

遺伝毒性試験 評価書(案)

2. 実験動物等における影響

(8) 遺伝毒性試験

① *in vitro* 試験 (ヒト細胞を含む)

アクリルアミドの *in vitro* 試験の結果を表○に示す。

a. 微生物遺伝子突然変異

Salmonella typhimurium (*S. typhimurium*) の複数の菌株又は *Escherichia coli* WP2 *uvrA*-を用いた復帰突然変異試験においては、代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった (Knaap et al. 1988、Tsuda et al. 1993、Zeiger et al. 1987、Bull et al. 1984a)。

b. 微生物 DNA 損傷/修復

代謝活性化の有無にかかわらず、*S. typhimurium* の TA1535/pSK1002 及び OY1002/2E1 を用いた *umu* 試験は陰性であったが (Koyama et al. 2011b)、*Batillus subtilis* を用いた *rec* アッセイでは陽性であった (Tsuda et al. 1993)。

c. 哺乳類細胞遺伝子突然変異

ヒトリンパ芽球株化細胞 (TK6) を用いた遺伝子突然変異試験において、代謝活性化の有無にかかわらず弱陽性反応が示され、ヒト肝臓ミクロソームによる代謝活性化でラット S9 による代謝活性化よりも強い陽性反応が示された。また、ヒト AHH-1 及びヒト h2E1v2 株化細胞を用いた試験では、代謝活性化なしで弱陽性反応が示された (Koyama et al. 2011b)。ヒト前骨髄球性白血病 HL-60 及び NB4 株化細胞を用いた試験において、HPRT 遺伝子座では代謝活性化なしで陽性反応が示された (Ao et al. 2008)。

チャイニーズハムスターV79H3 細胞を用いた試験では、HPRT 遺伝子座では突然変異を誘発しなかったが (Tsuda et al. 1993)、マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK⁺を用いた試験では代謝活性化なしで陽性反応が示された (Mei et al. 2008、Moore et al. 1987)。

d. 哺乳類細胞染色体異常

チャイニーズハムスター細胞を用いた試験において、染色体異常 (Knaap et al. 1988、Tsuda et al. 1993、Oliveila et al. 2009、Martins et al. 2007)、倍数性 (Tsuda et al. 1993、Warr et al. 1990) 及び紡錘体障害 (Adler et al. 1993、Warr et al. 1990) が誘発された。また、小核試験では、ヒト肝細胞癌由来 Hep G2 細胞 (Jiang et al. 2007) 及びヒト TK6 細胞 (Koyama et al. 2011b) で陽性反応が示され、ヒト AHH-1 及びヒト h2E1v2 細胞 (Koyama et al. 2011b) では弱陽性反応、ラット精子細胞 (Lähdetie et al. 1994) では陰性反応が示された。

1 e. 哺乳類細胞姉妹染色分体交換

2 チャイニーズハムスターV79 細胞において、姉妹染色分体交換が誘発された
3 (Knaap et al. 1988、Tsuda et al. 1993、Martins et al. 2007)。

4
5 f. 哺乳類細胞 DNA 損傷/修復及び DNA 付加体形成

6 ヒトHep G2細胞を用いたコメット試験は陽性であり、8-OHdGの増加が認め
7 られた (Jiang et al. 2007)。マウス精巣細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた
8 コメット試験は陰性であった (Hansen et al. 2010)。また、ヒト乳腺上皮細胞
9 を用いた不定期DNA合成試験は陽性であったが、ラットの培養肝細胞を用いた
10 試験では陰性であった (Butterworth et al. 1992)。

11 マウス胚線維芽細胞 (Besaratina and Pfeifer 2004)、ヒト気管支上皮細胞
12 (Besaratinia and Pfeifer 2004) においてDNA付加体が形成されたが、チャイ
13 ニーズハムスターV79細胞 (Martins et al. 2007) 及びヒトTK6細胞 (Koyama et
14 al. 2011b) では弱陽性、マウスリンパ腫細胞L5178Y TK^{+/+} (Mei et al. 2008) で
15 は検出されなかった。

16
17 g. 哺乳類細胞細胞形質転換

18 マウス株化細胞 (C3H/10T1/2、NIH/3T3、BALB/c3T3) 及びシリアンハムス
19 ター胚細胞で細胞形質転換が誘発された (Banerjee and Segal 1986、Park et al.
20 2002、Tsuda et al. 1993)。

21 |
22 <参考>

23 グリシドアミドの *in vitro* 試験においては、アクリルアミドで陰性結果が得ら
24 れた試験においても陽性の結果が示されている。

25 *S.typhimurium*を用いた復帰突然変異試験 (Hashimoto and Tanii 1985) 及
26 びDNA損傷試験 (umu試験) (Koyama et al. 2011b) ではいずれも陽性であり、
27 ヒトTK6細胞 (Koyama et al. 2011b) 及びマウスリンパ腫細胞 (Mei et al. 2008)
28 を用いた遺伝子突然変異試験において陽性であった。

29 チャイニーズハムスターV79細胞を用いた試験において、染色体異常及び姉妹
30 染色分体交換が誘発され (Martins et al. 2007)、ヒトTK6細胞を用いた小核試
31 験においても陽性であった (Koyama et al. 2011b)。

32 マウス精巣細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いたDNA損傷試験 (コメット試
33 験) は陽性であり (Hansen et al. 2010)、チャイニーズハムスター株化細胞で
34 DNA鎖切断が確認された (Johansson et al. 2005)。ヒト乳腺上皮細胞及びラッ
35 トの培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験は陽性であり (Butterworth et al.
36 1992)、チャイニーズハムスターV79細胞 (Martins et al. 2007)、マウスリン
37 パ腫細胞 (Mei et al. 2008) 及びヒトTK6細胞 (Koyama et al. 2011b) におい
38 てDNA付加体が形成された。

1
2 ② *in vivo* 試験

3 アクリルアミドの *in vivo* 試験の結果を表○に示す。
4

5 a. 遺伝子突然変異

6 マウスに腹腔内投与した試験において、リンパ球の TK (thymidine kinase)
7 遺伝子座及び HPRT 遺伝子座 (Von Tungeln et al. 2009)、出生児被毛色遺伝
8 子座 (Neuhaeuser-Klaus and Schmahl 1989) 及び精原細胞 (Ehling and
9 Neuhaeuser-Klaus 1992、Russell et al. 1991) に突然変異の増加がみられたが、
10 トランスジェニック (TG) マウス (Muta マウス) に腹腔内投与した試験では、
11 lac Z 遺伝子座 (Krebs and Favor 1997) に突然変異の増加はみられなかった。
12 TG マウス (Big Blue マウス) に飲水投与した試験においては、リンパ球の HPRT
13 遺伝子座 (Manjanatha et al. 2006)、肝臓、精巣の c II 遺伝子座 (Manjanatha
14 et al. 2006、Wang RS et al. 2010) に突然変異の増加がみられた。また、TG ラッ
15 トに飲水投与した試験において、*gpt delta* ラットでは、精巣の *gpt* 遺伝子座に
16 突然変異の増加がみられたが、肝臓の *gpt* 遺伝子座には増加がみられなかった
17 (Koyama et al. 2011a)。また、Big Blue ラットでは、リンパ球の HPRT 遺伝
18 子座、骨髄及び甲状腺の c II 遺伝子座に突然変異の増加がみられたが、精巣、乳
19 腺及び肝臓の c II 遺伝子座には増加はみられなかった (Mei et al. 2010)。
20

21 b. 染色体異常

22 マウスに腹腔内投与した染色体異常試験においては、精母細胞及び一次分裂受
23 精卵で陽性 (Adler 1990、Pacchierotti et al. 1994、Marchetti et al. 1997)、
24 脾臓で陰性 (Backer et al. 1989、Kligerman et al. 1991)、骨髄及び精原細胞
25 では陽性 (Shiraishi 1978、Adler et al. 1988、Čihák and Vontorková 1988)
26 及び陰性 (Shiraishi 1978、Adler et al. 1988、Backer et al. 1989、Adler 1990)
27 の両方の結果が示された。また、マウスに混餌投与した試験では、精原細胞で陽
28 性、骨髄で陰性の結果が示された (Shiraishi 1978)。ラットに腹腔内投与した
29 試験では骨髄で陰性であった (Krishna and Theiss 1995)。

30 また、マウスの腹腔内投与試験において、骨髄及び精原細胞で倍数性及び異数
31 性 (Shiraishi 1978) が誘発されたが、骨髄での紡錘体障害は誘発されなかった
32 (Adler et al. 1993)。また、マウスに混餌投与した試験でも倍数性及び異数性
33 が誘発された (Shiraishi 1978)。
34

35 マウスに腹腔内投与した小核試験では、骨髄、脾臓、精子細胞で陽性 (Adler et
36 al. 1988、Čihák and Vontorková 1988、1990、Knaap et al. 1988、Backer et al.
37 1989、Kligerman et al. 1991、Collins et al. 1992、Russo et al. 1994)、網状
38 赤血球又は正染色赤血球 (normochromatic erythrocytes) で陽性 (Russo et al.

1 1994、Paulsson et al. 2002、Ghanayem et al. 2005b) 又は陰性 (Von Tungeln
2 et al. 2009) の結果が示された。強制経口投与した試験でも網状赤血球及び正染
3 性赤血球で陽性であり (Zeiger et al. 2009)、飲水投与した試験でも網状赤血球
4 で陽性であった (Manjanatha et al. 2006)。

5 ラットの腹腔内投与試験では、精子細胞で陽性 (Xiao and Tates 1994、
6 Lähdetie et al. 1994)、骨髄では陰性 (Krishna and Theiss 1995、Paulsson et
7 al. 2002) の結果が示された。強制経口投与した試験では骨髄で陽性であった
8 (Yener and Dikmenli 2009)。また、飲水投与した試験では、網状赤血球で陰
9 性 (Mei et al. 2010)、骨髄では陽性及び陰性の両方の結果が示された (Koyama
10 et al. 2011a)。

11 c. 優性致死

12 マウス及びラットに飲水、腹腔内又は皮下投与した優性致死試験において、ど
13 の投与経路においても陽性であった (Sakamoto and Hashimoto 1986、Smith et
14 al. 1986、Zenick et al. 1986、Shelby et al. 1987、Sublet et al. 1989、Ehling and
15 Neuhaeuser-Klaus 1992、Gutierrez-Espeleta et al. 1992、Chapin et al. 1995、
16 Adler et al. 2000、Tyl et al. 2000a、2000b)。

17 d. 遺伝性転座

18 マウスに腹腔内又は皮下投与した試験において、精子細胞又は精母細胞に遺伝
19 性転座がみられた (Shelby et al. 1987、Adler 1990、Adler et al. 1994、2004)。

20 e. 姉妹染色分体交換

21 マウスに腹腔内投与した試験において、精原細胞及び脾臓に姉妹染色分体交換
22 が誘発されたが (Backer et al. 1989、Kligerman et al. 1991、Russo et al. 1994)、
23 骨髄及び精原細胞では陰性の結果が示された (Shiraishi 1978)。

24 f. DNA 損傷/修復及び DNA 付加体形成

25 マウス及びラットに腹腔内、強制経口及び飲水投与した試験において、多くの
26 臓器で DNA 損傷 (Sega and Generoso 1990、Ghanayem et al. 2005b、
27 Dobrzynska 2007、Recio et al. 2010、Koyama et al. 2011a) 及び不定期 DNA
28 合成 (Sega et al. 1990、Butterworth et al. 1992) が誘発されたが、一部で陰性
29 の結果もみられた (Butterworth et al. 1992、Ghanayem et al. 2005b、Recio et
30 al. 2010)。

31 また、マウス及びラットの多くの臓器で DNA 付加体が形成されたが (Sega et
32 al. 1990、Segeberäck et al. 1995、Gamboa da Costa et al. 2003、Doerge et al.
33 2005c、Von Tungeln et al. 2009、Zeiger et al. 2009、Koyama et al. 2011a)、
34 一部で陰性の結果もみられた (Doerge et al. 2005c)。

1
2 g. 非哺乳類遺伝子突然変異

3 ショウジョウバエ幼虫の混餌投与試験において、体細胞突然変異及び組換え
4 (Knaap et al. 1988、Batiste-Alentorn et al. 1991、Tripathy et al. 1991) が誘
5 発され、伴性劣性致死が混餌投与で陽性 (Tripathy et al. 1991)、腹腔内注入で
6 陰性であった (Knaap et al. 1988)。

7
8 <参考>

9 グリシドアミドの *in vivo* 試験においては、アクリルアミドで陰性結果が得ら
10 れた試験においても陽性の結果が示されている。

11 マウスに腹腔内投与した試験において、リンパ球の TK 遺伝子座及び HPRT
12 遺伝子座に突然変異の増加がみられ (Von Tungeln et al. 2009)、TG マウス (Big
13 Blue マウス) に飲水投与した試験においては、リンパ球の HPRT 遺伝子座
14 (Manjanatha et al. 2006)、肝臓及び精巣の cII 遺伝子座に突然変異の増加が
15 みられた (Manjanatha et al. 2006、Wang RS et al. 2010)。また、TG ラット
16 (Big Blue ラット) に飲水投与した試験において、リンパ球の HPRT 遺伝子座、
17 骨髄及び甲状腺の cII 遺伝子座に突然変異の増加がみられたが、精巣、乳腺及び
18 肝臓の cII 遺伝子座には増加はみられなかった (Mei et al. 2010)。マウスに腹
19 腔内投与した小核試験では、網状赤血球及び正染性赤血球で陽性であり (Von
20 Tungeln et al. 2009)、飲水投与した試験では網状赤血球で陽性であった
21 (Manjanatha et al. 2006)。ラットに飲水投与した試験では、網状赤血球で陰
22 性であった (Mei et al. 2010)。

23 マウス及びラットの多くの臓器で DNA 付加体が形成された (Gamboa da
24 Costa et al. 2003、Doerge et al. 2005c、Von Tungeln et al. 2009)。

25
26 ③遺伝毒性試験のまとめ (案)

27 アクリルアミドは、細菌を用いた復帰突然変異試験で陰性であったが、*in vitro*
28 の遺伝子突然変異試験、染色体異常、姉妹染色分体交換、DNA 付加体など多くの
29 試験において、若干例を除き陽性を示した。また、*in vivo* の試験系では、DNA 付
30 加体形成、ラットの優性致死試験、マウスの骨髄細胞や生殖細胞を用いる染色体異
31 常試験及び小核試験、トランスジェニックげっ歯類等を用いた遺伝子突然変異試験
32 など多くの試験で陽性あるいは弱陽性を示した。

33 従って、本専門調査会は、アクリルアミドは遺伝毒性を有すると判断した。