

令和2年度 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

研究課題名：香料等の遺伝毒性・発がん性短・中期包括的試験法の開発と、その標準的安全性評価法の確立に関する研究

分担研究課題名：QSARとAmes試験による香料の遺伝毒性評価に関する研究

研究分担者 本間 正充 国立医薬品食品衛生研究所 副所長
研究分担者 杉山 圭一 国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部 部長
研究協力者 笠松 俊夫 国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

研究要旨

本分担研究の最終年度として、香料の Ames 試験データについて、国衛研変異遺伝部にて新たに実施した試験も含め、データの追加、再評価を行い、406 物質からなる香料 Ames 試験データベースを完成させた。

また香料に特化して開発したローカル QSAR モデル (Star Drop) について、学習データの追加等を行い、バージョンアップさせた。この QSAR モデル (StarDrop NIHS 834_67) の予測精度を、上記の香料 Ames 試験データベースに対して検証したところ、感度 79.5%、特異度 96.4%、正確度 94.6%と、他の商業 QSAR モデル (Derek Nexus 及び CASE Ultra) よりも優れたパフォーマンスを示した。このことは学習アプローチの工夫や対象ケミカルスペースの絞り込みが有効であったと考えられる。偽陽性や偽陰性結果の分析等を通じてさらなる改善を行うことにより、実試験に依らない評価を実現できる可能性が示された。

A. 研究目的

食品に香料として用いられる化学物質は食品の香気成分として存在するもの、もしくはその類似化学物質を指す。主に、炭素、水素、酸素、窒素、硫黄を元素成分とする比較的低分子の化学物質であり、特定の官能基を有するものが多い。日本では食品香料の多くは化学構造分類に従い、18種類に分類されており、現在、全部で約3,100種類の食品香料が包括的に指定されている。また、これとは別に、バニリンなどの使用量が多い

78品目が分離指定されている。一方、米国では2,200品目、欧州では2,700品目の香料が使用されているが、世界で共通に使用されている香料は1,550品目に過ぎない。香料の安全性評価に各国の相違があることに原因の一つがあるが、早期の国際的調和が望まれる。

香料は、一般に数十から数百種類混合して用いられることが多いが、個々の香料の食品への添加量は数pptから数ppmレベルで有り、過剰摂取は考えられないことから、一

般毒性の懸念は少なく、問題となる毒性は変異原性である。変異原性はがんの原因であり、DNAに損傷を与え、突然変異を誘発し、その作用には、閾値がないと考えられている。従って、変異原性のある化学物質の摂取は、それがたとえ微量であっても、発がんリスクはゼロにはならないため厳しい管理が要求される。JECFAでは変異原性を含まないかなる毒性であっても、その曝露レベルがTTC（毒性学的閾値の懸念の閾値）以下であれば安全性に問題ないとしているが、暴露評価が適切に行われていない場合は、変異原性の有無が問題となることが多い。そのため、食品香料の安全性評価のためには適切な変異原性試験の実施が重要である。

細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames試験）は重要な変異原性試験であるが、試験の実施には約2g程度のサンプルが必要である。一方、工業製品としての香料の生産量は極めて少なく、試験が不可能であることも多い。また、香料独特の香気（臭気）から実験室内での試験が困難である場合もある。このため、Ames変異原性をインシリコ手法であるQSARにより評価する方法が注目されている。

これまで本研究班では、日本香料工業会の食品香料化合物データベース2015年版から電子データ化した3,943物質について、代表的な商業QSARモデルを用いてAmes試験結果の予測を行い、変異原性が疑われた物質について実試験を行うことで、QSAR予測の妥当性を検証すると同時に香料のAmes試験データの蓄積を図ってきた。同時に、2012年に小野らが報告した369香料から成るAmes試験データベースの内、未確定（Equivocal）とされた14物質の関連文献の再評価を行い、

専門家的考察により、14物質の再分類を行い、最終的に未確定のままであった4物質を除き、365物質から成るデータベースとして確立した。今年度は新たに追加実施した分も加え、国衛研変異遺伝部が実施した香料のAmes試験結果をまとめ、データを再評価して、小野らの香料Ames試験データベースの更新と堅牢化を図ることとした。

また本研究班では、上記に述べた香料の化学構造的な特徴に着目し、香料に特化したローカルQSARモデル（StarDrop QSARモデル）を開発し、当時の小野データベースのAmes試験結果に対して高い予測性を示したことを報告している。今回、国衛研変異遺伝部にて取得した香料のAmes試験結果を追加学習データとして取り入れ、StarDrop QSARモデルをバージョンアップすると同時に、更新した上記の香料Ames試験データベースに対する予測性能を代表的な商業QSARモデルと比較し、考察することとした。

B. 研究方法

B.1. Ames 試験

Ames 試験は全て外部委託より CRO が実施した。OECD 試験ガイドライ TG471 に準拠し、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames Test）を実施した。本試験はアミノ酸要求性のサルモネラ菌と大腸菌の株を用いて点変異を検出し、被験物質が DNA に影響を与えるか否かの判定する試験である。試験は、「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」（平成 8 年 3 月 22 日付、衛化第 29 号生活衛生局長通知）に準拠し、医薬品医療機器法施行規則第 43 条「申請資料の信頼性の基準」に基づいて実施した。

B.2 香料 Ames 試験データベース

既に述べたように、2012年に小野らが報告 (Food and Chemical Toxicology 50, 1538-1546, 2012) した 369 香料から成る Ames 試験データベースの内、未確定 (Equivocal) とされた 14 物質の関連文献の再評価を行い、専門家的考察により、14 物質の再分類を行い、最終的に未確定のままであった 4 物質を除き、365 物質から成るデータベースとして確立している。

今年度は、これとは別に国衛研変異遺伝部が実試験を行った 45 香料の Ames 試験結果 (今年度実施分を含む) を取りまとめ、小野データベースに未収録の物質を追加、重複する物質は妥当性を吟味し、データを更新することで、データベースの拡充と堅牢化を図った。

B.3 StarDrop QSAR モデル

英国オペティアム (日本代理店はヒューリンクス) が開発する QSAR の統合ソフトであり、構成するモジュールの一つである Auto-Modeller™を用いて、機械学習による独自の統計ベース QSAR モデルを開発することができる。

H30 年度に本研究班では、ヒューリンクス社との共同研究により、安衛法データベース (ANEI) や HANSEN などの外部公開データベースから抽出した香料あるいは香料類似物質の Ames 試験データを学習データとして、各種予測アルゴリズムと記述子を選択し、プロトタイプの開発と検証を繰り返した結果、小野らが報告している香料 Ames 試験データ (見直し後) 349 物質に対する感度は 84.6%、特異度は 97.5%、正確度は 96.6% と高い予測性能を示したことを報告した。

今回、国衛研変異遺伝部にて新たに実施した Ames 試験結果を学習データとして取り入れて StarDrop QSAR モデルをバージョンアップすると同時に、B.2. で示したように新たに構築した 406 香料の Ames 試験データベースに対する予測性能の評価を行い、代表的な商業 QSAR モデル、知識ベースの Lhasa Limited 社 (UK) の DEREK Nexus (ver. 6.1.0)、及び統計ベースの MultiCASE 社 (USA) の CASE Ultra (GT1_BMUT モジュール、ver. 1.8.0.2) とそれぞれ比較した。

C. 研究結果、および考察

C.1. 香料Ames試験データベース構築

表 1 は国衛研変異遺伝部が実試験を行った 45 香料とその Ames 試験結果をまとめたものである。評価した 45 物質の内、15 物質が陽性、残り 30 物質が陰性結果であった。既存の小野データベースとの重複分は 7 物質あったが、内、2,3-pentanedione は小野データベースでは陰性との評価であったが、実試験により陽性と判定され、データを修正した。また allyl isothiocyanate は当初の小野データベースでは未確定 (Equivocal) とされていたもので、H30 年の報告書にて、関連文献の専門家的考察を行い、陽性と再分類した。しかし実試験では用量相関性かつ再現性のある反応が確認されたものの、明確な陽性基準に達しなかったため、試験報告書としては陰性との記載であった。今回、生データの再評価と関連文献及び代表的な QSAR モデルがいずれも陽性と判断していることを踏まえ、弱いながらも陽性と判定してデータベースを更新した (表 1)。当初の小野データベースにリストされている香料の Ames 試験結果は、生データが確認できない

文献情報によるものが多く、QSAR予測結果と一致しないデータについては優先的に現行基準での実試験を行い、データの堅牢性を高めていくことが重要と考える。更新した本データベースは論文化して对外公表した (Kasamatsu T et al. Genes and Environment. 2021, accepted)。次項に述べるように、本データベースは、QSARツールの予測性の評価のための標準物質データベース、及び新規QSARモデル開発のための学習データとしても利用可能である。なお、今年度新たに実施したAmes試験結果は表2としてまとめた。

C.2. 香料に特化したStarDrop QSARモデルのバージョンアップ及び他の商業QSARモデルとの予測性能の比較

新たな学習データを基にバージョンアップしたStarDrop QSARモデル (NIHS 834_67) について、更新した406香料のAmes試験データベースに対する予測性能の評価を行い、商業QSARモデル、DEREK Nexus (ver. 6.1.0) 及びCASE Ultra (GT1_BMUTモジュール, ver. 1.8.0.2) と比較した結果を、表3及び表4に示す。StarDrop QSARモデル (NIHS 834_67) の予測性能は感度79.5%、特異度96.4%、正確度94.6%と、Derek Nexus (感度70.5%、特異度96.1%、正確度93.3%) 及びCASE Ultra (感度70.5%、特異度90.3%、正確度88.2%) よりも優れていた。このことは香料の構造的な特徴に着目し、評価するケミカルスペースを絞り込んだアプローチが有効であったと考えられる。ただ比較した商業QSARモデルの予測性能についても、2012年に小野らが当初の367香料のAmes試験データベースに対して、それぞれの前身のQSARモデル

(Derek for Windows, MultiCASE) を用いて評価した際の予測性能は、Derek for Windowsが、感度38.9%、特異度93.3%、正確度88.0%、であり、MultiCASEが感度25.0%、特異度94.3%、正確度87.5%、であったことを考えると、QSARモデルの予測性能 (特に感度) はこの10年ほどの間に飛躍的に向上してきたといえる。実際のAmes試験におけるラボ間の再現性が85%程度であると報告されていることから今回示した予測性能は上限値にかなり近づいていると考えられるが、偽陰性及び偽陽性結果の解析により、現行モデルの更なる予測性能の向上を見込むことができる。

表5はStarDrop QSARモデル (NIHS 834_67) が陽性を誤って陰性と判定した香料 (偽陰性物質) のリスト、表6は陰性を誤って陽性と判定した香料 (偽陽性物質) のリストを示す。偽陰性9物質の内、4つ (trans-cinnamaldehyde, 4-phenyl-3-buten-2-one, 4-methyl-2-pentenal, 2-Furyl methyl ketone) は α 、 β -不飽和カルボニル構造を有しており、比較した商業QSARモデルのどちらかは陽性予測結果を示していることから、「 α 、 β -不飽和カルボニル基」をアラート構造として学習データに取り込むことで、StarDrop QSARモデルの感度が更に向上する可能性がある。また偽陽性14物質の内、11は比較した商業QSARモデルの両方とも正しく陰性と評価していること、また7つがエステル類として区分される香料であり、これらの学習データへの取り込みによりStarDrop QSARモデルの特異性が向上する可能性がある。このような予測性能向上への取り組みを継続することによって、実試験

実施と遜色ない結果予測が可能になると考えられる。

D. 結論

香料のAmes試験データについて、国衛研変異遺伝部にて新たに実施した試験も含め、データの追加、再評価を行い、406物質からなる香料Ames試験データベースを完成させた。また香料に特化して開発したローカルQSARモデル (Star Drop) について、学習データの追加、工夫を行い、バージョンアップさせた。このQSARモデル (StarDrop NIHS 834_67) の予測精度を、上記の香料Ames試験データベースに対して検証したところ、感度79.5%、特異度96.4%、精度94.6%と、他の商業QSARモデル (Derek Nexus及びCASE Ultra) よりも優れた性能を示した。このことは学習アプローチの工夫や対象ケミカルスペースの絞り込みが有効であったと考えられ、偽陽性や偽陰性の分析等を通じてさらなる改善を行うことにより、実試験に依らない評価を実現できる可能性が示された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Honma M, Kitazawa A, Kasamatsu T, Sugiyama KI. Screening for Ames mutagenicity of food flavor chemicals b

y (quantitative) structure-activity relationship. Genes and Environment 2020 42:32

- 2) Kasamatsu T, Kitazawa A, Tajima S, Kaneko M, Sugiyama KI, Yamada M, Yasui M, Masumura K, Horibata K, Honma M. Development of a new quantitative structure-activity relationship model for predicting Ames mutagenicity of food flavor chemicals using StarDrop™ Auto-Modeller™. Genes and Environment 2021 43:16

2. 学会発表

- 1) 本間正充：生活環境で極低レベルで摂取する遺伝毒性発がん物質の安全性評価と管理、日本環境変異原学会第49回大会プログラム・要旨集(沼津)(2020.11)

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 国衛研変異遺伝部にて実施した香料の Ames 試験結果 (まとめ)

No.	JECFA番号	香料	CAS No	純度(%)	供給元	Ames試験結果
1	128	hexyl acetate	142-92-7	99.7	Inoue Perfumery MFG.	陰性
2	236	delta-dodecalactone	713-95-1	98.5	SODA AROMATIC Co., Ltd.	陰性
3	255	2-methylbutyric acid	116-53-0	99.9	Inoue Perfumery MFG.	陰性
4	256	2-ethylbutanal	97-96-1	99.4	SODA AROMATIC Co., Ltd.	陰性
5	327	(5or6)-decanoic acid	72881-27-7	83.8	SODA AROMATIC Co., Ltd.	陰性
6	410	2,3-pentanedione	600-14-6	99.7	Frutarom Ltd	陽性**
7	452	dimethyl sulfide	75-18-3	25	Inoue Perfumery MFG.	陰性
8	470	2-[(methylthio)methyl]-2-butenal	40878-72-6	98.1	T. HASEGAWA CO., LTD.	陽性
9	520	2-mercaptopinane	23832-18-0	98.0	SIGMA ALDRICH	陰性
10	687	4'-methoxycinnamaldehyde	1963-36-6	98	Alfa Aesar	陽性
11	725	4-ethenyl-2-methoxyphenol	7786-61-0	99.8	T. HASEGAWA CO., LTD.	陰性
12	728	raspberry ketone	5471-51-2	99.9	Jiangxi Zhangshu Crown Capital Fragrance Limited	陽性
13	745	5-methylfurfural	620-02-0	99.8	R.C. Treatt & Co. Ltd	陰性
14	866	4-methylbenzaldehyde	104-87-0	99.6	Penta International	陰性
15	928	hexanal propyleneglycol acetal	1599-49-1	99.9	San-Ei Gen F.F.I.,Inc.	陰性
16	941	acetaldehyde diethyl acetal	105-57-7	99.4	Ogawa & Co., Ltd.	陰性
17	1031	2-(4-methyl-5-thiazolyl)ethanol	137-00-8	99.9	Inoue Perfumery MFG.	陰性
18	1072	2-furanmethanethiol	98-02-2	99.5	SIGMA ALDRICH	陰性
19	1208	4-methyl-2-pentenal	5362-56-1	99.2	T. HASEGAWA CO., LTD.	陽性
20	1256	isoeugenyl methyl ether	93-16-3	99.4	Inoue Perfumery MFG.	陰性
21	1301	indole	120-72-9	99.7	SIGMA ALDRICH	陰性
22	1304	skatole	83-34-1	98	SIGMA ALDRICH	陰性
23	1340	gamma-terpinene (p-Mentha-1,4-	99-85-4	98.7	Takata Koryo Co., Ltd.	陰性
24	1341	1,3,5-undecatriene	16356-11-9	96.6	Givaudan Japan K.K.	陰性
25	1354	2-hexenol	2305-21-7	96	SODA AROMATIC Co., Ltd.	陰性
26	1451	4-methoxy-2,5-dimethyl-3(2H)-	4077-47-8	97	Tokyo Chemical Industry Co.,	陰性
27	1454	linalool oxide (furanoid)	1365-19-1	99.5	T. HASEGAWA CO., LTD.	陰性
28	1456	2,5-dimethyl-4-oxo-3(5H)-furyl acetate	4166-20-5	>95	Takata Koryo Co., Ltd.	陽性
29	1472	5-methyl-2-phenyl-2-hexenal	21834-92-4	96.5	Frutarom Ltd	陰性
30	1506	3-acetyl-2,5-dimethylfuran	10599-70-9	98	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	陽性
31	1519	4,5-dihydro-2,5-dimethyl-4-oxofuran-3-yl butyrate	114099-96-6	97.0	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	陽性
32	1560	allyl isothiocyanate	57-06-7	>97	Nippon Terpene Chemicals, Inc.	陽性
33	1853	2-(1-menthoxy)ethanol	38618-23-4	98.7	Takasago International	陰性
34	1882	vanillin propyleneglycol acetal	68527-74-2	98.8	Inoue Perfumery MFG.	陰性
35	1894	5-hexenyl isothiocyanate	49776-81-0	95.8	T. HASEGAWA CO., LTD.	陰性
36	2100	furfural propyleneglycol acetal	4359-54-0	99.7	Inoue Perfumery MFG. Co.,Ltd.	陽性
37	2101	furfuryl formate	13493-97-5	>98.9	T. HASEGAWA CO., LTD.	陽性
38	2141	butyl 2-naphthyl ether	10484-56-7	99.9	Koyo Chemical	陰性
39	2144	methyl beta-phenylglycidate	37161-74-3	99.8	T. HASEGAWA CO., LTD.	陽性
40	2157	6-methoxyquinoline	5263-87-6	98.9	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	陽性
41	-	2,4-dimethyl-4-	82461-14-1	99.2	Seikodo Ishida Co., Ltd.	陰性
42	-	2-butoxyethyl acetate	112-07-2	99.4	Tokyo Chemical Industry Co.,	陰性
43	-	2-methyl-2-butanethiol	1679-09-0	95	Tronto Research Chemicals	陰性
44	-	2-methylquinoline	91-63-4	98	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	陽性
45	-	S-methyl methanethiosulfonate	2949-92-0	98.3	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	陽性

表2 R2 年度試験化合物 QSAR 予測 Ames 試験結果

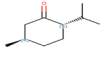
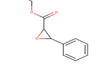
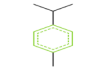
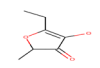
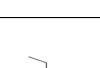
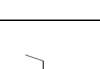
CAS#	物質名	構造	Derek Nexus	CASE ULTRA GT1_BMUT Probability (%)	Ames結果	結果詳細
14073-97-3	(-)-Menthone		INACTIVE	Known Positive 13.6	Negative	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復発変異コロニー数を用意反応的に増加させず、それぞれの陰性対照と比較して2倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、全ての用量において、背景データから算出したそれぞれの陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果の再現性が確認された。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。 以上の結果より、本試験条件下において本試験物質は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判定した。
121-39-1	Ethyl 3-phenylglycidate		PLAUSIBLE	Known Positive 87.1	Positive	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらず <i>Salmonella typhimurium</i> TA100に対して、背景データから算出した陰性対照の変動範囲の上限を超える、用量反応的な復発変異コロニー数の増加を示した。また、代謝活性化非存在下では、用量設定試験及び確認試験において陰性対照の2倍を超える増加が認められ、試験結果に再現性が確認された。最大比活性値は、確認試験の5000 µg/plateにおいて36.2を示した。その他の菌株では、代謝活性化の有無に関わらず復発変異コロニー数の用量反応的な増加、及び陰性対照の2倍以上の増加は認められず、被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、すべて背景データから算出した陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。
99-87-6	p-Cymene		INACTIVE	Negative 21.4	Negative	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復発変異コロニー数を用意反応的に増加させず、それぞれの陰性対照と比較して2倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、全ての用量において、背景データから算出したそれぞれの陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果の再現性が確認された。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。 以上の結果より、本試験条件下において本試験物質は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判定した。
27538-09-6	5-ethyl-4-hydroxy-2-methylfuran-3(2H)-one		PLAUSIBLE	Negative 35.5	Positive	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらず <i>Salmonella typhimurium</i> TA100に対して、背景データから算出した陰性対照の変動範囲の上限を超える、用量反応的な復発変異コロニー数の増加を示した。また、代謝活性化非存在下では、陰性対照の2倍を超える増加が認められ、試験結果に再現性が確認された。最大比活性値は、本試験の5000 µg/plateにおいて34.6を示した。また、代謝活性化非存在下の <i>Salmonella typhimurium</i> TA98では、用量設定試験において最高用量の5000 µg/plateで変動範囲の上限(34)を超える復発変異コロニー数の増加が認められた。この増加は、本試験においても変動範囲の上限を超えなかったが、上限に近い増加を示した。しかし、これが本試験物質の復発変異誘発性の誘因に基づく増加であるかは、明確ではなかった。その他の菌株では、代謝活性化の有無に関わらず復発変異コロニー数の用量反応的な増加、及び陰性対照の2倍以上の増加は認められず、被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、すべて背景データから算出した陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。 以上の結果より、本試験物質は遺伝子突然変異誘発性を有すると判定した。
4466-24-4	2-butylfuran		EQUIVOCAL	Inconclusive 55.1	Negative	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復発変異コロニー数を用意反応的に増加させず、それぞれの陰性対照と比較して2倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、全ての用量において、背景データから算出したそれぞれの陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において試験結果の再現性が確認された。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。 以上の結果より、本試験条件下において本試験物質は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判定した。
4208-57-5	2-butylfuran		EQUIVOCAL	Inconclusive 50.9	Negative	本試験物質は、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復発変異コロニー数を用意反応的に増加させず、それぞれの陰性対照と比較して2倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復発変異コロニー数は、全ての用量において、背景データから算出したそれぞれの陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果の再現性が確認された。 陰性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復発変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陰性対照の復発変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。 以上の結果より、本試験条件下において本試験物質は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判定した。

表 3 QSARモデル予測結果

QSARモデル		StarDrop NIHS 834_67		Derek Nexus 6.1.0		CASE Ultra 1.8.0.2 GT1_BMUT		
		P	N	P	N	P	N	OOD
Ames試験 結果	P	35	9	31	13	31	12	1
	N	13	349	14	348	28	327	7

P: 陽性、N: 陰性、OOD: 適用外

表 4 QSAR モデル予測性能の指標による比較

QSAR モデル	感度 (%)	特異度 (%)	正確度 (%)	適用度 (%)
StarDrop NIHS 834_67	79.5	96.4	94.6	100.0
Derek Nexus 6.1.0	70.5	96.1	93.3	100.0
CASE Ultra 1.8.0.2 GT1_BMUT	70.5	90.3	88.2	98.0

表5 StarDrop QSAR モデルの偽陰性予測物質










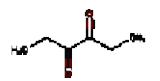


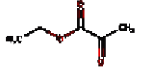

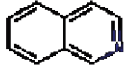
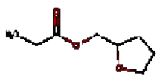
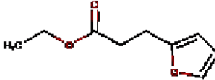
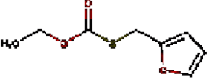


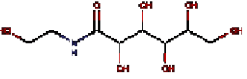
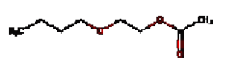
No.	香料	CAS No.	構造	構造分類	備考
1	Menthone	89-80-5		ケトン類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
2	trans-cinnamaldehyde	104-55-2		芳香族アルデヒド類	DEREK: PLAUSIBLE CASE Ultra: Known Positive
3	raspberry ketone	5471-51-2		ケトン類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
4	2,6-dimethylpyrazine	108-50-9		新規指定香料化合物	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Positive
5	4-phenyl-3-buten-2-one	122-57-6		ケトン類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Positive
6	4-methyl-2-pentenal	5362-56-1		脂肪族高級アルコール類	DEREK: PLAUSIBLE CASE Ultra: Positive
7	cadinene (mixture of isomers)	29350-73-0		テルペン系炭化水素類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
8	2-Furyl methyl ketone	1192-62-7		ケトン類	DEREK: EQUIVOCAL CASE Ultra: Known Positive
9	S-methyl methanethiosulfonate	2949-92-0		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Out of Domain

表6 StarDrop QSAR モデルの偽陽性予測物質

No.	香料	CAS No.	構造	構造分類	備考
1	3,4-hexanedione	4437-51-8		ケトン類	DEREK: PLAUSIBLE CASE Ultra: Known Positive
2	ethyl acetoacetate	141-97-9		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
3	phenyl salicylate	118-55-8		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
4	ethyl pyruvate	617-35-6		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
5	3-penten-2-one	625-33-2		ケトン類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
6	isoquinoline	119-65-3		新規指定香料化合物	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
7	tetrahydrofurfuryl propionate	637-65-0		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
8	ethyl 3-(2-furyl)propanoate	10031-90-0		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
9	O-ethyl S-(2-furylmethyl)thiocarbonate	376595-42-5		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
10	acetamide	60-35-5		日本では香料に該当しない化合物	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Negative
11	dihydroxyacetone dimer	62147-49-3		ケトン類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Known Positive
12	N-gluconyl ethanolamine	686298-93-1		日本では香料に該当しない化合物	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative
13	2-butoxyethyl acetate	112-07-2		エステル類	DEREK: INACTIVE CASE Ultra: Negative