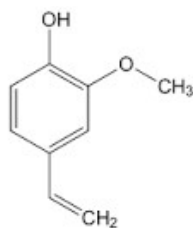


4-エテニル-2-メトキシフェノール

基本情報

英名 : 4-ethenyl-2-methoxyphenol
CAS No. : 7786-61-0
SEQ No. : 2504
FEMA No. : 2675
JECFA No. : 725
別名 : 2-methoxy-4-vinylphenol
4-Hydroxy-3-methoxystyrene
Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy- (9CI)
4-Vinylguaiacol
p-Vinylguaiacol
化学式 : $C_9H_{10}O_2$
分子量 : 150.17
構造式 :



1. 食品添加物名

フェノール類 (14 類)
4-エテニル-2-メトキシフェノール

2. 指定年月日

昭和 23 年 7 月 13 日 (フェノールエーテル類として指定)
昭和 32 年 7 月 31 日 (フェノール類とフェノールエーテル類が分離 (フェノール類に名称変更))
平成 15 年 5 月 20 日 (ビニルグアヤコールとして登録)
平成 21 年 2 月 9 日 (4-エテニル-2-メトキシフェノールに名称変更)

3. 主な用途及び使用基準

1) 主な用途

香料

2) 使用基準

着香の目的以外に使用してはならない。

4. 摂取量等に関する情報

使用量 301.67 kg/年 (平成 27 年度実績)¹⁾

推定摂取量 76.527 µg/人/日 (平成 27 年度実績)¹⁾

5. 安全性試験成績の概要

1) 急性毒性試験

情報なし

2) 90 日間反復投与毒性試験

0 (溶媒; コーン油)、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日の 4-エテニル-2-メトキシフェノールを Sprague-Dawley 系ラット (CrI:CD(SD)、10 匹/性/群、投与開始時 6 週齢) に 91 日間強制経口投与した。

投与期間中の一般状態では、1,000 mg/kg 投与群の雌雄で、全ての投与日の投与直後のみに自発運動の減少がみられた。体重は 1,000 mg/kg 投与群の雄で投与 84 及び 91 日、雌で投与 63 日に有意な低値が認められた。摂餌量は 1,000 mg/kg 投与群の雄で投与 7 日、雌では投与 49 日に有意な低値が認められた。血液化学検査では、1,000 mg/kg 投与群の雌雄で ALT、総コレステロール及びリン脂質の有意な高値、300 mg/kg 以上の投与群の雌雄で γ -GTP の有意な高値が認められた。臓器重量では、肝臓の絶対及び相対重量の有意な高値が 1,000 mg/kg 投与群の雌に、相対重量の有意な高値が 1,000 mg/kg 投与群の雄にみられた。病理組織学的検査では、前胃の扁平上皮細胞の軽微な過形成及び軽微な過角化が 100 mg/kg 以上の投与群の雌雄に頻度及び程度に用量相関性を伴って認められ、扁平上皮細胞の結節性過形成が 1,000 mg/kg 投与群の雄にみられた。腺胃の胃底腺の拡張が 300 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられた。肝臓では肝細胞の空胞化の程度/頻度の減少が 300 mg/kg 以上の投与群の雄及び 1,000 mg/kg 投与群の雌にみられた。鼻腔では呼吸上皮の細胞浸潤及び配列不整、嗅上皮の細胞浸潤、のう胞、萎縮及び配列不整、嗅腺の萎縮及び限局性過形成が 1,000 mg/kg 投与群の雌雄に、呼吸上皮ののう胞及び鼻腺の拡張が 1000 mg/kg 投与群の雄にみられた。

以上、4-エテニル-2-メトキシフェノールをラットに 91 日間強制経口投与した結果、胃への影響が 100 mg/kg 以上投与群の雌雄、肝臓への影響が 300 mg/kg 以上の投与群の雄及び 1,000 mg/kg 投与群の雌に、鼻腔への影響が 1,000 mg/kg 投与群の雌雄にみられた。したがって、本試験における無毒性量は雌雄ともに 100 mg/kg 体重/日未満と推定された²⁾。

3) 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌 (TA100、TA1535、TA98、TA1537)、及び大腸菌 (WP2 *uvrA*) を用い、プレインキュベーション法により、非代謝活性化及び代謝活性化条件下で復帰突然変異試験が実施された。

本被験物質は、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復帰変異コロニー数を用量反応的に増加させず、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の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帰変異コロニー数は、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、試験結果に再現性も得られた。一方、陽性対照は、代謝活性化の有無にかかわらず全ての菌株に対して、復帰変異コロニー数を陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにつ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。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。

以上の結果より、本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定された³⁾。

4-エテニル-2-メトキシフェノールの染色体異常誘発性の有無について、チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞株 (CHL/IU 細胞) を用いて、短時間処理法の非代謝活性化、及び代謝活性化の両条件を設けた。また、連続処理法においては、24時間連続処理を設けた。

細胞増殖抑制試験では、全ての培養系列で50%を超える細胞増殖抑制が認められ、50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀) は、短時間処理法の非代謝活性化、及び代謝活性化条件下で0.180及び0.200 mg/mL、連続処理条件下で0.020 mg/mLであった。また、被験物質の析出は全ての培養系列で処理開始時に0.501 mg/mL以上の用量で認められたが、培養終了時には全ての用量で認められなかった。これらの結果に基づき、短時間処理法の非代謝活性化条件下では最高用量を0.300 mg/mLとし、以下公比2で0.150、0.075、0.038及び0.019 mg/mLの計5用量を設定した。短時間処理法の代謝活性化条件下では最高用量を0.300 mg/mLとし、以下公比2で0.150、0.075及び0.038 mg/mLの計4用量を設定した。連続処理条件下では最高用量を0.040 mg/mLとし、以下公比2で0.020、0.010、0.005及び0.003 mg/mLの計5用量を設定した。その結果、全ての培養系列において、構造異常細胞の出現頻度が用量依存的に増加した。変異原性の強さに関する相対的比較値であるD₂₀値は短時間処理法の非代謝活性化条件下、及び代謝活性化条件下で0.350及び0.770 mg/mL、連続処理条件下で0.070 mg/mLと算出された。各培養系列の数的異常細胞の出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

なお、短時間処理法の非代謝活性化条件下の被験物質群の3用量、短時間処理法の代謝活性化条件下の被験物質群の1用量及び、連続処理条件下の2用量で構造異常細胞の出現頻度に陰性対照群と比較して Fisher の正確確率検定で有意な増加がそれぞれ認められ、かつ Cochran-Armitage の傾向検定で用量依存的な増加が認められた。また、これらの用量はいずれも陰性対照群の背景データの95%管理限界内又はC管理図の管理下から外れており、陽性対照群は陰性対照群と比較して有意に増加した。陰性及び陽性対照群における構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度は、背景データのポアソン分布の95%管理限界内又はC管理図の管理下に収まったため実験操作が適切に行われたと判断された。

以上の結果から、当該試験条件下における4-エテニル-2-メトキシフェノールの染色体異常誘発性は陽性と判定された（最小D₂₀値：0.070 mg/mL）³⁾。

4-エテニル-2-メトキシフェノールの生体内での染色体異常誘発性の有無を、マウス(Crl:CD1(ICR)系の雄)を用いる小核試験において検討した。

小核試験の用量設定及び性別を設定するために雄雌マウス各3匹を各用量群に割り付け、4-エテニル-2-メトキシフェノールをコーン油に混合し、2,000、1,000、500及び0mg/kg（コーン油）の投与量で、1日1回の2日間、強制経口投与が実施された。最終投与の翌日まで一般状態観察及び体重測定を実施した結果、1,000 mg/kg 投与群の雄で1例、2,000 mg/kg 投与群の雄雌で各々3例の死亡がみられた。一般状態においては、500 mg/kg 投与群の雄雌に浅速呼吸及び立毛が、1,000 mg/kg 投与群の雄に自発運動の低下、緩徐呼吸及び立毛が、雌では立毛がみられた。2,000 mg/kg 投与群の雄で腹臥位、自発運動の低下、緩徐呼吸及び立毛が、雌では腹臥位及び自発運動の低下がみられた。体重推移については、1,000 mg/kg 投与群の雄雌及び2,000 mg/kg 投与群の雄で4-エテニル-2-メトキシフェノール投与に起因すると思われる体重の減少傾向がみられた。以上の結果より、500 mg/kg 投与群の雄雌では死亡例が認められず、毒性徴候がみられたことから、本試験では片性の雄を用いて500 mg/kg を最高投与量とし、以下公比2で250及び125 mg/kg の用量を設定した。

本試験では、4-エテニル-2-メトキシフェノール投与群及び陰性対照群とも24時間間隔で2回投与を実施した。また、陰性対照には媒体のコーン油を投与し、陽性対照にはマイトマイシンCを用い、1回腹腔内投与の2 mg/kg を設定した。骨髓細胞塗抹標本は、最終投与の投与後24時間に採取した骨髓について標本作製が行われた。標本観察では、多染性赤血球(PCE)を個体あたり4,000個観察し、小核を有する多染性赤血球(MNPCE)を分別し、その出現率を求めた。また、PCEと正染性赤血球(NCE)を合わせて個体あたり1,000個観察し、PCEの割合[PCE/(PCE+NCE)]を求めた。本試験の結果、4-エテニル-2-メトキシフェノール投与群に死亡例はみられなかった。一般状態では、250 mg/kg 投与群で立毛が、500 mg/kg 投与群では自発運動

の低下及び立毛がみられ毒性徴候が確認された。体重では、4-エテニル-2-メトキシフェノール投与に起因すると思われる体重変動は観察されなかった。標本観察では、いずれの4-エテニル-2-メトキシフェノール投与群においてもMNPCEの出現率は陰性対照背景データの上限を超えず、出現頻度に関してもKastenbaumとBowmanの判定表に基づく条件付き二項検定において陰性対照群の出現頻度との間に有意差は認められなかった。陽性対照群では、MNPCEの出現率は陰性対照背景データの上限を超え、MNPCEの出現頻度についても陰性対照群との間に有意な差が認められた。また、陰性対照群及び各4-エテニル-2-メトキシフェノール投与群のMNPCEの出現頻度について、Cochran-Armitageの傾向検定を行い、用量相関関係が無いことを確認した。同時に観察したPCEの割合において、各4-エテニル-2-メトキシフェノール投与群に有意な差は認められなかった。陽性対照群のPCEの割合は陰性対照群に対して統計学的に有意な差は認められなかったが、減少傾向が認められた。

以上の結果よりICR系(Crl:CD1)マウスを用いた本試験条件下において、4-エテニル-2-メトキシフェノールの染色体異常誘発性は陰性であると判定された⁴⁾。

細菌を用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験、並びに*in vivo*小核試験の結果、4-エテニル-2-メトキシフェノールは生体にとって遺伝毒性はないと考えられた。

遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陰性
染色体異常試験	陽性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	陰性

4) JECFA の評価

JECFA では、4-エテニル-2-メトキシフェノールは構造クラス I と判断されており、推定摂取量は、欧州においては3 µg/人/日、米国においては1 µg/人/日と、クラス I 化合物の許容量である1,800 µg/人/日を下回っている。そのため、現在の使用においては安全上の懸念はないとしている^{5, 6)}。

6. 検討結果

香料としての現状の使用において、人の健康影響に対する懸念はないものと結論された。

引用文献

1. 近藤隆彦、香料使用量に関わる調査研究（日本香料工業協会）：平成29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)「食品添加物の安全性確保のための研究」分担研究「香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究」

2. 株式会社ボゾリサーチセンター, 4-エテニル-2-メトキシフェノール : ラットを用いた90日間反復投与毒性試験 最終報告書, 2019年
3. 本間正充 : 平成29年度 指定添加物等の安全性に関する試験報告書, 2018年3月30日
4. 本間正充 : 令和元年度 指定添加物等の安全性に関する試験報告書, 2020年3月30日
5. JECFA : WHO Food Additive Series 46, Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Phenol and Phenol Derivatives, 2001
6. JECFA : WHO Technical Report Series 901, Evaluation of Certain Food Additives, 2001