十分である。

###### 経口

Degussa(1981a)の試験では、各用量群雌雄5匹ずつの若齢成体SPFアルビノラットに、EPTACの水溶液が、4.0、4.8、5.8、6.9ないしは8.5 mL/kg体重の容量で、単回経口投与された。濃度71.9%のEPTAC水溶液を、水で20%(v/v)に希釈した。希釈前の水溶液は、合成の際に生じたと思われる、約10%の不純物を含有していた。ラットを毒性の徴候に関して14日間観察し、その後、生残例については剖検を実施した。LD<sub>50</sub>値の算出が行われている。この試験は、既知のガイドラインに沿ったものではないが、リスク評価の目的には妥当なものであるとみなされた。投与の数時間以内に、ラットは鎮静、黒ずんだ眼、振戦および痙攣といった症状を示した。致死的影響が生じなかった用量については、詳述されていない。その後、下痢および意識喪失が認められている。死亡例は、1~48時間の間に生じた。

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

Table 4.6 Animal mortality vs. actual dose of EPTAC

Dose (ml 20% EPTAC/kg)	Males	Females
4.0	0/5	1/5
4.8	1/5	1/5
5.8	1/5	2/5
6.9	0/5	4/5
8.5	4/5	4/5

生残した被験動物は、観察期間終了時には回復していたと思われる。肉眼的観察では、被験動物に、投与に関連した変化は認められなかった。Weil の方法により、71.9%EPTAC 溶液の LD<sub>50</sub> 値は、1.34 mL/kg 体重 (95%信頼区間 1.18~1.52) と算出された。この値を用いて、70%EPTAC の比重が 1129 mg/cm<sup>3</sup> であることから、ミリグラムで表されるおおよその値に換算することができる。すなわち、LD<sub>50</sub> は、71.9%EPTAC 溶液では 1513 mg/kg 体重、純粋 EPTAC では 1088 mg/kg 体重となる。

別の急性毒性試験では、1720 mg/kg 体重という LD<sub>50</sub> 値が報告されている。この試験では、各用量群 10 匹ずつのラットに、1250、1575、1988 ないしは 2500 mg/kg 体重の用量で、経口投与が行われた (Shellengberger, 1962)。最高用量群では、全ての被験動物が、15 時間以内に死亡した。1988 mg/kg 体重群では、7/10 匹の被験動物が、1 日以内に死亡した。1575 mg/kg 体重群では、3/10 匹の被験動物が、2 日以内に死亡した。そして最低用量群では、2/10 匹の被験動物が、3 日以内に死亡した。臨床症状としては、低用量側の群における一過性の抑うつ状態、呼吸困難、流涎、眼からの血液性滲出物、高用量側の群における間代性痙攣が認められた。試験報告は、詳細を欠く部分がある。

### 4.1.2.2.2 急性毒性の要約

純粋な EPTAC に換算すると、急性経口毒性に関する LD<sub>50</sub> 値は、1080 mg/kg 体重である。経皮毒性試験の情報は、ウサギを用いて行われたものだけが得られている。その試験の結果から、経皮急性毒性の LD<sub>50</sub> 値は、おそらく 1500~3000 mg/kg 体重の間であることが示されている。ラットを 8.17 mg/L の濃度の EPTAC に 7 時間曝露した試験に基づき、LC<sub>50</sub> 値は 5 mg/L を超えることが予想されるが、この値を分類の目的に使用するには妥当性が乏しい。試験の質に関する問題から、吸入経路の場合の急性毒性については、結論を導くことはできない。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、Xn;R22/21 (飲み下すと有害性を示す/皮膚に接触すると有害性を示す) に分類することを承認した。

### 4.1.2.3 刺激性

#### 4.1.2.3.1 皮膚

##### 動物試験

Degussa(1985)の試験では、3羽のアルビノウサギに、0.5 mLの業務用EPTAC(商品名QUAB 151)が適用された。適用部位は、パッチが当てられ、4時間閉塞状態に置かれた。被験物質の濃度は示されていないが、化学物質データベースによれば、70～75%の間とされている。被験物質は、剃毛された背中中の皮膚の、別々の4カ所に滴下された。背中中の片側の皮膚には擦過処置が施され、他方は無傷のまま供試された。刺激性指数の算出には、無傷部分のスコアだけを用いた。スコア付けは、1、24、48および72時間後の時点で行われた。この試験は、OECD 404およびEUガイドライン 84/449/EEC B.4に準拠している。

いずれの被験動物でも、どの時点でも、スコアは0であった。

ガイドラインに準拠していないパッチテストが行われており、EPTACの刺激性が、12羽のアルビノウサギを用いて検討された(Degussa, 1981c)。それらのうち6羽のウサギには、0.5 mLの被験物質が、無傷の剃毛部位に滴下され、その部位は1インチ四方のパッチで被覆された。残りの6羽には、角質層に軽く擦過処置を施し、その皮膚領域に0.5 mLの被験物質が適用された。適用部位は、パッチで被覆され、粘着テープでさらに覆われた。被験物質中の2,3-エポキシプロピルメチルアンモニウムクロライド(EPTAC)の濃度は、72%であった。曝露期間は、24時間であった。Draizeのスコア法により、無傷の皮膚および擦過処置を施した皮膚における、適用後24および72時間の時点での、刺激性指数が算出された。

皮膚にみられた刺激性影響は、重篤なものであったと記載されている。それらの影響は、境界明瞭な紅斑、軽度の虚血、出血、軽度から著明な痂皮形成、および軽度から中等度の水腫などであった。無傷の皮膚では、24時間の時点での平均スコアは4.3、72時間の時点での平均スコアは3.8であった。擦過処置を施した皮膚では、平均スコアは48時間および72時間の両時点とも6.3であった。ただし、現行のガイドラインでは、4時間の曝露期間しか求められていない。

##### 他の情報

以下に示した感作性試験(Degussa, 1981d)では、モルモットに対して、EPTACの5%水溶液の皮内投与により、一次感作誘導が実施された。皮内感作誘導の1週間後、背中中の同じ部



EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

位に対して、ワセリンを媒体とした 5%EPTAC の局所適用により、二次感作誘導が実施された。この結果、7/20 匹に、軽度の紅斑が認められた。

4.1.2.3.2 眼

動物試験

OECD ガイドラインのプロトコル 405 に準拠した試験が行われている (Degussa, 1986a)。3 羽のアルビノウサギの右目の結膜嚢に、0.1 mL の被験物質 (商品名 QUAB 151、業務用等級、純度は 70~75%と推定される) が滴下された。洗眼は行われなかった。1、24、48 および 72 時間後に、角膜、虹彩および結膜の検査が実施され、定性的および定量的にスコア付けされた。ウサギの観察は 21 日間実施された。1 羽では、虹彩の鬱血が、21 日間の観察期間後も持続していた。

Table 4.5: The mean 24, 48, 72 h -scores for 70% EPTAC

Observed effect \ Duration from application	Conjunctiva						Damage to Iris			Cornea Clouding		
	Redness			Chemosis			1	2	3	1	2	3
Animal number	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
24 h	3	3	3	2	1	3	2	2	2	2	1	1
48 h	3	3	3	3	2	3	2	1	2	1	1	1
72 h	3	3	3	3	2	3	2	1	2	2	1	1
Mean	3.0	3.0	3.0	2.7	1.7	3.0	2.0	1.3	2.0	1.7	1.0	1.0

4.1.2.3.3 刺激性の要約

EPTAC は、70%溶液として適用された場合、眼に対して強い刺激性を示す。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、Xn;R41 (眼に重度な損傷を生じるリスクがある) に分類することを承認した。

Degussa の試験 (1981) では、重度の皮膚刺激の徴候が認められたが、この試験の結果は、EPTAC の皮膚刺激性について結論を導く際には、妥当ではないとみなされた。この試験の方法は、ガイドラインに準拠しておらず、曝露時間も通常の 6 倍という長さであった。OECD ガイドラインに準拠して実施された試験の結果に基づくと、EPTAC は、皮膚刺激性

を有していない。

#### 4.1.2.4 腐食性

皮膚刺激性試験で得られた知見に基づく、EPTAC は、腐食性を有していない。

#### 4.1.2.5 感作性

##### 4.1.2.5.1 動物試験

##### 皮膚

##### *In vivo* 試験

各群 20 匹のモルモットを用い、マキシミゼーションテストにより、EPTAC の皮膚感作性が検討されている (Degussa, 1981d)。被験物質の原液は、EPTAC の 72% 水溶液であった。同規模の対照群 1 群を設けた。背中中の皮膚を剃毛し、その領域に対して 2 段階の感作誘導を行った。第 1 段階では、3 つの異なる被験物質調製物が、前述の背中中の領域の、左側および右側の異なる 3 ヶ所に皮内投与された。3 つの被験物質調製物は、1 つ目が水を媒体とした 5% 被験物質溶液、2 つ目がフロイントの完全アジュバント (FCA)、3 つ目が FCA で希釈した被験物質溶液であった。対照群の動物には、FCA のみ、水のみ、ないしは FCA と水の 1 : 1 溶液が投与された。皮内投与の一週間後、ワセリンを媒体とした 5% 被験物質調製物を濾紙に塗り、それを前述の背中中の領域に局所適用した。適用部位は、閉塞包帯下で 48 時間保持された。対照群の動物には、ワセリンだけが適用された。局所適用 (局所感作誘導) の 2 週間後、感作惹起が実施された。感作惹起は、前述の局所感作誘導と同じ手法が用いられたが、曝露期間は 24 時間で、被験物質濃度は 2.5% であった。結果の読み取りは、感作惹起直後、感作惹起の 24 時間後および 48 時間後に実施された。

局所感作誘導の段階では、処置の 24 時間後に軽度の紅斑が認められた。感作惹起処置の直後に 11 匹で、感作惹起処置の 24 時間後に 14 匹で、紅斑が認められた。感作惹起処置の 48 時間後でも、3 匹には皮膚反応が残っていた。対照群の動物には、紅斑の徴候は認められなかった。

上述と同様の手法により、遅延型接触過敏症試験が実施されている。この試験で皮内投与に用いられた溶液の濃度はわずか 0.5% で、10 匹のモルモットの剃毛した背部領域に投与

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

された(Elliott et al., 1979)。被験物質原液中のEPTAC含量は詳述されておらず、商品名がOGT AC-85という事だけが示されている。この一次感作誘導の1週間後、水を媒体とした0.4 mLの90%OGT AC-85溶液を塗った濾紙により局所適用が行われ、この曝露は、閉塞包帯下で48時間続けられた。判定は、24、48および72時間後に行われた。

いずれの時点でも、スコアはすべて0であった。しかし、この試験は、被験物質の情報が不十分であるため、信頼性が低いとみなされる。

### 4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

#### 皮膚

##### *In vivo* 試験

博士論文(Jolanki, 1991)の中で、フィンランド労働衛生研究所において3713名の職業的皮膚疾患患者を対象に行われた検査についての記載がなされている。検査を受けた患者のうち、130名が、エポキシ化合物に曝露されたことにより職業性の皮膚病を罹患していたと、1974～1990年の間に診断された。この中の調査(Estlander et al., 1986)では、変性デンプン加工施設の従業員において、アレルギー性の反応が見られた症例が4件報告されている。その加工工程は自動化されており、また、pH調整は材料を液体化して行われていた。カチオン化にEPTACが用いられ、その純度は50%であった。加工工程従事者のうち2人は、ほぼ常時、ゴム製の保護手袋を着用していたが、1人は全く着用することがなかった。また、検査担当技術者が彼らに業務を委託することもあった。IV型アレルギーの診断のために、パッチテストが実施された。手袋やカチオン性デンプンのような固体物質についても、検討が行われた。このパッチテストにおいては、被験物質が患者の背中に24時間適用された。ただし、手袋に関連する物質については、適用部位に48時間留置された。結果の読み取りは、パッチ除去後、24、48および72時間の時点で実施された。また、プリックテストも、24種類の標準アレルギーを用いて実施された。EPTACに関しては、パッチテストの結果は、0.05～1%の濃度範囲について報告されている。皮膚科専門医が評価を実施した。すなわち、少なくとも3度反応の読み取りが行われ、それを基にスコア付けが実施された。スコアの尺度は、-が陰性、+が紅斑有り、++が紅斑および水腫有り、++++が紅斑、水腫および小水疱有り、++++が水疱性もしくは潰瘍性の反応有り、とされた。スコアが++から++++の場合、アレルギー反応陽性と判断された。対照アレルギーには、国際接触皮膚炎研究班(ICDRG)が推奨するアレルギーも含まれていた。

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

Table 4.6 Patch test results of 4 patients allergic to EPTAC

Case	1	2	3	4
EPTAC 1%	++	+++	+++	No tested
EPTAC 0.5%	No tested	No tested	No tested	++
EPTAC 0.2%	++	+++	+++	++
EPTAC 0.1%	No tested	No tested	No tested	++
EPTAC 0.05%	No tested	+	No tested	No tested

カチオン化デンブンの製造に従事していた従業員についての報告が得られており、従業員 8 人の内 4 人が、その業務に就いてから 3 ヶ月以内に接触性皮膚炎を発症した。どの症例も、1982～1983 年の間に診断が下されている。

これらの事例の報告者は、デンブンのカチオン化を行う別の施設における他の 3 症例についても報告を行っている。患者は、カチオン化デンブン(CS)の乾燥を行う生産工程で働いていた。その業務は、自動化された乾燥工程を監視し、試料採取を行うというものであった。2 人の患者(患者 1 および患者 2)は、毎日手袋を着用していたが、1 人の患者(患者 3)は、時々しか着用していなかった。全員が、CS を取り扱う業務に、3 交代制で従事していた。適用時間が 2 日間のパッチテストが行われた。反応の読み取りは、上述と同様の時点で実施された。変性エポキシ樹脂、手袋および一連のプラスチックが、標準物質として用いられた。EPTAC(純度 65～75%)のテストは、希釈列を作製して行った。手袋に係る物質のテストは、少量の水/アセトン溶液を用い、チャンバーで覆って行った。CS のテストも同様に行った。プリックテストも、ラテックス材料や、一般的な環境アレルゲンを対象に実施された。患者 3 は、EPTAC に対し、0.2%の濃度では++の反応を、0.1%の濃度では+の反応を示した。他の 2 人の患者は、より弱い?+や+の反応を示した。プリックテストの結果は、花粉に対する陽性事例が 1 件あった以外は陰性であった。

別の施設についての報告も挙げられており、そこでは、3 人の従業員が反復性の接触皮膚炎を起こしたため、EPTAC への接触アレルギーに関して検査が行われた(Estlander *et al.*, 1997)。生産工程に携わる従業員が 18 人おり、彼らは施設内のあらゆる場所に行き来していた。カチオン化デンブンの乾燥に係る業務に従事していた 3 人の生産工程担当者は、時折 EPTAC に直接接触する場合があった。これらの担当者の主要業務は、自動化乾燥工程を監視し、カチオン化デンブンの試料を採取し、それら試料を検査室に運ぶことであり、また、必要に応じて工場の他部署において保守整備作業を行うこともあった。患者の内 2 人(患者 1 および患者 2)は、EPTAC に対するアレルギーを有することが確認され、8～12 年の間、様々な皮膚炎を起こしていた。両名とも、皮膚炎を発症するまでに、3 年間その施設で働いていた。1 人の患者(患者 3)は、1 年間皮膚炎を罹患しており、その発症までに 7 年間当該施設で働いていた。皮膚炎の発症部位は、手、腕、脚部、足および顔であった。ポリ塩化ビニル(PVC)またはニトリルゴム製の手袋の着用は、時々(患者 3)から 1 日に 1.5～2 時間(患者 1 および患者 2)という状態であった。患者の背中において、パッチテスト

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

が実施された。被験物質は、0.05、0.1、0.2、0.5 および 1.0%の希釈列の EPTAC、試料数 4～5 のカチオン化デンプン、手袋に係る物質、および一連の欧州標準パッチテスト診断用物質を含む様々な化学物質であった。パッチテストの結果を下表にまとめた。

Table 4.7. Patch test results of three process workers in a cationising plant

Test substance	Patient 1	Patient 2	Patient 3
1 % EPTAC in petrolatum	+++	++	++
0.5 % EPTAC in petrolatum	+++	++	++
0.1 % EPTAC in petrolatum	+	?+	
0.05 % EPTAC in petrolatum	-	-	-
11 own materials	-	b	

b = PVC glove in a drop of water or acetone tested ++, second test negative.

著者は、患者の皮膚症状は、何ヵ月というよりも数年かけて徐々に現れていることから、職場や手袋の汚染が、感作や症状の再発の主要な原因であると考えられると結論付けている。汚染はおそらく生じていたものと考えられる。なぜなら、18 人の従業員全員が、工場内のあらゆる場所を行き来しており、乾燥が行われる場所に行くには、カチオン化が行われる場所を横断しなければならないからである。保護用手袋は使用されていたが、個人別になっておらず、誰もが自分以外の誰かの手袋を使用できる状態であり、これによりさらに感作が促進された可能性がある。これらの結果は、以前に行われた調査 (Estlander *et al.*, 1986) の結果と整合するものであり、EPTAC がヒトにおいて皮膚接触により強い感作性を示すことを裏付けるものである。患者 3 人は全員がその施設で働き続けたが、彼らはより注意深く手の保護を習慣づけるようになり、自分だけの保護用手袋を着用し、生産工程で使われるいずれの化学物質にも接触しないように留意した。これらの患者はまた、生産工程で使われる化学物質による感作リスクについて、またそれらの化学物質の注意深い取扱い方法について、説明を受けた。2 ヶ月後の再テスト時には、患者 2 の皮膚炎はほんのわずかなものになっており、6 ヶ月後には、患者 1 および患者 3 では症状が認められなくなっていた。

製薬会社に従事する 1 人の女性の事例が報告されている。彼女は、数ヵ月間、週 1 回、粉末物質 (商品名:G-MAC すなわち EPTAC) を扱う業務に従事し、丘疹性掻痒性皮膚炎を発症した。彼女は防護服を着用し、排気フードの下で作業をするなどの厳密な安全対策に則っていたが、それでも皮膚炎を発症した。手袋の素材が粘着性かつ吸湿性であることから、手袋の汚染が疑われた。同じ施設の別のもう 1 人の女性では、右手の甲に丘疹性掻痒性皮膚炎の発症が認められた。彼女は 2 ヶ月の間、ほぼ 1 日おきに、粉末状の EPTAC と OG-TAC 85 という名称の物質 (EPTAC の高濃度水溶液) を取り扱っていた。患者はいずれも、商品 (G-MAC) の 1% 希釈液を用いたパッチテストで陽性を示した。一方の患者は、反応は弱かったものの、0.1% の被験物質液でも陽性を示した (Berqvist-Karlsson, 1995)。

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

業界による調査が行われており、デンプン加工や他のカチオン化工程で EPTAC を使用する会社に対して、EPTAC の使用状況やアレルギーと思われる事例について、詳細な聞き取りが実施された。アレルギーの事例が 11 件報告されている。接触は、生産現場での試料採取業務および検査業務で生じていた。報告によると、個々人の保護対策が改善され、ほとんどの従業員が問題なく同じ職場で働き続けているということである。最近の 5 年の間に、皮膚接触を避けるための保護対策が効果的に改善され、問題を抱えていた会社でも、新しい症例は認められていない。ただし、全ての会社が質問に対して答えているわけではなく、回答が不完全な場合もあった。

### 4.1.2.5.3 感作性の要約

モルモットマキシミゼーション試験およびヒトにおけるパッチテストで陽性の結果が示されたことに基づき、EPTAC は、皮膚接触により感作性を示すと結論付けられる。化学物質の分類と表記に係る作業部会は、EPTAC を、Xi; R43(皮膚接触により感作を引き起こすおそれがある)に分類することを承認した。

### 4.1.2.6 反復投与毒性

#### 4.1.2.6.1 動物試験

##### In vivo 試験

##### 経口

Degussa(1990)の試験では、Wistar ラットに、EPTAC(純度 72.6%)が、0、3.16、10.0、31.6 ないしは 100 mg/kg 体重の用量で、28 日間強制経口投与された。対照群と最高用量群は、雌雄 10 匹ずつで構成され、低用量群と中用量群は雌雄 5 匹ずつで構成された。対照群と最高用量群からは、5 匹ずつを選択し、それらには曝露後、4 週間の回復期間を設け、観察が行われた(回復期間設定群)。被験物質の純度は、72.6%であった。この試験は GLP 規則下で行われ、試験手順は OECD ガイドライン 407 に準拠していた。尿検査は、第 4 週目と第 8 週目(回復期間設定群)に実施された。組織病理学的検査のために、副腎、胸骨の骨髓、骨髓塗抹、脳、様々な部位の腸、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、胃、精巣および胸腺の試料が採取され標本が作製された。血液検査と臨床生化学的検査は、前述のガイドラインで推奨される項目について、第 4 週目と第 8 週目に実施された。

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

最高用量群の動物のほとんどは、臨床症状として、立毛および脇腹の陥凹を示した。雌 2 匹および雄 1 匹では、一般状態の悪化が示された後、死亡もしくは筋緊張の低下が認められた。最高用量群では、雌 4 匹および雄 1 匹が、投与の最終週の間死亡した。雌 1 匹は、投与第 16 日目に、切迫屠殺された。中用量群および最高用量群では、飼料消費量が減少した。飼料消費量は、最高用量群の雌では 2 週間以内に、最高用量群の雄では 4 週間以内に、対照群の 50%未満まで落ち込んだ。雌では投与終了後 1 週間で飼料消費量がほぼ回復したのに対して、雄では通常量への回復がみられたのは試験の第 7 週目以降であった。31.6 および 100 mg/kg 体重群では、体重増加量が、飼料消費量の変化に応じて低下した。31.6 および 100 mg/kg 体重群の体重増加量は、投与期間の第 2~4 週にかけて、有意に減少していた。100 mg/kg 体重群の雄では、第 28 日目の体重が対照群よりも 45%少なく、31.6 mg/kg 体重群では、同時点の平均体重が対照群よりも 18%少なく、10 mg/kg 体重群では、対照群と比べて 12%の減少が記録されている。100 mg/kg 体重群の雌では、平均体重が、対照群よりも 38%低下していた。他の用量群および回復期間設定群の雌では、体重について有意な差は認められなかった。回復期間を経ても、100 mg/kg 体重を投与されていた雄では、平均体重が、対照群と比べて 29%少なかった。

### 血液学的検査

100 mg/kg 体重群の雌雄いずれにおいても、赤血球数の増加(雄で 8%、雌で 11%)、ヘモグロビン含量の増加(雄で 8%、雌で 11%)、ならびに単球の割合および絶対数の増加(対照群の雄で 3%であったのに対し、100 mg/kg 体重群の雄で 5%、対照群の雌で 2%であったのに対し 100 mg/kg 体重の雌で 6%)が認められた。100 mg/kg 体重群の雄では、白血球数の減少(-32%)、リンパ球の割合の減少(対照群の雄で 90%であったのに対し 80%)、リンパ球の絶対数の減少(対照群の雄で 11.16 個であったのに対し 6.84 個)が認められた。100 mg/kg 体重の雄では、分葉核好中球が、統計学的に有意に増加していた(対照群の雄で 6%であったのに対し 15%)。さらに、雌では、ヘマトクリット値の上昇(15%)、リンパ球の割合の低下(対照群の雌で 92%であったのに対し 80%)、および血小板数の減少(-14%)が、統計学的に有意に認められた。好中球の数値の変化は、雄においては回復期間の終了時まで持続していた。回復期間後、雄では、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン含量、白血球数およびリンパ球数に、わずかな減少が認められた。回復期間設定群の雌では、赤血球数とヘモグロビン含量だけが、有意に低下していた。

### 臨床生化学的検査

最高用量群の雌雄では、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)活性に増高が認められた(雄で 28%、雌で 63%)。また、最高用量群の雌雄では、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ(GGT)活性も、統計学的に有意に増高していた(雄で 117%、雌で 667%)。アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性の増高が、10 および 31.6 mg/kg 体重群の雄

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

でのみ認められた(それぞれ 31%および 41%)。最高用量群の雄は、塩素濃度が高値を示した(対照群の 96 mmol/L に対し 99 mmol/L)。アルカリホスファターゼ活性および総タンパク質含量は、最高用量群の雌雄いずれにおいても減少していた(それぞれ、雄で-42%、雌で-52%、および雄で-9%および雌で-13%)。さらに、グルコース値とコレステロール値も、最高用量群の雄で減少していた(それぞれ-14%および-35%)。血中尿素窒素値は、最高用量群の雄で低下しており(-28%)、また、雌でも最低濃度群を除いて用量依存的に減少していた(それぞれ-22%、-30%および-42%)。コリンエステラーゼ活性の低下が見られたのは雌だけであったが、その低下は、10 mg/kg 体重群を除いて有意であった。トリグリセリドの低下が、31.6 mg/kg 体重の雄(-46%)および 100 mg/kg 体重群の雌雄(雄で-38%、雌で-34%)において認められた。また、 $K^+$ および  $Ca^{2+}$ 濃度の統計学的に有意な低下が、最高用量群の雄( $Ca^{2+}$ :-7%、 $K^+$ :-7%)および雌( $Ca^{2+}$ :-15%、 $K^+$ :-8%)で認められた。雄では、これらの臨床生化学的検査で認められた変化のうち、血中尿素窒素値およびトリグリセリドの値は、8 週間の時点でも正常に戻らなかった。回復期間設定群の雌では、総タンパク質含量、血中尿素窒素値、コリンエステラーゼ値およびアルブミン濃度は、8 週間の時点でも有意に低下したままであった。著者は、臨床生化学的パラメータにおいて認められたこれらの変化は、曝露や飼料摂取量の減少に対する適応が生じたことを反映しているとみなしている。

### 臓器重量測定

最高用量群の雄では、精巣重量の低下(-35~-40%)と脳重量の低下(-10%)が認められ、回復期間設定群において 9 週目の時点で得られた所見も同様であった。最高用量群では、体重に対する脳の重量と体重に対する精巣重量は、高値であった。上述したように、最高用量群の体重は、対照群の約 50%以下であった。肝臓の絶対重量の低下が、10 mg/kg 体重群(-19%)および 100 mg/kg 体重(-50%)で認められたが、体重に対する重量比には変化は認められなかった。投与用量と相関した有意な臓器重量変化は、心臓においてのみ認められた(雄の低用量群側からそれぞれ-21%、-26%、-43%)。雌では、最高用量群において、肝臓および心臓の絶対重量の低下が認められた(それぞれ-41%および-38%)が、体重に対する重量比には変化は認められなかった。卵巣重量の低下が、31.6 mg/kg 体重群(最大-40%)および 100 mg/kg 体重群(最大-60%)で認められた。

### 肉眼剖検

最高用量群の雌雄では、他群と比べて脾臓および胸腺が小さく、顕微鏡学的検査におけるリンパ組織の減少の所見と関連していた。中用量群については、胸腺を剖検の際に採取しなかったため、胸腺に対する影響を適切に評価することはできなかった。最高用量側 2 群では、子宮の大きさが減少していた。ただし、脾臓、胸腺および子宮の重量については、報告されていない。



### 顕微鏡学的検査

腎臓の近位尿細管 (PCT) において、用量依存的な壊死と空胞変性 (脂質や脂肪の蓄積) が認められた。3.16 mg/kg 体重群の雄における空胞変性は、3/5 匹では軽微であり、2/5 匹では軽度であった。3.16 mg/kg 体重群の雌における空胞変性は、全例で軽微なものであった。10 mg/kg 体重群の雌でも、3/5 匹に軽度の空胞変性が認められた。3.16 mg/kg 体重群の雄では、軽微な壊死を示す例と、過形成を示す例が 1 例ずつ認められた。対照群の雄でも、1 匹が、尿細管の過形成を示していた。10 mg/kg 体重群では、尿細管の軽微な空胞変性が 5/10 匹に、尿細管の軽度の空胞変性が 5/10 匹に、そして軽微な壊死と過形成が 7/10 匹に認められた。7/10 匹で核の多倍性が示され、6/10 匹では過形成も認められた。

31.6 mg/kg 体重群の雌雄では、7/10 匹が腎臓の近位尿細管細胞に軽度の空胞化を示し、3/10 匹が同部位に中等度の空胞化を示した。また、近位尿細管の軽微な過形成が 8/10 匹で、軽微な過形成が 2/10 匹で認められた。さらに、尿細管に多倍性の核を有する例が認められ、1 例では、異常な有糸分裂像および骨髄の細胞密度の減少が認められた。この群では、9/10 匹が、近位尿細管の軽微な壊死を示していた。雄では 1/5 匹に精巣の軽微な萎縮が、雌では 5/5 匹に卵巣の萎縮が (1/5 匹は軽度、2/5 匹は中等度)、それぞれ観察された。黄体遺残が、4/5 匹の雌で観察された (2/5 匹は中等度、2/5 匹は顕著)。

最高用量群では、腎尿細管細胞の空胞変性が全例で認められ、軽度が 1/10 匹、中等度が 5/10 匹、顕著と判定されたものが 3/10 匹、重度が 1/10 匹であった。回復期間設定群では、腎尿細管の空胞変性は、軽微なものが 5/10 匹、中等度のものが 5/10 匹であった。100 mg/kg 体重群の 6/10 匹では、腎尿細管の軽微な過形成が認められ、他の 2 匹では、集合管および移行上皮細胞の中等度から顕著な過形成が認められた。回復期間設定群では、8/10 匹に、腎尿細管の過形成 (軽微～中等度) が認められた。また、100 mg/kg 体重群の 9/10 匹および回復期間設定群の 9/10 匹に、軽微～中等度の核多倍性が生じていた。全ての被験動物で、腎尿細管上皮の軽微～中等度の壊死が認められ、雄 1 匹については、この所見が腎乳頭部で顕著であったと記録されている。

精巣の萎縮も観察されており、100 mg/kg 体重群の雄では、1/5 匹が軽微、1/5 匹が中等度、1/5 匹が顕著であったと報告されており、回復期間設定群の雄では、1/5 匹が軽度、1/5 匹が中等度であったと報告されている。卵巣の萎縮については、100 mg/kg 体重群の雌では、2/5 匹が中等度、1/5 匹が顕著、1/5 匹が重度であったと報告されており、回復期間設定群の雌では、1/5 匹が軽度、3/5 匹が顕著、1/5 匹が重度と報告されている。黄体遺残は、100 mg/kg 体重群の雌では 4/5 匹で認められており (3/5 匹で顕著、1/5 匹で中等度)、回復期間設定群の雌では 5/5 匹に認められている。なお、回復期間設定群の雌は、投与の 14 日後および 16 日後に、1 匹ずつが死亡している。

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

また、脾臓のリンパ鞘萎縮が、100 mg/kg 体重群では、雄の 5/5 匹(軽微 1/5 匹、軽度 1/5 匹、中等度 1/5 匹、顕著 1/5 匹)[訳注:例数が不整合]と雌の 4/5 匹(軽微 1/5 匹、軽度 1/5 匹、顕著 2/5 匹)で認められた。回復期間設定群の雌でも、5 匹の内、途中で死亡した 2 匹において、脾臓のリンパ鞘萎縮が認められた。回復期間を生残した被験動物には、脾臓のリンパ鞘萎縮を示す例は認められなかった。

腎臓や性腺で認められた変化は、(100 mg/kg 体重投与後)4 週間の回復期間を経てもなお持続していた。

さらに、最高用量群とその 1 段階下の群においてのみであるが、骨髄のすべての細胞系が抑制されているのが認められ、これは血液学的検査において認められた白血球の減少と相関していた。これらの高用量群の被験動物では、骨髄細胞の成熟障害、空胞変性および異常な有糸分裂が散見された。骨髄、胸腺および脾臓における変化は、回復期間後では消失していた。

最高用量群では、限局性で軽度であるが、前胃に過角化症および不全角化症を示す被験動物が見られ、また、EPTAC の局所的な刺激作用を受けて、腺胃に軽度の糜爛や出血を示す被験動物も見られた。これらの被験動物の小腸は、線毛の萎縮や腺窩の壊死を示していた。胃や小腸におけるこれらの変化は、可逆性であった。

### 4.1.2.6.2 反復投与毒性の要約

影響が最も現れやすい器官は腎臓であると思われ、腎臓では、経口用量が 3.16 mg/kg 体重の場合に、すでに軽微な形態学的変化が検出されている。最高用量群とその 1 段階下の群では、精巣や卵巣に限局性の萎縮が見られ、それらは回復期間にわたって持続していた。さらに、これらの群の雌では、子宮が萎縮していたり、形態学的に発情休止期の様相を呈している例が認められた。これらの所見に基づき、性腺への影響に関する NOAEL は、10 mg/kg 体重と判断される。さらにこれらの群では、雌雄いずれにおいても、赤血球数、ヘモグロビン含量およびヘマトクリット値が、軽度の上昇を示した。最高用量群の雄では、分葉核好中球も増加していた。血液細胞におけるこうした変化は、骨髄で見られた成熟異常、異常有糸分裂像および空胞変性といった所見と相関していた。最高用量群では、投与期間中、肝臓のアミノトランスフェラーゼの上昇が認められた。ただし、この上昇や、他の臨床生化学的パラメータの変化は、可逆的で、回復期間後には正常に戻っていた。これらの変化は、肝臓が適応を示す過程で生じたものかも知れない。

腎臓の近位尿細管への影響(空胞変性、壊死、過形成)が、3.16 mg/kg 体重群で軽微に認めら

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

れ、10 mg/kg 体重では明らかに認められたことに基づいて、**3.16 mg/kg 体重が LOAEL** として設定される。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、Xn;R48/22(長期曝露により健康が重度に損なわれるおそれがある/飲み下すと有害性を示す)に分類することを承認した。

### 4.1.2.7 変異原性

#### 4.1.2.7.1 *In vitro* 試験

EPTAC の変異原性は、微生物を用いた試験で広範に検討されている。様々な細菌系を用いて EPTAC の変異原性が調べられているが、データの多くは、ガイドライン非準拠試験由来のものである。しかし、1 件の復帰変異試験が、指令 79/831/EC 附属書 V の No. 431 の方法に準拠し、OECD や GLP の規範に則って実施されている (Degussa, 1984)。微生物を用いて行われた試験について、以下の表に記載した。用量依存性が報告されたものについては、Result 欄にその旨を記した。

EPTAC は、様々な微生物系で陽性を示した。陽性反応は、肝ミクロソーム画分 (S9) が存在した場合にも、弱めではあったがやはり認められた。細菌を用いた試験の結果からは、EPTAC が、他の脂肪族エポキシドと同様の機序、すなわち直接作用性の塩基対置換により陽性反応を引き起こすことが示されている。他の一連の 51 種類のエポキシドと一緒に、EPTAC の遺伝毒性が、大腸菌 (*E. Coli*) PQ37 株を用いた SOS テストで検討されている。その結果、EPTAC が変異原性を有することが示された。

EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

Table 4.8 Microbial mutagenicity tests with EPTAC.

Test system	Concentrations (vehicle in parenthesis)	Lowest effective dose, (S9 in parenthesis)	Result	Reference
<i>S. typhimurium</i> TA 1538	0.2, 2, 20, 100, 500, 2000 µg/plate +/- S9 (aq.)	n/a	negative	(Dean et al., 1978), (Dean et al., 1985),
<i>S. typhimurium</i> TA 1535, 1537, 1538, 98, 100, rfa-, uvrB- (reverse mutation)	0, 1.58, 5, 15.8, 50, 158, 500, 1580, 5000 µg/plate +/- S9 (aq.)	n/a	Positive	(Degussa, 1984)
<i>S. typhimurium</i> TA 100, 1535, 1537, 97, 98	0, 5, 10, 10, 50, 100 µg/plate, +/- S9 (aq.)	5 µg/plate (5 µg/plate)	TA100 and 1535 positive at all concentrations with and without S9, (dose dependent)	(Vleminckx et al., 1987), (von der Hude et al., 1990b)
<i>S. typhimurium</i> TA 1535, 1537, 1538, 98, 100	0, 2, 10, 50, 250, 1250, 6250 µg/plate, +/- S9 (DMSO)	50 µg/plate (250 µg/plate)	TA 1535, 1537 (dose dependent) and 100 (two highest doses) and with and without S9 positive (Doses not cytotoxic)	(Toxicol Laboratories, 1982)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Luria Delbrück fluctuation test)	0, 2, 5, 10 mmol/l +/- S9 (DMSO)	2 mmol/l (S9 n/a)	Mutation rate incr. with increasing conc: 0, 0, 2.6, 4.4, 7.4	(Voogd et al., 1981)
<i>E. coli</i> WP2, <i>E. Coli</i> WP2 uvrA, <i>S. typhimurium</i> , <i>S. cerevisiae</i>	0, 2, 20, 100, 500, 2000 µg/plate +/- S9 (aq.)	20 µg/plate (uvrA), (20 µg/plate (uvrA))	Positive in both strains of <i>E. Coli</i> with and without S9	(Dean et al., 1978), (Dean et al., 1985),
<i>E. coli</i> PQ37 SOS-chromotest	0, 3.3, 10.0, 100.0 mmol/l, +/- S9 (aq.)	SOS inducing potency -0.5	Positive	(von der Hude et al., 1990b)
<i>S. cerevisiae</i> JD1 induction of gene conversion (trp & his locus)	0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 µg/ml for 1h @ 37 °C + 16h @ 29°C, +/- S9 (aq.)	0.5 mg/ml (his), (0.5 mg/ml), 1 mg/ml (trp), (1 mg/ml)	Positive with and without S9	(Dean et al., 1978), (Dean et al., 1985),
<i>S. cerevisiae</i> D7 induction of gene conversion (trp locus)	0, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 5.00 mg/ml for 1h @ 37 °C + 3 days @ 30°C, +/- S9	0.5 mg/ml (0.5 mg/ml)	Positive: Gene conversion increased dose dependently	(Vleminckx et al., 1987)

不定期 DNA 合成

ガイドラインに準拠していないが、不定期 DNA 合成試験がラット肝初代培養細胞 (PRH) を用いて実施され、哺乳類細胞における EPTAC の突然変異誘発能が検討されている (von der Hude *et al.*, 1990a)。代謝活性系は使用されておらず、用量の設定根拠は示されていない。PRH をカバーガラスの上にまき、2 時間静置して付着させた。付着しなかった細胞を取り除き、付着した細胞を、被験物質およびメチル-<sup>3</sup>H-チミジンと一緒に 20 分間インキュベートした。放射活性濃度が 1 µCi/mL の系と、5 µCi/mL の系との、2 系列で試験が実施された。その後、カバーガラスを低張溶液で処理し、感光乳剤を載せ、静置して結像させた。各用量につきカバーガラス標本 3 枚を計数に供し、各カバーガラス標本につき 20 個の細胞を観察した。用量は、2、20 および 200 µmol/L であった。1 µCi/mL の試験系列における陽性率は、0、2、20、200 µmol/L の順で、0%、19%、65% および 100% であった。いずれの濃

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

度についても、細胞毒性は報告されていない。EPTAC は、用量依存的に核内粒子数を増加させた。

### 姉妹染色分体交換

EPTAC を含む 58 種類のエポキシド化合物を被験物質として、チャイニーズハムスター V79 細胞を用いた試験が行われている。V79 細胞をフラスコに播種し、そのまま 18 時間培養した。EPTAC はその後、0、0.125、0.25、0.5、1.0 ないしは 2.0 mmol/L の濃度で、培養液中に添加された (von der Hude *et al.*, 1989)。この試験は、OECD や EU のガイドラインに正式には準拠していないが、方法論や報告内容は、ほとんどの部分が OECD ガイドラインの要項に準拠している。次に、被験物質を含む培養液を、 $10^{-5}$  M の 5-ブromo-2-デオキシウリジンを含む新鮮な培養液と取り替えた。代謝活性系を使用したという記載はない。 $2 \times 10^{-7}$  M のコルセミドと 28 時間インキュベートした後、有糸分裂細胞を回収した。それらの細胞をスライドグラスに固定し、染色した。各用量につき、また 1 回の試行につき 25 個の分裂中期像が観察され、スコア付けされた。試行は独立して 2 回行われたため、各用量につき合計 50 個の分裂中期像がスコア付けに供された。その結果、EPTAC が、用量依存的に姉妹染色分体交換を増加させることが示された。その増加は、0.125 mmol/L を超える用量で、対照群と比べて統計学的に有意であった。この試験では、いずれのエポキシド化合物についても、細胞毒性(細胞の複製に遅延が見られることを指標とした)が現れる濃度まで、検討が行われている。

### 染色体異常

チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞の 1 日培養物を 3 系列準備し、0、5、10、20、50 および 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の EPTAC に 18 時間曝露した。陰性対照としては水が、陽性対照としてはマイトマイシン C が用いられた (Vleminckx *et al.*, 1987)。試験系には、代謝活性化は施されなかった。曝露処置後、培養物は細胞毒性の判定に供され、また、培養物を用いて分裂中期の展開像標本が作製された。1000~2000 細胞についてスコア付けを行い、分裂指数を判定した。最初に 50 個の分裂中期像を無作為に選択し、数的異常の分析に供した。曝露処置された細胞における異数性/倍数性分裂中期像を示す細胞の割合を算出し、対照群の細胞の値と比較した。いずれの用量についても、50~100 の分裂中期像を観察して、構造異常を分析した。染色体異常のスコア付けは、OECD のガイドラインに準じて実施された。その結果、細胞あたりの異常の頻度は、ギャップを含めた場合でも含めない場合でも、用量増加とともに増加した。また、何らかの異常を有する細胞の割合も、用量増加とともに増加した。これと同時に、分裂指数および生存指数は、用量増加とともに減少した。得ら

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

れた値は、50 µg/mL 以上で有意であった。数多く認められた異常は、染色分体ギャップ、染色分体交換、および染色体切断であった。また、EPTAC は、染色体凝縮や断片化した分裂中期像を誘発した。数的異常の増加は報告されていない。異常の総数およびギャップを除いた異常の数は、以下の通りである。染色体切断の数は角括弧中に示した。0 µg/mL 群では(0.09)および[0.03]、5 µg/mL 群では(0.17)および[0.12]、10 µg/mL 群では(0.22)および[0.11]、20 µg/mL 群では(0.29)および[0.11]、50 µg/mL 群では(0.59\*)および[0.21]、100 µg/mL 群では(0.70\*)および[0.32]、マイトマイシン 0.10 µg/mL 群では(1.76\*)および[0.74]。\*印が付された数値は、 $p = 0.001 \sim 0.01$  もしくは  $p < 0.001$  で統計学的に有意であった。EPTAC の細胞毒性は、マイトマイシン C の細胞毒性の約 1000 分の 1 であった。生存指数は以下の通りであった。100% (対照群)、87% (5 µg/mL 群)、86% (10 µg/mL 群)、70% (20 µg/mL 群)、57% (50 µg/mL 群)、56% (100 µg/mL 群)、78% (マイトマイシン C 0.02 µg/mL 群)、62% (マイトマイシン C 0.10 µg/mL 群)。分裂指数は以下の通りであった。10.4% (対照群)、7.7% (5 µg/mL 群)、8.3% (10 µg/mL 群)、6.5% (20 µg/mL 群)、6.0% (50 µg/mL 群)、3.1% (100 µg/mL 群)、5.5% (マイトマイシン C 0.02 µg/mL 群)、2.8% (マイトマイシン C 0.10 µg/mL 群)。

### RL1 染色体試験

スライドグラスにラット肝 RL1 細胞を培養し、EPTAC を 0、10、40 ないしは 80 µg/mL の濃度で含む培養液に、24 時間曝露した。1 用量につき 4 系列の培養物で試験が行われた。曝露後、それぞれの培養物から染色体標本作製し(1 用量につき合計 4 個)、それぞれの標本において 100 個の細胞を観察した(Dean *et al.*, 1978) (Dean *et al.*, 1985)。染色分体異常の頻度が、用量の増加とともに増加していた。最も顕著に認められた変化は、染色分体交換像を示す細胞の増加、低用量群における 1 箇所のギャップを有する染色分体の増加と、高用量群における複数個所にギャップを有する染色分体の増加などであった。80 µg/mL 群では、ほぼすべての細胞に影響が見られ、55% の細胞においては、染色体の一部または全部が、多数のギャップのために数珠状になっているのが認められた。

EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

Table 4.9 Mutagenicity tests with EPTAC in mammalian cells *in vitro*

Test system	Concentrations	Result	Reference
PRIMARY RAT HEPATOCYTE UDS	0, 2, 20, 200 $\mu$ MOL/L, FOR 20H @ 37 °C	POSITIVE CELL COUNT VARIED FROM 15 TO 100 % IN THE TREATED CELLS. AT 20 $\mu$ MOL EPTAC WAS UDS POSITIVE (>50% POS. CELLS + NET GRAIN COUNT HIGHER THAN 2X SD OF CONTROL)	(von der Hude et al., 1990a)
CHINESE HAMSTER OVARY (CHO) CELLS	0, 5, 10, 20, 50 AND 100 $\mu$ G/ML OF EPTAC FOR 18 HOURS	FREQUENCY OF ABERRATIONS, WITH OR WITHOUT GAPS, PER CELL AND THE PERCENTAGE OF CELLS WITH ALL ABERRATIONS INCREASED WITH THE DOSE	(Vleminckx et al., 1987)
SCE IN CHINESE HAMSTER V79	0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 MMOL/L	POSITIVE STARTING FROM 0.25 MMOL/L, DOSE DEPENDENT INCREASE, R=0.87, S=7.1	(von der Hude et al., 1991)
CHROMOSOME ASSAY IN RL1 CELL LINE	0, 10, 40, 80 $\mu$ G/ML	POSITIVE: DOSE RELATED INCREASE OF CHROMATID GAPS	(Dean et al., 1978), (Dean et al., 1985)

4.1.2.7.2 *In vivo* 試験

マウス小核試験

Degussa(1992)により、GLP および OECD ガイドライン 474 に準拠した試験が実施されている。5 週齢のマウス(BOR:NMRI) 18 匹ずつで構成される 3 群を設け、EPTAC、生理食塩水もしくはシクロホスファミドを、10 mL/kg 体重の容量で、腹腔内に単回投与した。EPTAC の用量は、82.5 mg/kg 体重に相当しており、また陽性対照のシクロホスファミドの用量は 51.1 mg/kg 体重に相当していた。腹腔内投与の 24、48 および 72 時間後に、陰性および陽性対照群の雌雄各 6 匹と、EPTAC 投与群のマウス 7 匹を屠殺し、骨髄を取り出して、赤血球の分析に供した。いずれの試料採取時点についても、各群雌雄 5 匹ずつの試料を選び、被験動物 1 匹当たり 1000 個の多染性赤血球を計数した。正染性赤血球に対する多染性赤血球の比(PCE/NCE)を、被験物質の毒性の評価指標として用いた。小核を有する多染性赤血球の割合を、ポワソンテストを用いて、群および性別ごとに、また雌雄の数値を合わせて、統計学的に解析した。

臨床検査では、EPTAC を投与された動物において、毒性徴候、すなわち、軽度から中等度の間代性痙攣が認められた。72 時間の時点での試料では、雄において、PCE/NCE 比の有意な上昇が認められた。ただし、著者は、対照群における値が、著者らの試験施設内の背景対照値や文献で示されている背景対照値と比べ、異常に低いことに言及している。雄で陽性で結果が得られ、そのために、雌雄を合わせた場合にも有意な増加という判定に至っている。一方、24 時間の時点の試料では、雌において小核を有する PCE が、明らかに、統計学的に有意に増加していた。この時点での雄の試料では、小核を有する PCE の数は、

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

対応する陰性対照群における数の2倍であり、 $p = 0.076$  で有意であった。この増加は、雌雄を1群として解析した場合においても有意であった。

Table 4.9 PCEs with micronuclei scored in 1000 PCEs with PCE/NCE in control animals

PCE and PCE/NCE / animal 82.5 mg/kg EPTAC (i.p.)	24h				48h				72h			
	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)
1	3	2.05	1	1.77	1	1.40	1	2.13	0	2.55	0	2.41
2	0	1.71	1	1.97	2	2.04	2	1.86	1	4.05	0	3.33
3	1	1.93	2	1.67	0	2.09	1	1.72	1	2.70	1	2.70
4	2	2.45	2	1.67	0	1.20	2	1.57	0	2.80	1	2.80
5	2	1.89	1	1.96	0	1.75	2	1.42	0	3.41	1	3.41
Mean	1.6		1.4		0.6		1.6		0.4		0.6	

Table 4.10 PCEs with micronuclei scored in 1000 PCEs with PCE/NCE in EPTAC treated animals

PCE and PCE/NCE / animal 82.5 mg/kg EPTAC (i.p.)	24h				48h				72h			
	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)	PCE (M)	PCE/ NCE (M)	PCE (F)	PCE/ NCE (F)
1	2	1.99	8	2.10	2	1.08	1	1.71	2	1.70	0	1.81
2	1	0.98	4	1.17	3	0.96	1	2.01	2	1.22	0	2.58
3	1	2.40	10	1.08	3	1.08	1	1.40	3	2.97	2	1.78
4	9	2.40	8	1.21	0	1.82	2	1.06	4	1.55	0	2.89
5	3	2.29	6	1.11	0	1.17	3	1.34	0	1.98	0	2.91
Mean	3.2		7.2		1.6		1.6		2.2		0.4	

Table 4.11 Statistical evaluation of mouse micronucleus test

PCE with micronuclei/Group	24h		48h		72h	
	M	F	M	F	M	F
EPTAC	16	36	8	8	11	2
Negative control	8	7	3	8	2	3
F	1.7778	4.5000	2.000	0.8889	3.6667	0.5000
p-value	0.076	0.000	0.113	0.589	0.011	0.812
Positive control	154	138	94	29	35	19
Negative control	8	7	3	8	2	3
F	17.1111	17.2500	23.5000	3.2222	11.6667	4.7500
p-value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

### 4.1.2.7.3 変異原性の要約

EPTAC は、大腸菌 WP2 株、ネズミチフス菌 (*S. typhimurium*) 1535、1537 および 100 株において、突然変異を引き起こしたが、ネズミチフス菌 1538 および 98 株には、突然変異を引き起こさなかった。これらの突然変異には、代謝活性化は必要とされなかった。細菌を用いた変異原性試験の所見から、EPTAC は直接的に作用して、フレームシフトではなく塩基対置換により、点突然変異を生じることが示唆される。さらに、酵母菌の 2 株について実



## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

施された試験から、EPTAC は、2 つの別々の遺伝子座で遺伝子変換を引き起こす能力を有することが示された。肝細胞の UDS 試験で陽性反応が見られたことから、哺乳類細胞においても DNA 損傷が増高することが示唆される。さらに、チャイニーズハムスターV79 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験では、相関性の高い用量依存的な増加が認められている。

哺乳類の試験系において染色体損傷が起きることが、*in vitro* でも *in vivo* でも示された。*In vitro* 染色体異常試験が、ラットの肝細胞またはハムスターの卵巣細胞を用いて実施されているが、いずれの場合においても、細胞 1 個当たりの異常の頻度(ギャップを含むあるいは含まない)も、また何らかの異常を有する細胞の割合も、用量の増加と共に増加した。*In vivo* 試験では、小核を有する多染性赤血球の増加が、雌雄両方で認められ、特に投与後 24 時間の時点の雌においては、統計学的に有意な増加が明確に認められた。

*In vitro* でも *in vivo* でも陽性結果が得られたことから、EPTAC は、細菌を用いた試験系で点突然変異を引き起こすだけでなく、哺乳類細胞においても染色体異常や異数性を誘発する能力を有することが示された。また 28 日間試験における顕微鏡学的検査では、10 mg/kg 体重群の試料で、腎近位尿管細胞に異常有糸分裂と多倍数性核が確認され、これらは遺伝毒性的な変化が生じたことを示すものと考えられる。さらに、31.6 mg/kg 体重で 28 日間曝露した場合には、精巣や卵巣の萎縮が認められ、萎縮は、特に卵巣で顕著であった。これらの知見は、EPTAC が生殖細胞に対しても変異原性を有する可能性を高めるものである。

EPTAC は、*in vivo* 系で体細胞に対して変異原性を示す。28 日間試験で示された証拠に基づくと、EPTAC は性腺に到達することができ、したがって、生殖細胞にも変異原性を示す可能性が高い。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、カテゴリ-3 の変異原性物質 ; R68(不可逆的影響のおそれ有り)に分類することを承認した。

### 4.1.2.8 発がん性

#### 4.1.2.8.1 動物試験

##### *In vivo* 試験

##### 経皮

Doak(1983)は、CF1 マウスを用いた 2 年間試験を実施している。EPTAC は、エタノール

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

を媒体として、0.1、0.3 ないしは 1.0% (w/v) の濃度で皮膚に適用された(予備試験で 1% は刺激を生じない濃度であることを確認した)。各用量群は雌雄各 50 匹ずつで構成されたが、溶媒(エタノール/ノニデット)対照には、雌雄各 100 匹ずつが使用された。10 mg/mL の濃度の  $\beta$ -プロピオラク톤を陽性対照として使用した。被験物質および対照物質は、1 週間に 2 度、0.2 mL ずつ適用され、この処置が最長 104 週間続けられた。重量で示すと、被験動物 1 匹当たり、1 回の適用に用いられた量は、毎回、0.2、0.6 ないしは 2.0 mg であった。曝露期間中の被験動物の平均体重データが無い(体重に関する記録が無く、そうしたデータが集められたのかどうかの言及もない)ため、本報告書では平均体重として、技術指針書(TGD)のデフォルト値である 40 g を想定した。この想定によれば、適用用量は、1 回の適用当たりでは 5、15 ないしは 50 mg/kg 体重、1 週間当たりでは 10、30 ないしは 100 mg/kg 体重となる。マウスの皮膚を用いた *in vitro* 吸収試験に基づくと、CHPTAC の場合、これらの濃度では 22.6~43.6% が皮膚を透過する。臨床的観察を 1 日 2 回行い、皮膚病変や病変部位について詳細に記録した。剖検では、まず肉眼的検査を実施し、肉眼的異常が見つかった場合は、その臓器の切片を作製し、鏡検標本とした。さらに、組織学的検査のための試料を、副腎、脳(3 階層)、頸部、眼および涙腺、性腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、脾臓、下垂体、唾液腺、皮膚、脾臓、胃、胸腺、甲状腺、膀胱、および子宮について作製した。皮膚腫瘍が疑われる部位の位置図を作成し、それらの出現時期や成長率を記録した。皮膚腫瘍の検出水準は 1 mm で、それ以上のものについて記録した。組織学的検査では、悪性腫瘍と良性腫瘍の判別を行い、また、それらの腫瘍が適用部位を起源とするものか、非適用部位を起源とするものかについてのグループ分けを行った。

雌の生残率は、1% の EPTAC の適用により、有意に( $p < 0.001$ )減少した。対照群と被験物質処置群のそれぞれとを、2 行×2 列の分割表解析を用いて対比較したが、有意差は認められなかった。1% 群の雄の生残率は、対照群よりも低かったが、分割表解析では、対照群とそれぞれの被験物質処置群との間で、有意差を示す組み合わせは認められなかった。

Table 4.12: Survival of the mice during the experiment was the following after 104 weeks

	Males %	Females %
Control	27	31
1 % beta-propiolactone	18	20
0.1 % EPTAC	34	26
0.3 % EPTAC	28	22
1.0 % EPTAC	16	2

全ての群で、死亡の主因は、腫瘍の増殖であった(雄 139 匹、雌 139 匹)。陰性対照群と比較すると、2 年目に予定されていた剖検時までの生残率は、1% EPTAC 群と陽性対照( $\beta$ -プロピオラク톤)群の両方で減少していた。この減少は、1% EPTAC 群の雌では、統計学的に有意であった。全てのマウスで見ると、腫瘍に関連して死亡した被験動物の大多数が、

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

主として造血組織や肺に原発した、全身性腫瘍により死亡している(233 匹)。雄では死亡例が被験物質処置に関連しているとする証拠は得られていない。しかし1% EPTAC 群の雌では、溶媒対照群と比較して、腫瘍に関連した死亡率がわずかに上昇していた。乳腺腫瘍により死亡したのは、1% EPTAC 群の雌では 6/50 匹であったが、陰性対照群では 1 匹、他の被験物質処置群では 0 匹であった。皮膚腫瘍で死亡したのは、1% EPTAC 群では 13 匹、陽性対照群では 5 匹、陰性対照群では 1 匹で、他の被験物質処置群では 0 匹であった。非腫瘍性の死因は、主として化膿性病変、腎不全(雌)もしくは尿道閉塞に関連するものであった。死亡や末期病変の原因に EPTAC による有意な影響が及ぼされたと考えられるのは 1.0% EPTAC 群のみであり、この群では、雌マウスにおいて、皮膚腫瘍や乳腺腫瘍による死亡率の増加が認められた。他の臨床症状として、適用部位における皮膚変色、脱毛および皮膚剥離が、1.0 %EPTAC 群や  $\beta$ -プロピオラクトン群で認められた。0.3% EPTAC 群、1.0% EPTAC 群および  $\beta$ -プロピオラクトン群では、皮膚の結節や腫瘤(少なくとも直径 2 mm で少なくとも 2 週間持続)も記録されている。腫瘤は、1.0% EPTAC 群のマウスにおいて、被験物質適用部位以外でも認められた。

Table 4.13 Aetiology of death in CF1 mice treated with EPTAC

Aetiology	Incidence									
	Males					females				
	Solv.	B-PI	0.1%	0.3%	1.0%	Solv.	B-PI	0.1%	0.3%	1.0%
Skin neoplasia	1	11	-	-	7	1	5	-	-	13
Mammary neoplasia (adenocarcinoma)	-	-	-	-	-	1				6
Systemic neoplasia	47	13	20	19	21	37	10	22	20	24
Chronic/ obstructive renal failure	9	9	8	7	5	12	7	5	9	3
Inflammatory conditions	6	2	3	4	2	12	12	6	5	2
Other	10	6	2	6	7	6	6	4	5	1

肉眼病理観察では、肺における多巣性結節の数の増加や、皮膚における多巣性あるいは孤立性の腫瘤の数の増加が、雌雄いずれにも認められた。最高用量群の雌では、乳腺における腫瘤の増加も有意に認められた。非腫瘍性の評価項目に関しては、1.0 % EPTAC 群や  $\beta$ -プロピオラクトン群における皮膚の潰瘍形成や前腫瘍性病変形成を除くと、被験物質処置に関連した組織病理学的な影響は、いずれの器官でも認められなかった。生殖器官の詳細な検査からは、被験物質処置に関連した影響は、何も示されなかった。

### 皮膚の腫瘍

皮膚や表皮の腫瘍は、0.1%EPTAC 群の雌雄いずれにおいても認められなかった。0.3% EPTAC 群では、2/50 匹の雌において適用部位に皮膚腫瘍が生じ、その一方は悪性基底細胞腫瘍であり、もう一方は良性の剥離性腫瘍であった。陰性対照群の雄では、1/100 匹に線

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

維肉腫が認められた。陰性対照群の雌でも、悪性皮下線維肉腫が 1 例見つかっている。陽性対照群では、26/50 匹の雄および 15/50 匹の雌に、皮膚腫瘍が発生した(表には示されていない)。1%EPTAC 群では、27/50 匹の雄および 25/50 匹の雌に、合計 140 個の皮膚腫瘍が検出された。これらの皮膚腫瘍のほとんどが、表皮の悪性扁平上皮腫瘍であったが、雌ではこのほかに、3 例の皮膚腫瘍および 1 例の皮下腫瘍(悪性線維肉腫)も認められた。悪性腫瘍で最も多く認められたのは、扁平上皮がんであった。

**Table 4.14 Skin tumours at treated site in male and female mice**

Tumour	Control M (100)	Control F (100)	0.1 % M (50)	0.1 % F (50)	0.3 % M (50)	0.3 % F (50)	1.0 % M (50)	1.0 % F (50)
Squamous cell carcinoma (M)							24(53)	20(49)
Sloughed tumour (B)						1(1)	5(8)	4(4)
Squamous cell papilloma (B)							4(4)	2(2)
Basal cell carcinoma (M)						1(1)	5(5)	1(3)
Anaplastic carcinoma (M)							1(1)	
Sebaceous gland adenoma (B)							1(1)	2(2)
Basal cell papilloma (B)							3(3)	1(1)
Dermal fibrosarcoma (M)		1 (1)						1(1)
Dermal haemangioma (B)								1(1)
Dermal lymphangioma (B)								1(1)
Fibrosarcoma (subcutis) (M)	1(1)							1(1)

Numbers in parenthesis represent the total number of this tumour type; M malignant, B benign

**Table 4.15 Summary of tumour data: treated skin and subcutis of male and female mice**

Tumour	Control M (100)	Control F (100)	0.1 % M (50)	0.1 % F (50)	0.3 % M (50)	0.3 % F (50)	1.0 % M (50)	1.0 % F (50)
Number and % of animals with tumours	1 (1%)	1 (1%)	-	-	-	2 (4%)	27 (54%)	25 (50%)
Number and % of animals with single tumours	1 (1%)	1 (1%)	-	-	-	2 (4%)	9 (18%)	9 (18%)
Number and % of animals with multiple tumours	-	-	-	-	-		18 (36%)	16 (32%)
Number and % of animals with benign tumours	-	-	-	-	-	1 (2%)	10 (20%)	10 (20%)
Number and % of animals with malignant tumours	1 (1%)	1 (1%)	-	-	-	1 (2%)	25 (50%)	22 (44%)
Number and % of animals with metastatic tumours	1 (1%)		-	-	-		4 (8%)	6 (12%)
Total number of tumours	1	1	-	-	-	2	75	65
Total number of benign tumours	-	-	-	-	-	1	16	11
Total number of malignant tumours	1	1	-	-	-	1	59	54
Total number of metastatic tumours	1		-	-	-	-	4	6

## 全身性腫瘍

全身性腫瘍の発生率に関しては、最高用量群の雄で、胸腺リンパ肉腫が有意に増加していた。リンパ肉腫による死亡例は、最も早いものが 119 日に、最も遅いものが 483 日に、平均では 268 日に認められた。雄では、この他には、全身性腫瘍の有意な増加は認められなかった。雌では、0.3%EPTAC 群および 1.0%EPTAC 群において、陰性対照群と比べて、涙腺腫瘍が増加していた。この腫瘍は良性で単発性であり、600 匹のマウスのうち 12 匹に見られたに過ぎない。さらに、0.3%EPTAC 群よりも 1.0%EPTAC 群の方がこの腫瘍の発生率が低く、用量依存性の影響である証拠が示されていない。1.0%EPTAC を皮膚に適用した群の雌では、陰性対照群と比べ、肺腫瘍の発生率が有意に上昇した。無処置の CF-1 マウスでは、雌雄における肺腫瘍発生率は、45～60%である。統計学的解析により、雌マウスにおける肺腫瘍の増加は、用量依存性であることが確認された。ただし、著者は、遺伝的に高率で自然発生腫瘍を生じる系統のマウスでは、発がん性物質で処置した場合、肺腫瘍(通常腺腫)が高率で誘発されるのが一般的であることが、文献で示されていると述べている。著者はこのことから、上述の知見は、EPTAC が肺がんを誘発することを示す証拠とはならないと判断している。さらに著者は、最高用量群の雌における細網細胞肉腫や最高用量群の雄における胸腺リンパ肉腫は、オンコルナウイルスによって生じた可能性がある」と論じている。このウイルスの B 型および C 型は、マウスのリンパ細網系および造血系腫瘍に対する感受性を増加させることが知られている。C 型オンコルナウイルスは、母獣から仔動物へと垂直感染する能力がある。著者はさらに、最高用量群の雌で認められた乳腺がんの発生率の統計学的に有意な増加についても、疑義を示している。著者は、Nandi and McGrath (1973) を引用し、乳腺腫瘍の発生は、オンコルナウイルスと関連があるかもしれないと推測している。著者によれば、影響の発現機序として、ホルモンに係る要素や遺伝的要素および EPTAC の適用とオンコルナウイルスとの共発がん作用が考えられる。

Table 4.16: Statistical analysis of the increases in systemic neoplasia in male mice

Tumour category	Solvent		0.1 %		0.3 %		1.0 %		T
	O	O:E	O	O:E	O	O:E	O	O:E	
Thymic lymphosarcoma	5	0.81	1	0.33	2	0.65	7	2.53	2.62**

Table 4.17: Statistical analysis of the increases in systemic neoplasia in female mice

Tumour category	Solvent		0.1 %		0.3 %		1.0 %		T
	O	O:E	O	O:E	O	O:E	O	O:E	
Reticulum cell sarcoma	21	0.79	11	0.98	9	0.87	11	2.73	3.65**
Lachrymal gland	1	0.29	0	-	4	3.07	2	2.48	2.43**
Lungs	51	0.87	22	0.84	27	0.98	36	1.53	3.86**
Mammary gland	2	0.33	0	-	1	0.35	12	4.15	5.90**

T = Test statistic distributed N (0,1) under the hypothesis that risk of tumour development does not increase with increasing dose  
O = Observed number of mice with given tumour, O:E = Ratio of observed to expected, \*\* = P < 0.01 Significance of value of test statistic

## 考察

1.0%の EPTAC を適用した場合、適用部位における皮膚腫瘍の発生率が上昇した。試験における適用用量は、適用日当たりでは 4, 15 および 41 mg/kg 体重、1 週間当たりでは 8, 30 および 82 mg/kg 体重であった。マウスの皮膚を用いた *in vitro* 吸収試験に基づくと、CHPTAC の場合、これらの濃度では 22.6~43.6%が皮膚を透過する。ただし、この試験に基づくと、ヒトの皮膚については、内部に届く用量は、最大でマウスの 60 分の 1 であると考えられることに留意すべきである。雄マウス 50 匹中 27 匹と雌マウス 50 匹中 25 匹において、皮膚腫瘍が合計 140 個生じており、その最短潜伏期間は 50 週間で、75 個は雄マウスにおける表皮の腫瘍であり、65 個は雌マウスにおける腫瘍(表皮の腫瘍 61 個、真皮の腫瘍 3 個および皮下腫瘍 1 個)であった。発がん活性を有することが知られている  $\beta$ -プロピオラク톤を適用されたマウスでは、71/100 匹に、適用部位における腫瘍形成が認められ、発症までの潜伏期間はわずかに 20 週間であった。対照的に、0.3%の EPTAC を適用されたマウスでは、適用部位における腫瘍形成は、わずかに 2 例だけであった。1.0%EPTAC 群で皮膚腫瘍が高発生率で認められたことから判断すると、2,3-エポキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライドが皮膚がんを発生させる能力を有することは明らかである。

雄マウスでは、有意に認められた影響は、1.0%EPTAC 群における胸腺リンパ肉腫の増加だけであった。雌マウスでは、全身性腫瘍のデータを統計学的に解析したところ、肺腫瘍、細網細胞肉腫、乳腺腫瘍ないしは涙腺腫瘍を有するマウスの数について有意差が認められ、また、用量の増加とともにそれらの発症リスクが上昇することを示す証拠も得られた。ただし、涙腺腫瘍については、その発症リスクは 0.3%EPTAC 群の方が 1.0%EPTAC 群よりも高く、用量依存性に発症するという証拠は得られていない。肺腫瘍は、ほとんどが腺腫であった。被験動物は、肺腫瘍の自然発生率が高い傾向を示す系統のマウスであったが、統計学的解析により、用量-反応関係があることが確認された。細網細胞肉腫、胸腺細胞肉腫および乳腺腫瘍については、著者はウィルスが原因ではないかと考察しているが、その場合の発症機序に関する証拠は示されていない。

疑義は残るが EPTAC には全身性腫瘍を発生させる可能性があることを受け、ベンチマーク用量を決定するために全身投与用量を算出した。この算出には、CHPTAC を被験物質としてマウスを用いて実施された皮膚吸収試験の結果と、そこで得られた、様々な濃度における総吸収量のデータが用いられた。外部から適用した用量は、1 回の適用につき、5, 15 および 50 mg/kg 体重と推定される。0.1%CHPTAC の場合の総吸収率である 45%を、低および中用量群 (0.1%および 0.3%適用群) に対して採用することができる。また、1%CHPTAC の場合の総吸収率である 29.2%を、最高用量群に対して採用することができる。この結果、1 回の適用当たりの用量は、2.3, 6.8 および 14.6 mg/kg 体重と算出される。適用は週 2 回行われたため、1 週間当たりの用量は 4.6, 13.6 および 29.2 mg/kg 体重となり、

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

これを週 5 回適用に換算すると 0.9、2.7 および 5.8 mg/kg 体重/日となり、また、週 7 回適用に換算すると、0.7、1.9 および 4.9 mg/kg 体重/日となる。

### 4.1.2.8.2 発がん性の要約

EPTAC は、1%の濃度で皮膚に適用(適用 1 回当たり約 50 mg/kg 体重の用量と推定される)された場合、局所発がん活性を示す。また、EPTAC については、1%溶液でマウスの皮膚に適用された場合、いくつかの全身性腫瘍(肺腫瘍や乳腺腫瘍など)を引き起こす可能性を有することも、ある程度示唆されている。しかし、これらの腫瘍と被験物質適用との関連性は、不明確である。さらに、試験の間に、被験物質の経口摂取が生じた可能性もある。CHPTAC について得られている *in vitro* での皮膚吸収データに基づくと、マウスにおける EPTAC の皮膚透過性は、濃度が 0.1%の場合は約 45%、濃度が 1.0%の場合は約 29%であり、一方ヒトにおける EPTAC の皮膚透過性は 6%未満である。しかしそれでもなお、全身性腫瘍の懸念を完全に除外することは困難である。また、EPTAC は、直接変異原性を有しており、その活性は哺乳類の代謝系では不活化できないと思われるため、なんらかの発がん性を有していることが予想される。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、カテゴリー 2 の発がん物質; R45(発がんを引き起こす可能性がある)に分類することを承認した。

### 4.1.2.9 生殖毒性

#### 4.1.2.9.1 生殖能力への影響

##### 動物試験

生殖能力への毒性や発生毒性を検討した試験のデータは、得られていない。Wister ラットを用いて実施された 28 日試験から、性腺への形態学的影響に関する情報を、ある程度得ることができる。この試験(Degussa 1990)では、ラットに、EPTAC(純度 72.6%)が、0、3.16、10.0、31.6 ないしは 100 mg/kg 体重の用量で、28 日間強制経口投与された。対照群と最高用量群は、雌雄 10 匹ずつで構成され、低用量群と中用量群は雌雄 5 匹ずつで構成された。対照群と最高用量群からは、5 匹ずつを選択し、それらには曝露後、4 週間の観察期間を設けた。この試験は GLP 規則下で行われ、試験手順は OECD ガイドライン 407 に準拠していた。尿検査は、第 4 週目と第 8 週目(回復期間を設けた群)に実施された。組織病理学的検査のために、副腎、胸骨の骨髄、骨髄塗抹、脳、様々な部位の腸、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、胃、精巣および胸腺の試料が採取され標本が作製された。血液検査と臨床生化学的検査は、前述のガイドラインに推奨される項目について、第 4 週目

## EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

と第 8 週目に実施された。この試験のより詳細な記載は、4.1.2.6.1 項「動物試験」を参照のこと。

最高用量群の雄ラットは、第 5 週目の時点で、精巣重量の有意な減少(-30~-40%)を示し、回復期間を設けた群で第 9 週目に測定された値も、同様に有意に低かった。雌ラットでは、第 5 週目の時点で、卵巣重量の減少傾向が認められ、31.6 mg/kg 体重群と 100 mg/kg 体重群では、卵巣重量変化が有意であった。ただし、回復期間を設けた群では、第 9 週目の測定時点で、卵巣重量の有意な減少(最大 60%)は、100 mg/kg 体重群の右側卵巣だけでしか認められなかった。顕微鏡学的には、31.6 mg/kg 体重群および 100 mg/kg 体重群の雄で、限局性の精巣萎縮が認められ、その発生率や重症度は用量依存的であった。雌では、31.6 mg/kg 体重群および 100 mg/kg 体重群で、卵巣の萎縮と黄体遺残が認められ、その重症度は用量依存的であった。子宮上皮は、萎縮性の変化を示し、形態学的には発情休止期の様相を示していた。性腺で見られたこれらの変化は、雌雄とも、回復期間を経ても持続していた。100 mg/kg 体重群の雄では、第 28 日目の体重は、対照群よりも 45%少なく、31.6 mg/kg 体重群では、同時点の平均体重は対照群よりも 18%少なく、10 mg/kg 体重群では対照群と比べて 12%の減少が記録されている。100 mg/kg 体重群の雌では、平均体重が、対照群よりも 38%低下していた。他の用量群および回復期間が設けられた群の雌では、体重について有意な差は認められなかった。回復期間を経ても、100 mg/kg 体重を投与されていた雄では、平均体重が、対照群と比べて 29%少なかった。

### 4.1.2.9.2 発生毒性

発生毒性の評価に使用できるデータは、得られていない。

### 4.1.2.9.3 生殖毒性の要約

上述の試験では、生殖能力そのものへの影響について、ほとんど何も示されていない。しかし、その結果を用いて、雌雄の生殖器官において認められたかなり重度な形態学的変化に基づき、示唆的な NOAEL を設定することができる。上述の 28 日間反復投与試験から、生殖への毒性に関する NOAEL として、10 mg/kg 体重という値が選出される。

追加試験の要求に応じて生殖毒性(生殖能力への毒性や発生毒性)についてさらに情報が得られたとしても、遺伝毒性発がん物質に求められるリスク削減策を上回る方策が必要となることはなさそうである。化学物質の分類と表記に関する作業部会は、EPTAC を、カテゴリー 3 の生殖毒性物質; R62(生殖機能の障害を引き起こす可能性がある)に分類することを



EURAR 2,3-EPOXYPROPYLTRIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE

承認した。