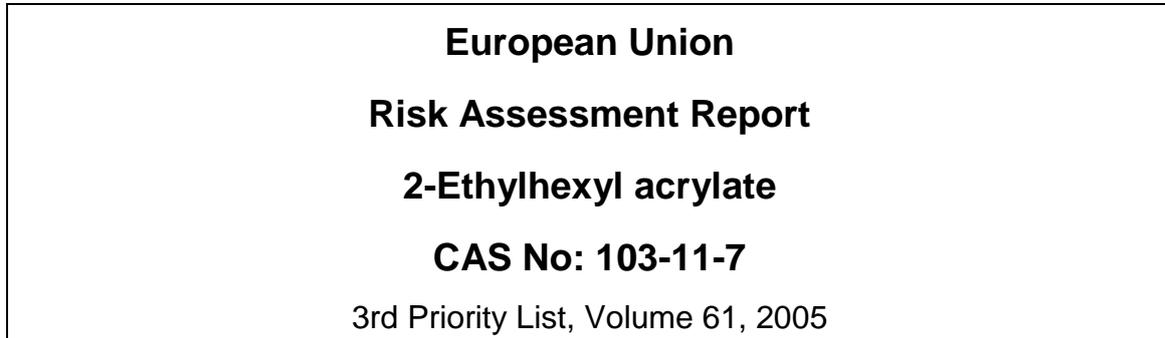
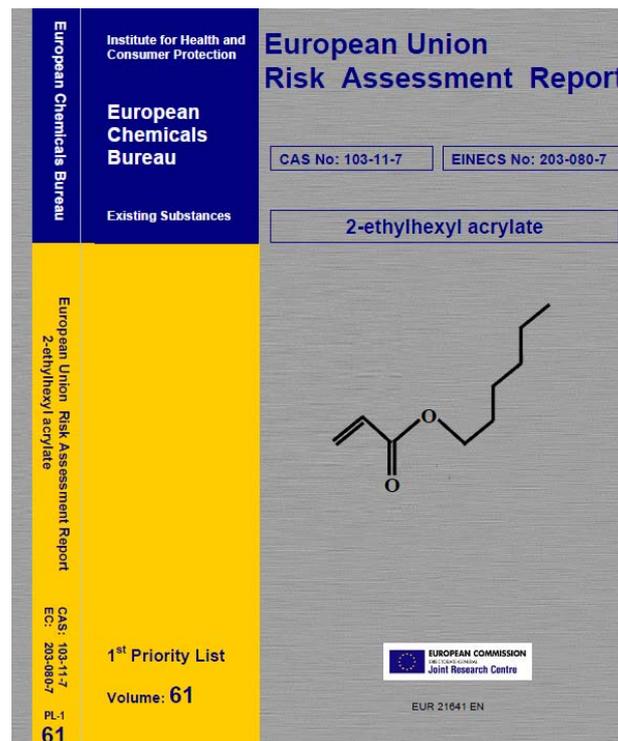


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 61, 2005)
2-エチルヘキシルアクリレート



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2009年8月

本部分翻訳文書は、”2-ethylhexyl acrylate, CAS No: 103-11-7)に関する EU Risk Assessment Report (Vol. 61, 2005)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)評価」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/2e_hareport058.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(作用)評価

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝および分布

これまでに、2-EHA(2-エチルヘキシルアクリレート)の代謝に関する特定の試験は実施されていない。しかし、ラットの各種試験から、アクリル酸エチル等の短鎖アクリル酸は以下のような代謝反応を起こすことが示されている：エステル基のカルボキシルエステラーゼ触媒加水分解によるアクリル酸およびアルコール遊離 (Silver and Murphy, 1981 ; De Bethizy et al., 1987 ; Ghanayem et al., 1987 ; Vodicka et al., 1990 ; Frederick et al., 1992 ; Linhart et al., 1994 ; Frederick et al., 1994) 。ラット肝臓 (*in vitro*) におけるアクリル酸エチル加水分解の半減期は、約2秒であった。その他の13組織では、15分程度であった (Frederick et al., 1992)。

精製ブタ肝カルボキシルエステラーゼを用いて、数種のアクリル酸およびメタクリル酸の酵素加水分解を各エステルの K_m^* および V_{max} 値の決定により特徴付けた。(McCarthy and Witz, 1997) 。 α -メチル置換体は K_m または V_{max} に軽微な作用を示すのみであるが、アルコール鎖長は酵素加水分解の K_m 値に有意な影響を及ぼした。アクリル酸ブチルの K_m 値は、アクリル酸エチルと比較し4倍低かった。アクリル酸ブチルの V_{max} は、アクリル酸エチルの V_{max} よりも約6倍遅い。2-EHAに関するデータは入手していない。

平衡状態をみる排泄試験は、2-エチルヘキサノール(2-EH)を用いて、雌 Fischer 344 ラットへの ^{14}C -2-EHの高用量(500 mg/kg)および低用量(50 mg/kg)の単回経口投与、低濃度の非標識2-EHの反復(14日間)経口投与、および ^{14}C -2-EHの1 mg/kg単回静脈内投与により実施された。すべての経口用量は最初の24時間以内に、主として尿中に速やかに排泄された。経口投与後に排泄された尿中代謝物は、主に2-EHAの酸化代謝物のグルクロニド(2-エチルアジピン酸、2-エチルヘキサン酸、5-ヒドロキシ-2-エチルヘキサン酸および6-ヒドロキシ-2-エチルヘキサン酸)であった (Deisinger et al., 1994) 。

* K_m : Michaelis Menten 定数, V_{max} : 最大速度

アクリル酸は脱炭酸され、二酸化炭素に分解される (Gut et al., 1988 ; Sapota, 1988)。2-EHAのごく一部の2%~8% (投与経路によって異なる) がグルタチオンと結合し、チオエーテルとして排泄される (Gut et al., 1988 ; Vodicka et al., 1990 ; Linhart et al., 1994)。

^{14}C -2-EHA (ビニル炭素に標識) をラットに経口または腹腔内投与した (100 mg/kg 体重) (Sapota, 1988)。最高比放射能は腹腔内投与後3時間に、肝臓および腎臓で認められ、続いて脾臓、肺、脳、脂肪組織および血液で認められた。 ^{14}C 組織内濃度は、持続的に減少した。これに対する例外は、100 mg/kg 用量での脂肪組織であり、この組織では ^{14}C レベルは72時間一定であった。経口投与後、放射能の約50%は呼気を介して、38%は尿中に、最初の24時間以内に排泄された。ごく一部の2-EHA (用量の約1%) が糞便を介して排泄された。

トキシコキネティクスの要約

経口投与による動物試験において、2-EHAは速やかに、そして広範に吸収、分布および排泄されることが示された (最初の24時間で約90%)。経皮投与または吸入暴露によるトキシコキネティクス試験は実施されていない。

4.1.2.2 急性毒性

4.1.2.2.1 動物における試験

経口投与

急性経口毒性は4,000~6,000 mg/kgの LD_{50} 値であった。臨床症状として、便の減少、肛門生殖器部位の湿潤および黄染、自発運動の減少および運動失調が認められた。

毒性発現用量データの一覧では、試験結果の概要として、雄ラットの2-EHA (純度データなし) の経口投与による LD_{50} は、6.50 (4.72~8.95) mL/kg (約5,770 mg/kg)と記載されている (追加データなし、Carpenter et al., 1974)。

2-EHA(0.05% ヒドロキノンで安定、純度データなし)を用いた2番目の試験では、ラットに本物質の10%トラガンズ(Traganth)水溶液を経口投与した場合の LD_{50} 値は、5.0 mL/kg (約4,430 mg/kg)であった。臨床症状として無関心、麻酔状態、および下痢が認められ、組織

学的変化は認められなかった。更なるデータは報告されていない(BASF AG, 未発表報告, 1958)。

雄マウス 10 匹/用量群(2,500 mg/kg および 5,000 mg/kg、溶媒はコーンオイル)を用いた試験において、2,500 mg/kg 投与後に 2-EHA(純度> 99.5%、10~20 ppm の MMHQ で安定化)による死亡はみられなかったが、5,000 mg/kg の投与後 24 時間以内に 2/10 例のマウスが死亡した。生存動物は本物質適用から 3 日以内には回復した。臨床症状として、便の減少、肛門性器部位の湿潤および黄染、自発運動の減少、運動失調、および腹式呼吸が認められた。剖検時、肉眼的変化は認められなかった (Rohm and Haas, 未発表報告, 1982)。

吸入投与

急性吸入毒性試験に関する有効データは入手されていないが、2-EHA の急性吸入毒性は低いと考えられる。動物試験に関するいくつかの報告について次のように言及されている：毒性発現用量データの一覧に、2-EHA (純度データなし) の“濃縮蒸気”の 8 時間吸入によりラットの死亡は認められなかったことが記載されており、その空気の温度は記されていない (Carpenter et al., 1974)。

ラットを用いた試験では、2-EHA を 20°C で飽和させた空気 (0.05% ヒドロキノンで安定化、純度データなし) の 8 時間吸入により、6 例の動物において死亡例および臨床症状はみられなかった。更なる詳細は報告されていない (BASF AG, 未発表報告, 1958)。

エチルヘキシルアクリレートの用量設定試験では、室温にて 120 L ガラス試験容器の上部付近に設置した浅いトレイ上の 200 cm²領域にエチルヘキシルアクリレート 50 g を広げ、その後 16 時間以上密閉し、断続的に送風することにより容器内部空気を攪拌して、十分に蒸気を飽和させ調製した。ラットはその後、蒸気消失量が最小限になるよう設計および操作されたケージに導入された。2-EHA 蒸気 (純度データなし) を飽和させた空気を 8 時間吸入させた後、吸入期間中または吸入後 14 日間の観察期間中、ラット 6 例に死亡はみられなかった。報告された臨床症状は暴露チャンバーからの取り出し時における活動亢進のみであり、剖検所見として鼻および眼刺激性が認められた (Mellon Institute of Industrial Research, 未発表報告, 1950)。

ラットおよびマウス試験の報告に関する文献からの引用については、2-EHA の毒性報告に記載されている。死亡例はみられなかった。8 時間の暴露時間にわたり 20°C で飽和させた空気に暴露された全ラットが生存し；マウスを 60°C で本物質を飽和させた空気を暴露した場合、死亡はみられなかった (BUA, 1991)。

経皮投与

2-EHA の急性経皮毒性は低い。ウサギでは、経皮投与による LD₅₀ 値は>10,000 mg/kg と報告されている：すなわち表に試験結果の概要のみが記載されており、ウサギにおける 2-EHA（純度データなし）の皮膚浸透による LD₅₀ が 16.00（4.48～57.2）mL/kg（約 14,180 mg/kg）であったとしている（Carpenter et al., 1974）。

4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

本物質の急性毒性に関するヒトのデータは入手されていない。

4.1.2.2.3 結論

本物質の急性毒性に関するヒトのデータは入手されていない。げっ歯類を用いた動物試験では、2-EHA はわずかな急性毒性を有し、報告された臨床症状および局所刺激性/腐食性試験の結果（4.1.2.3/4.1.2.4 項参照）、全身作用は非特異的であり顕著ではないとするわずかな情報に基づき、主な作用は局所刺激性または腐食性であるとされた。本物質は、急性毒性作用にもとづく表示はなされない。

4.1.2.3 刺激性/腐食性

4.1.2.3.1 動物における試験

皮膚

OECD および EU 試験ガイドラインと同様に実施した皮膚刺激性試験では、ウサギ 6 例を 4 時間にわたり閉塞下で 2-EHA（純度データなし）に暴露した。全動物において、重度の紅斑（24 時間/72 時間の平均値：3.2/2.7）および浮腫（24 時間/72 時間の平均値：2.7/1.2）が認められ、1/6 例で 72 時間の観察期間中に皮膚病変の重篤度が増加した。この動物の皮膚では、試験が終了した暴露 3 日後にスコア 4 および表在性の化学熱傷が認められた（Hoechst Celanese Corp., 未発表報告, 1972）。後期の観察時点において皮膚の全層破壊が認められたかどうかは不明のままである。一連のパッチテストにおいて、本物質は 1 分間および 5 分間の暴露により中等度の紅斑を引き起こしたが、8 日間以内に回復した。15 分間の暴露期間後、8 日後に落屑を伴う重度の紅斑が認められ、20 時間の暴露期間後 24 時間以内に、重

度の紅斑および中等度浮腫が出現した。塗布 8 日後に落屑が認められた (BASF AG 未発表報告, 1978)。

1964 年の US 連邦官報ガイドラインに従い実施した閉塞パッチテストでは、4 例のウサギの無傷および擦過皮膚に、各 0.5 mL の 2-EHA (純度データなし) を 24 時間閉塞暴露した。無傷の皮膚におけるスコア (24 時間/72 時間) は紅斑が 1.75/2、浮腫が 3.25/3.25 であり、擦過皮膚においても同等のスコアが認められた。壊死作用を示す徴候は、無傷および擦過皮膚のいずれにおいても認められていない (Consultox Laboratories, 未発表報告, 1980)。

2-EHA との反復開放性接触によるウサギおよびモルモットにおける皮膚反応については Hunter らにより要約されている。1 日 12 回、病巣を覆わずに被験物質を塗布したところ、明らかな壊死が認められ、皮膚損傷が重篤であったため、試験を終了した (Hunter et al., 1966)。

皮膚接触後に引き起こされた局所病変が腐食性または重度の刺激性のいずれに分類されるかを決定するため、BASF AG は刺激性および腐食性を区別するために開発された Draize 皮膚試験の代替法を実施した (EU ガイドライン B.40)。いわゆる EpiDerm™ 皮膚腐食性試験は 2-EHA (純度 99.7%) を用いて実施された。2-EHA が皮膚腐食性を引き起こす可能性は、本物質 50 µL を再構築三次元ヒト表皮モデル (EpiDerm™) に単回局所塗布して評価した。2 系列の EpiDerm™ 組織を 3 分間および 1 時間、2-EHA とインキュベートし、その後、誘発される可能性のある細胞毒性作用について比色定量を行った。3 分間の暴露時間後に測定された本物質処理組織の生存率は 99% であり、1 時間の暴露時間では 104% であった (2-EHA は、細胞毒性検出の指標である MTT を直接減少させることができない)。2-EHA は陰性対照と同様の反応を示すことが証明され、一方陽性対照として使用された腐蝕性化合物は、この系が腐蝕性化学物質を検出可能であることを立証した。観察された結果に基づき、また試験の評価基準を適用し、選択された条件下におけるこの試験では、2-EHA は腐食性を示さない (BASF AG, 未発表報告, 2001)。

眼

眼刺激性は明らかであるが、ウサギ皮膚で認められた局所刺激性ほど重篤ではないことが報告されている。OECD 試験法ガイドライン 405 に従い GLP で実施した試験において、2-EHA (純度 98%) による軽度の眼刺激性が認められた。本物質 0.1 mL を白色ウサギ 3 例に点眼した場合の 24、48 および 72 時間の観察時点での平均スコアはそれぞれ、角膜 0、0、0.3、虹彩 0、0、0.3、結膜発赤 0.3、0、0.3、結膜浮腫 0、0、0.3 であった。すべての刺激性の徴候は、可逆性で 3 日以内に回復した (Koch et al., 1985)。その他の既存の眼刺激性試験は記述が不十分である。ほとんどの場合、通常実施される試験に関する概説があるが、2-EHA

を用いて実施した特定の試験に関する情報はなかった。したがって、結果の表に記載された“グレード”または“スコア”の証拠の重みおよび現行の EU 規制により分類される可能性のある結果を決定するのは非常に難しい。

Carpenter および Smyth の報告によると、2-EHA の 40% 溶液 0.005 mL をウサギ 5 例の眼に点眼したところ、10 段階中グレード 6 の角膜損傷が認められた。本物質の点眼 24 時間後、数値的評価スコア > 5 を決定した（“スコア 5”の定義：角膜の 63～87% で壊死が認められ、フルオレセイン染色後に可視化）。この結果は、2-EHA により引き起こされる角膜病変の評価 10 段階中グレード 6 である（Carpenter and Smyth, 1946）。

毒性発現用量データの一覧では試験結果の概要のみが記載されており、2-EHA 原液により 10 段階中グレード 1 の角膜損傷が検出されたことが記されている（純度に関するデータなし；グレード 1 はせいぜい被験物質 0.5 mL のウサギ眼への点眼による非常に小範囲の壊死を意味する）（Charpenter et al., 1974）。中等度の結膜刺激はみられたものの、角膜または虹彩に病変がみられなかったため、1964 年の US 連邦官報ガイドラインに従い眼刺激性試験を実施した。0.1 mL の 2-EHA（純度データなし）をウサギ 6 例の眼に点眼すると結膜のわずかまたは明らかな充血が認められ、一例としてわずかな腫脹が認められた（24、48、および 72 時間後のスコアが存在することは記載されているがこれらのスコアに関する情報は入手されていない）。観察期間は言及されていない。いずれの動物においても、角膜または虹彩の病変は確認されなかった。1964 年の US 規制により陽性と考えられる反応を示したウサギは 1/6 例のみであったため、試験結果は陰性とみなされた（Consultox Laboratories, 未発表報告, 1980）。

気道刺激性評価に関する標準的試験法は存在しない。したがって、現行の EU 規制による 2-EHA の R 37 への分類は特定の気道刺激性試験の結果に基づくものではなく、2-EHA の全般的刺激性を考慮したものである：鼻および眼刺激性は、ラット急性吸入毒性試験で認められている(4.1.2.2 項参照)。2-EHA の局所刺激性は、皮膚および眼の結膜で検出されており、気道一次刺激は、2-EHA の反復吸入により認められる重篤な病変の発生源のひとつである可能性がある（4.1.2.6 項参照）。

4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

利用できるデータはない。

4.1.2.3.3 結論

2-EHA による局所刺激性/腐食性のヒト臨床試験に関する情報は入手されていない。動物試験では、2-EHA はウサギの皮膚に重篤な病変を引き起こし、重度の刺激性および腐食性の境界に位置づけられると評価されている。したがって、2001 年に BASF AG は、新 EU 試験ガイドライン B.40（皮膚腐食性）に従い、Draize 皮膚刺激性試験の代替法を実施した。この代替試験法は、刺激性および腐食性の識別のために開発されている。新しい試験の結果から 2-EHA はこの試験において腐食性を示さないことが証明され、これにより、2-EHA が現行では刺激性物質に分類され、「R 38、皮膚に対し刺激性」と表示されることが確認された。

既存の眼刺激性試験のほとんどは記述が不十分である。国際的ガイドラインに従い実施された唯一の試験では、2-EHA は軽度の眼刺激性を引き起こし、24、48 および 72 時間の観察時の平均スコアはそれぞれ、角膜 0、0、0.3、虹彩 0、0、0.3、結膜発赤 0.3、0、0.3、結膜浮腫 0、0、0.3 であった。すべての刺激性の徴候は、可逆性で 3 日以内に回復した（Koch et al., 1985）。

本試験に基づき、2-EHA の眼刺激性は R 36 の表示を必要とするものではない。

気道刺激性評価に関する標準的試験法は存在しない。したがって、現行の EU 規制による 2-EHA の「R 37、気道に対し刺激性」への分類は、特定の気道刺激性試験の結果に基づくものではなく、2-EHA の全般的刺激性（ラット急性吸入毒性試験で認められた鼻および眼刺激性、ウサギにおける皮膚の重度局所刺激性および結膜の中等度刺激性；2-EHA の反復吸入により認められた重篤な病変も気道一次刺激により惹起される可能性がある）を考慮したものである。R 37 の表示はリスク評価報告書で言及されているそれぞれのデータすべてに基づき確認されている。

4.1.2.4 腐食性

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物における試験

モルモットを用いた各種試験において、2-EHA は、アジュバントの存在下および非存在下において感作性であることが証明された。

試験群および対照群各 10 例の動物を用いたフロイントアジュバント試験（FCA 試験）において、2-EHA は強い感作性を示した。試験は、刈毛したモルモット背面皮膚に 2-EHA の 0.1% 水性懸濁液を週 3 日、3 週間にわたり注射または塗布により実施した。誘発は、2-EHA の 0.1% 水性懸濁液の最終誘発投与の 10 日後に実施した。局所塗布により 10/10 例、皮内注射では 24 時間後に 5~7/10 例、48 時間後に 5/10 例が反応を示した。投与動物に、強度の発赤および浮腫が認められた（Hunter et al., 1966）。

2 回目の FCA 試験においても強い感作性が報告された。無処置モルモットに FCA および 3% または 9% の濃度の 2-EHA を皮内注射により連続 3 回、試験 0、5、および 9 日に投与した。試験 21 日から 49 日までは、0.025 mL の 2-EHA（約 18%）を刈毛した側腹部皮膚に 2 週間ごとに非閉塞塗布を実施し誘発した。いずれの誘発濃度においても、モルモットの 2-EHA に対する感作性が証明された。2-EHA の誘発濃度 3% で最大 13/16 例、誘発濃度 9% で最大 11/16 例の投与動物が陽性反応を示した。陽性皮膚反応は、77 日目の再誘発後 105 日目まで認められた。試験 21 日に誘発溶液を初回経皮投与した投与動物のうち、10 例中 3 例は試験 35 日という早期に、10 例中 1 例で試験 49 日に反応が認められた。2-EHA に感作させた動物における交差反応は、アクリル酸エチルで 3/8 例、n-アクリル酸ブチルで 7/8 例、およびアクリル酸ヘキシルで 2/8 例に認められた。tert-アクリル酸ブチル、メタクリル酸メチルまたはメタクリル酸ヘキシルについては交差反応が認められなかった（Waegemaekers and van der Walle, 1983）。

モルモットの 2-EHA の感作性は、Polak 法により証明された。フロイント完全アジュバント（FCA）のエタノール：生理食塩水（1：4）中 2 mg/mL の 2-EHA を含有する乳剤 0.1 mL を、モルモット（6 例/群）に 4 回の足蹠注射により投与した。誘発には、0.02 mL のアセトン：オリーブ油（4：1）中 2-EHA 溶液の誘発投与の 7 日後に結果を見た。動物は、0.2% および 0.8% 2-EHA の最終投与後 7 日にはすでに陽性皮膚反応を示した（Parker and Turk, 1983）。

動物における 2-EHA の呼吸器感作性誘発に関する入手可能な情報はない。

4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

7 名の男性ボランティアにおいて、アクリル系接着剤に対するアレルギー性接触皮膚炎が認められた。全被験者が 2-EHA に対し強陽性を示し、3 名の被験者は N-tert-ブチルマレアミド酸にも強陽性を示した。試験濃度はオリーブ油中 5% およびワセリン中 1% の N-tert-ブチルマレアミド酸とした（Jordan, 1975）。

51 歳技師が、金属製造において嫌気性シール剤として使用した製品との接触後に手湿疹を発症した。陽性反応は主成分であるポリエチレングリコールジメタクリレートで認められたが、他の数種のアクリル酸およびエチルヘキシルアクリレート等のメタクリル酸でも認められた。試験濃度はエタノール中 0.5%であった (Senff et al., 1992)。

印刷工場で UV 硬化インクを扱う作業を行った 4 名が皮膚炎を発症した。多機能アクリル酸モノマーのパッチテストでは、2 名の患者において、エチルヘキシルアクリレートを含む各種アクリル酸の陽性反応が認められた (Björkner and Dahlquist, 1979)。

患者 6 名が、テープまたは接着剤への暴露により各種アクリル酸に対する接触皮膚炎を発症した。すべての患者が、各種アクリル酸に陽性反応を示した。これらの患者のうち 1 名が、手術後に湿疹を発症した。創傷はテープで包帯されており、湿疹は厳密にテープの下に局在していた。パッチテストに対する陽性反応が、2-EHA(ワセリン中 2%)およびその他 2 種のアクリル酸で認められた(Daecke et al., 1994)。

義足の 51 歳男性が、義足の再調節の際、ニスの塗り直しに出した後、切断端部位およびその他の部位で接触過敏症を発症した。彼は、2-EHA (試験濃度：ワセリン中 0.1%) 等多数のアクリル酸 (メタクリル酸) に対し陽性反応を示した (Romaguera et al., 1990)。

1989 年 1 月 1 日から、5 つの異なる工場において 2-EHA 暴露された可能性のある約 900 名の従業員を対象に実施された聞き取り健康調査の評価では、感作性であるアレルギー性接触皮膚炎の症例は認められなかった。この理由は、本物質の危険有害性に基づき、技術的対策および個人用保護具が適用されたためであった (BASF AG, 2001)。

接触皮膚炎の疑いのある患者 13,833 名について 1978~1999 年に検査を行い、31 名の患者がアクリル酸 (メタクリル酸) に対する職業接触アレルギーと診断された。20 の異なるアクリル酸 (メタクリル酸) に対する接触アレルギーが診断された。最も一般的な感作性物質は、ジメタクリル酸エチレングリコール(パッチテスト陽性 17 名)、メタクリル酸 2-ヒドロキシエチル (パッチテスト陽性 14 名) およびジメタクリル酸トリエチレングリコール (パッチテスト陽性 6 名) の 3 種であった。これらの評価に基づき、2-EHA(試験濃度はワセリン中 0.5%) は、重要な職業性接触アレルゲンとして収載されなかった (Geukens and Gossens, 2001)。

呼吸器感作性に関する情報は入手されていない。

4.1.2.5.3 結論

2-EHA の接触感作性は、モルモットを含む各種試験モデルにおいて証明された。2-EHA は、実験動物において中等度の感作性を有すると結論され、また、ヒトにおける感作性も報告されている。呼吸器感作性に関する情報は入手されていない。データにもとづき、2-EHA は、R 43（皮膚接触により感作性を引き起こす可能性あり）に分類される。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 動物における試験

吸入試験

有効な 90 日吸入試験 (BASF, 1989) において、Wistar ラットに 1 日 6 時間、週 5 日、0、10、30 または 100 ppm（投与群については約 0.075、0.225 または 0.750 mg/L）の濃度で 2-EHA 蒸気を全身吸入暴露した（2-EHA 純度 99.7%）。試験は、OECD 413（1981）に従って実施された。試験ガイドラインの現行版と比較し、摂餌量が記録されておらず、肺組織は灌流せず、咽頭喉頭部は検査しなかった点で、有効性が制限される。病理組織学的検査は、高用量および対照群の 31 の器官/組織について実施した。全試験群の全動物の肺、鼻腔、甲状腺および副甲状腺、気管ならびに肝臓を病理組織学的検査に供した。

投与に関連した早期死亡はみられなかった。暴露期間中、高用量および中用量群で嗜眠および眼瞼下垂が認められた。体重増加量は、高用量群の雌雄で、試験中および試験終了時に低下した。中用量群雌で、体重増加量の一過性の減少が認められた。試験 21 日以降、対照群と比較し高用量群雄で平均体重（絶対値）の低値が認められた。他の試験群では、試験期間中のいずれの時点においても、このパラメータは有意に変化しなかった。高用量群雌で ALAT およびアルカリホスファターゼの活性が上昇した。高用量群の雌雄で、総蛋白、アルブミンおよびグルコース濃度の低値が認められた。蛋白質およびアルブミン値の低下は中用量群の雌雄でも認められた。

肝臓の絶対重量は高用量群雄で減少し、副腎の相対重量は高用量群雌雄で対照群と比較し低値を示した。顕微鏡検査では、高用量および中用量群の雌雄で認められた頭蓋鼻腔の嗅上皮の限局性または拡散性変性以外の病変はみられなかった。100 ppm 群のすべてのラットで、鼻腔前部の嗅粘膜の変性が認められた。中用量群のラットでは、嗅粘膜の変性の発生率が増加したが、重篤度は上昇しなかった。低用量群では、投与に関連した鼻腔の病変は診断されなかった。

嗅上皮の変性の特徴は、細胞層の減少、嗅小胞および微絨毛等の先端細胞質構造の減少または消失、ならびに壊死であった。残存する嗅粘膜細胞の特定は不可能であった。時折、有糸分裂が認められた。

詳細としては、嗅粘膜の変性が、高用量群全例および中用量群雌雄各 4 例の鼻甲介前部で診断された（レベル 1）。高用量では、変性が背側および背外側部位の嗅粘膜に拡散性に影響を及ぼし、重篤度は主として中等度であった。中用量群の動物で、小範囲の背外側嗅粘膜の変性が軽微な重篤度で認められた。鼻甲介のレベル 2 では、高用量群の全例、中用量群雄 1 例、低用量群雌 2 例および雌 1 例、対照群雄 1 例で変性が診断された。高用量群では変性は背側および背外側に拡散していたが、他の群では変性は限局性であった。重篤度は、高用量群で軽微から顕著、その他の群では主に軽微であった。レベル 3 の嗅粘膜のわずかな変性は、高用量群の雌雄各 1 例で診断されたのみであった。2-EHA による気管および肺の病変の誘発はみられなかった。咽頭/喉頭のデータは入手されていない。

Table 4.7 2-EHA induced olfactory degeneration in rats from a 90-day inhalation study (BASF, 1989)

	Dose group	Control		10 ppm		30 ppm		100 ppm	
	Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Nasal cavity	Level 1 (anterior)					4	4	10	10
	Mean severity grade					1	1	2.9	3.1
	Level 2	1		2	1	1		10	10
	Mean severity grade	1		1	1	2		2.9	2.5
	Level 3							1	1
	Mean severity grade							2	2

Grading used 1 = minimal, 2 = slight, 3 = moderate, 4 = marked; M = male, F = female

気道外では、肝臓で投与に関連した顕微鏡的病変が認められた。全投与群および対照群のラットで脂肪の変化（栄養の十分なラットでよくみられる低および中等度の重篤度）が認められた。高用量群雄では、他の群および対照群と比較し脂肪の変化の重篤度が低かった。肝葉の門脈周囲領域における脂質蓄積の平均重篤度は、対照群雄の 2.6 から高濃度群雄では 1.0 に減少し、高濃度群雌でも軽微な変化も認められた（対照群の 1.6 に対し 1.0）。電子顕微鏡検査において、明らかなペルオキシソーム増殖の徴候はみられなかった。

低用量群では、明らかな投与関連影響はみられなかった。

体重増加量抑制、蛋白質代謝パラメータの低下、血清中グルコース濃度の低下および肝細胞における脂質蓄積の減少は、暴露動物の気道における刺激性作用の結果生じた可能性のある摂餌量の低下により引き起こされたと考えられた。同様の所見が、アクリル酸の反復投与吸入試験で報告された (BASF, 1987)。この試験には、この仮説を検証する摂餌量測定は含まれなかったが、上記の作用は関連する毒性作用を示すものではないと考えられた。高用量群では、トランスアミナーゼおよびアルカリホスファターゼ活性の上昇による軽微な肝損傷が示された。この作用が、毒性学的意義のある唯一の全身性作用であると考えられた。結論として、気道への局所作用に関する NOAEC は 10 ppm と考えられた一方、全身毒性作用に関する NOAEC は 30 ppm であった。

初期の吸入試験 (Gage, 1970) では、飽和 2-EHA 蒸気 (1 mg/L、130 ppm) に 13 日間 (6 時間/日) 暴露した雌雄 2 例のマウスにおいて初期体重減少、嗜眠およびわずかな呼吸困難が認められた。血液および尿検査、ならびに剖検において異常はみられなかった。その他の詳細は入手されなかった。

経皮試験

マウス 2 系統の 3 カ月間皮膚塗布による 2-EHA の皮膚への影響に関する記録が不十分な試験において、皮膚刺激性は NMRI マウスよりも C3H マウスで重度であることが示された (BASF, 1986)。雄 C3H マウス 10 例および雄 NMRI マウス 5 例の刈毛した背面皮膚に 25 μ L の 2-EHA 溶液 (アセトン中 86.5% 2-EHA) を週 3 日塗布し (マウス体重 20 g として約 1,081 mg/kg 体重/日)、対照群として、アセトン中 21% 2-EHA 溶液 (約 262 mg/kg 体重/日) を NMRI マウス 5 例に、アセトンを雄 NMRI マウス 10 例に塗布した。臨床症状、死亡率および体重を記録した。肉眼的な皮膚への影響は、全 C3H マウスおよび他のすべての群の NMRI マウス 5 例で認められた。病理組織学的検査は、各群 5 例の塗布部位および肉眼的異常の認められた組織に限定して実施された。

C3H マウス 10/10 例の痂皮形成および NMRI マウス 2/5 例の発赤以外に、2-EHA 濃度 86.5% の塗布部位に臨床的異常はみられなかった。2-EHA 濃度 86.5% により、C3H マウス数例で表皮過形成が認められたが、NMRI 系ではみられなかった。この濃度では、いずれの系統においても皮下組織の凝縮が認められた。21% 2-EHA を塗布した NMRI マウスおよび溶媒対照群のマウスのいずれにおいても、臨床的または顕微鏡的病変は認められなかった。皮膚の局所作用に関し、NOAEL であるアセトン中 21% 2-EHA 含有溶液 25 μ L (262 mg/kg 体重/日) を週 3 日、3 カ月間、NMRI マウスに塗布した。この試験から全身性の NOAEL に関する結論を下すことはできない。

慢性の刺激性皮膚損傷ががん原性試験でアセトン中 2-EHA を毎週刈毛した肩甲骨間領域に皮膚塗布されたマウスで認められた (Wenzel-Hartung et al., 1989 ; Brune and Deutsch-Wenzel, 1986、4.1.2.8 項および **Table 4.16** 参照)。塗布領域のサイズに関するデータの報告はなく、全体表面積の 10% を初期設定条件とした。各群 C3H/HeJ マウス 80 例に 25 μ L の 2.5%、21% および 86.5% 2-EHA 溶液 (1,081、262 または 31 mg/kg/投与日に相当、計算基準：試験開始時体重 20 g) を 3 回/週、生涯にわたって投与するか、対照群 (非投与対照および溶媒群) として試験に供した。追加群には 43% 溶液を 24 週間投与し、死亡時 (試験中止) まで観察した。最初の数週間から、落屑、または痂皮化が全用量群で認められた。2.5% を投与した動物で観察された病変には、投与の 4~5 週間後に退縮の傾向が認められた。43% 2-EHA 溶液の投与終了後 7 週間以内に皮膚病変の退縮が認められたのに対し、21% および 86.5% 群では更なる皮膚病変が発症した。試験終了時、塗布部位に組織学的所見が認められた動物数は以下の通りである：

経口投与による反復投与試験は実施されていない。

Table 4.8 Skin examinations of different groups of mice treated with a solution of 2-EHA

	2-EHA-dose					
	86.5%	43%*	21%	2.5%	Acetone control	Untreated control
Hyperplasia grade 1	35	5	21	6	-	-
Hyperplasia grade 2	23	1	25	-	-	-
Hyperplasia grade 3	6	-	6	-	-	-
Hyperkeratosis	66	4	54	7	1	-
Scabbing	23	5	41	11	1	-
Thickened subcutis	68	37	56	79	-	-
Pigmentation in subcutis	72	10	54	42	-	-

* Stop-test;
Grading used: 1 mild, 2 moderate, 3 severe.

4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

利用できるデータはない。

その他の情報

>30 ppm (0.225 mg/L) の用量で吸入反復投与した場合の 2-EHA の毒性作用は、>75 ppm (0.221 mg/L) の用量で実施した 90 日間吸入試験におけるアクリル酸の作用と同程度であった。追加情報についてはアクリル酸についてのリスク評価報告書を参照のこと。

無毒性量 (NOAEL)

気道への局所作用に関する NOAEC

10 ppm (0.075 mg/L) 、90 日間吸入、ラット (BASF, 1989)

全身毒性作用に関する NOAEC

30 ppm (0.225 mg/L) 、90 日間吸入、ラット (BASF, 1989)

皮膚局所作用に関する LOAEL

2-EHA 溶液 25 μ L (アセトン中 2.5% 2-EHA) (31 mg/kg 体重/日) 、経皮投与による生涯試験 (3 日/週) 、マウス (Wenzel-Hartung, 1989)

4.1.2.6.3 結論

ラットの 2-EHA 90 日間吸入暴露による関連した毒性作用として、用量関連性の嗅上皮変性の増加が 30 ppm (0.225 mg/L) 以上の濃度で認められた。気道への局所作用に関する NOAEC は 10 ppm (0.075 mg/L) であった。30 ppm 以上の濃度で 2-EHA 暴露された動物において、暴露期間中の健康状態不良 (嗜眠、眼瞼下垂) および体重増加抑制が認められたが、内臓への毒性作用は確認されなかった (全身作用に関する NOAEC) 。100 ppm (0.75 mg/L) の濃度では、肝酵素活性の上昇により軽微な肝損傷が示された。有効な経皮または経口投与による試験は入手されていない。がん試験および記録が不十分な経皮塗布による亜慢性試験から、2-EHA が \geq 2.5% (LOAEL) の濃度で皮膚刺激性を引き起こすことが明らかにされた。

4.1.2.7 変異原性

In vitro 試験

細菌系

2つの細菌を用いる遺伝子突然変異試験では、*Salmonella typhimurium* 菌株 TA 98、TA 100、TA 1535 および TA 1537 について、S-9 mix 存在下および非存在下のいずれにおいても 10,000 µg/plate までの用量で陰性であった (Scribner and O'Neill, 1979 ; Zeiger et al., 1985)。

Table 4.9 Mutagenicity-*In vitro* tests: bacterial systems

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix			
Salm. Typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537	up to 5 µl/plate	up to 5 µl/plate	neg		Scribner and O'Neill, 1979
Salm. Typh. TA98, TA100, TA1535, TA1537	up to 10,000 g/plate	up to 10,000 µg/plate	neg	rat and hamster liver S-9 mix	Zeiger et al., 1985

In vitro 試験

染色体異常および小核試験

Dearfield らは、マウスリンパ腫細胞において、染色体の構造異常と小核とを並行して検討した (1989)。S-9 mix 非存在下のみにおいて、20、25、31 および 34 µg/mL の用量の 2-EHA で 4 時間処理した。すべての処理用量で強い細胞毒性が認められた (相対生存率はそれぞれ 27%、16%、12% および 12%)。

染色体異常分析では、処理後の細胞を BrdUrd に暴露し、処理開始後 14~15 時間に標本作製を行った。これは分析用に最初の有糸分裂の選択を可能にするためであったが、遺伝毒性物質である BrdUrd との併用処理はガイドラインでは推奨されておらず、所見の解釈を困難にするものである。各実験群につき、わずか 100 の有糸分裂を分析したのみであった。処理群における異常頻度は 5%~9% であった (陰性対照、4%)。様々な方法の不備を考慮すると、これらの所見は不確定と評価される。

小核分析では、細胞は処理後にサイトカラシン B (3 µg/mL) に暴露した。標本作製は処理開始後 16~17 時間に行い、各実験群につき 1,000 個の細胞を分析した。小核頻度は陰性対照で 1.2%、処理群では 0.8%~1.1% であり、結果は陰性であった。

結論として、2-EHA の染色体異常誘発能を示す妥当な証拠はないが、完全に信頼できる知見がない。

Table 4.10 Mutagenicity-*In vitro* tests: chromosomal aberrations and micronuclei

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
chrom. Ab. in mouse lymphoma cells		20-34 µg/ml	inconcl	strong toxicity at all tested doses	various methodological insufficiencies	Dearfield et al., 1989
Micronuclei in mouse lymphoma cells		20-34 µg/ml	negative	strong toxicity at all tested doses		Dearfield et al., 1989

In vitro 試験

哺乳類細胞を用いる遺伝子突然変異試験

マウスリンフォーマ試験および CHO 細胞を用いた HPRT 試験が、各々2件実施された。

Cifone および Myhr (1984) は、毒性を示す用量で弱陽性を示したマウスリンフォーマ試験について報告した。15.6~150 nL/mL (Aroclor 誘導ラット肝由来 S-9 mix 存在下) または 1.95~60 nL/mL (S-9 mix 非存在下) の用量で4時間処理により検討を行った。作用は、S-9 mix 存在下でわずかに顕著であった。ここで2回の実験のデータを統合すると、70~150 nL/mL の用量で突然変異頻度が2倍以上となった。増加量は2.2~4.6倍で、それは中等度~強度の細胞毒性が伴っていた(相対増殖率は4.8%~54.6%で、明瞭な用量依存性は認められない)。

S-9 mix 非存在下における3回の実験のデータを統合すると、15.6~60 nL/mL の用量で突然変異頻度の2倍以上の増加が認められ、最大増加量は高用量群における2.9倍であったが、相対生存率はわずか8.5%であった。

Dearfield らは、S-9 mix 非存在下で4時間処理した別のマウスリンフォーマ試験について報告した(1989)。強い細胞毒性を伴う高用量において、弱陽性作用が認められた。30、31、32、33 および 34 nL/mL の用量を、3回の独立した実験で検討した。統合データによると、突然変異頻度は1.6~1.9倍増加したが用量-作用関係はみられず、相対生存率は11%~20.3%であった。

CHO 細胞における HPRT 突然変異の誘発については2試験で検討された。

Slesinski ら (1980) によると、S-9 mix の存在下または非存在下のいずれにおいても5時間処理により2-EHA は HPRT 突然変異を誘発しない。0.0000313~0.0005% (v/v ; S-9 mix 存

在下) または 0.0000625~0.001% (S-9 mix 非存在下) の用量が用いられた。最大用量は 5 および 10 nL/mL に相当する。軽微な毒性が認められたのみであった。

2 番目の検討では、S-9 mix 非存在下において、細胞を 5~80 µg/mL (単層試験) または 14~26 µg/mL (懸濁試験) の用量で処理した (Moore et al., 1991)。懸濁試験では、極度の毒性までの全試験用量で明らかな陰性結果が得られた一方、単層試験で突然変異頻度の散発的な増加が認められた。最初の実験では、35~40 µg/mL の用量で弱い作用が認められ、その結果相対生存率は 20% 未満であった。2 番目の実験では、60 および 70 µg/mL の用量で突然変異頻度の増加が認められ、毒性は中等度であった (相対生存率 33%)。高用量の 75 および 80 µg/mL では陰性の結果が認められた (相対生存率はそれぞれ 40% および 7%)。

結論として、2-EHA が哺乳類細胞において遺伝子突然変異を誘発する可能性は低いと思われる。遺伝的影響は強い細胞毒性が認められた用量に限定されていたため、*in vivo* ではおそらく発現しないであろう。

Table 4.11 Mutagenicity-*In vitro* tests: mammalian cell gene mutations

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix				
Mouse lymphoma assay	15.6-150 nl/ml	1.96-60 nl/ml	weakly positive	strong toxicity at high doses	genetic effects were limited to doses with strong cytotoxicity	Cifone and Myhr, 1984
Mouse lymphoma assay		30-24 nl/ml	weakly positive	strong toxicity at all doses	genetic effects were limited to doses with strong cytotoxicity	Dearfield et al., 1989
HPRT test with CHO cells	up to 5 nl/ml	up to 10 nl/ml	negative	minor toxicity		Slesinski et al., 1980
HPRT test with CHO cells		5-80 µg/ml	weakly positive	strong toxicity at high doses	negative in a suspension assay; weakly positive in a monolayer assay for cytotoxic doses	Moore et al., 1991

In vitro 試験

哺乳類細胞指標試験

Slesinski ら (1980) は、CHO 細胞の SCE 試験における S-9 mix 存在下 2 時間処理による弱陽性作用について報告した；S-9 mix 非存在下では、5 時間処理により陰性所見が報告された。検討された用量範囲は 0.000031~0.001% (v/v；0.31~10 nL/mL) であった。重大な方法の不備により、これらの結果は信頼性に欠ける (細胞あたり 13~18 回の SCE と陰性対照

群における極めて高い‘自然’SCE 頻度；単回実験で分析細胞数は用量あたり 15 個のみであった）。

初代ラット肝細胞の不定期 DNA 合成（UDS）試験は、極めて感度が低いことが知られている“液体シンチレーション計測”法を用いて実施された（Slesinski et al., 1980）。実験は 1 回のみ実施した。この試験における結果は、0.001 %（10 nL/mL）までの用量で陰性であった。

結論として、哺乳類細胞指標試験のデータから妥当な追加情報は得られない。

Table 4.12 Mutagenicity-*In vitro* tests: Mammalian cell indicator tests

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference
	With S-9 mix	Without S-9 mix			
SCE test with CHO cells	0.31-10 n/ml	0.31-10 n/ml	weakly positive	weak effects with S-9 mix; severe methodological insufficiencies	Slesinski et al., 1980
UDS test with rat hepatocytes		up to 10 n/ml	negative	insensitive LSC methodology	Slesinski et al., 1980

In vivo 試験

骨髄染色体異常試験

In vivo 染色体異常誘発性を、雄の Charles River CD-1 マウス骨髄細胞において検討した（Sames et al., 1984）。2,500mg/kg 体重の用量で単回または連続 5 日間反復経口投与し、毒性症状が認められた。サンプリングは単回投与後 6 時間、24 時間および 48 時間、ならびに反復の最終投与後 6 時間とした。投与群は各群 5 例とした。単回投与後 24 時間のサンプリングにおける異常頻度は 2.2% であり、同時陰性対照群との間に統計学的有意差が認められたが、背景陰性対照との間にはみられなかった。この群では分析された分裂中期細胞が 272 個のみであったため、この所見から 生物学的意義のある結論を下すことはできなかった。さらに、72 例中 24 例の動物において分析された細胞が 50 個未満であったことが試験全体に悪影響を及ぼしていることから、重要な方法上の問題が指摘される。したがって、全体的な結果は不確定である。

Table 4.13 Mutagenicity-*In vivo* tests: bone marrow test

Test system	Doses	Expos. regimen	Sampl. Times	Result	Local cyto-tox.	General toxi-city	Remarks	Reference
chrom. ab. test with mice	2,500 mg/kg	a) acute; b) 5 daily administrations	a) 6, 24, 48 hours b) 6 hours after last administration.	inconcl	no	yes	severe methodological problems	Sames et al., 1984

2-EHA 分解産物に関する遺伝毒性データ

アクリル酸 (CAS 番号: 79-10-7) は、細菌を用いる突然変異試験 (Cameron et al., 1991 ; Zeiger et al., 1987 ; BASF, 1977) および HPRT 哺乳類細胞を用いる遺伝子突然変異試験 (McCarthy et al., 1992) において陰性であった。哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (McCarthy et al., 1992 ; Moore et al., 1988 ; Ishidate, 1988) およびマウスリンフォーマ試験 (染色体異常誘発能を示す小コロニーの優先的誘発 ; Cameron et al., 1991 ; Moore et al., 1988) では陽性作用が認められた。 *In vivo* では、マウス骨髄細胞の染色体の構造異常およびマウスの優性致死試験で陰性結果が報告された。 (McCarthy et al., 1992) 。

2-エチルヘキサノール (CAS 番号 104-76-7) は、細菌および哺乳類細胞試験 (Kirby et al., 1983) および *in vivo* 骨髄細胞遺伝学的試験 (Putman et al., 1983) において陰性であった。

Table 4.14 Mutagenicity-OVERVIEW ON FINDINGS

Negative effects	Inconclusive	Positive effects
<i>In vitro</i> tests		
Bacterial mutations	chromosomal aberrations	
micronuclei	gene mutations in mammalian cells at cytotoxic doses	
	SCE, UDS	
<i>In vivo</i> tests		
	chromosomal aberrations	

4.1.2.7.1 結論

2-EHA は細菌を用いる突然変異試験で陰性を示す。哺乳類細胞のデータに染色体異常誘発能について妥当な証拠はなく、十分に信頼できる試験がない。2-EHA は、哺乳類細胞における遺伝子突然変異を誘発する可能性が低いと思われる。本作用は強い細胞毒性が認められた用量に限定されるため、*in vivo* では発現しない可能性が非常に高い。哺乳類細胞指標試

験のデータは、妥当な情報を追加するものではない。*In vivo* 細胞遺伝学的試験は不確定である（陽性または陰性のいずれでもない）。すなわち重大な方法の不備のため、この試験を評価目的で使用することはできない。2-EHA の分解産物は *in vivo* 変異原性試験において陰性を示した。

十分に信頼できる *in vitro* 染色体異常試験を欠いているため、遺伝毒性試験の最低条件が満たされていないと主張される可能性がある。しかし、各種試験系から入手可能な試験数ならびに 2-EHA 分解産物である 2-エチルヘキサノールおよびアクリル酸に関する陰性データで十分に代用可能と考えられる。これらすべてのデータから、2-EHA が *in vivo* 変異原物質である可能性を示す妥当な証拠はない。

4.1.2.8 がん原性

マウスの皮膚がん原性試験については Table 4.16 に要約しているが、経口または吸入経路によるがん原性試験は実施されていない。

初期に実施された生涯皮膚がん原性試験（DePass et al., 1985 ; DePass, 1982 ; Peterson, 1979 ; Slesinski et al., 1980）では、雄 C3H/HeJ マウス 40 例に週 3 回、アセトンによる 2-EHA（75% w/v）希釈液を 1 回あたり 2-EHA の平均用量 20 µg(約 750 mg/kg 体重/日)で塗布した。投与された雄 40 例中 6 例が腫瘍性皮膚病変を発症した。雄 4 例で扁平上皮乳頭腫、他 2 例で扁平上皮癌が認められた。溶媒対照群 40 例中 1 例が、眼周辺の皮膚癌を発症した。著者らは、2-EHA は C3H マウスにおいてがん原性を有すると結論した。

試験法に問題があるため信頼性が低い。雄 40 例のみについて、皮膚および内臓の肉眼的病変のみを組織学的に検査した。数例の腫瘍が肉眼的に認められ、そのほとんどが組織学的に検査された。Peterson (1979) の報告によると、検査した 19 の腎臓のうち、13 個に数例の慢性腎炎が、また数例で化膿性壊死性腎炎が認められた。1 年間の投与期間後に生存率は減少した（75%）。最初の皮膚腫瘍は投与 11 カ月で認められた。18 カ月時で生存が認められたのは雄 15/40 例のみであり、24 カ月時では生存動物はいなかった。皮膚腫瘍は、合計 6/40 例のマウスで認められたため、早期死亡の原因は依然不明である。さらに、投与による皮膚刺激性作用についてのデータはなく、皮膚の病理組織学的検査は、雄 7 例のみについて報告された。非皮膚組織における腫瘍は投与群および対照群で同程度であることが報告されたが、内臓における腫瘍データは不十分であった。

上記試験の予備的試験所見を確認するため、同じ系統、性および 2-EHA 濃度による追加試験を、2 用量群を追加して検討した（Wenzel-Hartung, 1989; Brune and Deutsch-Wenzel, 1986）。

本がん原性試験では、25 μ L の 2-EHA (アセトン中 86.5%、21%、または 2.5% 溶液、約 1,081、262、31 mg/kg 体重/日) を、雄 C3H/HeJ マウス (80 例/群) の刈毛した背面皮膚に週 3 回、生涯にわたって塗布した。別の群には 43% 2-EHA 溶液を 24 週間投与し、その後死亡時 (試験終了) まで観察を行った。非投与群およびアセトン群を対照群とした。体重、臨床症状および皮膚刺激性を記録した。肉眼的病変および背面皮膚は固定した。塗布部位の皮膚組織についてのみ組織学的検査を行った。体重は全用量群で増加し、生存期間は対照群と同程度であった。皮膚刺激性を示す投与に関連した落屑および痂皮形成が全 2-EHA 群で、最初の数週間の投与後に認められた。皮下組織は肥厚し、色素沈着も認められた。皮膚の過角化、過形成および痂皮化が 86.5% および 21% 用量群で認められ、低い発生率ながら 43% および 2.5% 用量群でも認められた。認められた皮膚の変化は 2.5% 群では可逆的であり、投与 11 週後に回復し、43% 群では投与終了直後に試験を終了した。86.5% および 21% 試験群のみで皮膚乳頭腫が認められ、大部分の動物で用量依存性のない角化扁平上皮癌、黒色腫および線維肉腫が認められた。対照群、2.5% 2-EHA の生涯投与した群、43% 2-EHA の約 6 カ月投与による生涯観察群において、皮膚腫瘍は認められなかった。投与に関係なく、各投与群および対照群の半数以上のマウスに肝腫瘍が認められた。他の器官の広範囲にわたる組織学的検査は行わなかった。著者らは、刺激性皮膚病変は腫瘍形成の前兆であったと結論した。この生涯皮膚試験から、皮膚における局所非腫瘍性作用に関する LOAEL は、アセトン中 2.5% 2-EHA 濃度で 2-EHA 溶液 25 μ L (31 mg/kg 体重/日) とされた。動物における皮膚腫瘍の発現頻度は以下の通りである：

Table 4.15 Incidences for skin tumours in animals

Number of animals with skin tumours	2-EHA-dose					
	86.5%	43%*	21%	2.5%	Acetone control	Untreated control
Tumours						
Papilloma	8	-	4	-	-	-
Papilloma with strong cornification	2	-	1	-	-	-
Cutaneous horn	2	-	1	-	-	-
Haemangioma	1	-		-	-	-
Basal cell carcinoma		-	1	-	-	-
Corinified squamous-cell carcinoma	16	-	20	-	-	-
Malignant melanoma	9	-	7	-	-	-
Fibrosarcoma	-	-	5	-	-	-

* Stop-test

アセトン中 21.5%、43%、または 85% の 2-EHA (w/w) 希釈液 25 μ L (約 269、538 および 1,063 mg/kg 体重/日) を週 3 回経皮暴露した雄 NMRI マウスについても、2-EHA のがん原性を検討した。試験に供した 80 例中 39~40 例のマウスに、2-EHA 単独、アセトン (溶媒対

照) またはアセトン中 0.015% (w/w) ベンゾ (a) ピレン (陽性対照、本報告では結果は示していない) を最大 24 カ月投与した (BASF, 1992)。各群 2 例の動物を第 13 週に屠殺し、皮膚病変を検査した。各用量および対照群のほぼ半数の動物 (雄 30~39 例) に 7 カ月間、上記の通り投与を行い、2 カ月の処理休止期間後、発がんプロモーターである 12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート (TPA) を 20 週間投与した。その後、試験終了時まで、追加の投与は実施されなかった。病理組織学的データは、全試験動物の投与皮膚部位および各群 5~10 例の非投与皮膚部位について報告された。その他の器官/組織は病理組織学的検査には含まれなかった。

ベンゾ (a) ピレン対照群では早期死亡が認められたが、2-EHA 群では、投与に関連した死亡率への影響はみられなかった。2-EHA またはプロモーターTPA のいずれも、皮膚の影響の他に臨床症状を引き起こさなかった。13 週後および 24 カ月後、すべての 2-EHA 群の皮膚投与部位に、投与に関連した病変が認められた。過角化、過形成、痂皮形成および潰瘍形成等の所見については、重篤度または発生率が 2-EHA 用量に関連して上昇し、他の所見 (リンパ球/マクロファージ浸潤、皮膚線維症) は投与群と関係なく観察された。皮膚の発赤および肥厚、ならびに同様の顕微鏡観察による皮膚病変がプロモーター処理中に報告された。著者らはプロモーターTPA 自体の刺激性作用と結論した。

アセトン群の 6/41 例で、軽度の臨床症状 (過角化、過形成、潰瘍形成またはリンパ球/マクロファージ浸潤) が認められた。

2-EHA を最大 24 カ月投与した動物において、皮膚の腫瘍性病変はみられなかった。2-EHA および TPA プロモーションにより、各投与群 (30、39 および 36 例中) 1 例で扁平上皮乳頭腫が認められた。アセトン群 41 例のうち雄 1 例の非投与の皮膚に扁平上皮乳頭腫が 1 例認められた。

著者らは、これらの腫瘍は TPA の刺激性作用に関連するが、2-EHA 投与と関連したのではないと結論した。2-EHA の皮膚における非腫瘍性の毒性作用に関する LOAEL は、アセトン中 21.5%濃度の 2-EHA 溶液 25 μ L であった (269 mg/kg 体重/日)。

所見から、雄 NMRI マウスの皮膚における 2-EHA のがん原性は示されなかった。

その他の情報

分解産物であるアクリル酸および 2-エチルヘキサノールのがん原性データを追加した。

アクリル酸を被験物質として用いた1つのラット経口試験および2つのマウス経皮試験(現行のがん原性試験プロトコールの要求事項には適合していない)による発がんデータを検討した。

有効ながん原性試験 (BASF AG, 1989 ; Hellwig et al., 1993) において、Wistar ラットに 120、400 または 1,200 ppm (平均被験物質摂取量 9、31、または 88 mg/kg 体重/日) の用量で、アクリル酸 (99%、ヒドロキノン モノメチルエーテル 200 ppm で安定化) を、26 カ月 (雄) または 28 カ月 (雌) 飲水投与した。高用量群の雌雄で認められた摂水量のわずかな減少を除き、対照群と比較し、投与に関連した臨床的、血液学的または病理組織学的変化は認められなかった。アクリル酸投与群で認められた腫瘍の発生率および器官分布に、対照群との差異はみられなかった (Table 4.17)。

皮膚がん原性試験では、投与マウスまたは溶媒対照群において、皮膚および皮下組織の腫瘍は誘発されなかった (企業間アクリル酸研究会、1982 (Table 4.18))。雄 C3H/HeJ マウス 40 例に、アクリル酸をアセトン中 1.0% (v/v) 希釈液として、25 μ L 塗布した。陰性対照群にはアセトンのみを投与した。被験物質を週 3 回、動物の生涯にわたり背部皮膚に塗布した。全投与マウスの背面皮膚および肉眼的病変について、組織学的検査を実施した。投与による死亡率への影響はみられなかった (平均生存期間はアクリル酸群で 515 日、アセトン群で 484 日)。皮膚刺激性の徴候はみられなかった。アクリル酸群の雄 1 例に表皮過形成が認められた。

別の皮膚がん原性試験では、アセトン中 1% (v/v) のアクリル酸 25 または 100 μ L を、2 系統のマウス (C3H/HeN Hsd BR、Hsd:(ICR)BR) に 21 カ月間投与した (3 回/週)。皮膚、一部の内臓、およびすべての異常な肉眼的病変について、組織病理学的検査を実施した。投与に関連した、皮膚刺激性、毒性、臨床症状または皮膚腫瘍の徴候は認められなかった。体重増加量または死亡率に投与関連の影響はみられなかった。100 μ L アクリル酸投与群の雌 C3H マウス 7/50 例で、アセトン対照群と比較しリンパ肉腫発現頻度の有意な増加が認められたが (BAMM, 1990, 1991 ; TSCATS, 1990, 1992a, 1992b)、リンパ肉腫は多くの系統の 18~24 カ月齢のマウスで一般的に認められ (Frith and Wiley, 1981)、投与との関連性は不明であった。

2-エチルヘキサノールは動物におけるペルオキシソーム増殖因子として知られているが、この腫瘍増殖の機序はヒトにとって意義があるとは考えられない。ラットおよびマウスの長期試験の結果 (EPA, 1992a,b)、2-エチルヘキサノールは動物にがん原性を示さなかった。Arneson ら (1995) は、US NTP(National Toxicology Program)が 2-エチルヘキサノールが追加発がん試験の対象物質としたことを報告した。

4.1.2.8.1 要約および結論

2-EHA のがん原性を、異なる系統の雄マウスの刈毛した背面皮膚への塗布試験において検討した。EEC 法 B 32 または B 33 に関する現行の規制勧告に従い実施した試験はなかった。主な問題点は、雄マウスのみでの試験であること、ならびに内臓に対する影響が全くあるいは十分な検討および記録されていなかったため、吸収後のがん原性に関するデータが不完全なことであった。

2-EHA は皮膚刺激性を誘発し、> 21% の 2-EHA 溶液を経皮投与した雄 C3H/HeJ マウスのほぼ半数で、良性および悪性皮膚腫瘍が認められた (Wenzel-Hartung et al., 1989 ; Brune and Deutsch-Wenzel, 1986) 。腫瘍発生率には、21% 群も 86.5% 群も、用量との相関はみられなかった。43% の 2-EHA 投与を第 24 週に中止した追加試験では皮膚腫瘍はみられなかった。被験物質ががん原性であることの証拠の重みは、腫瘍増殖の前駆病変を示すと考えられる皮膚刺激性の発生のみである。刺激性物質に対する反復的な再生または増殖反応は、腫瘍発生と強く関連していると考えられている (Hasegawa et al., 1989) 。非投与皮膚の擦過傷等長期にわたる身体への刺激でさえも、皮膚腫瘍誘発に関与することが証明されている。通常、皮膚がん原性試験は、刺激性作用を誘発しなかった被験物質濃度を使用すべきである。BASF 試験 (1986) では、2.5% の 2-EHA を塗布した低用量群では腫瘍はみられなかったものの、投与 11 週まで一過性の軽度皮膚刺激性が認められた。発がん試験が陽性であったのに反し、アセトン中 21.5%、43% または 85% の 2-EHA を 24 カ月間経皮投与された雄 NMRI マウスにおいて、皮膚刺激性は認められたものの皮膚腫瘍はみられなかった (BASF, 1992) 。

高頻度の皮膚腫瘍は、マウスを用いた別の 2 つの経皮投与試験でも顕著であった。しかし、最初の試験では C3H/HeJ マウスにおいて一用量 (アセトン中 75% の 2-EHA) のみで検討を行い、1 年間の投与期間ですでに原因不明の死亡が顕著に増加した。NMRI マウスの試験において 2-EHA をイニシエーター、TPA をプロモーターとして使用した二段階発がんモデルでは、明らかな腫瘍反応は認められなかった (BASF, 1992) 。C3H/HeJ80 マウスを用いて先に実施した試験が陽性であったのに対し、後者では異なる系統 (NMRI マウス) を使用したことが、本試験における陰性反応に関連している可能性がある。7 カ月の 2-EHA 投与およびプロモーター TPA の追加投与期間後に、各投与群で皮膚腫瘍保有動物 1 例が認められた。2-EHA および TPA は皮膚刺激性を示すことが示された。いずれの試験も、がん原作用の有無を検出するには不適切であると考えられた。

自然発生皮膚腫瘍は、マウスの系統によって多様であることが知られている。BASF の試験 (1992) では、対照動物 41 例中 1 例に、非投与皮膚領域に扁平上皮乳頭腫が認められた。

上記の試験では、対照群の投与および非投与皮膚領域において、他の自然発生皮膚腫瘍は報告されなかった。

2-EHA の加水分解生成物であるアクリル酸の経口（がん原性試験ガイドラインに従った唯一の有効な試験）および経皮投与試験から、がん原性を示す証拠は得られていない。また、2-エチルヘキサノールについても発がんの懸念はない。

結論として、がん原性作用に対し、経口または吸入曝露に関する入手可能なデータはない。

経皮投与によるマウスがん原性試験における所見から、2-EHA は高刺激性濃度において、皮膚腫瘍を誘発することが示された。腫瘍増殖は2-EHA の高刺激性に関連すると結論された。一過性の刺激性が認められた低濃度の 2.5% 2-EHA において、皮膚の腫瘍反応はみられなかった。その他、さまざまなマウスの系統を用いた長期試験では、マウス皮膚の腫瘍誘発は確認されなかった。さらに、アクリル酸および 2-EHA の加水分解生成物である 2-エチルヘキサノールについても腫瘍の懸念はない。

In vivo 遺伝毒性試験の陰性結果を考慮し、2-EHA は非遺伝毒性機序により皮膚腫瘍を誘発すると結論した。刺激性皮膚損傷は、2-EHA のがん原性作用と関係があり、腫瘍原性の推定機序として特定された。被験物質のがん原性を確認する手段としてマウスの皮膚塗布試験の信頼性は不十分であったため、これらの試験から、2-EHA ががん原性を有することが多少懸念されるものの明らかな証拠はない。経皮投与試験のデータが限られており、経口および吸入経路によるがん原性データがないことから、2-EHA のがん原性について結論を下すことはできなかった。しかし、分解産物であるアクリル酸を経口および経皮適用した長期動物試験で陰性結果がえられたこと（EU リスク評価報告のアクリル酸参照）を考慮すると、2-EHA をがん原性物質とみなす理由はない。

Table 4.16 Dermal carcinogenicity studies with 2-Ethylhexylacrylate (2-EHA)

Species/ Strain no. of animals/sex/ group	Exposure time	Treatment schedule	Mortality rate	Skin irritation	Skin hyperplasia	Skin tumours	Tumour response of internal organs	Study design according to the B32/B33 method	Reference
mice/ C3H/HeJ 40 males	life time 3x/week	20 µg of 2-EHA (75% in acetone)	increased	no data	no data	squamous cell papilloma/ carcinoma in 6/40 males	no (no exact data)	no	DePass et al., 1985 DePass, 1982 Peterson, 1979 Slesinski et al., 1980
mice/ C3H/HeJ 80 males/ group	life time 3x/week	25 µl of 2-EHA (2.5, 21, 86.5% in acetone)	∅	yes, 2.5%: symptoms until week 11, other findings see 4.1.2.6	yes	squamous cell papilloma/ carcinoma, melanoma fibrosarcoma in 21% group: 39/80 males 86.5% group 38/80 males	no (no exact data)	no	Wenzel- Hartung et al., 1989 Brune and Deutsch- Wenzel, 1986
mice/ C3H/HeJ 80 males	24 week 3x/week, thereafter observation until death	25 µl of 2-EHA (43% in acetone)	∅	yes, lesions reversible	no	0/80 males	no (no exact data)	no	Wenzel- Hartung et al., 1989 Brune and Deutsch- Wenzel, 1986

Table 4.16 continued overleaf

Table 4.16 continued Dermal carcinogenicity studies with 2-Ethylhexylacrylate (2-EHA)

Species/ Strain no. of animals/sex/ group	Exposure time	Treatment schedule	Mortality rate	Skin irritation	Skin hyperplasia	Skin tumours	Tumour response of internal organs	Study design according to the B32/B33 method	Reference
mice/NMRI 39- 40 males/ group	Life time (max. 24 months)	25 µl of 21.5, 43, 85% 2-EHA in acetone	∅	yes, all doses	yes, all doses	0/39-40 males of each group	no data	no	BASF 1992
mice/NMRI 30- 39 males/ group	Life time 3x/week for 7 months, thereafter treatment*	25 µl of 21.5, 43, 85% 2-EHA in acetone + TPA*)	∅	yes, all doses	yes, all doses	squamous cell papilloma in 21.5%+TPA 1/36 males 43% + TPA 1/39 males 85%+TPA: 1/30 males	no data	no	BASF 1992

* Treatment with the promoter O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) for 20 weeks after a 2 months treatment - free period.

∅ No treatment-related effects on the mortality rate.

Table 4.17 Oral carcinogenicity study on Acrylic acid (AA)

Species/strain no. of animals/ sex/group	Exposure time	Treatment schedule	Mortality rate	Treatment- related tumour response	Study design according to the B32 / B33 method	Reference
rat/ Wistar, 50/sex/ group	26/28 months	120, 400, 1,200 ppm AA in drinking water	∅	no	yes	BASF, 1989

∅ No treatment-related effects on the mortality rate and mean survival time

Table 4.18 Dermal carcinogenicity studies with Acrylic acid (AA)

Species/strain no. of animals/ sex/group	Exposure time	Treatment schedule	Mortality rate	Skin irritation	Skin hyper- plasia	Skin tumours	Tumour response of internal organs	Study design according to the B32 / B33 method	Reference
Mouse/C3H/ HeJ 40males	life time	25 µl AA (1% v/v in acetone)	∅	no	1/40	0/40	no	no	Intercompany Acrylate Study Group, 1982
Mouse/ C3H/ HeN Hsd BR, 50/sex/ group	life time	25 or 100 µl AA (1% v/v in acetone)	∅	no	0/50 for each sex	0/50 for each sex	100µl AA: 7/50 females with lympho sarcoma	no	BAMM, 1990 BAMM, 1991
Mouse/Hsd (ICR)BR 50/sex/ group	life time (86-92 weeks)	25 or 100 µl AA (1% v/v in acetone)	∅	no	0/50 for each sex	0/50 for each sex	no	no	BAMM, 1990 BAMM, 1991

∅ No treatment-related effects on the mortality rate and mean survival time

4.1.2.9 生殖毒性

4.1.2.9.1 動物における試験

受胎能障害

2-EHA について入手可能な世代試験および受胎能試験はない。

生殖器毒性データ（精巣重量、ならびに精巣、精囊、卵巣、および子宮の肉眼的および顕微鏡病理検査に関する情報）は、OECD ガイドライン 413 に準拠した Wistar ラットの 3 カ月吸入試験（2-EHA の 10、30、100 ppm、6 時間/日、10 例/性/用量）から得られる（BASF, 1989）。高用量である 100 ppm（約 0.750 mg/L）に暴露された動物のそれぞれの結果から、雌雄いずれにおいても検査された生殖器官の障害を示す証拠は得られなかった。

発生毒性

経口投与による発生毒性試験は実施されていない。

Sprague-Dawley ラットにおける各種アクリル酸（アクリル酸、アクリル酸メチル、アクリル酸ブチル、アクリル酸ヒドロキシエチル、アクリル酸ヒドロキシプロピル）の相対発生毒性に関する試験の中で、2-EHA について検討した（Saillenfarth et al., 1999）。2-EHA の検討では、各群 23～25 例の母動物に、0、50、75、および 100 ppm（約 0.375、0.563、および 0.750 mg/L）の 2-EHA（純度 99.7%）を含有する空気を妊娠 6～20 日の間暴露した（6 時間/日、全身）。用量設定予備試験（詳細入手不可）から、100 ppm の 2-EHA が、最も信頼性の高い蒸気濃度であることが示された。母動物の摂餌量は妊娠 6～13 日および妊娠 13～21 日の間隔で測定した。母動物の体重は妊娠 0、6、13、および 21 日に記録した。母動物は妊娠

21日に屠殺し、子宮を摘出して重量を測定した。着床痕数、吸収胚数、ならびに死亡および生存胎児数を記録した。肉眼で着床部位が確認されなかった子宮については、亜硫酸アンモニウム（10%）で染色して早期吸収胚を検出した。屠殺時、生存胎児は体重測定および雌雄鑑別を行い、口腔を含む外表異常を検査した。各腹の生存胎児の半数について、体内の軟組織または骨格変化を検査した。

いずれの投与群においても、母動物の死亡はみられなかった。100 ppm 群の母動物の暴露期間中の体重増加量の絶対値は 24 ± 16 g であり、同時比較対照群 (42 ± 11 g) よりも低く、統計学的有意差が認められた。また、100 ppm 群の暴露期間中の摂餌量 (24 ± 3 g/母動物/日) は、同時比較対照群 (27 ± 2 g/母動物/日) と比較しやや低く、統計学的有意差が認められた。2-EHA 暴露群のいずれにおいても、一腹当たりの平均着床数および平均生存胎児数について有害作用はみられなかった。投与群の一腹当たりの着床死亡率 (3.7~6.4%) および胚吸収率 (3.7~6.1%) は同時比較対照群 (いずれも 10.1%) と比較し低値であった。しかし、この所見に毒性学的意義があるとは考えられない。平均胎児体重は投与群でわずかに低かったが、同時比較対照群胎児との間に統計学的に有意差はみられなかった。性比に影響はみられなかった。対照群および 2-EHA 投与群間において、肉眼的異常または内臓/骨格の奇形/変異の発生率に有意差はみられなかった。

要約すると、本試験では最大 100 ppm までの濃度で 2-EHA の胚毒性、催奇形性または胎児毒性はみられなかった。技術的限界のため、より高濃度の暴露については検討されなかった。高暴露濃度における摂餌量のわずかな減少および母動物の体重増加量の低値に基づき、本試験の NOAEC/母体毒性は 75 ppm (約 0.563 mg/L) とされた。母体毒性の徴候が認められた最高試験濃度においても、胚/胎児毒性作用はみられなかった。したがって、本試験における NOAEC/発生毒性は、100 ppm (約 0.750 mg/L) とされた。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

利用できるデータはない。

4.1.2.9.3 結論

2-EHA の生殖毒性に関し入手可能はヒトのデータはない。動物試験における生殖毒性のハザード評価について入手可能なデータベースは、吸入投与による 3 カ月反復投与試験 (ラット) および発生毒性試験 (ラット) である。TGD (第 2 章、3.12 項) によると、これらのデータは、スクリーニングの目的での 2-EHA の生殖毒性検討に十分であると判断される。これまでに入手可能であったスクリーニング情報の評価から 2-EHA の意義のある生殖毒性

EURAR V61: 2-Ethylhexyl acrylate

の証拠は得られていない。最大 100 ppm (約 0.75 mg/L) までの用量では、生殖器官 (器官重量、病理組織学的検査) および胚/胎児発生に対する有害作用は認められていない。