

(案)

添加物評価書

二炭酸ジメチル

2018年4月

食品安全委員会添加物専門調査会

注)

「**は**である。(参照 xx) 【 yy 論文 (著者 (発行年)) 】」
とある場合、番号 xx は本評価書案の参考資料の通し番号、
【】の中の番号 yy は概要書の参考資料の通し番号です。

目次

	頁
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
<審議の経緯>	4
<食品安全委員会委員名簿>	4
<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>	4
要 約	6
I. 評価対象品目の概要	7
1. 用途	7
2. 主成分の名称	7
3. 分子式及び構造式	7
4. 分子量	7
5. 性状等	7
6. 製造方法	7
7. 安定性	8
8. 起源又は発見の経緯	13
9. 諸外国における使用状況	13
10. 国際機関等における評価	15
11. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要	18
II. 安全性に係る知見の概要	19
1. 体内動態	24
(1) 二炭酸ジメチル (DMDC)	24
(2) メタノール	25
(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)	33
(4) 炭酸エチルメチル (MEC)	35
(5) カルバミン酸メチル (MC)	36
(6) 炭酸ジメチル (DMC)	46
(7) 体内動態のまとめ	47
2. 毒性	49
(1) DMDC	51
(2) メタノール	65
(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)	73
(4) 炭酸エチルメチル (MEC)	75
(5) カルバミン酸メチル (MC)	78
(6) 炭酸ジメチル (DMC)	121
III. 一日摂取量の推計等	124
1. 我が国における摂取量	124
2. 国際機関等における推計	127
3. 摂取量の推計等のまとめ	128

1	IV. 食品健康影響評価	130
2	<別紙 1 : 略称>	131
3	<参照> 参考資料一覧	132
4		

1 <審議の経緯>

2018年1月11日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請(平成30年1月11日厚生労働省発生食0111第1号)、関係書類の接受

2018年1月16日 第680回食品安全委員会(要請事項説明)

2018年2月9日 第164回添加物専門調査会

2018年3月1日 補足資料の提出依頼

2018年3月7日 第165回添加物専門調査会

2018年3月14日 補足資料の提出依頼

2018年4月19日 第166回添加物専門調査会

2

3 <食品安全委員会委員名簿>

4 (2017年1月7日から)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

5

6 <食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

7 (2017年10月1日から)

梅村 隆志 (座長)
頭金 正博 (座長代理)
石井 邦雄
伊藤 清美
伊藤 裕才
宇佐見 誠
~~梅村 隆志~~
佐藤 恭子
祖父江 友孝
高須 伸二
高橋 智
塚本 徹哉
~~頭金 正博~~
戸塚 ゆ加里
西 信雄
北條 仁
松井 徹
森田 明美
山田 雅巳

<参考人>

石塚 真由美

杉山 圭一 (かび毒・自然毒等専門調査会専門委員)

中江 大

1

2 (2018年4月1日から)

梅村 隆志 (座長)

頭金 正博 (座長代理)

石井 邦雄

石塚 真由美

伊藤 清美

伊藤 裕才

宇佐見 誠

佐藤 恭子

杉山 圭一

祖父江 友孝

高須 伸二

高橋 智

塚本 徹哉

頭金 正博

戸塚 ゆ加里

中江 大

西 信雄

北條 仁

松井 徹

森田 明美

山田 雅巳

3

4

5

要 約

殺菌料として使用される添加物「二炭酸ジメチル」(CAS登録番号 4525-33-1) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、二炭酸ジメチル (DMDC) のほか、DMDC の加水分解物であるメタノール、飲料中成分との反応生成物であるカルボメトキシ化合物 (CMC)、炭酸エチルメチル (MEC) 及びカルバミン酸メチル (MC)、並びに製造時の副生成物である炭酸ジメチル (DMC) を被験物質とした遺伝毒性、急性毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、ヒトにおける知見等に関するものである。

事務局より：

本項目「要約」は、「IV. 食品健康影響評価」を記載した後、追記いたします。

事務局より：

CMC については、前回の御議論において、その安全性に関する考察を厚労省に求めることとされましたが、その回答次第では、アミノ酸誘導体以外についても検討することになりますが、現時点では、CMC と記載しております。ただし、毒性試験等において、評価対象が明確な場合は、N-CMC 等と記載することにします。

1 I. 評価対象品目の概要

2 1. 用途

3 殺菌料（参照 1）【第 680 回食品安全委員会諮問資料】

4

5 2. 主成分の名称

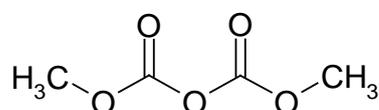
6 和名：二炭酸ジメチル（DMDC¹）

7 英名：Dimethyl dicarbonate

8 CAS 登録番号：4525-33-1（参照 2）【第 680 回食品安全委員会諮問資料】

9

10 3. 分子式及び構造式

11 $C_4H_6O_5$ 

12

13 （参照 1、2、3）【第 680 回食品安全委員会諮問資料、37 JECFA (1990)、
14 41 EU 規則 231/2012 (2012)】

15

16 4. 分子量

17 134.09²（参照 1、3）【第 680 回食品安全委員会諮問資料、41 EU 規則 231/2012
18 (2012)】

19

20 5. 性状等

21 今般、厚生労働省に「二炭酸ジメチル」の添加物としての指定及び規格基準の
22 設定を要請した者（以下「指定等要請者」という。）による添加物「二炭酸ジメチ
23 ル」の成分規格案では、含量として、「本品は、99.8%以上を含む。」、性状とし
24 て、「本品は、無色の液体である。」とされている。（参照 4）【概要書】

25

26 6. 製造方法

27 指定等要請者は、添加物「二炭酸ジメチル」の製造方法を「クロロギ酸メチル
28 をトルエンに溶解した後、水酸化ナトリウム水溶液を加えて、DMDC を生成した
29 後、相分離を行い、蒸留精製する」としている（図 1）。（参照 4）【概要書】

¹ 本文中で用いられた略称については、別紙 1 に名称等を示す。

² JECFA (1990)の規格では分子量 139.09 とされている。

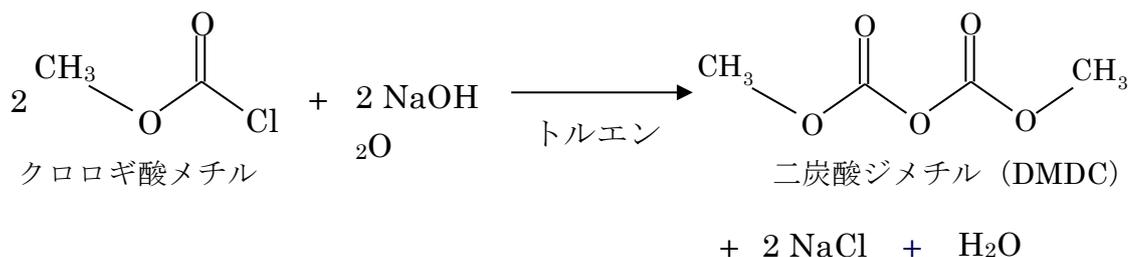


図1 DMDCの製造方法

7. 安定性

(1) DMDCの安定性

指定等要請者は安定性試験を実施し、DMDCは、出荷時容器に密閉した状態では20～30℃で1年間は安定であるとしている。(参照5) 【46 LANXESS 社内資料 (Koch (2008))】

DMDCは飲料(清涼飲料水、アルコール飲料)中で速やかにメタノール及び二酸化炭素(CO₂)に加水分解され、最終製品では検出されていない。DMDCの半減期は20℃では17分、全量の加水分解に要する時間は4℃で約7.5時間、10℃で約4.5時間、20℃で約2時間、30℃で約1時間であり、加水分解速度は温度に依存している。また、pH 2～6における加水分解にはpHの影響は認められなかったとされている。よって、指定等要請者は、飲料に添加されたDMDCは冷蔵条件でも7～8時間以内には加水分解が進み、最終製品としての飲料中には残留しないと説明している。(図2)。(参照4、6、7、8) 【概要書、61Krefeld-Uerdingen (1979)、36 LANXESS 社内資料 (2011)、62LANXESS 社内資料 (2011)】

なお、ガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)によるDMDCの検出限界値は0.05 mg/L、定量限界値は0.2 mg/Lとされている。(参照9、10)

【50 Labor Haase-Aschoff 社内資料 (1992)、51 Labor Haase-Aschoff 社内資料 (1998)】

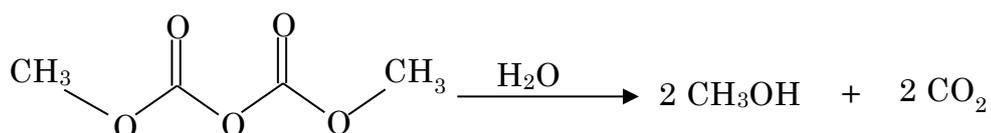


図2 DMDCの加水分解(参照6)

1 (2) 飲料に残存する DMDC 関連化合物

2 DMDC は飲料中でメタノール及び CO₂ に速やかに加水分解されるほか、種々
3 の反応生成物を生じ、脱炭酸反応により炭酸ジメチル (DMC)、飲料中に含有
4 されるアミン、アミノ酸、糖類及び有機酸 (乳酸、クエン酸、酒石酸) と反応し
5 て種々のカルボメトキシ化合物 (CMC)、エタノールと反応して炭酸エチルメ
6 チル (MEC)、また、アンモニア又はアンモニウムイオンと反応してカルバミ
7 ン酸メチル (MC) を、いずれも微量生成する (図 3)。また、DMC は、製造
8 工程中の副生成物としても微量生成する。表 1 に DMDC 関連化合物 (メタノ
9 ール、CO₂、CMC、MEC、MC 及び DMC) の一般名等についてまとめた。(参
10 照 1 1、1 2、1 3、1 4、1 5) 【2 Bayer AG 社内資料 (1988)、3 LANXESS
11 社内資料 (2008)、63 LANXESS 社内資料 (2011c)、31 JECFA (1991)、
12 35 EFSA (2015)】

13 各種ワイン (エタノール約 11~14%含有) に DMDC (200 mg/L) を添加し
14 た結果、最大 8.67 mg/L の MEC の生成 (飲料の 0.001%未満)、メタノールの
15 増加 (元のメタノール含有量からの増加量: 44~55 mg/L) が認められた。(参
16 照 1 6) 【98 Stafford & Ough (1976)】

17 MC の生成は飲料中のアンモニア又はアンモニウムイオン濃度 (以下「NH₃
18 濃度」という。) また pH の上昇とともに増加するが、通常のワインの中でも
19 最も極端な条件一般的な飲料 (NH₃ 濃度 20 mg/L 以下、pH 3.75 以下) に DMDC
20 (100 mg/L) を添加すると、MC の生成は 10 µg/L 未満であった。また、ワイ
21 ンへの添加では約半数で MC が検出されなかったが、一部のワイン (NH₃ 濃度
22 8.7 mg/L、pH 4.40) において MC の最大の生成量 (7.4 µg/L) が検出された。
23 (参照 1 7) 【102 Ough & Langbehn (1976)】

松井専門委員：

「NH₃ 濃度 20 mg/L 以下、pH 3.75 以下」は「通常のワインの中でも最も極端な条件」と思います。

Under the most extreme conditions in normal commercial wine practices (pH3.75, NH₃ 20 mg/L) less than 10 µg of methylcarbamate per L would be formed from the addition of dimethyl dicarbonate at 100 mg/L.

事務局より：

ご指摘を受けて修正いたしました。

24
25 DMDC (100 mg/L) を 10%又は 50%果汁飲料に添加した結果、24 時間後、
26 メタノールがそれぞれ 47.645 mg/L、47.437 mg/L、CO₂ がそれぞれ 65.511
27 mg/L、65.227 mg/L、DMC がいずれも 0.2 mg/L、種々の CMC がそれぞれ
28 0.7292 mg/L、2.0220 mg/L 生成していた。(参照 1 1) 【2 Bayer AG 社内資料
29 (1988)】

1 国際機関等が摂取量推計で用いた、DMDC 及び DMDC 関連化合物の残留量
 2 (以下「残留量」という。)、LANXESS 社内資料 (2011) に記載の残留量 (試
 3 験成績は未提出) 及び指定等要請者が摂取量推計で用いた残留量は表 2 のとお
 4 りである。(参照 4、9、13、14、15、18、19、20、21、22、
 5 23、24)【概要書、50 Labor Haase-Aschoff 社内資料 (1992)、63 LANXESS
 6 社内資料 (2011)、31 JECFA (1991)、35EFSA (2015)、22 Federal Register
 7 (FR) (1988)、23FR (1993)、24FR (1994)、25FR (1996)、32SCF (1992)、
 8 33SCF (1997)、34SCF (2001)】
 9 以上より、指定等要請者は、ノンアルコール飲料とアルコール飲料との比較
 10 で、生成する関連化合物は類似しており、考慮すべきものはないと結論してい
 11 る。(参照 4)【概要書】

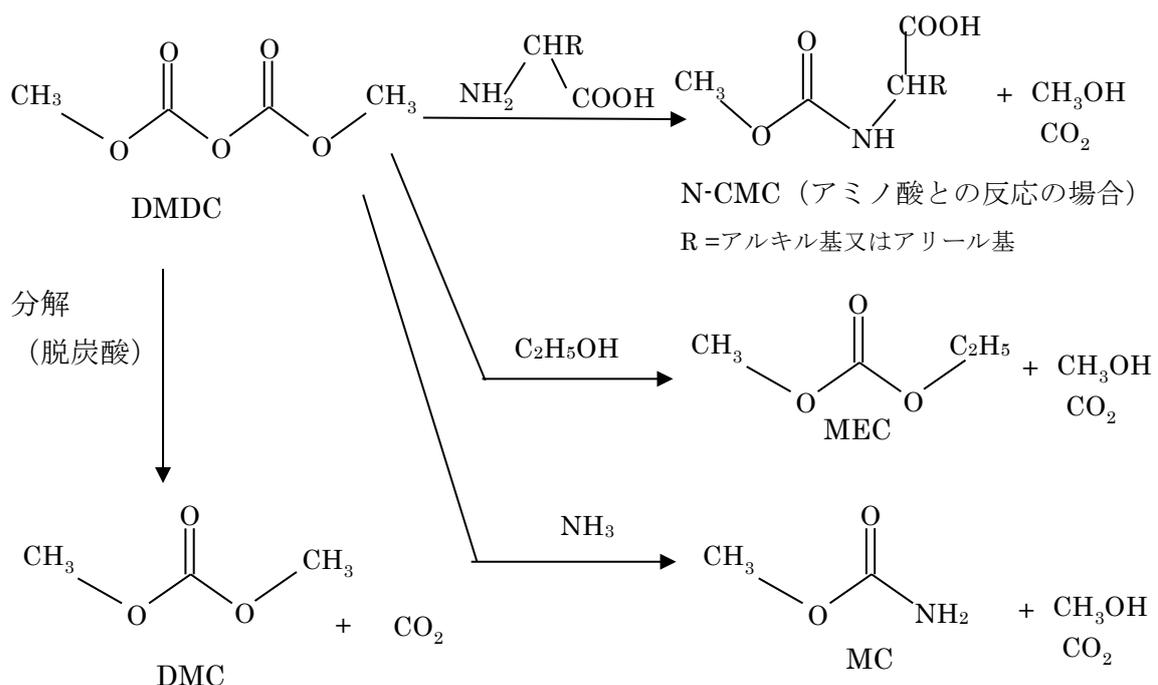
事務局より：

概要書では MEC、MC、DMC 以外に生成する種々のカルボメトキシ化合物に
 ついて、「N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)」と記述していますが、DMDC と
 反応する可能性がある官能基はアミノ基等に限らないため、本評価書案では、一
 般的な記載に関しては「カルボメトキシ化合物 (CMC)」と記述しています。

事務局より：

第 164 回専門調査会での御議論を受け、現時点では、安全性に係る知見はアミ
 ノ酸のカルボメトキシ化合物に関する記載しかないため、「N-カルボメトキシ化
 合物 (N-CMC)」と記載しています。

12



13

1 図3 DMDC 関連化合物 (参照6)

2

事務局より：

第165回専門調査会での御議論を受け、「反応生成物」の反応が何を指すか明確となるよう、表1の「備考」の記載について御確認をお願いします。

伊藤裕才専門委員：

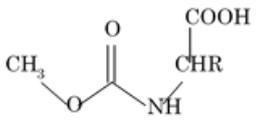
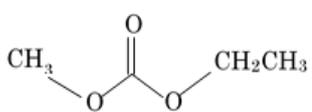
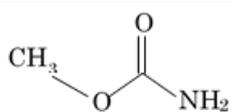
下記のとおり、修正しました。

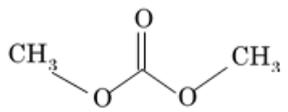
佐藤専門委員：

伊藤裕才専門委員の修正のとおりで結構です。

3

4 表1 DMDC 関連化合物

名称	一般名 (略称)	CAS No.	化学式	備考
メタノール	methanol	67-56-1	CH ₃ OH	<u>DMDC</u> 加水分解生成物
二酸化炭素	carbon dioxide	124-38-9	CO ₂	<u>DMDC</u> 加水分解生成物
カルボメトキシ化合物	carbomethoxy compounds (CMC)	— <u>(化合物群のため、登録番号なし)</u>	 R: アルキル基又はアリール基 (アミノ酸との反応の場合)	<u>DMDC</u> と飲料中のアミン、アミノ酸、糖類及び有機酸との反応生成物 <u>アミノ酸と反応した場合は N-CMC</u>
炭酸エチルメチル	methylethyl-carbonate (MEC)	623-53-0		<u>DMDC</u> と飲料中のエタノールとの反応生成物
カルバミン酸メチル	methylcarbamate (MC)	598-55-0		<u>DMDC</u> と飲料中のアンモニア又はアンモニウムイオンとの反応生成物

炭酸ジメチル	dimethylcarbonate (DMC)	616-38-6		DMDC 製造時副生成物、 <u>DMDC 分解反応生成物</u> (<u>脱炭酸</u>) <u>反応生成物</u> (以下「副生成物等」)
--------	-------------------------	----------	--	---

1

2 表 2 DMDC 及び DMDC 関連化合物の最大残留量

		JECFA	FDA	SCF、EFSA	LANXESS 社内資料 (2011)	指定等要請者推計
DMDC		検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	記載なし	検出限界未満
<u>DMDC</u> 加水分解生成物	メタノール	120 mg/L	121.8 mg/L	120 mg/L	119 mg/L	120 mg/L
	CO ₂	—	炭酸飲料濃度以下	160 mg/L	164 mg/L	164 mg/L
<u>DMDC</u> と飲料中成分との反応生成物	CMC	4 mg/L	—	1.7~5 mg/L	4 mg/L	5 mg/L
	MEC	1.5 mg/L	—	10 mg/L	10 mg/L	10 mg/L
	MC	20 µg/L	25 µg/L	25 µg/L	4 µg/L	25 µg/L
副生成物等	DMC	0.5 mg/L	0.5 mg/L	0.5 mg/L	0.5 mg/L	0.5 mg/L

3 注) JECFA : DMDC 250 mg/L 添加時。MEC はアルコール飲料 (アルコール 11%) に添加した場合 (参照 1
4 4)

5 FDA : DMDC 250 mg/L 添加時。DMDC 検出限界 0.04 mg/L は FDA (1996) による。メタノールは DMDC
6 100 mg/L 添加時の値 (メタノール 48.7 mg/L、MC 10 µg/L) を 2.5 倍した換算値。MEC 及び CMC
7 等のワイン等からの摂取量を 2~5 mg/人/日 (ワイン摂取量の 90 パーセント値が 232 g/人/日摂
8 取) としている。(参照 18、19、20、21) 【22 FR (1988)、23FR (1993)、24FR (1994)、
9 25FR (1996)】

10 EFSA、SCF : DMDC 250 mg/L 添加時。DMDC 検出限界 0.05 mg/L は EFSA (2015)、MEC は SCF
11 (2001)、それ以外は SCF (1997) による。MEC はアルコール飲料に添加した場合。(参照 15、
12 22、23、24) 【35 EFSA (2015)、32SCF (1992)、33SCF (1997)、34SCF (2001)】

1 LANXESS 社内資料 (2011) : DMDC 250 mg/L 添加時。CMC として、N-カルボメトキシアラニン、N-カ
2 ルボメトキシアルギニン、N-カルボメトキシアスパラギン、N-カルボメトキシジシステイン、N-カ
3 ルボメトキシグルタミン酸、N-カルボメトキシグリシン、N-カルボメトキシヒドロキシプロリン、N-
4 カルボメトキシロイシン、N-カルボメトキシシステイン、N-カルボメトキシフェニルアラニン、N-
5 カルボメトキシプロリンが挙げられている。(参照 1 3) 【63 LANXESS 社内資料 (2011)】
6 指定等要請者 : DMDC250 mg/L 添加時。DMDC 検出限界 0.05 mg/L (参照 9) 【50 Labor Haase-Aschoff
7 社内資料 (1992)】
8 なお、原文での ppm 表記は、mg/L 表記とした。

8. 起源又は発見の経緯

11 指定等要請者は、1978 年にバイエル社は DMDC の細菌への強力な不活化作用
12 及び飲料中における速やかな加水分解性を見出し、1979 年、ドイツで殺菌のため
13 に加工助剤として市販したと説明している。(参照 4、2 3) 【概要書、33SCF
14 (1997)】

9. 諸外国における使用状況

(1) コーデックス委員会

18 二炭酸ジメチルは、食品添加物に関するコーデックス一般規格 (GSFA) に収
19 載され、保存料として、ノンアルコール飲料 (香料入り飲料、コーヒー及び茶
20 等) 及びワイン (ぶどう酒を除く。) に 250 mg/kg、ぶどう酒及びハチミツ酒に
21 200 mg/kg までの使用が認められている。本規格において、最終製品において
22 DMDC が検出されないこととされている。(参照 2 5) 【17GSFA (2015)】

23 2013 年、コーデックス委員会食品添加物部会 (CCFA) 第 43 回会合におい
24 て、Inventory of Processing Aids の項が更新され、DMDC は加工助剤の中の
25 微生物制御剤 (Micro-organism control agents) に分類されている。(参照 2 6)
26 【21CCFA (2013)】

(2) 米国における使用状況

29 米国においては、1988 年、DMDC はワインの酵母菌の不活化のために使用
30 が認められ、その後各種飲料用に使用の許可が拡大され、ノンアルコール飲料
31 (香料入り飲料、果汁飲料及び茶系飲料) に 250 mg/L、ワイン、低アルコール
32 ワイン及びノンアルコールワインに 200 mg/L までの使用が認められている。
33 2001 年、DMDC の使用目的は微生物制御剤に分類された。(参照 1 8、1 9、
34 2 0、2 1、2 7、2 8、2 9、3 0) 【22 Federal Register (FR) (1988)、
35 23FR (1993)、24FR (1994)、25FR (1996)、26FDA (2000)、27FDA (2005)、
36 28FR (2001) 29CFR (2013)】

松井専門委員 :

後述では「酵母」ですので、統一してはいかがでしょうか。

事務局より：

ご指摘を受けて修正いたしました。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

(3) 欧州連合 (EU) における使用状況

EUにおいては、1995年、DMDCは、ノンアルコール飲料（香料入り飲料、濃縮茶系飲料）及びノンアルコールワインに使用が認められ、その後各種飲料用に使用の許可が拡大され、保存料として、ノンアルコール飲料、ワイン（ぶどう酒を除く。）、ノンアルコールワイン、低アルコールワイン等に250 mg/L、ぶどう酒に200 mg/Lまでの使用が認められている。（参照15、22、23、24、31、32、33）【35EFSA (2015)、32SCF (1992)、33SCF (1997)、34SCF (2001)、30EU 指令 95/2/EC (1995)、66 EU 指令 2010/69/EU (2010)、67 EU 規則 606/2009 (2009)】

(4) オーストラリア・ニュージーランドにおける使用状況

オーストラリア・ニュージーランドにおいて、1996年、DMDCは保存料としてノンアルコール飲料への使用が認められた。2004年にはワインへの使用許可がなされ、ノンアルコール飲料に250 mg/L、ワインに200 mg/Lまでの使用が認められている。2011年、DMDCは加工助剤に分類された。（参照34、35）【5 NZ gazette (2011)、6 FSANZ (2011)】

(5) 諸外国における使用状況のまとめ

諸外国における使用状況をまとめると、表3のとおりである。ぶどう酒とその他飲料との間で最大添加量が異なる理由について、指定等要請者は、これらがそれぞれ異なる時期に認可されたことによるとしている。

FDAにおいて、DMDCは、当初ワイン製造時の酵母不活化の用途で認可されたが、その際に最大添加量は200 mg/Lに設定され、適正製造規範（Good Manufacturing Practice : GMP）の下では、微生物数が500個/mL以下に減少するので、この基準値で十分に効果が発揮されるものとされた。その後、FDAで、認可がノンアルコール飲料にも拡大され、ノンアルコール飲料での最大添加量は250 mg/Lと設定されたが、ワインでは当初の設定のまま最大添加量200 mg/Lでの使用が認められている。

EUにおいても、1995年に使用が認められたときはノンアルコール飲料に対して最大添加量は250 mg/Lと設定された。その後、ワインにも使用拡大されたが、ぶどう酒に対してはEU規則606/2009の下、最大添加量200 mg/Lでの使用が認められている。

1 表 3 諸外国における使用状況

	200 mg/L	250 mg/L
コーデックス (GSFA) 【17】	ぶどう酒及びハチミツ酒	ノンアルコール飲料（香料入り飲料、コーヒー及び茶等）及びワイン（ぶどう酒を除く。）
米国 【29】	ワイン、低アルコールワイン及びノンアルコールワイン	ノンアルコール飲料
欧州連合 【35】	ぶどう酒	ノンアルコール飲料及びワイン（ぶどう酒を除く）
豪・NZ 【6】	ワイン	ノンアルコール飲料

2

3 10. 国際機関等における評価

4 (1) JECFA における評価

5 1990年、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）は第37回会合に
6 おいて、DMDC 及び DMDC 関連化合物（メタノール、CMC、MEC、MC 及び
7 DMC）の試験成績等を基に、DMDC について評価を行っている。なお、CO₂ に
8 ついては検討していない。

9 JECFA は、DMDC の使用時に発生するメタノール濃度（最大 120 mg/L）が
10 種々の飲料中に含まれる濃度と類似しているかそれより低いことを考慮して、
11 DMDC に由来するメタノールの生成量では毒性学的な懸念はないとしている。
12 また、DMDC 添加飲料、CMC、MEC 及び DMC の試験では毒性は認められな
13 いとしている。MC については、遺伝毒性は認められず、F344 ラットを用いた
14 試験成績における肝細胞腫瘍の所見から NOAEL を 100 mg/kg 体重/日として
15 いる。DMDC 添加飲料（250 mg/L）に由来する MC の摂取量は最大に見積も
16 っても 20 µg/L 未満であり、安全マージンが大きく、DMDC が GMP 下で使用
17 される限り、MC はヒトの健康にとってリスクとならないとしている。

18 評価の結果、DMDC について、ADI を特定せず、GMP 下で使用される限り、
19 飲料の冷殺菌剤として 250 mg/L での使用が許容できるとした。（参照 14、
20 36、37）【31WHO FAS28 (1991)、20 JECFA (1990)、163Bayer AG 社
21 内資料 (1987)】

22

23 (2) 米国における評価

24 1988年、FDA は、DMDC 及び DMDC 関連化合物（メタノール、CO₂、N-
25 CMC、MEC、MC 及び DMC）の試験成績等を基に、DMDC のワインへの使用
26 許可に際し、評価を行っている。

27 原著が確認できず詳細は不明だが、通常の食習慣でのメタノールの摂取量及

1 び成人のヒトは 1,500 mg/時のメタノールを有害事象の発現なく代謝可能である
2 ことを考慮し、DMDC 由来のメタノールの生成量では毒性学的な懸念はない
3 としている。CO₂も炭酸飲料中の CO₂の量より少なく、有害とする根拠はない
4 としている。また、DMDC 添加飲料、MEC 及び DMC の試験では毒性は認め
5 られないとしている。MC については、F344/N ラットを用いた毒性試験成績を
6 基に、高用量群の雌に肝細胞腫瘍が認められており、米国国家毒性プログラム
7 (NTP) は MC が F344/N ラットに対する発がん性を有すると結論づけている
8 が、DMDC に由来する MC の摂取量は最大に見積もっても 2.4 µg/人/日であり、
9 安全性上の懸念はないとしている。(参照 1 8) 【22FR (1988)】

10
11 1993 年、FDA は、低アルコールワインへの DMDC の使用許可における評価
12 においても、同様に評価している。

13 なお、本評価において、原著を確認できず詳細は不明だが、FDA はヒトにお
14 ける知見からメタノールの NOAEL を 71~84 mg/kg 体重/日とし、安全係数 10
15 を用いて一日摂取許容量 (ADI) を 7.1~8.4 mg/kg 体重/日としている。(参照
16 1 9) 【23FR (1993)】

17
18 また、1994 年、1996 年における評価では、250 mg/L までの DMDC を添加
19 する使用基準に対し、過去の DMDC についての評価と同様に評価し、申請され
20 た使用基準においては DMDC の安全性に問題はないとの結論を出している。

21 (参照 2 0、2 1) 【24FR (1994)、25FR (1996)】

22 23 (3) 欧州における評価

24 1990 年、欧州食品科学委員会 (SCF) はノンアルコール飲料への DMDC の
25 添加 (最大添加量 250 mg/L) について評価を行った。ここでは DMDC 由来の
26 メタノールの生成量は通常の果汁及びアルコール飲料中のメタノールの含有量
27 と同等又はそれより少なく、毒性学的に重要でないとして評価し、DMDC 関連化合
28 物のうち MC のみに毒性学的に懸念する事項があるとされた。

29 DMDC 及び DMDC 添加飲料の試験では毒性所見は認められないとした。MC
30 について、ラットの一系統の高用量投与群で肝細胞腫瘍が認められたが、遺伝
31 毒性は認められないとしている。DMDC に由来する MC の摂取量は最大に見積
32 もっても 20 µg/L 未満であり、ラットにおいて腫瘍を認めた用量と比較して安
33 全マージンが大きく、想定される MC の量ではヒトの健康にとってリスクとな
34 らないとした。

35 評価の結果、DMDC の ADI を特定せず、ノンアルコール飲料に対して 250
36 mg/L 以下の濃度での使用が許容されるとしている。(参照 2 2) 【32 SCF
37 (1992)】

1 1996年、SCFは、上述の1990年の評価に対するフランス当局からの懸念へ
2 の回答として、評価内容を妥当とする見解を示している。試験に用いた飲料以
3 外の飲料中でDMDC添加時に生成される可能性がある化合物を考慮していな
4 いという指摘に対し、SCFは、全ての反応生成物について精査していないが、
5 良いモデル飲料であるオレンジジュースにDMDCを過剰に添加した飲料の試
6 験によりその安全性は示されているとしている。また、MCの発がん性につい
7 て、追加で代謝に関する試験をすることが望ましいという指摘に対し、SCFは、
8 F344ラットにおける発がん性所見について、NOELの設定が適切であり、追
9 加の試験は評価結果に影響を与えないとしている。(参照23)【33 SCF(1997)】

10
11 2001年、SCFは、DMDCのワインへの使用における安全性について評価を
12 求められ、メタノール等のDMDC関連化合物の生成はアルコール飲料及びワ
13 インとノンアルコール飲料との間で同等であるとして、過去のDMDCのノン
14 アルコール飲料への使用における評価結果がワインへの使用についても同様に
15 適用されるとしている。なお、原著が確認できず詳細は不明だが、メタノール
16 について、健常人は1,500 mg/時で問題なく代謝するとしている。(参照24)
17 【34 SCF (2001)】

18
19 2015年、欧州食品安全機関(EFSA)の食品添加物及び食品に添加される栄
20 養源に関する科学パネル(ANS)は、2015年、欧州委員会(EC)の要請に基
21 づいてDMDCの安全性についての再評価を実施した。この再評価において、
22 DMDC及びDMDC関連化合物(メタノール、MEC、MC、DMC)について試
23 験成績等を基に評価している。

24 通常の食習慣でのメタノールの摂取量を考慮し、DMDC由来のメタノールの
25 生成量では毒性学的な懸念はないとしている。MEC及びDMCの試験では毒性
26 は認められないとしている。MCについては、複数の試験結果から、Fischer344
27 ラットを用いた13週間反復投与毒性試験から得られた最も低いNOAEL(125
28 mg/kg体重/日)をMCのNOAELとしている。MEC及びDMCの遺伝毒性の
29 試験成績は認められなかったが、EFSAはOECD Quantitative Structural
30 Activity Relationship(QSAR) Toolbox³を用いて、構造アラートはないとして
31 いる。MEC、MC、及びDMCはCramerクラスIに分類され、許容ばく露閾
32 値/摂取許容値(TTC)が30 µg/kg体重/日となるものの、食物喫食量から摂取
33 量を推計したところ、一部の年齢層(18歳以上)においてMECの摂取量の95
34 パーセンタイル値が、TTCを超えていたとしている。

35 評価の結果、EFSAは、現在認可している使用量及び使用条件において
36 DMDCのADIを特定せず、DMDCの安全性に係る新たな懸念はないとしてい

³ OECD QSAR Toolbox version 3.3.2 (2015) とされている。

1 る。ただし、DMDC と飲料中の成分及び食品添加物との反応で生じる生成物の
2 性質及び量について更なる情報を得るべきであり、このような情報が得られな
3 ければ、他の食品添加物は DMDC の分解後に添加するべきであると提案して
4 いる。(参照 1 5) 【35 EFSA (2015)】

6 (4) オーストラリア・ニュージーランドにおける評価

7 1996 年、オーストラリア・ニュージーランド食品局 (Australia New Zealand
8 Food Authority ; ANZFA) ⁴は、DMDC 及び DMDC 関連化合物についての安
9 全性評価を実施した結果、公衆衛生及び安全性に係る懸念は認められなかった
10 と評価した。2011 年、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (Food
11 Standards Australia New Zealand ; FSANZ) は要請者の申請により DMDC
12 の特性等々を評価した結果、DMDC を食品添加物 (保存料) から加工助剤として
13 分類し直すことを決定した。評価を実施した 2011 年においても、安全性につい
14 ての評価を変更する必要性を示す新たな知見はなかったことから、FSANZ は
15 分類の変更に伴う健康への影響及び安全性について、問題はないとしている。

16 (参照 3 4、3 5) 【5New Zealand Gazette (2011)、6FSANZ (2011)】

17 1 1. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要

18 今般、添加物「二炭酸ジメチル」について、厚生労働省に添加物としての指定
19 及び規格基準の設定の要請がなされ、関係書類が取りまとめられたことから、食
20 品安全基本法 (平成 15 年 5 月 23 日法律第 48 号) 第 24 条第 1 項第 1 号の規定に
21 基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の要請がなされたものであ
22 る。
23

24 厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、
25 添加物「二炭酸ジメチル」について、「二炭酸ジメチルは果実酒及び清涼飲料水 (ミ
26 ネラルウォーター類を除く。以下この目において同じ。) 以外の食品に使用して
27 はならない。二炭酸ジメチルの使用量は、果実酒 (ぶどう酒を除く。) 及び清涼
28 飲料水にあってはその 1 kg につき 0.25 g 以下、ぶどう酒にあってはその 1 kg に
29 つき 0.20 g 以下でなければならない。」旨の使用基準を設定し、添加物としての
30 指定及び規格基準の設定の可否等について検討するとしている。(参照 1) 【第
31 680 回食品安全委員会諮問資料】

4 FSANZ の前身。

1 II. 安全性に係る知見の概要

2 添加物「二炭酸ジメチル」に関する安全性に係る知見について、DMDC を被験
3 物質とした体内動態に関する試験成績は提出されておらず、毒性に関する試験成
4 績は限られた情報しか提出されていない。

5 DMDC の、飲料への添加後の分解速度は温度に依存し、pH 2～6 においては
6 pH の影響はなく、7～8 時間以内にその全量が二酸化炭素とメタノールに加水分
7 解され、検出限界 (0.05mg/L) 未満になる。DMDC と飲料中成分が反応し種々の
8 CMC、MEC、MC、DMC といった反応生成物がいずれも微量生じるほか、DMC
9 が製造工程中の副生成物としても微量生成する。(参照 4、6、7、8)【概要書、
10 61Krefeld-Uerdingen (1979)、36 LANXESS 社内資料 (2011)、62LANXESS
11 (2011b)】

12
13 CO₂については、第 8 版食品添加物公定書解説書 (2007) によればでは、炭酸
14 飲料又はビールに容量比で液量の 3～4 倍の CO₂ が含まれており通常の炭酸飲料
15 中に 3～4 ガス容 (容量比で液量の 3～4 倍) 含まれ、また、CO₂ の水溶液 (炭酸
16 水、ソーダ水) は弱い酸味性を呈し、口腔粘膜を刺激し、かつ胃腸粘膜に軽度の
17 発赤を生じるほか、炭酸による鼻粘膜への弱い刺激があるものの、が薬理作用は
18 ほとんどなく、健全な個体にとってその影響は無視されうるとされている。また、
19 第 594 回食品安全委員会資料 (厚生労働省提出資料) によればおいて、通常の炭
20 酸飲料中の CO₂ の濃度は 1.5 L/ 500 mL であるとされている。(参照 3 8、3 9)

21 【64 食品安全委員会資料 (2007) 、追加 3 食品添加物公定書解説書 (2007) 】

22 以上を踏まえ、本専門調査会としては、通常の食習慣において炭酸飲料等から
23 摂取する CO₂ の量と比べ、DMDC 添加 (最大添加量 250 mg/L) により 飲料中に
24 生じる CO₂ の量 (250 mg/L DMDC 添加時の場合、0.045 L/ 500 mL 飲料⁵⁾ は
25 十分少ない小さいと考えられることから、CO₂ の安全性に係る知見に関する検討
26 は行わないこととした。

27 したがって、DMDC のほか、加水分解生成物であるメタノール、飲料中の成分
28 との反応生成物である CMC、MEC 及び MC 並びに副生成物等である DMC に関
29 する知見を併せ、総合的に添加物「二炭酸ジメチル」の安全性に関する評価を行
30 うこととした。

31 ただし、CMC については、本評価の対象は、指定等要請者より提出されたアミ
32 ノ酸の N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC) に係る試験成績に限定されているこ
33 とに留意するべきである。

事務局より：

⁵—指定等要請者は、DMDC の加水分解により DMDC の 65.7%の CO₂ が生成するとして、炭酸飲料 500 mL に添加した DMDC を添加 (250 mg/L) した場合、加水分解による CO₂ の生成量は 82.125 mg、体積に換算して 0.045 L (20℃, 1,013 hPa) と算出 (概要書、Bayer AG 社内資料 (1988)) (参照 4、1 1)。

第164回専門調査会での御議論を受け、現時点の本評価の対象は、指定等要請者より提出されたアミノ酸のカルボメトキシ化合物に係る試験成績に限定されていることを記載しました。厚生労働省に求めている補足資料が提出され次第、その内容により修正する可能性があります。

1

事務局より：（CO₂について）

DMDC に由来する CO₂ の量は、上記のとおり通常の食習慣における炭酸飲料に含まれる CO₂ の量と比べて少量であり、また、JECFA では、CO₂ について、CO₂ は天然代謝産物であり、かつ、ヒトは大気中から日常的に CO₂ にばく露されていることから、ADI を「特定しない」という安全性評価を行っています（1979年、1985年）。

なお、指定等要請者が提出した資料【64】を基に記述していますが、食品添加物公定書解説書（2007）には CO₂ の水溶液（炭酸水）中でも約4ガス容（約0.60 w/w%）程度の含有量であり、健全な個体にとってその影響は無視されうる旨の記述があります。

CO₂ の安全性は検討しないことよろしいでしょうか。その際の根拠はどうまとめるのがよいでしょうか。

事務局より：

第164回専門調査会での御議論を受け、食品添加物公定書解説書（2007）（追加3）、FDA（1988）の記載を反映し、CO₂ の安全性に係る知見に関する検討は行わない旨、追記しました。

事務局より：

第165回専門調査会での御議論を受け、食品添加物公定書解説書（2007）に由来する記述は「ガス容」という用語を使用しない記載としました。

佐藤専門委員：

修正しました。また、「炭酸による鼻粘膜への弱い刺激」については公定書解説書からの記載でしょうか。

事務局より：

「炭酸による鼻粘膜への弱い刺激」は公定書解説書の D-1249 ページのページ下から3行目「注1：本品は臭気はないが、水蒸気の存在下で炭酸となるので、鼻粘膜に弱い刺激を与える」の記述から記載しました。

佐藤専門委員：

了解いたしました。

1

事務局より：（メタノールについて）

メタノールについて、経口投与による反復投与毒性及び発がん性の試験成績は提出されておられません。JECFA（1991）やEFSA（2015）はDMDCに由来するメタノールの量や、通常の食習慣におけるメタノールの摂取量、ヒトの代謝能力等を考慮して安全性を評価していますが、本専門調査会ではどのように評価すべきでしょうか。

（※）参考

- ・DMDCに由来するメタノールの量の推計（指定等要請者による推計）
1.19 mg/kg 体重/日
- ・果汁飲料・ワイン等にはメタノールが12～680 mg/L含まれる【3、65、71】
- ・JECFA（1991）：DMDCの使用時に発生するメタノール濃度（最大120 mg/L）が種々の飲料中に含まれる濃度（最大230 mg/L）と類似しているかそれより低い（評価書案 p.13）、また、通常の食習慣のヒトは1,000～2,000 mg/日メタノールを代謝しているとしている。【31】
- ・FDA（1993）：一日摂取許容量（ADI） 7.1～8.4 mg/kg 体重/日（評価書案 p.14）【23】
- ・SCF（2001）：健康なヒトは1,500 mg/時、メタノールを問題なく代謝可能（評価書案 p.15）【34】
- ・EFSA（2015）：通常の食習慣によるメタノール摂取量（内因性のメタノールも含む）の推計として平均8.4～18.9 mg/kg 体重/日【35】

事務局より：

第164回専門調査会での御議論を受け、メタノールについては、毒性の試験成績の他、通常の食習慣における摂取量、ヒトの代謝能力等のヒトにおける知見を併せて評価するため、得られている知見については、「体内動態」、「ヒトにおける知見」、「一日摂取量の推計等」の項において整理しています。

2

（カルボメトキシ化合物（CMC）について）

宇佐見専門委員：

CMCについて、毒性が強い化合物と結合した場合の評価ができないのであれば、アミノ酸反応物についてのみ評価したということにした方が良いような気がします。

事務局より；

飲料中成分と反応して生じる種々の CMC について、個々の化合物の検出値は提出されておりませんが、飲料中で生成し、ヒトに吸収され、ヒトに対し安全性の懸念が示唆される物質は想定されるでしょうか。

JECFA (1991) 【31】は、DMDC はポリフェノール、タンニン、アミノ酸等と反応し反応生成物を生成する可能性があるとしていますが、特定の化合物に言及しているわけではありません。

EFSA (2015) 【35】は、アルコールや他の飲料中成分（アミン、糖、有機酸）との反応による主要な反応生成物は、MEC、MC 及び DMC であるとしています。

また、EFSA (2015) は、飲料中の食品添加物との反応について限られた情報しかないが、DMDC の反応性から反応の可能性はあるとするとともに、アスパルテームと反応物を生成するという報告（Exner (1993)）に着目しています。なお、ラット肝臓ホモジネートを用いた加水分解試験の知見（Schmidt (2000)）から、当該反応生成物が吸収されたとしても肝臓により速やかに代謝されるだろうとしています。

前述（p.15）のとおり、EFSA (2015) の評価では、上記の状況を踏まえ以下の Recommendations を付しています。本提案に対する指定等要請者の見解を確認する必要があるでしょうか。

提案（recommendations）：

- 不確実性を減らすために、DMDC とその使用が認められている飲料（例えば、赤ワイン、茶、リンゴ酒およびペリー酒）の成分及び同一飲料水で併用される可能性のある食品添加物との相互作用から生じる反応生成物の性状と量について、更なる情報を得る必要がある。
- これらの情報が得られなければ、また反応物質の生成を制限するために、他の食品添加物は DMDC が完全に分解した後に添加するべきである。

事務局より：

第 164 回専門調査会での御議論を受け、飲料中成分等との反応生成物の安全性に関する補足資料の提出を厚生労働省に依頼することとされましたので、最終的にはその回答を踏まえて、本評価の対象としたカルボメトキシ化合物の範囲を明確にしたいと思います。（現在、厚生労働省からの回答待ちです。）

1

事務局より：（MEC について）

MEC については、遺伝毒性の試験成績は提出されていませんが、反復投与毒性試験（最高用量においても毒性所見が認められない）や、DMDC 添加飲料の毒性試験（アルコール飲料に添加したものは反復投与毒性・発がん性併合試験のみ）

成績等は提出されています。遺伝毒性について、提出された試験成績や知見から、MEC のヒトでの吸収の有無等を考慮して、評価できますでしょうか。

なお、EFSA (2015) は、OECD QSAR Toolbox version 3.3.2 (2015)を用いて構造アラートがないと判断しています。

中江専門委員：

炭酸エチルメチル (MEC) の遺伝毒性について、遺伝毒性の有無が不明な場合、評価の方法はケースバイケースと考えますが、体内動態（代謝、吸収）、発がん性、曝露の量・マージンに係る情報が重要と考えます。また、遺伝毒性も発がん性も情報がない場合は、評価が困難ですが、この場合も、ADME と曝露の情報から判断せざるを得ないでしょう。

事務局より：

第 164 回専門調査会での御議論を受け、現在提出されている試験成績等からどのように評価するかについて、毒性のまとめの項 (122 ページ) において御議論をお願いします。

1

2

1 1. 体内動態

2 (1) 二炭酸ジメチル（DMDC）

3 DMDC の体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）に関する知見は認められなか
4 った。

5

6

1 (2) メタノール

事務局より：

経口投与以外の投与経路による知見について、添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」（2017年12月）と同様に参考資料として記述しております。

石井専門委員：

了解しました。結構です。

2

3 ① 内在性内因性のメタノール

事務局より：

第165回調査会の議論において、項目名「内因性のメタノール」について、表現を見直すこととされました。「内在性のメタノール」ではいかがでしょうか。

4

5 a. ヒト（WHO 環境保健クライテリア（EHC）（1997））

6 メタノールのばく露を受けていないヒトにおける尿中メタノール濃度は 0.3
7 ～2.61 mg/L（平均 0.73 mg/L）、呼気中濃度は 0.06～0.32 µg/L とされている。

8 健康人における 内在性の内因性メタノールの血液中濃度は 0.5 mg/L（0.02
9 mmol/L）とされ、果物、野菜又は発酵飲料等の食品からの摂取によりその濃度
10 が上昇する場合がある。

11 健康人又は中程度に葉酸が欠乏したヒトにおいては、メタノール蒸気を 260
12 mg/m³以下の量で吸入した場合又はメタノールを 20 mg/kg 体重以下の量で経
13 口摂取した場合でも、内在性の内因性ギ酸の量以上のギ酸の蓄積は起こらない。

14 通常、血液中のギ酸濃度は 0.07～0.4 mmol/L である。（Medinsky & Dorman
15 （1994））（参照 4 0）【68 WHO EHC196（1997）】

16

17 b. ヒト（NTP（2003））

18 アメリカ合衆国の一般市民を対象とした研究報告では、一般市民の血液中の
19 メタノール濃度は、3 mg/L 未満とされている。ヒト生殖リスク評価センター

20 （Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction： CERHR）
21 の専門家会議は、許容ばく露量を 25 mg/kg 体重/日と推定している。また条件
22 管理された臨床試験において、メタノールを吸入（260 mg/m³）したヒトの血
23 液中のメタノール濃度は 10 mg/L 未満であった。（参照 4 1）【追加 4 NTP
24 （2003）】

25

26 ② 吸収

27 a. 吸収（ヒト）レビュー（WHO EHC（1997））

メタノールは、経口摂取後、胃内の食物の有無にかかわらず、消化管より急速に吸収され、吸収のピークは30～60分後であった（Becker（1983））。

メタノールを経口摂取させた試験（71～84 mg/kg体重）では、血液中のメタノール濃度は摂取2～3時間後に47～76 mg/Lとなった。また、尿中のメタノール濃度は急速に上昇して摂取1時間以内にピークに達し、その後、指数関数的に低下して、13～16時間後には対照群の濃度にまで低下した。メタノール濃度の尿中/血液中比は、比較的一定で0.30であった。また、メタノールを経口摂取させた試験（2.4、4.0及び5.6 g）では、メタノールの半減期は約3時間となり、反応速度論的に1次反応により代謝され、血液中及び尿中のメタノール濃度が低下した（Leaf and Zatman（1952））。

メタノール10～20 mLを経口摂取させた試験では、摂取48時間後の血液中にメタノールは検出されず、尿中のギ酸濃度は摂取24時間以内に正常値となった。また、大量のメタノール（50 mL）を経口摂取させた試験では、摂取48時間後の血液中のメタノール濃度は250～1,200 mg/Lとなった。血液中のギ酸濃度は26～78 mg/Lに達し、尿中ギ酸濃度は540～2,050 mg/Lに上昇したが、24時間以内に20～500 mg/Lとなった。（Lund（1948a））（参照40、42）【68 WHO EHC196（1997）、追加11 Leaf and Zatman（1952）】

③ 分布

a. 分布（ヒト）レビュー（WHO EHC（1997））

メタノール中毒で死亡した患者の剖検例において、脳脊髄液、硝子体液及び胆汁で、血液中より高い高濃度のメタノールが検出された（Bennetら（1953））。血液中のメタノール濃度と硝子体液中のメタノール濃度の濃度比は0.82であり、各液間のエタノール濃度比の0.89と類似していた（Coe and Sherman（1970））。また、同様の剖検例において、脳、腎臓、肺及び脾臓で高濃度のメタノールが検出され、骨格筋、脾臓、肝臓及び心臓では低濃度のメタノールが検出された（Wu Chenら（1985））。（参照40）【68 WHO EHC196（1997）】

~~b.（参考資料）~~

以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、~~参考資料として記載する。~~

~~(a)~~ 分布（ラット）（特殊法人 新エネルギー総合開発機構（NEDO）⁶（1983））

Fischer344ラット（雄、各群5匹）に¹⁴Cメタノールを腹腔内投与（25、125、600、3,000 mg/kg）し、投与48時間後まで継時的に尾静脈より血液を採取して、血液中の¹⁴Cメタノールの放射活性を調べる試験が実施されている。

⁶ 現：国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）

1 その結果、血液中の放射活性のピークは、25 mg/kg投与群では投与1時間後、
2 125 mg/kg投与群及び600 mg/kg投与群では投与2時間後、3,000 mg/kg投与群
3 では投与6時間後に得られ、投与量の増加に伴う血液中への¹⁴Cメタノールの
4 移行の遅延が認められた。また、ピーク時の放射活性と比較して、投与48時間
5 後の各群の放射活性は、それぞれ平均19.6%、12.4%、8.53%及び52.2%に減少
6 した。（参照 4 3）【69 NEDO（1983）】

④ 代謝

a. 代謝（ヒト、ウサギ、イヌ及びサル）レビュー（Röe（1982））

7
8
9
10 Lund による1948年の報告では、メタノール摂取後24時間以内に死亡した
11 2名の患者の剖検例において、血液中のギ酸濃度は、14.8 mmol/L及び約23
12 mmol/Lであり、肝臓中のギ酸濃度は13.2 mmol/kg及び21.3 mmol/kgであっ
13 た（Lund（1948c））。Eriansonらによる1965年の報告では、一般病院から
14 透析の診療所への転院後まもなく、昏睡を伴う重篤なアシドーシスになり、
15 その後、呼吸障害に陥った2名の患者において、血液中のメタノール濃度は
16 0.275 g/L及び0.277 g/L、ギ酸濃度は14.8 mmol/L及び22.8 mmol/Lであった
17 （Eriansonら（1965））。

18 ウサギにメタノールを強制経口投与（3.9 g/kg体重）した場合、メタノール
19 は完全に酸化され、また、血液中にギ酸も認められなかった（Lund（1948a））。

20 イヌにメタノールを静脈内投与（2 g/kg体重）した場合、血液中のギ酸濃
21 度は最高で2.6 mmol/L又は3.2 mmol/Lとなり（Maloray and Stieren（1967）、
22 Rietbrockら（1966））、経口投与（1.7 g/kg体重又は1.9 g/kg体重）した場合、
23 血液中のギ酸濃度は8.7 mmol/L又は11 mmol/Lとなった（Lund（1948b））。

24 アカゲザルにメタノールを腹腔内投与（1 g/kg体重）した場合、メタノール
25 は37 mg/kg体重/時で代謝された（Makarら（1968））。また、ヒトで重篤
26 なアシドーシスが生じる平均的な時間である、投与18時間後までのメタノール
27 の代謝量は0.666 g/kg体重となり、アカゲザルにおいてもヒトと同様の代謝
28 量となった。

29 アカゲザルにメタノールを単回経口投与（3 g/kg体重）した場合、血液中の
30 ギ酸濃度は、投与約16時間後に最大7.5 mmol/Lとなった（McMartinら
31 （1975））。（参照 4 4、4 5、4 6）【72 Roe（1982）、追加9 Lund
32 （1948a）、追加10 Makarら（1968）】

b. 代謝（ほ乳類）レビュー（WHO EHC（1997））

33
34
35 体内に摂取されたメタノールは、ほとんど（96.9%）が肝臓において CO₂
36 に代謝されるが、未変化体として少量が腎臓から尿中（0.6%）に、又は肺から
37 呼気中に排泄される。ほ乳類の肝臓において、メタノールは、ホルムアルデヒ
38 ド、ギ酸そして CO₂ という連続的な酸化過程を経て代謝される。しかし、メタ

1 ノールに対する感受性を決定することになるギ酸の酸化速度には、大きな種差
2 が認められている (Rietbrock (1969)、Palese and Tephly (1975)、McMartin
3 ら (1977)、Eells ら (1981a, 1983))。

4 ほ乳類におけるメタノールのホルムアルデヒドへの酸化反応には、アルコー
5 ルデヒドロゲナーゼ (ADH) 及びカタラーゼの二種類の酵素が重要であり、霊
6 長類ではADHがこの反応を触媒する (Makar ら (1968)、Röe (1982))。一
7 方、霊長類以外の動物種ではカタラーゼがこの反応を触媒する。この酸化反応
8 を触媒する酵素が種間で違うにもかかわらず、メタノールからギ酸への代謝の
9 速さは、ヒト以外の霊長類及びラットで類似している (Tephly ら (1964)、Makar
10 ら (1968)、Noker ら (1980)、Eells ら (1981a, 1983))。

11 また、エタノールはメタノールに対するADHの競合基質として作用すること
12 から、エタノールによりメタノールの代謝を有意に阻害することが可能である。
13 (Jones (1987))。なお、ADHによる反応は、飽和性を持ち、メタノールの代
14 謝反応の律速の段階となる。

15 ホルムアルデヒドは、特異的なホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ (FDH)
16 を始めとする様々な酵素によりギ酸に酸化される。多くの動物種とヒトにおい
17 て、FDHの活性が肝臓及び脳等の組織で確認されている (Strittmatter and Ball
18 (1955)、Kinoshita and Masurat (1958)、Goodman and Tephly (1971))。
19 なお、この反応はpHに依存している。

20 霊長類を含む多くの動物種において、体内からのホルムアルデヒドの消失は、
21 半減期約1分という非常に短い時間で行われる (Rietbrock (1965)、McMartin
22 ら (1979))。ホルムアルデヒド溶液を摂取して中毒症状を発症したホルムアル
23 デヒド中毒患者において、摂取後30分以内に毒性を示す濃度である7~8
24 mmol/Lのギ酸が検出され、ヒトにおいてもホルムアルデヒドからギ酸へ急速に
25 代謝されることが確認されている (Eells ら (1981b))。また、ホルムアルデヒ
26 ドは中毒量のメタノールの摂取後も体液及び組織から検出されなかった
27 (Makar and Tephly (1977)、McMartin ら (1977, 1980a))。

28 哺乳類の体内では、ギ酸はテトラヒドロ葉酸依存性の代謝経路を介してCO₂
29 に酸化される (Meninsky and Dorman (1994))。このテトラヒドロ葉酸は食
30 事性の葉酸に由来し、ギ酸代謝の主要な決定因子である (McMartin ら (1975))。

31 この葉酸依存性のギ酸の酸化反応は、霊長類ではラットより約2倍遅い。この
32 酸化反応の速さの違いが、0.5 g/kg以上のメタノールの摂取時に認められたギ酸
33 の蓄積による霊長類の感受性を説明している (Tephly and McMartin (1984))。

34 また、霊長類及び葉酸を欠乏したげっ歯類のメタノール中毒において、ギ酸
35 は代謝性アシドーシスの原因とされている (McMartin ら (1975, 1977, 1980)、
36 Eells ら (1983)、Jacobsen and McMartin (1986)、Eells (1991)、Murray
37 ら (1991)、Lee ら (1994))。

38 さらに、すべての動物種において、血液中からのメタノールの代謝による消

1 失は、エタノールと比較すると遅い(Tephly and McMartin (1984) 、 Tephly
2 (1991))。 (参照 4 0) 【68 WHO EHC196 (1997) 】

3 4 c. 代謝（ほ乳類）レビュー（Skrzydowska (2003)）

5 ラットにおけるメタノールの酸化は、主にカタラーゼによって行われる。一
6 方、アカゲザル及びヒトにおけるメタノールの酸化はADHによって行われ、こ
7 のサルにおける酸化は著しく遅い（McMartinら（1980））。また、メタノールの
8 酸化率はADH活性と関連しており、遺伝的要因及び環境的要因（喫煙、栄養状
9 態及びエタノールの摂取状況）に依存している（Dohmenら（1996）、Lieber
10 (1994)）。

11 酸化されるギ酸の酸化速度量は、メタノール濃度と動物種により決定され、
12 ラットにおけるギ酸の代謝はサルにおける代謝より2倍速く（McMartin and
13 Maker (1977)）、その結果ラットにおいてギ酸は蓄積しないが、サル及びヒト
14 においては蓄積することになる。

15 テトラヒドロ葉酸依存性の代謝経路によるギ酸の酸化の速度は、肝臓のテト
16 ラヒドロ葉酸の量及び10-ホルミルテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼの活性
17 により決定されると考えられる。

18 ギ酸の酸化速度に関連する肝臓におけるテトラヒドロ葉酸の量に関する研究
19 によると、酸化速度が最も速いのはマウス（300 mg/kg/h）であり、ラットでは
20 テトラヒドロ葉酸の量は有意に低く、最高酸化速度は78 mg/kg/hであった
21 （Johlinら（1987））。また、サルでは、酸化速度は遅く（40 mg/kg/h）、ブタで
22 最も遅かった（~~2040~~ mg/kg/h）（Johlinら（1987）、Makarら（1990））。ヒト
23 の肝臓におけるテトラヒドロ葉酸の量を考慮すると、ヒトにおけるギ酸の酸化
24 速度はサルと同等と考えられる。ヒト及びサルにおける10-ホルミルテトラヒ
25 ドロ葉酸デヒドロゲナーゼの活性は、ラットにおける活性のそれぞれ26%及び
26 37%となるが（Johlinら（1987））、これはヒトの肝臓における本酵素の量の少
27 なさのためであると考察されている。（Johlinら（1989））。これらのことから、
28 ヒトやサルでは、テトラヒドロ葉酸の量が少ないことに加えて、10-ホルミル
29 テトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼの活性も低く、メタノール中毒の影響を受
30 けやすい動物種であると考えられている。

31 (参照 4 7) 【追加 1 Skrzydowska (2003)】

事務局より：

第165回専門調査会での御議論を受け、誤記等を修正しました。

32 33 d. —(参考資料)—

34 以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、参
35 考資料として記載する。

1 (a)—代謝（ラット）（NEDO（1984））

2 Fischer344ラット（雄、各群5匹）にメタノールを腹腔内投与（0、25、125、
3 600及び3,000 mg/kg体重）し、投与48時間後まで採血して、血液中の酸塩基平
4 衡関連指標（pH、CO₂分圧、ヘマトクリット値、アニオンギャップ並びに炭酸
5 水素イオン、ギ酸、乳酸、β-ヒドロキシ酪酸、葉酸、グルコース、尿素窒素、
6 ナトリウムイオン、カリウムイオン及び塩素イオンの濃度）を調べる試験が実
7 施されている。

8 その結果、3,000 mg/kg体重投与群において、投与48時間後まで血液中のギ酸
9 濃度の増加傾向が認められた。（参照 4 8）【70 NEDO（1984）】

11 (b)—代謝（サル）（NEDO（1984））

12 カニクイザル（雄、各群5匹）にメタノールを腹腔内投与（0、25、125、600
13 及び3,000 mg/kg体重）し、投与48時間後まで採血して、血液中の酸塩基平衡の
14 関連指標（pH、CO₂分圧、ヘマトクリット値、アニオンギャップ並びに炭酸水
15 素イオン、ギ酸、乳酸、β-ヒドロキシ酪酸、葉酸、グルコース、尿素窒素、ナ
16 トリウムイオン、カリウムイオン及び塩素イオンの濃度）を調べる試験が実施
17 されている。

18 その結果、3,000 mg/kg体重投与群において、投与30時間後をピークにして48
19 時間後まで、血液中のギ酸濃度の著明な上昇、ギ酸のAUC（血中濃度 - 時間曲
20 線下面積）値の著明な増加、さらに48時間後まで、血漿中のβ - ヒドロキシ酪
21 酸濃度の継時的で著明な上昇が認められた。一方、血液中のCO₂分圧及び炭酸
22 水素イオン濃度は、24時間後まで継時的に漸減したが、1匹に典型的な代謝性ア
23 シドーシスが認められた。（参照 4 8）【70 NEDO（1984）】

25 (c)—代謝（ヒト）（FDA（1998）及びSCF（2001））

26 FDA（1998）は、成人は有害な症状を発症することなく、メタノールを1,500
27 mg/時で代謝するとしている

28 SCF（2001）は、健常なヒトは生理的に問題なく、メタノールを1,500 mg/時
29 で代謝するとしている。（参照 1 8、2 4）【22FDA（1998）,34SCF（2001）】

事務局より：

第164回専門調査会での御議論を受け、追記しました。

FDA（1988）はLetter of A. J. Lehman, February 12,1963, in Food Additive
Petition No. 0A0043 (FAP0A0043) を参照していますが、現時点で原著を確認
できておらず詳細が不明のため、参考資料としています。

31 ⑤ 排泄

32 a. 排泄（霊長類及びラット）レビュー（WHO EHC（1997））

33 メタノールの体内での最初の代謝過程は、ホルムアルデヒドへの酸化であり、

次にギ酸となり尿中に排泄されるか、さらに酸化されてCO₂となり呼気中に排泄される。

ヒトにメタノールを経口摂取（50 mg/kg体重）させた場合、そのうちの2%のみが、肺及び腎臓から未変化体として排泄された（Leaf and Zatman（1952））。

低濃度のメタノールの経口摂取（<0.1 g/kg）（Leaf and Zatman（1952））又は吸入ばく露（102～300 mg/m³）（Sedivecら（1981））後のヒト体内からの排泄の報告では、血液中及び尿中のメタノール濃度から決定したメタノールの半減期は約2.5～3時間となり、速度論的に一次反応で排泄されたことを示している（Leaf and Zatman（1952）、Sedivecら（1981））。

高用量のメタノールを摂取した場合、排泄は飽和するようになり、その結果、非線形的な排泄の動態を示すことになる。治療を受けていないメタノール中毒症例において、メタノールの排泄速度は85 mg/L/時となり明らかに零次反応であり、エタノールの排泄速度の約半分（約半分の速度）で排泄された（Jacobsenら（1988））。また、別の2症例におけるメタノールの排泄速度は、30～50 mg/L/時であった（Kaneら（1968））。

ラットに [14C]メタノールを強制経口投与（1 g/kg体重）した場合、投与48時間後までに回収された¹⁴C放射活性率は89%となり、そのうち呼気中にCO₂として65%、尿中にメタノール及びギ酸としてそれぞれ3%が排泄され、組織中に4%が残留した。また、投与28時間後までのメタノールの酸化速度は25 mg/kg体重/時であった（Bartlett（1950a））。

ラット及びサルに [14C]メタノールを経口投与（1 g/kg体重）した場合、投与24時間後までには、75～80%が[14C]CO₂として、10～18%が未変化体として呼気中に排泄され、6～11%がメタノール又はギ酸として尿中に排泄された（Eellsら（1981, 1983））。

サル及びラットにメタノールを腹腔内投与（25、125及び600 mg/kg）した場合、両者のメタノールの排泄パターンは異なり、サルでは投与量の増加に伴い尿中メタノールの割合が増加する傾向があったが、ラットでは呼気中への排泄率が増加した。また、投与量に対する呼気中へのCO₂排泄量の割合は、ラットでサルよりも多かった（Katoh（1989））。（参照40、42）【68 WHO EHC196（1997）、追加11 Leaf and Zatman（1952）】

b. —(参考資料)—

以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、参考資料として記載する。

(a) —排泄（ラット）（NEDO（1983））

Fischer344ラット（雄、各群5匹）に[14C]メタノールを腹腔内投与（25、125、600、3,000 mg/kg体重）し、投与48時間後まで継時的に呼気、尿、糞便を採取

1 して、呼気中の $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ 及び $[^{14}\text{C}]$ メタノールの放射活性、尿中及び糞便中の
2 $[^{14}\text{C}]$ 放射活性を調べる試験が実施されている。

3 その結果、呼気中の $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ の排泄率は、25 mg/kg体重投与群では投与後0 -
4 6時間をピーク（平均62.61%）にして急速に減少し、125 mg/kg体重投与群では
5 0 - 6時間をピーク（平均43.96%）にして減少し、600 mg/kg体重投与群では12 -
6 24時間をピーク（平均22.98%）にして減少した。投与後0 - 48時間の累積排泄
7 率は、それぞれ平均75.50%、71.86%及び60.42%であった。3,000 mg/kg体重
8 投与群の投与48時間後まで生存した3匹について、呼気中への $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ の排泄量
9 は投与後6 - 12時間から直線的に増加し、投与後0 - 48時間の累積排泄率は平均
10 21.91%であった。また、呼気中の $[^{14}\text{C}]$ メタノールの排泄率は、25~600 mg/kg
11 体重投与群の各群とも、投与0 - 6時間をピーク（各平均1.37%、3.94%及び
12 5.20%）としてそれ以後は減少に転じ、投与後0 - 48時間の累積排泄率は、それ
13 ぞれ平均1.51%、4.57%及び10.81%であった。3,000 mg/kg体重投与群では投
14 与6 - 12時間から増加し、投与後0 - 48時間の累積排泄率は平均22.37%であり、
15 投与量の増加に伴った排泄率の増加が認められた。これらの結果から、 $[^{14}\text{C}]$ 放
16 射活性の呼気中の投与後0 - 48時間の累積排泄率は、25~600 mg/kg体重投与群
17 で平均71.23~77.01%、3,000 mg/kg体重投与群で平均44.28%となり、3,000
18 mg/kg体重投与群での呼気中への排泄率は著しく低下した。

19 一方、各投与群の尿中の投与後0 - 48時間の累積排泄率は、それぞれ平均
20 6.05%、6.82%、8.34%及び7.93%、糞便中の投与後0 - 48時間の累積排泄率は、
21 それぞれ平均2.68%、2.06%、2.44%及び0.57%となり、尿及び糞便中の合計累
22 積排泄率は平均8.50~10.78%と少なく、投与48時間後でこの経路での排泄がほ
23 ぼ完了していた。

24 以上の結果、NEDOは、各投与群の投与後0 - 48時間の呼気中、尿中及び糞便
25 中への合計累積排泄率は、平均85.75%、85.32%、82.01%及び52.51%であり、
26 CO_2 及びメタノールの排泄率の結果から、メタノール投与量の増加に伴い代謝
27 に飽和と遅延が生じると考察している。（参照43）【69 NEDO（1983）】
28
29

1 (3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)

2 ① 吸収

3 N-CMCの体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

5 ② 分布

6 N-CMCの体内動態 (分布) に関する知見は認められなかった。

8 ③ 代謝

9 a. 代謝 (ラット) (Bayer AG 社内資料 (Schmidt (1978)))

10 約20匹のラット (系統不明、雄) より得られた新鮮な肝臓ホモジネート (5
11 mL/g肝臓) 5 mLに、N-カルボメトキシプロリン (N-CMP) 溶液又はN-カルボ
12 メトキシアラニン (N-CMA) 溶液 (各100 µg/0.1mL) 0.1 mLを添加し、37°C
13 の温浴中で24時間まで反応させ、N-CMP又はN-CMAの残存量をGCで分析する
14 試験 (I)、及び同肝臓ホモジネート (5 mL/g肝臓) 又は上記ラットより得られ
15 た新鮮な腎臓ホモジネート (5 mL/0.5 g腎臓) に、N-CMP溶液 (100 µg/0.1mL)
16 を添加し、37°Cの温浴中で48時間まで反応させ、N-CMPの残存量をGCで分析
17 する試験 (II) が実施されている。

18 その結果、試験 (I) では肝臓ホモジネートにおいて、温浴30分後ではN-CMP、
19 N-CMAともに明らかな分解は認められず、温浴4時間後もN-CMPの分解はほと
20 んど認められなかったが、N-CMAの残存率は40%であった。温浴24時間後のN-
21 CMP及びN-CMAの残存率はそれぞれ40%及び14%であった。

22 試験 (II) では肝臓ホモジネートにおいて、温浴24時間後及び48時間後のN-
23 CMPの残存率はそれぞれ31%及び15%であった。また、腎臓ホモジネートにお
24 いて、温浴24時間後及び48時間後のN-CMPの残存率は、それぞれ11%及び25%
25 であった。(参照 4 9) 【73 Schmidt (1978)】

27 b. 代謝 (ヒト及びブタ) (Bayer AG 社内資料 (Rauenbusch (1974)))

28 ブタ肝臓由来酵素混液 (窒素換算8.96 mg/mL)、ブタ腎臓由来酵素混液 (窒
29 素換算5.05 mg/mL)、ヒト肝臓由来酵素混液 (窒素換算4.86 mg/mL) 又はヒト
30 腎臓由来酵素混液 (窒素換算2.48 mg/mL) 0.5 mLに、0.05 MのN-カルボメト
31 キシ化された各アミノ酸 (N-CMC-AA⁷) 溶液0.5 mLを添加し、37°Cの温浴中
32 で20時間反応させ、反応液をろ紙電気泳動して、ニンヒドリン染色を行い、加

⁷ なお、実験に用いた N-CMC-AA は次のとおり ; カルボメトキシグルタミン、カルボメトキシグルタミン酸、ジカルボメトキシリシン、カルボメトキシアルギニン、ジカルボメトキシオルニチン、カルボメトキシヒスチジン、カルボメトキシグリシン、カルボメトキシアラニン、カルボメトキシバリン、カルボメトキシロイシン、カルボメトキシイソロイシン、カルボメトキシセリン、カルボメトキシルスレオニン、カルボメトキシシステイン、ジカルボメトキシシステイン、カルボメトキシジシステイン、カルボメトキシメチオニン、カルボメトキシチロシン、カルボメトキシトリプトファン、カルボメトキシフェニルアラニン、カルボメトキシプロリン、カルボメトキシヒドロキシプロリン

1 水分解後のアミノ酸を検出する試験が実施されている。

2 その結果、概して脂肪族N-CMC-AA⁸は、ヒト及びブタの肝臓及び腎臓由来酵
3 素混液において速やかに加水分解されたが、カルボメトキシトリプトファン及
4 びカルボメトキシヒドロキシプロリンは加水分解されなかった。

5 カルボメトキシアルギニンヒト肝臓及び腎臓由来酵素混液で、カルボメト
6 キシヒスチジン及びカルボメトキシチロシンはヒト肝臓由来酵素混液で、ジカ
7 ルボメトキシリジン及びジカルボメトキシシステインはヒト腎臓加水由来酵素
8 混液で、カルボメトキシトレオニンはブタ肝臓由来酵素混液で、それぞれ加水
9 分解されなかった。(参照 5 0) 【74 Rauenbusch (1974)】

10
11 ④ 排泄

12 a. 排泄 (ラット) (Bayer AG 社内資料 (Schmidt (1978)))

13 Wistarラット (雌) にN-CMP又はN-CMAを経口投与 (それぞれ0.5、1、
14 2、4 mg/動物⁹) し、投与後48時間まで採取した尿中のN-CMP及びN-CMAを
15 メチルエステル化してGCで分析する試験が実施されている。

16 その結果、N-CMA について、4 mg/動物投与群では、投与後0～22時間で
17 55%、22～48時間で1%程度が未変化体として尿中排泄された。なお投与量の
18 減少に伴い、未変化体での尿中排泄率も低下した。N-CMPについて、4 mg/
19 動物投与群では、投与後0～22時間で49%、22～48時間内に5%程度が未変化
20 体として尿中排泄された。なお、投与後0～22時間で、2 mg/動物投与群では
21 63%及び53%、1 mg/動物投与群では45%及び47%、0.5 mg/動物投与群では
22 43%及び45%が、それぞれ未変化体として尿中排泄されたが、投与量の減少
23 に依存した排泄率の低下は認められなかった。

24 Schmidtは、N-CMPまたはN-CMAをラットに経口投与した場合、未変化
25 体として速やかに腎臓より排泄されたとしている。(参照 4 9) 【73 Schmidt
26 (1978)】

8 カルボメトキシングルタミン、カルボメトキシングルタミン酸、カルボメトキシグリシン、カルボメトキシアラ
ニン、カルボメトキシバリン、カルボメトキシロイシン、カルボメトキシイソロイシン、カルボメトキシセ
リン、カルボメトキシメチオニン

9 原著によると、0.5 mg/動物 = 3.3 mg/kg 体重

1 (4) 炭酸エチルメチル (MEC)

2 ① 吸収

3 MEC の体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

5 ② 分布

6 MEC の体内動態 (分布) に関する知見は認められなかった。

8 ③ 代謝

9 a. 代謝 (ブタ) (Bayer AG 社内資料 (Rauenbusch (1974)))

10 希釈したブタ肝臓由来酵素混液 (窒素換算 8.96 mg/mL)、ブタ腎臓由来酵素
11 混液 (窒素換算 5.05 mg/mL) 又はブタ肝臓ホモジネートを、37°Cに設定された
12 滴定装置を用いて 0.1N 水酸化ナトリウム溶液で pH 8.0 に調整後、0.01 M の
13 MEC 溶液又は DMC 溶液 10 mL を添加して、水酸化ナトリウムの消費から
14 MEC 又は DMC の加水分解速度を調べる試験が実施されている。

15 その結果、ブタ肝臓由来酵素混液による MEC の加水分解は、ブタ肝臓ホモ
16 ジネートによる DMC の加水分解より速やかであることが示された。(参照 5
17 0) 【74 Rauenbusch (1974)】

19 ④ 排泄

20 MEC の体内動態 (排泄) に関する知見は認められなかった。

21
22

1 (5) カルバミン酸メチル (MC)

2 ① 吸収

3 MC の体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

4
5 ② 分布

6 a. 分布 (マウス及びラット) (Ioannou ら (1988))

7 B6C3F₁ マウス (雄、各群 3 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 3 匹) に、
8 MC で約 20 μCi/kg 体重に希釈した[カルボニル-¹⁴C]MC 含有 MC (約 20 μCi/kg
9 体重) を単回経口投与 (400 mg/kg 体重) (I) 又は単回尾静脈内投与 (400 mg/kg
10 体重) (II) し、血液・肝臓・腎臓・皮膚・脂肪組織・筋肉における分布率 (投
11 与量当たりの各組織中の量。以下同じ。) を調べる試験、及び経口投与 (400
12 mg/kg 体重/日) (III) を 1、3 又は 9 日間実施し、最終投与日の 1、3 又は 9 日
13 後に同様の組織等における分布率を調べる試験が実施されている。

14 各試験における結果は以下のとおりである。

15 その結果、

16 <単回経口投与試験 (I) >においては、

17 24 時間後の

18 表 4 MC 経口投与 (400 mg/kg 体重) 24 時間後の MC の組織中分布率及び組織中
19 MC 量/血液中 MC 量の比 (組織/血液比)

		血液	肝臓	皮膚	脂肪組織	筋肉	合計
マウス	組織中分布率 (%)	3.0	1.9	6.5	1.8	18.9	32.1
	組織/血液比		1.02	1.02	0.46	1.02	
ラット	組織中分布率 (%)	9.0	3.5	14.9	2.1	50.4	79.9
	組織/血液比		0.85	0.83	0.17	0.90	

20 血液、肝臓、皮膚、脂肪組織及び筋肉中の分布率は、ラットではそれぞれ平均
21 9.0%、3.5%、14.9%、2.1%及び 50.4%、マウスではそれぞれ平均 3.0%、
22 1.9%、6.5%、1.8%及び 18.9%、上記の総分布率は、ラットで平均 79.9%、マ
23 ウスで平均 32.1%となり、

24 表 4 のとおり、MC の組織中分布率には、マウスとラットの間で種差が認め
25 られた。一方、肝臓・皮膚及び筋肉の組織中 MC 量/血液中 MC 量の比率が、両
26 種とも肝臓・皮膚及び筋肉で類似していたことから、組織中の量には差が見ら
27 れるものの、両種における MC の組織移行性はほぼ同等であると考えられた。

28 内濃度においては違いが見られるものの、両種における MC の組織移行性は
29 同等であることが示された。両種の MC の分布は類似していることが示された。

1 ＜静脈内投与試験 (II)＞

2

3

表 5 投与後の MC の経時的組織中分布率

	<u>投与後</u>	<u>血 液</u> <u>(%)</u>	<u>肝 臓</u> <u>(%)</u>	<u>皮 膚</u> <u>(%)</u>	<u>脂肪組</u> <u>織 (%)</u>	<u>筋 肉</u> <u>(%)</u>	<u>腎 臓</u> <u>(%)</u>
<u>マウス</u>	<u>15 分</u>	<u>5.1</u>	<u>4.7</u>	<u>13.4</u>	<u>4.2</u>	<u>53.8</u>	<u>1.1</u>
	<u>2 時間</u>	<u>5.7</u>	<u>4.1</u>	<u>14.6</u>	<u>5.7</u>	<u>54.8</u>	<u>1.5</u>
	<u>6 時間</u>	<u>1.7</u>	<u>1.6</u>	<u>4.3</u>	<u>1.0</u>	<u>45.7</u>	<u>0.5</u>
	<u>24 時間</u>	<u>2.6</u>	<u>1.4</u>	<u>4.6</u>	<u>1.5</u>	<u>14.9</u>	<u>0.5</u>
	<u>72 時間</u>	<u>2.0</u>	<u>0.2</u>	<u>0.5</u>	<u>0.1</u>	<u>1.3</u>	<u>0.1</u>
<u>ラット</u>	<u>15 分</u>	<u>6.0</u>	<u>3.4</u>	<u>14.8</u>	<u>3.9</u>	<u>52.6</u>	<u>0.9</u>
	<u>2 時間</u>	<u>8.6</u>	<u>3.5</u>	<u>14.1</u>	<u>1.3</u>	<u>45.9</u>	<u>0.8</u>
	<u>6 時間</u>	<u>6.3</u>	<u>3.2</u>	<u>10.8</u>	<u>0.7</u>	<u>44.5</u>	<u>0.7</u>
	<u>24 時間</u>	<u>5.7</u>	<u>2.6</u>	<u>10.8</u>	<u>1.7</u>	<u>37.6</u>	<u>0.6</u>
	<u>72 時間</u>	<u>4.0</u>	<u>1.7</u>	<u>7.4</u>	<u>1.3</u>	<u>26.1</u>	<u>0.4</u>

4 ~~においては、投与 15 分後の兩種間の分布率は、血液・肝臓・腎臓・皮膚・筋~~
5 ~~肉及び脂肪組織中で類似し、筋肉中で最も高かった（ラット平均 52.6%、マウ~~
6 ~~ス平均 53.8%）。肝臓中では、ラットで投与 2 時間後、マウスで投与 15 分後を~~
7 ~~ピークとし、皮膚・筋肉・腎臓ではラットで投与 15 分後、マウスで投与 2 時間~~
8 ~~後をピークにし、ラットの血液中では投与 2 時間後をピークとしてそれぞれ低~~
9 ~~下し、ラットの血液中では投与 2 時間後及び 24 時間後、ラットの脂肪組織中で~~
10 ~~投与 15 分後及び 24 時間後、マウスの脂肪組織中で投与 2 時間後及び 24 時間~~
11 ~~後にそれぞれピークを有する二峰性曲線で低下した。投与 72 時間後のマウス~~
12 ~~では、肝臓・皮膚・脂肪組織及び筋肉中で投与 15 分後の分布率の 5%未満まで~~
13 ~~低下し、特に筋肉中で急速に低下した。一方~~

14 表 5 に示されているとおり、マウスの筋肉においては、投与後 72 時間の分
15 布率は 1.3%であった。一方、ラットの筋肉においては、投与後 72 時間の分布
16 率は 26.1%であった。また、マウスにおいては、MC に由来する放射活性の各
17 組織の合計量は投与後 72 時間には 5%未満となったが、投与 72 時間後のラッ
18 トでは、脂肪組織を除いた組織でラットにおいては、40%以上がを超えて残存
19 していた残留し、投与 10 日後にはこれら全ての組織等で 6%未満に低下した。

20 また、投与 15 分後から 25 時間後の各時点における組織の放射活性は、マウ
21 ス、ラットともに未変化体に由来していた。

22 ＜反復経口投与試験 (III)＞においては、

23 マウスでは、繰り返し投与にかかわらず組織内での蓄積はほとんどなかつ
24 たものの、ラットにおいては、9 回反復投与後 1 日後のラット各組織中の MC
25 分布量は、単回投与後 1 日後の量の 2~8 倍であった以上が蓄積していた。（参

1 照 5 1) 【79 Ioannou ら (1988)】

事務局より：

第 165 回専門調査会での御議論において、Ioannou らの文献に、評価書案には記載していないものの、MC の体内動態・毒性の議論の上で参考となる情報があるのではないかと御指摘を受け、各試験で認められた放射活性が未変化体に由来するのか、代謝物に由来するのか、文献中の記載を基に整理しています。追記の要否も含め、御検討をお願いいたします。

また、試験結果について表にまとめることもできますが、文章による記載と表による記載、どのような記載とすることがよいか御検討いただければと存じます。

松井専門委員：

「分布率」は意味が不明瞭なので、本文での意味を記載してはどうでしょうか。

試験 I について、「両種の MC の分布は臓器重量あたりで類似」も意味が不明瞭と思います。

試験 II について、「投与 6 時間後を境に急速に」は誤記と思います。

試験 III について、マウスでは、繰り返し投与にかかわらず生体濃縮はほとんどなかったこと、ラットにおいても、投与中止 9 日後以内に、すべての組織において蓄積した放射活性の 90%は消失したことは記載してはどうでしょうか。

頭金専門委員：

上記のとおり修正しました。Ioannou らの論文での考察を「排泄」の項に追記しました。

事務局案のように、表と文章による記載が適切と思います。

石井専門委員：

頭金専門委員の案に賛同いたします。言葉遣いを若干修正いたしました。

2 b. (参考資料)

3 以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、参
4 考資料として記載する。

5
6
7 (a) 分布 (ラット) (Boyland and Papadopoulos (1952) (JECFA (1991)
8 で引用)

9 ラット (系統、雌雄不明) に、MC を腹腔内投与 (500 mg/kg 体重又は 1,000
10 mg/kg 体重) し、投与後 144 時間後まで血液、肺及び肝臓における MC 濃度

1 を調べる試験が実施されている。

2 その結果、MC は両投与量の個体において、投与後 1 時間後には血液、肺
3 及び肝臓に検出された。一方、これらの組織等に分布した MC は投与後 120
4 時間後まで残留し、~~その消失時間は長く~~消失半減期は 24 時間であった。(参
5 照 1 4、5 2) 【31JECFA (1991)、75 Boyland and Papadopoulos (1952)】

石井専門委員：

若干の修文をいたしました。

事務局より：

【81 Lawson ら (1973)】は、MC については肝臓・腎臓とも有意な放射活性の
取り込みが認められず、カルバミン酸エチルが主体となる論文のため記述して
おりません。

頭金専門委員：

他の臓器においても取り込みは認められなかったのでしょうか。どの臓器でも
取り込みが認められないのであれば、記述は不要と思います。一方、他の臓器で
の取り込みが認められているときは記載した方がよいと思います。

石井専門委員：

了解しました。結構です。

事務局より：

肝臓、肺及び腎臓から DNA が抽出されており、以下のような知見が認められて
います。記載の要否について御検討をお願いします。

○ 分布 (マウス) (Lawson ら (1973))

Crackenbush マウス (雄、8 匹) に [¹⁴C] MC を生理食塩液で溶解して腹腔内
投与 (10 mg (6 μCi)) し、投与後 3、6、9、12 又は 24 時間の時点で安楽死さ
せ、肝臓、肺及び腎臓から DNA を抽出し、放射活性を調べる試験が実施されて
いる。

その結果、肝臓について、放射活性は低く、速やかに低下したが投与後 24 時
間の時点でも検出可能であった。腎臓について、放射活性は 6~9 時間の間に最
大値に達し、投与後 24 時間の時点でも検出可能であった。肺において、放射活
性はほとんど検出されなかった。

Lawson らは、カルバミン酸エチル、カルバミン酸プロピル及びカルバミン酸ブ
チルの結果と比較し、カルバミン酸エチルのみで、肝臓及び腎臓において有意な

放射活性が検出され、MC の検出値はカルバミン酸エチルと比較して低かったとしている。【81】

頭金専門委員：

分布についてカルバミン酸エチルと比較することに特段の意味はないと思われるので、記載は不要と思います。

石井専門委員：

頭金専門委員の御意見に賛同いたします。

③ 代謝

a. 参考資料

以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、参考資料として記載する。

(a) 代謝 (マウス) (Williams ら (1971) (JECFA (1991) で引用))

C57BL マウス (雄、各群 12 匹) に、 $[^3\text{H}]$ MC 含有 MC を投与 (投与経路不明、375 mg/kg 体重) 又はアクチノマイシン D 投与後に $[^3\text{H}]$ MC 含有 MC (~~375 mg/kg~~) を投与 (投与経路不明、375 mg/kg 体重) し、投与後 24 時間までの各時点に肝臓を採取して RNA を抽出し、放射活性から $[^3\text{H}]$ MC の RNA への取り込みを調べる試験が実施されている。

その結果、 $[^3\text{H}]$ MC の RNA への取り込みは投与 18 時間後に最大となったが、アクチノマイシン D の存在により $[^3\text{H}]$ MC の RNA への取り込みは遅延した。(参照 1 4、5 3) 【31JECFA (1991)、80 Williams ら (1971)】

頭金専門委員：

代謝の参考資料ではないでしょうか。

事務局より：

第 164 回専門調査会での御議論を踏まえ、記載場所を変更しました。投与方法については injection としか記載がありませんが、カルバミン酸エチルの肝臓及び肺の RNA への取り込みに関する先行研究として参照されている Boyland and Williams (1969) (追加 5) では、腹腔内投与されています。

④ 排泄

a. 排泄 (ラット) (BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987)) (JECFA (1991) で引用))

Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に MC を単回強制経口投与 (1,000 mg/kg 体重) 又は連続 7 日間強制経口投

1 与 (800 mg/kg 体重/日) し、24 時間尿を単回投与では投与後 3 日間、連続投
 2 与では 7 日間採取して、尿中に排泄された MC を GC で分析する試験が実施
 3 されている。

4 その結果、MC の未変化体の尿中排泄率は、単回投与群については、投与
 5 後 3 日間の合計で Wistar ラットでは平均 16.2%、Fischer344 ラットでは平
 6 均 15.5% となり、腎臓からの MC の排泄について両系統間に差は認められな
 7 かった。一方、7 日間投与群については、両系統とも日数の経過と共に漸増し、
 8 7 日後の 24 時間尿での尿中排泄率は Wistar ラットでは平均 30.0%、
 9 Fischer344 ラットでは平均 32.0% に達した。なお、MC の 1 日尿中排泄率は、
 10 Fischer344 ラットと比較して Wistar ラットで投与開始 5 日後まで各採取日
 11 ともわずかに高かった。

12 JECFA (1991) は、この僅かな排泄率の違いを、これら 2 系統のラットに
 13 おける肝毒性反応の差の原因であると解釈している。(参照 1 4、5 4) 【31
 14 JECFA (1991)、77 Schmidt and Schmidt (1987)】

15
 16 b. 排泄 (マウス及びラット (Ioannou ら (1988) (JECFA (1991) で引用))

17 B6C3F₁ マウス (雄、各群 3 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 3 匹)
 18 に、MC で約 20 μ Ci/kg 体重に希釈した [カルボニル-¹⁴C]MC (約 20 μ Ci/kg 体
 19 重) 含有 MC を経口投与 (40、400 及び 1,000 mg/kg 体重) し、投与後 24
 20 時間の尿中及び糞便中の放射活性による排泄率並びに呼気中の CO₂ 及び揮発
 21 性物質の放射活性によりる排泄率を調べる試験 (I) が実施されている。また、
 22 同放射性 MC を尾静脈内投与 (0.4 及び 400 mg/kg 体重) し、投与後 72
 23 時間の尿及び糞便中の放射活性による排泄率並びに呼気中の CO₂ 及び揮発性
 24 物質の放射活性によりる排泄率を調べる試験 (400 mg/kg 体重) (II)、また、
 25 CO₂ としての排泄率の継時的変化を調べる試験 (0.4 及び 400 mg/kg 体重)
 26 (III) が実施されている。

27 各試験の結果は次のとおりである。その結果、
 28 <経口投与試験 (400 mg/kg 体重) (I) >の

29 投与 24 時間後までの投与後 0~24 時間の CO₂ としての排泄率は、マウス
 30 で平均 51.5%、ラットで 6.9% であった。また、揮発性物質としての排泄率は
 31 マウスで平均 3.4%、ラットで 0.5% であり、ラットよりマウスの呼気中で両
 32 物質の排泄率がラットよりマウスでより高かった。一方、尿中への MC の排
 33 泄率は、マウスで 11.1%、ラットで 12.9%、糞便中へは、マウスで 0.2%、ラ
 34 ットで 0.2% とそれぞれ同等であった。なお、尿中で放射活性を示した物質の
 35 約 90% は未変化体、8~9% は代謝物、微量 (2%) は二次代謝物であり、糞便
 36 中では未変化体のみが認められ、揮発性物質中では専ら未変化体が認められ
 37 た。

38 <経口投与 (40 及び 1,000 mg/kg 体重) 群 (I) 及び静脈内投与 (400 mg/kg

1 体重) 群 (II) >

2 における投与後 0~72 時間の尿中及び糞便中への累積排泄率は、マウス、
 3 ラット兩種ともにそれぞれ尿中で 20%未満、糞便中で 4%未満であり、投与
 4 量による違いはこれらの排泄物中で認められなかった。一方、マウス、ラット
 5 ともに揮発性物質としての排泄率は、経口投与の 2 投与群より静脈内投与群
 6 で 3~4 倍高かった。なお、静脈内投与 (400 mg/kg 体重) 群 (II) において、
 7 尿中で放射活性を示した物質の約 90%は未変化体、8~9%は代謝物、微量(2%)
 8 は二次代謝物であり、糞便中では未変化体のみが認められ、揮発性物質中
 9 は専ら未変化体が認められた。

10 < 静脈内投与群 (0.4 及び 400 mg/kg 体重) (III) >

11 においては、投与量に 1,000 倍の違いがあるにも関わらず、マウス、ラッ
 12 ト兩種ともに CO₂ への代謝に影響は認められず、兩種ともに時間依存的に直
 13 線的に代謝が認められる MC 投与 24 時間後までの代謝率を比較すると、ラ
 14 ットよりマウスで 6 倍速く MC から CO₂ に代謝されており、なかった。また、
 15 Ioannou らは、MC から CO₂ への代謝率について、MC の投与 48 時間後
 16 にはマウスで約 70%、ラットで約 18%が CO₂ として排泄されたとしている。

17
 18 Ioannou らは、前掲の分布に関するデータ (36 ページ) 及び排泄に関する
 19 データにおいて、マウスではラットよりも MC が CO₂ として多く排泄され、
 20 組織中の分布率にも違いが見られていることから、この違いによりラットが
 21 MC の毒性に対してより感受性が高いことの大部分を説明できるとしている。

22 (参照 1 4、5 1) 【79 Ioannou ら (1988)、31 JECFA (1991)】

事務局より：

第 165 回専門調査会での御議論において、Ioannou らの文献に、評価書案には記載していないものの、MC の体内動態・毒性の議論の上で参考となる情報があるのではないかと御指摘を受け、各試験で認められた放射活性が未変化体に由来するのか、代謝物に由来するのか、文献中の記載を基に整理しています。追記の要否も含め、御検討をお願いいたします。

頭金専門委員：

考察については上記のような記載でよいと思います。

石井専門委員：

これで結構です。

23
 24 c. (参考資料)

25 以下の知見については、経口以外の投与経路によるものであることから、
 26 参考資料として記載する。

(a) 排泄 (ラット) (Boyland and Papadopoulos (1952))

ラット (系統、雌雄不明、4 匹) に MC を腹腔内投与 (500 mg/kg 体重) し、尿中の MC の排泄率を調べる試験が実施されている。

その結果、MC の投与後 24 時間後までの尿中排泄率は 4.9~9.8%であった。

Boyland and Papadopoulos は、この排泄率は、体内の水分が投与後 24 時間で尿に排泄される割合と同等であったことから、MC は腎臓において MC は濃縮されないとしている。(参照 5 2) 【75 Boyland and Papadopoulos (1952)】

(b) 排泄 (ラット) (Boyland and Nery (1965) (JECFA (1991) で引用))

ラット (系統不明、雌、6 匹) に MC を単回腹腔内投与 (1.0 g/kg 体重) 又はラット (系統不明、雌、3 匹) に N-ヒドロキシカルバミン酸メチル (N-OH MC) を単回腹腔内投与 (0.4 g/kg 体重) し、24 時間尿を初日及び 2 日目に採取し、両日の尿中排泄率を調べる試験が実施されている。

その結果、MC 投与群の尿中には、未変化体として初日及び 2 日目に、それぞれ投与量の平均 3.3%及び 4.9%が排泄され、N-OH MC として、それぞれ平均 0.008%及び 0.06%が排泄された。

一方、N-OH MC 投与群の尿には、MC として初日及び 2 日目に、それぞれ平均 4.1%及び 5.7%が排泄され、未変化体の N-OH MC として、それぞれ平均 29%及び 3.9%が排泄された。

JECFA (1991) は、これらの結果から体内で MC の N-ヒドロキシル化が生じるとともに、脱ヒドロキシル化も生じることを示しているとしている。(参考 1 4、5 5) 【31 JECFA (1991)、76 Boyland and Nery (1965)】

⑤ 代謝等の系統差

事務局より：

以下の試験について、2. 毒性 (5) カルバミン酸メチル (MC) の「反復投与毒性」(ページ) 又は「一般薬理試験」(117 ページ) の項に移動させています。他の項目に移動することを含め、評価書案のどの項に記載することが適切か、MC の毒性の議論の後、御検討をお願いする予定です。

~~a. 代謝酵素活性等の影響における系統差 (ラット) (BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) (JECFA (1991) で引用)))~~

~~Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に MC を 1 日 1 回連続 7 日間強制経口投与 (0 (対照群)、800 mg/kg 体重/日) し、投与終了後、肝臓ホモジネート上清中のシトクロム P450 依存性モノオキシゲナーゼ (biphenyl-4-hydroxylase (BPH-4-OH) (無処理群のみ)、7-ethoxycoumarin deethylase (EOD) 及び aldrin epoxidase (ALD)) 及び epoxide~~

1 ~~hydrolase (EH) の活性並びに細胞質中の GSH-transferase (GSH-T) の活性~~
2 ~~を測定する試験が実施されている。~~

3 ~~その結果、無処置群においては、Wistar ラットと比較して Fischer344 ラットで、~~
4 ~~BPH-4-OH の活性が平均で 4 倍高く、また ALD の活性も約 50% 高かった。一方、~~
5 ~~EH 及び GSH-T の活性はそれぞれ約 25% 及び約 50% 低かった。無処置群と 7 日間~~
6 ~~投与群との比較においては、Wistar ラットでは、7 日間投与群は、無処置群に対し~~
7 ~~て EOD、EH 及び GSH-T の活性が、それぞれ約 70%、約 50% 及び約 20% 高かつ~~
8 ~~た。Fischer344 ラットでは、7 日間投与群は、無処置群に対して EH の活性が約~~
9 ~~10% 高く、ALD 及び GSH-T の活性がそれぞれ約 60% 及び約 10% 低かった。(参照~~
10 ~~14、51) 【31 JECFA (1991)、77 Schmidt and Schmidt (1987)】~~

11
12 ~~b. 代謝等の系統差 (ラット) (Bomhard ら (1989))~~

13 ~~Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に~~
14 ~~MC を 7 日間強制経口投与 (0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日) し、~~
15 ~~投与終了後に血漿中酵素 (ALT¹⁰ 及び AST¹¹) の活性及び肝重量の測定並びに~~
16 ~~病理組織学的検査を実施する試験 (I)、MC を 7 日間強制経口投与 (800 mg/kg~~
17 ~~体重/日) し、投与開始後 1、3、5、7 日目に採尿して、尿中に排泄された MC~~
18 ~~を GC で分析するとともに、投与終了後に肝臓ホモジネート上清中の酵素 (EOD、~~
19 ~~ALD、EH 及び GSH-T) の活性を測定する試験 (II) が実施されている。~~

20 ~~その結果、試験 I において、血漿中 ALT 及び AST の活性については、Wistar~~
21 ~~ラットでは投与による影響は認められなかったが、Fischer344 ラットでは用量~~
22 ~~依存的に上昇し、500 mg/kg 体重/日以上 の投与群で AST が、250 mg/kg 体重/~~
23 ~~日以上 の投与群で ALT がそれぞれ有意に上昇した。肝重量については、Wistar~~
24 ~~ラットではわずかであるが用量依存的な減少が認められ、Fischer344 ラットで~~
25 ~~は減少が認められた。Wistar ラットでは認められなかったが、Fischer344 ラッ~~
26 ~~トでは用量依存的な肝障害が認められた。500 mg/kg 体重/日以上 の投与群にお~~
27 ~~いて、単細胞壊死及び好塩基細胞質内封入体の存在の特徴的な発現が認められ~~
28 ~~た。試験 II において、MC の尿中排泄については、Fischer ラットは Wistar ラ~~
29 ~~ットと比較して、投与開始後 1、3 及び 5 日目の排泄率は低かったが、投与開始~~
30 ~~後 7 日目の排泄率は両系統で同様であった。また、肝臓ホモジネート上清中の~~
31 ~~酵素 (EOD、ALD、EH 及び GSH-T) 活性については、Wistar ラットの投与~~
32 ~~群では、対照群と比較して EOD 及び EH の活性に僅かな増加が認められたが、~~
33 ~~Fischer344 ラットの投与群では対照群と比較して ALD の活性の 50% 以上の低~~
34 ~~下が認められた。~~

35 ~~Bomhard らは、両系統間で、MC の動態及び肝臓薬物代謝酵素への影響に明~~

¹⁰ 原著 Bomhard ら (1989) では ALAT (alanine-aminotransferase) とされている。

¹¹ 原著 Bomhard ら (1989) では ASAT (aspartase-aminotransferase) とされている。

1 ~~らかな差異が認められ、形態学的に異なる変化をもたらす可能性があるとして~~
2 ~~いる。(参照 52) 【78 Bomhard ら (1989)】~~

~~事務局より：~~

~~第 164 回専門調査会での御議論を受け、排泄に関する記載等について確認し追記しました。~~

3

4

1 (6) 炭酸ジメチル（DMC）

2 ① 吸収

3 DMC の体内動態（吸収）に関する知見は認められなかった。

5 ② 分布

6 DMC の体内動態（分布）に関する知見は認められなかった。

8 ③ 代謝

9 a. 代謝（ブタ）（Bayer AG 社内資料（Rauenbusch（1974））

10 希釈したブタ肝臓由来酵素混液（窒素換算 8.96 mg/mL）、ブタ腎臓由来酵素
11 混液（窒素換算 5.05 mg/mL）又はブタ肝臓ホモジネートを、37 °C に設定され
12 た滴定装置を用いて 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液で pH 8.0 に調整後、DMC 溶
13 液 10mL を添加して、水酸化ナトリウムの消費から DMC の加水分解速度を調
14 べる試験が実施されている。

15 その結果、肝臓ホモジネートでのみ加水分解が認められた。（参照 5 0）【74
16 Rauenbusch（1974）】

18 ④ 排泄

19 DMC の体内動態（排泄）に関する知見は認められなかった。

1 (7) 体内動態のまとめ

2 (文案調整中)

3 本専門調査会としては、DMDC は飲料に添加後、速やかに二酸化炭素 (CO₂)
4 とメタノールに加水分解されることから、メタノールの体内動態について評価
5 した。また、最終製品に残留する可能性のある、副生成物等の DMC 並びに
6 DMDC が飲料中成分と反応して生成する N-CMC、MEC 及び MC についても
7 評価を行った。

8 メタノールは消化管より速やかに吸収され、主に肝臓において、まずホルム
9 アルデヒド、次いでギ酸、さらに及びCO₂へと連続的に酸化される。ヒトを
10 含む霊長類では、最初の反応は、肝アルコールデヒドロゲナーゼによるホルムア
11 ルデヒドへの酸化であり、飽和性があり、メタノール代謝反応の律速の段階と
12 なるされる律速の過程である。第2段階で、ホルムアルデヒドはホルムアルデ
13 ヒドデヒドロゲナーゼによってギ酸又はギ酸塩に酸化され、第3段階で、ギ酸
14 はテトラヒドロ葉酸依存性の代謝経路を介して反応によりCO₂へ代謝解毒され
15 る。このギ酸の代謝反応速度排泄については、げっ歯類と霊長類との間で大き
16 なる差が認められ、げっ歯類と霊長類との間にみられるメタノールの毒性の劇的
17 な差異の原因になっているとされている。また、メタノールの血液から呼気中
18 への代謝による消失は、エタノールと比較すると遅いとされている。

19 DMC、N-CMC、MEC 及び MC の吸収と分布については、一部の情報しか得
20 られなかった。N-CMC のうち、N-カルボメトキシアミノ酸の代謝及び排泄に
21 ついては、付加されるアミノ酸による違いはあるものの、概して加水分解はさ
22 れにくく、未変化体のまま尿中に排泄される。MEC は DMC よりも速やかに加
23 水分解される。MC については、ラットでの CO₂として排泄される量はマウス
24 と比較して少なく、筋肉中の分布率がラットでは高いことが、マウスと比較し
25 てラットの方が MC による毒性に対して感受性が高い原因であると考えられた。

頭金専門委員：

体内動態のまとめの案を作成しました。

事務局より：

メタノールについては、この後の御議論において、体内動態とヒトにおける知見との間での記載内容の整理に触れる見込みです。現在 CMC について補足資料提出依頼を出しているところであり、その回答を反映する際に改めて御議論をお願いします。

頭金専門委員：

Ioannou の文献の考察に係る追記を受けて、MC について「まとめ」も修正しました。

頭金専門委員：

これで結構だと思います。

事務局より：

メタノール等についてこれまでの本文中の記載の変更を反映しています。今回の御議論や、提出を待っている補足資料の内容を踏まえ、次回以降の調査会でまとめについて議論いただきたいと思いますと考えております。

1

2

1 2. 毒性

事務局より：

指定等要請者からは、以下のとおり、経口投与以外の投与経路による試験等の知見も提出されていますが、記述しておりません。

それらについての評価書での扱い（記載の要否、参考資料として記載するか）について御検討ください。特にメタノールについては、「体内動態」の項で記載のとおり種差もありますが、参考資料として記載することによろしいでしょうか。

（●：参考資料として記載予定）

(1) DMDC

- ② 急性毒性【83、84】
- ③ 反復投与毒性【87】

(2) メタノール

- ② 急性毒性【142、143】

142：マウス、ラット、ハムスター

143：マウス、ウサギ

- ③ 反復投与毒性【149、150、151、152、153、154】

●149：ラット、サル 4 週間吸入毒性試験

●150：ラット 6 週間吸入毒性試験

●151：ラット（葉酸欠乏ラット）13 週間吸入毒性試験

●152：イヌ 100 日間吸入毒性試験

●153、154：マウス、ラット、サル長期（12～29 か月）吸入毒性試験

- ④ 発がん性試験【153、154】

- ⑤ 生殖発生毒性【153、154、155、156、157、158、159】

●155：ラット吸入試験

●156：ラット吸入試験

●157：マウス吸入試験

●158：マウス吸入試験

●159：ラット吸入試験

(5) MC

- ② 急性毒性【106、108】

- ④ 発がん性試験【113、114、115、116、118、119】

(6) DMC

- ⑤ 生殖発生毒性【追加 6】：マウス吸入試験

高橋専門委員：

MC の発がん性試験については、いずれも長期投与の試験ではないため、記載

は不要と考えます。

北條専門委員：

参考資料として記載することでよいです。

宇佐見専門委員：

北條専門委員に同意します。

高須専門委員：

メタノールの反復投与毒性試験について、いずれも非経口投与の試験ですので、参考資料でよろしいかと思えます。

事務局より：

第 165 回専門調査会における御議論の結果を受け、メタノールについての反復吸入毒性・吸入発がん性・吸入生殖発生毒性及び DMC についての吸入生殖発生毒性の知見を参考資料として記載することとされましたが、改めて各試験の記載の要否、必要な場合はどの程度記載するかについて別途御相談させていただく予定です。必要とされた場合、具体的には、関連の先生方に第 167 回専門調査会での御議論を予定しています。

1

2

1 (1) DMDC

2
3 DMDCに係る試験として、DMDCを被験物質とする試験（遺伝毒性試験及び急性毒性試験）及びDMDC添加飲料を被験物質とする試験（遺伝毒性試験、反復投与毒性試験、反復投与毒性・発がん性併合試験及び生殖発生毒性試験）が行われている。DMDCは飲料に添加後、加水分解や飲料中成分との反応のため、数時間以内に検出限界未満となる。DMDC又はDMDC添加飲料を被験物質とする試験において、DMDCの溶媒への溶解又は飲料への添加から飲料摂取までに要した時間に関する情報が不足しており、実際にばく露されたDMDCの量について、被験物質にDMDC本体が検出限界以上に残留していた可能性があるものの、どれだけ残留していたかは不明である。

12 本専門調査会としては、DMDCのばく露量が不明であるが、高用量のDMDC又はDMDC添加飲料を被験物質とする遺伝毒性試験成績から、DMDC本体の遺伝毒性の一定の評価を行うことは可能と考えた。また、DMDC添加飲料を被験物質とする反復投与毒性試験、反復投与毒性・発がん性併合試験及び生殖発生毒性試験成績から、NOAELを求めることは適切でないと考えた。しかしながら、試験に用いたDMDC添加飲料にはDMDC関連化合物が含まれることから、これらの試験成績より、添加物「二炭酸ジメチル」の安全性について総合的に評価を行うことが可能と考えた。

事務局より：

DMDCは飲料に添加後、加水分解や飲料中成分と反応を起こすため、被験物質中のDMDC又はDMDC関連化合物の量は不明です。

各試験に対して本専門調査会としての判断に係る記載について御検討ください。なお、反復投与毒性試験については、「単用量の試験であることからNOAELを得ることができない」旨、生殖発生毒性試験では、「被験物質（DMDC）へのばく露量が不明であること及び単用量での試験であることから、本試験におけるNOAELは得られないと判断した」旨の案をいただいております。

（参考）

「過酢酸製剤（第3版）」評価書（2017年4月）

・過酢酸混合物、飲水投与試験

「本試験としては、詳細が不明であり、本試験におけるNOAELは得られないと判断した」

・過酸化水素、飲水投与試験

「本委員会としては、投与した過酸化水素の安定性が不明であること及び単用量の試験であることから、本試験におけるNOAELは得られないと判断した。」

北條専門委員：

「被験物質（DMDC）へのばく露量が不明であること及び単用量での試験であることから、本試験における NOAEL は得られないと判断した」の記載に統一することが適切と思われま

宇佐見専門委員：

ばく露量が不明であることは重要なことなので、「被験物質（DMDC）へのばく露量が不明であること及び単用量での試験であることから、本試験における NOAEL は得られないと判断した」の記載が適切であると思います。過酸化水素と同じ扱いでも良いと思います。

高橋専門委員、高須専門委員：

DMDC へのばく露量が不明であると記載することに反対はしません。

事務局より：

DMDC 及び DMDC 添加飲料の試験成績の扱いについて、考え方の整理を前文にまとめてみました。個々の試験成績に関する調査会としての考察、判断とあわせて、ご確認をお願いします。

高橋専門委員：

異論はございません。

石塚専門委員：

1 文目の「試験成績（略）が提出された」だと、どこから提出されたのか、読む人がわからないかもしれません。「～が行われている」の方が良いでしょうか。

最後の「しかしながら、～（略）」の一文が前文の NOAEL の話とつながっていない気がして、少し戸惑いました。前文と順序を入れ替えても良いかもしれません。もしくは NOAEL の部分は、「まとめ」に記載するとして、序文からは削除しても良いかもしれません。その場合は各試験に NOAEL に関する記述を記載する必要はありますが、もちろんこのままでも結構です。

事務局より：

「DMDC に係る試験成績として、（略）試験成績（略）が提出された」を、「DMDC に係る試験として、（略）試験（略）が行われている」に修正いたしました。

1 ① 遺伝毒性

2 DMDC を被験物質とした遺伝毒性に関する試験の成績は、表 6 のとおりで
3 ある。

4

5 表 6 DMDC に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果概要	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	細菌 (Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537)	DMDC	1.6、8、40、200、1,000 µg/plate	陰性 (200 µg/plate まで) (代謝活性化系の有無にかかわらず) 1,000 µg/plate (細胞毒性あり)	Bayer AG 社内資料 (Herbold (1978)) (JECFA (1991)、EFSA (2015) で引用) (参照 14、15、56) 【31、35、93】
	復帰突然変異試験 (in vitro)	細菌 ((S. typhimurium TA100))	DMDC (4,000 ppm) を添加したオレンジジュース	最高用量 2000 µg/plate ¹²	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Bayer AG 社内資料 (Herbold (1980)) (EFSA (2015) で引用) (参照) 【35、94】)
	復帰突然変異試験 (in vitro、GLP)	細菌 (S. typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537)	DMDC (4,000 ppm) を添加したオレンジジュース	最高用量 4,040 µg/plate ¹³	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Bayer AG 社内資料 (Herbold (1989)) (参照 57) 【95】
染色体異常	小核試験 (in vivo、GLP)	マウス (NMRI、雌雄、各群 5 匹、大腿骨骨髓)	DMDC (4,000 ppm) を添加したオレンジジュース	202 mg/kg 体重 ¹⁴ 単回強制経口投与	陰性 (24、48 及び 72 時間後)	Bayer AG 社内資料 (Herbold (1989)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用) (参照 14、15、58) 【31、35、96】

6

¹² ~~4,000 ppm 用いたオレンジジュースの比重を 1 と仮定した場合の換算値。~~

¹³ Bayer AG 社内資料 (Herbold (1989)) では DMDC 4,000 ppm 添加オレンジジュース (4,040 mg/L) を最高用量 1,000 µL/plate まで添加したと記述されており、4,040 mg/L に ~~×1,000 µL/plate を乗じて算出で換算。~~

¹⁴ Bayer AG 社内資料 (Herbold (1989)) では DMDC 4,000 ppm 添加オレンジジュース (4,040 mg/mL) を 50 mL/kg 体重投与したと記述。4,040 mg/mL とあるが、1.6 L の飲料に 5.12 mL の DMDC を混合し調製した (【95】と同じ調整法) とも記述があるため、4,040 mg/L を用いてされており、4,040 mg/L に ~~×50 mL/kg 体重を乗じて算出で換算。~~

1 本専門調査会としては、本品目はDMDCのばく露量が不明であるが、高用量の
 2 DMDC又はDMDC添加飲料を被験物質とした復帰突然変異試験及びin vivoの小核
 3 試験の結果が陰性であり、DMDC添加飲料において、生体にとって特段問題となる
 4 ような遺伝毒性の懸念はないと考えた。
 5 ~~各遺伝毒性試験成績が陰性であることに加えて、添加物「二炭酸ジメチル」として~~
 6 ~~提示された使用基準の下、適切に使用されてヒトが摂取するに当たっては、DMDC~~
 7 ~~は飲料中で分解され、残留しないことから、生体にとって特段問題となるような遺~~
 8 ~~伝毒性の懸念はないと考えた。~~

事務局より：

51ページにDMDCの評価についての考え方をまとめることを前提として、本専門調査会としての評価の記載について、御検討をお願いします。

DMDCを被験物質とする復帰突然変異試験（Bayer AG社内資料（Herbold（1978））【93】では、

(p13) Formulation: dissolved in demineralized water, to be prepared only immediately before use of the respective dose

とされ、試験時にDMDC本体が残留している可能性は考えられ、遺伝毒性の一定の評価が可能か、添加物として適切に使用される場合のDMDCの遺伝毒性の懸念の有無について、上記の記載のように結論できますでしょうか。

なお、厚労省は、使用基準案に「DMDCは最終製品に残留しない」旨を追加する方針を提示してきております。

戸塚専門委員：

記載のとおりで特に問題ないと思います。

9
10

事務局より：

表中の【94】の試験の用量は、脚注12に記載のとおり、オレンジジュースの比重を1と仮定して、4,000 ppm=4 µg/µLと換算して、容積から換算しています。脚注7、8に記載のとおり、Bayer AG社内資料（Herbold（1989））等の試験で用いられたDMDC 4,000 ppm添加オレンジジュースの濃度は4,040 mg/Lという情報や、提出資料にはありませんが、オレンジ100%果汁の比重は約1.045という情報（日本ジュース・ターミナル株式会社）もあります。換算の可否も含め、どのように記述するかご検討をお願いします。

戸塚専門委員：

添加オレンジジュースの実験は全て同じグループが提出した結果であるため、DMDC濃度は全て4,040 mg/mLとしても良いように思います。1989年にGLP基

準でAmes試験をやり直したと推察します。使用している菌株も同じであることと、使用しているDMDCの用量は1989年では4,040 µg/plateと1980年の用量を上回っており、結果は同じ陰性です。内容の重複として考えて、1980年の方は表から削除してはいかがでしょうか。

記載してもしなくてもどちらでも問題なく、記載の要否については、調査会での議論の結果に従います。

事務局より：

第165回の御議論を受け、1980年の試験の記載は削除します。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

② 急性毒性

DMDC を被験物質とした急性毒性試験の成績は、表 7 のとおりである。

表 7 DMDC 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス (雄)	906.5	LANXESS 社内資料 (Steinhoff (1974)) (JECFA (1991) で引用) (参照 14、59) 【31、82】
(雌)	752.7	
ラット (雄)	496.5	
(雌)	334.6	

③ 反復投与毒性

a. ラット 3 か月間経口投与試験 (Bayer AG 社内資料 (Löser (1974)) (JECFA (1991) ¹⁵及び EFSA (2015) で引用))

Wistar ラット (雌雄、各群 15 匹) に DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L) を、表 8 のような試験群を設定して、3 か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 8 DMDC 試験群の設定

群	飲料 (媒体) 又は被験物質を添加した飲料投与飲料	性別	飲料摂取量 (mL/kg 体重/日)	DMDC 摂取相当量¹⁶ (mg/kg 体重/日)
1	オレンジジュース	雄	242.05	—
		雌	329.28	—
2	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース	雄	260.83	1,043
		雌	350.44	1,402
3	カシスジュース	雄	214.98	—
		雌	305.31	—

¹⁵ JECFA (1991) では Löser (1978) とされている。

¹⁶ ~~(飲料摂取量) × (DMDC 添加濃度) で換算。DMDC が添加後分解せず摂取されたと仮定した場合の値。~~

毒性 (DMDC)

4	DMDC4,000 mg/L 添加 カシスジュース	雄	225.67	903
		雌	327.01	1,308
5	ビール	雄	159.62	=
		雌	215.02	=
6	DMDC4,000 mg/L 添加 ビール	雄	157.47	630
		雌	203.38	814
7	ワイン	雄	122.12	=
		雌	149.84	=
8	DMDC4,000 mg/L 添加 ワイン	雄	141.27	565
		雌	172.18	689

その結果、対照群と比較して投与群では一般状態、致死率、体重、摂餌量、飲水量、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理学的検査において、被験物質の投与に関連した変化は認められなかった。

Löser は、本試験における DMDC 4,000 mg/L を添加した果実ジュース及びアルコール飲料の摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA (2015) は、Löser の本試験における結論に同意するとしている。(参照 14、15、60) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、86 Löser (1974)】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかったとする Löser の結論を是認できると考えた。本専門調査会としては、単用量の試験であることから、本試験では NOAEL を得ることはできないと判断した。

事務局より：(64 ページ項まで、同様。)

51 ページに DMDC の評価についての考え方をまとめることを前提として、個別の試験に対する本専門調査会としての評価の記載について、御検討をお願いします。

また、被験動物が摂取した飲料に当初添加されていた DMDC の量の推計値〔(飲料摂取量) × (DMDC 添加濃度) で換算〕を「DMDC 摂取相当量」として記載していましたが、記載の量の DMDC がそのままばく露されるという誤解を避けるため、削除することによろしいでしょうか。または、DMDC は添加後分解するため、実際の動物の DMDC のばく露量は不明であると明記した上で列の名目を変更して記載した方がよろしいでしょうか。

宇佐見専門委員、北條専門委員：

「DMDC 添加飲料の摂取によるラットへの影響が認められなかった」とありますが、試験に用いた飲料(ジュースなど)のみに添加した試験なので、個々の試験での評価はしないで、毒性のまとめ、または健康影響評価で、DMDC 添加飲料の

摂取による影響が認められないことを記載した方が良いと思います。

事務局より：

個々の試験での評価の記載の可否について、反復投与毒性・発がん性・生殖発生毒性でどのように統一した書き方をすることがよいか御確認ください。「本専門調査会としては、本試験において DMDC 添加飲料の摂取によるラットへの影響が認められなかったとする Löser の結論を是認できると考えた。」という整理はいかがでしょう

b. ラット 30 か月間経口投与・発がん性併合試験 (BayerAG 社内資料 (Löser ら (1983)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Wistarラット (雌雄、各群50匹) にDMDC 添加飲料 (4,000 mg/L¹⁷) を表 9 のような試験群を設定して、30か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 9 DMDC 試験群の設定

群	投与飲料飲料(媒体)又は被験物質を添加した飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)
1	水道水	雄	28	—
		雌	27	—
2	オレンジジュース	雄	51	—
		雌	49	—
3	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース	雄	49	518
		雌	47	814

その結果、一般状態、体重、死亡率、摂餌量、飲水量、血液学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において、被験物質の投与に関連した影響は認められなかった。

Löserらは、本試験におけるDMDC 4,000 mg/L添加オレンジジュースの摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA (2015) は、Löserの本試験における結論に同意するとしている。(参照 14、15、61) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、89 Löserら (1983)】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかった

¹⁷ Bayer AG 社内資料 (Löser (1974)) では 4,000 ppm と記述されている。

とするLöserの結論を是認できると考えた。

~~本専門調査会としては、単用量の試験であることから、本試験ではNOAELを得ることはできないと判断した。~~

c. ラット 30 か月間経口投与・発がん性併合試験（BayerAG 社内資料（Eibenら（1984））（JECFA（1991）及びEFSA（2015）で引用）

Wistar ラット（雌雄、各群 50 匹）に DMDC 添加飲料（4,000 mg/L¹⁸） を表 10 のような試験群を設定して、30 か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 10 DMDC 試験群の設定

群	投与飲料飲料（媒体）又は被験物質を添加した飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)
1	水道水	雄	27	＝
		雌	25	＝
2	ワイン	雄	29	＝
		雌	26	＝
3	DMDC4,000 mg/L 添加 ワイン	雄	38	390
		雌	34	580

その結果、摂餌量については、水道水摂取群と比較してワイン及び DMDC 添加ワイン摂取群で平均 29%及び 23%の減少が認められ、飲水量については、水道水摂取群及びワイン摂取群と比較して DMDC 添加ワイン摂取群で平均 39%及び 31%の増加が認められた。一方、一般状態、体重、死亡率、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において被験物質の投与に関連した影響は認められなかった。

Eiben らは、DMDC 添加ワイン摂取群における飲料摂取量の変化について、ワイン中で DMDC から分解した CO₂により飲水ボトル中の圧力が増して、飲水ボトルから飲料が漏出した可能性が高いことを考慮して、被験物質の摂取による毒性影響とは判断していない。以上の結果、本試験において DMDC 4,000 mg/L 添加ワインの摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA（2015）は、JECFA（1991）も Eiben らと同様の結論であるとして、JECFA（1991）の本試験における結論に同意するとしている。（参照 1 4、1 5、6 2）【31 JECFA（1991）、35 EFSA（2015）、90 Eiben ら（1984）】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかった

¹⁸ BayerAG 社内資料（Eiben ら（1984）では 4,000 ppm と記述されている。

とする Eiben らの結論を是認できると考えた。

~~本専門調査会としては、単用量の試験であることから、本試験では NOAEL を得ることはできないと判断した。~~

d. イヌ 1 年間経口投与毒性・発がん性併合試験 (CIVOInstitutes TNO 社内資料 (Lina ら (1983)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用)、GLP) ビーグル犬 (雌雄、各群 6 匹) に DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L¹⁹) を表 11 のような試験群を設定して、1 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 11 DMDC 試験群の設定

群	投与飲料飲料 (媒体) 又は被験物質を添加した飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)
1	水道水	雄	1,160	—
		雌	1,010	—
2	オレンジジュース	雄	840	—
		雌	900	—
3	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース	雄	880	284
		雌	700	268

その結果、雌ではオレンジジュース摂取群と比較して DMDC 添加オレンジジュース摂取群における飲水量の減少が認められた。一方、一般状態、心電図、摂餌量、体重、死亡率、器官重量、血液学的検査、尿検査、剖検及び組織病理学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認められなかった。

Lina は、本試験における DMDC 4,000 mg/L 添加オレンジジュースの摂取によるビーグル犬への影響は認められなかったとしている。

EFSA (2015) は、NOAEL を 4,000mg DMDC/L-オレンジジュースとしている。(参照 1 4、1 5、6 3) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、88 Lina ら (1983)】

~~本専門調査会としては、本試験においてイヌへの影響が認められなかったとする Lina らの結論を是認できると考えた。~~

~~本専門調査会としては、単用量の試験であることから、本試験では NOAEL を得ることはできないと判断した。~~

¹⁹ CIVOInstitutes TNO 社内資料 (Lina ら (1983)) では 4,000 ppm と記述されている。

④ 発がん性

a. ラット 30 か月間経口投与・発がん性併合試験 (BayerAG 社内資料 (Löser ら (1983)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Wistarラット (雌雄、各群50匹) にDMDC 添加飲料 (4,000 mg/L¹⁷) を表 12 のような投与群を設定して、30 か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 12 DMDC 試験群の設定

群	投与飲料飲料(媒体)又は被験物質を添加した飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)
1	水道水	雄	28	—
		雌	27	—
2	オレンジジュース	雄	51	—
		雌	49	—
3	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース	雄	49	518
		雌	47	814

その結果、被験物質の投与に関連した腫瘍の発現は認められなかった。

Löserらは、本試験においてDMDC 4,000 mg/L添加オレンジジュースの摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA (2015) は、Löserの本試験における結論に同意するとしている。

(参照 1 4、1 5、6 1) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、89 Löserら (1983)】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかったとするLöserの結論を是認できると考えた。

~~本専門調査会としては、本試験において発がん性の懸念はないと判断した。~~

b. ラット 30 か月間経口投与・発がん性併合試験 (BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1984)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Wistarラット (雌雄、各群 50 匹) に DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L¹⁸) を表 13 のような投与群を設定して、30 か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 13 DMDC 試験群の設定

群	投与飲料飲料(媒体)又は被験物質を添加した	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)
---	----------------------------------	----	-----------------	------------------------------------

	飲料			
1	水道水	雄	27	＝
		雌	25	＝
2	ワイン	雄	29	＝
		雌	26	＝
3	DMDC4,000 mg/L 添加 ワイン	雄	38	390
		雌	34	580

その結果、被験物質の投与に関連した腫瘍の発現は認められなかった。

Eiben らは、本試験において DMDC 4,000 mg/L 添加ワインの摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA (2015) は、Eiben らの本試験における結論に同意するとしている。

(参照 14、15、62) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、90 Eiben ら (1984)】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかったとする Eiben らの結論を是認できると考えた。

~~本専門調査会としては、本試験において発がん性の懸念はないと判断した。~~

c. イヌ 1 年間経口投与・発がん性併合試験 (CIVO Institutes TNO 社内資料 (Lina ら (1983)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用)、GLP)

ビーグル犬 (雌雄、各群 6 匹) に DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L¹⁹) を表 14 のような試験群を設定して、1 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 14 DMDC 試験群の設定

群	飲料 (媒体) 又は被験物質を添加した飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相当量 -(mg/kg 体重/日)-
1	水道水	雄	1,160	＝
		雌	1,010	
2	オレンジジュース	雄	840	＝
		雌	900	
3	DMDC4,000 mg/L 添加 オレンジジュース	雄	880	284
		雌	700	268

その結果、被験物質の投与に関連した腫瘍の発現は認められなかった。

Lina は、本試験において DMDC 4,000 mg/L 添加オレンジジュースの摂取によるビーグル犬への影響は認められなかったとしている。(参照 14、15、6

3) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、88 Lina ら (1983)】

本専門調査会としては、本試験においてイヌへの影響が認められなかったとする Lina らの結論を是認できると考えた。

~~本専門調査会としては、本試験において発がん性の懸念はないと判断した。~~

⑤ 生殖発生毒性

a. ラット二世世代生殖毒性試験 (BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1983)) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Wistar ラット (雄、各群 10 匹; 雌、各群 20 匹) に DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L²⁰) を表 15 のような試験群を設定して、~~飲料 (媒体) 又は被験物質を投与した飲料を~~二世世代にわたって動物に摂取させて繁殖させる試験が実施されている。

表 15 DMDC 試験群の設定

群	飲料 (媒体) 又は被験物質を投与した飲料 投与飲料	性別	飲料摂取量 (mL/動物/ 日)	DMDC 摂取相当量 —(mg/動物/日)—²¹
1	水道水 (対照群)	F ₀ 雄/	26/	—/
		F _{1b} 雄	26	—
		F ₀ 雌/	21/	—/
		F _{1b} 雌	20	—
2	オレンジジュース	F ₀ 雄/	77/	—/
		F _{1b} 雄	79	—
		F ₀ 雌/	78/	—/
		F _{1b} 雌	79	—
3	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース	F ₀ 雄/	77/	308/
		F _{1b} 雄	79	316
		F ₀ 雌/	78/	312/
		F _{1b} 雌	79	316

その結果、一般状態、死亡率、体重、飲料摂取量、生殖能力、剖検、病理組織学的検査及び臓器重量の結果において、親動物及び児動物に DMDC の摂取に関

²⁰ BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1983)) では 4,000 ppm

²¹ (飲水量) × (DMDC 添加濃度) で換算。F₀、F₁ともに基準となる体重の記載もなく、定める基準が見当たらないため、mg/kg 体重/日への換算はできない。

1 連した影響は認められなかった。

2 Eiben らは、以上の結果から、本試験において DMDC 4,000 mg/L 添加オレンジジュースの摂取によるラットへの生殖毒性は認められなかったとしている。

3 JECFA (1991) は、本試験の結果から生殖毒性に係る NOAEL を 4,000 mg
4 DMDC/L オレンジジュースと判断している。

5 EFSA (2015) は、本試験の結果から 4,000 mg DMDC /L オレンジジュース
6 の摂取により生殖発生毒性に影響が認められなかったという結論に同意すると
7 している。(参照 1 4、1 5、6 4) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、
8 91 Eiben ら (1983)】

10
11 本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかった
12 とする Eiben らの結論を是認できると考えた。

13 ~~本専門調査会としては、DMDC のばく露量が不明であること及び単用量での~~
14 ~~試験であることから、本試験における NOAEL は得られないと判断した。~~

15
16 b. ラット発生毒性試験 (Schlüter (1980) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015)
17 で引用))

18 交尾が確認された Long Evans ラット (雌、各群 25 匹; 交尾確認日 = 妊娠 0
19 日) に、DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L²²) を表 16 のような試験群を設定して、
20 ~~飲料 (媒体) 又は被験物質を添加した飲料~~ を妊娠 0 日から 20 日まで母動物に摂取
21 させ、妊娠 20 日に安楽死させた母動物を帝王切開して摘出した胎児を検査する
22 試験が実施されている。なお、飲料摂取量については記述されていない。

23
24 表 16 DMDC 試験群の設定

群	飲料 (媒体) 又は被験物質を添加した飲料 投与飲料
1	オレンジジュース
2	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュース

25
26 その結果、母動物の一般状態、死亡率及び体重に被験物質投与に関連した影
27 響は認められなかった。また、子宮の状態及び胎児を検査した結果、着床率、胎
28 児数、死亡率、胎児体重、胎盤重量、胎児低体重の発生率、軽度胎児骨格異常の
29 発生率、胎児奇形の発生率について被験物質投与に関連した影響は認められな
30 かった。

31 Schlüter は、本試験において DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュースの摂
32 取による母動物に対する毒性並びに胚・胎児に対する発生毒性及び催奇形性は
33 認められなかったとしている。

²² Schlüter (1980) では 4,000 ppm

1 JECFA（1991）は、本試験の結果について、DMDC4,000 mg/L 添加オレンジジュースの摂取による胎仔毒性及び催奇形性は認められないとしている。

2 EFSA（2015）は、Schlüter の本試験における結論に同意するとしている。
3（参照 1 4、1 5、6 5）【31 JECFA（1991）、35 EFSA（2015）、92 Schluter
4（1980）】
5

6
7 ~~本専門調査会としては、本試験においてラットへの影響が認められなかった~~
8 ~~とする Schlüter らの結論を是認できると考えた。~~

9 ~~本専門調査会としては、DMDC へのばく露量が不明であること及び単用量で~~
10 ~~の試験であることから、本試験における NOAEL は得られないと判断した。~~

11 12 ⑥ ヒトにおける知見

13 DMDC の~~経口摂取による~~ヒトにおける知見は認められなかった。

14 15 ⑦ 毒性のまとめ

16 ・・・（文案作成中）
17
18

1 (2) メタノール

2 ① 遺伝毒性

3 メタノールを被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績は、表 17 のとおり
4 である。

6 表 17 メタノールに関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2- <i>uvrA</i>)	最高用量 5,000 µg/plate	陰性(代謝活性化系の有無にかかわらず)	NEDO (1983) (参照 4 3)【69】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 <i>E. coli</i> WP2- <i>uvrA</i>)	最高用量 5,000 µg/plate	陰性(代謝活性化系の有無にかかわらず)	Shimizu ら(1985) (参照 66) 【162】
染色体異常	染色体異常試験 (<i>in vitro</i>)	チャイニーズ・ハム スター培養細胞 (Don 細胞)	最高用量 28.5 mg/mL	陰性(代謝活性化系の有無にかかわらず)	NEDO (1983) (参照 4 3)【69】
	姉妹染色 分体交換試験(SCE 試験) (<i>in vitro</i>)	チャイニーズ・ハム スター培養細胞 (Don 細胞)	7.1、14.3、28.5 mg/mL	僅かな誘起(代謝活性化系非存在下) ²³ 陰性(代謝活性化系存在下)	
	小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス(ICR、雄、 各群 6 匹、骨髄)	1.05、2.11、 4.21、8.41 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性	

7
8 *In vitro* の SCE 試験 (NEDO (1983)) において、代謝活性化系非存在下のメタ
9 ノール高用量投与群 (28.5 mg/mL) で認められた弱い SCE 誘起性を陰性とする
10 NEDO の見解を、本専門調査会としては支持できると考えた。

11 また、同一種類の細胞に対し同用量で実施した *in vitro* の染色体異常試験 (NEDO
12 (1983)) は陰性であった。

²³ NEDO (1983)) によると、試験報告書では本試験結果は陰性と判定され、代謝活性化を与えない場合のメ
タノール高用量投与群 (28.5 mg/mL) で認められた弱い SCE 誘起性の解釈として「メタノールは強い脱水
作用と脂質の溶解作用を持ち、特に細胞形質に強い収縮を起す作用を持っているため、DNA に対して特異
的に作用するのではなく、DNA 以外の細胞構成物に作用し、間接的に影響を与えた可能性があり、その結
果 SCE を誘起した可能性があると考えられる。従って本結果から直ちに DNA 損傷性を示唆するとは考え
難いと思われる」と記述されている。また、NEDO (1983) は、メタノール環境安全性検討委員会でも議論
があり、特に細胞の増殖阻害の起こるような高濃度での試験ではその結果の解釈が難しいことが指摘された
が、試験結果を陰性とすることは了承されたとしている。

1 以上より、本専門調査会としては、メタノールに生体にとって特段問題となるよ
2 うな遺伝毒性はないと考えた。

3

4 ② 急性毒性

5 メタノールを被験物質とした急性毒性に関する試験成績は、表 18 のとおり
6 である。

7

8 表 18 メタノール 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス (40 系統)	7,300~10,000 (平均 8,680)	Smith and Taylor (1982) (参照 6 7) 【141】
ラット (雄)	9,100	Welch ら (1943) (参照 6 8) 【145】
ラット	12,000 071 (Behrens <u>法による</u>) ²⁴ 11,000 289 (Bliss <u>法による</u>)	Deichmann and Mergard (1948) (参照 6 9) 【147】
ラット (23 系統)	約 9,500	Gilger and Potts(1955) (参照 7 0) 【146】
ラット	5,800 46 (14 日齢) ²⁵ 24 10,000 270 (若齢) 7,000 6,952 (老齢)	Kimura ら(1971) (参照 7 1) 【144】
ラット	12,880	Smyth ら(1972) (参照 7 2) 【140】
サル	7,000~9,000	Cooper and Felig (1961) (参照 7 3) 【148】

9

事務局より：

LD₅₀ の換算について、脚注説明に加筆するとともに、記載する桁数を整理しま
した。

10

11 ③ 反復投与毒性

12 メタノールの反復投与毒性 (経口投与) に関する知見は認められなかった。

13

14 a. 参考資料

15 (吸入試験について、文案調整中)

16

17 ④ 発がん性

18 メタノールの発がん性 (経口投与) に関する知見は認められなかった。

19

²⁴ Deichmann and Mergard (1948) において、LD₅₀ は、15.28 mL/kg (Behrens 法による)、14.29 mL/kg (Bliss 法による) と記述されている。メタノールの比重 0.7915 (20℃/4℃) (WHO EHC (1997))、水の密度 1.0 g/mL とし算出。比重 ~~0.79~~ (WHO EHC (1997)) とし換算。

²⁵ Kimura ら(1971) において、LD₅₀ は、7.4 mL/kg (14 日齢)、13.0 mL/kg (若齢)、8.8 mL/kg (老齢) と記述されている。メタノールの比重 0.7915 (20℃/4℃) (WHO EHC (1997))、水の密度 1.0 g/mL とし算出。

1 a. 参考資料

2 （吸入試験について、文案調整中）

4 ⑤ 生殖発生毒性

5 a. マウス発生毒性試験（Rogersら（1993））

6 妊娠CD-1マウス（雌、対照群4匹、投与群8匹）にメタノールを表17-1のよ
 7 うな投与群を設定して、妊娠6日から15日まで強制経口投与する試験が実施され
 8 ている。

10 表 17-1 マタノール 用量設定

用量設定	<u>0（対照群）、4,000 mg/kg 体重/日（2,000 mg/kg 体重×2 回/日）</u>
------	--

11
 12 その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表17-2のとおりである。（参
 13 照）【157 Rogersら（1993）】

15 表 17-2 マタノール 毒性所見

投与群	毒性所見
<u>4,000 mg/kg 体重/日</u>	<u>母動物：死亡（1匹）</u> <u>—— 体重の減少（妊娠末期）</u> <u>胎児：胚・胎児死亡率の増加</u> <u>—— 体重の減少</u> <u>—— 口蓋裂・外脳症の発生率の増加</u>

16
 17 本専門調査会としては、マウスでは母体へのストレスによって胎児に外脳症
 18 及び口蓋裂が誘発されるとの報告があることから、本試験条件下では被験物質
 19 投与の影響は適切に評価できないと判断した。また、本試験は単用量での試験
 20 であることから、本試験におけるNOAELは得られないと判断した。

北條専門委員：

「参考資料」として記載するのが妥当と思われます。

宇佐見専門委員：

同意いたします。

事務局より：

第165回専門調査会の御議論を受け、参考資料（70ページ）としました。

1
2 **b-a.** ラット発生毒性試験（Youssefら（1997））

3 妊娠Long-Evansラット（雌、対照群13匹、投与群10～12匹）にメタノールを
4 表 19-1のような投与群を設定して、妊娠10日に単回経口投与する試験が実施さ
5 れている。

6
7 表 19-1 メタノール 用量設定

用量設定	0（対照群）、1.3、2.6、5.2 mL/kg 体重
mg/kg 体重 ²⁴	0（対照群）、1,000、2,100、4,100 mg/kg 体重

8
9 その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表18-2のとおりである。（参
10 照 7 4）【160 Youssefら（1991）】

11
12 表 19-2 メタノール 毒性所見

投与群	毒性所見
4,100 mg/kg体 重	母動物：体重増加の減少、摂餌量の減少 胎 児：停留精巣及び眼の異常（眼球突出、無眼球症） の発生率の増加
1,000 mg/kg体 重以上	胎 児：体重の非用量依存的な減少 変異を持つ胎児の発生率の用量依存的な増加 変異又は異常を持つ胎児の発生率の用量依存的 な増加

13
14 本専門調査会としては、母動物に対する一般毒性に係るNOAELは2,100
15 mg/kg体重と判断した。←最低用量で毒性所見が認められたことから、発生毒性
16 に係るNOAELは得ることはできないと判断した。1,000 mg/kg体重未満であり
17 なお、極めて高い用量（4,100 mg/kg体重以上）のメタノールは催奇形性を有す
18 ると判断した。

19
20
21 **b-e.** ラット生殖発生毒性試験（Cummings（1993））

22 妊娠Holtzmanラット（雌、各群8匹／試験；交尾確認日＝妊娠0日）にメタ
23 ノールを表 20-1のような投与群を設定して、妊娠1～8日に強制経口投与した
24 後に妊娠9日、妊娠11日又は妊娠20日に~~母動物を安楽死させて~~子宮・胎児を検
25 査する3試験（試験I、II及びIII）が実施されている。また、偽妊娠ラット
26 （雌、各群8匹）についてもメタノールを表 20のような投与群を設定して、偽
27 妊娠1～8日に強制経口投与した後に偽妊娠9日に~~雌動物を安楽死させて~~子宮を

1 検査する試験 （試験IV） が実施されている。

3 表 20-1 メタノール 用量設定

用量設定	0（対照群）、1,600、2,400、3,200 mg/kg 体重/日
------	-------------------------------------

5 各投与群で認められた毒性所見は、表19-2のとおりである。

7 表 20-2 メタノール 毒性所見

投与群	毒性所見 <u>（注）</u>
3,200 mg m/kg体重/日	体重増加量の減少、子宮内異常（着床部位隣接の出血）部位数の増加（母動物、 <u>試験I妊娠9日に安楽死させた試験</u> ）
2,400 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（偽妊娠雌、 <u>試験IV妊娠9日に安楽死させた試験</u> ） 着床部位重量の減少（母動物、 <u>試験I妊娠9日に安楽死させた試験</u> ）
1,600 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（母動物、 <u>試験I妊娠9日に安楽死させた試験</u> ）

8 注）試験I（II、III） 妊娠ラット、妊娠9日（11日、20日）に検査した試験
 9 試験IV 偽妊娠ラット、妊娠9日に検査した試験

11 妊娠11日に検査した母動物を安楽死させた試験（試験II）では、胚及び胚死亡に被験物質投与の影響は認められなかった。また、妊娠20日に検査した母動物を安楽死させた試験（試験III）でも、母動物の体重増加及び卵巣・子宮の重量、並びに胚、胎児死亡数及び胎児体重について、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

16 Cummingsは、子宮の脱落膜形成がメタノール投与によって阻害され、妊娠早期に悪影響を及ぼしたとしている。（参照 7 5）【161 Cummings（1993）】

19 本専門調査会としては、母動物に対する一般毒性に係るNOAELは2,400 mg/kg体重/日と判断した。一方、試験Iの最低用量で毒性所見が認められたことから、生殖毒性に係るNOAELは得ることはできないと判断した。1,600- mg/kg体重/日未満及び発生毒性に係るNOAELについては、本試験の最高用量
 23 である3,200 mg/kg体重/日と判断した。

宇佐見専門委員、北條専門委員：

評価には関係ないので、屠殺方法を記載する必要はないと思います。

c. 参考資料

以下の知見については、単用量の試験であること、並びに一般にマウスでは母体へのストレスによって胎児に外脳症及び口蓋裂が誘発されるとされていることなどを踏まえ、胎児に認められた奇形所見が実験操作に由来する自然発生のものか、被験物質投与によって誘発されたものかを判別できない。よって、以下の知見の本試験条件下では被験物質投与の毒性影響は適切に評価できないと判断し、当該知見は評価対象とせず、参考資料として記載する。

(a) マウス発生毒性試験（Rogersら（1993））

妊娠CD-1マウス（雌、対照群4匹、投与群8匹）にメタノールを表 21-1のような投与群を設定して、妊娠6日から15日まで強制経口投与する試験が実施されている。

表 21-1 ~~メタノール~~ 用量設定

用量設定	0（対照群）、4,000 mg/kg 体重/日（2,000 mg/kg 体重×2 回/日）
------	---

その結果、各投与群で認められた毒性所見は、次表17-2のとおりである。

・4,000 mg/kg体重/日投与群

<母動物>：死亡（1匹）、体重の減少（妊娠末期）

<胎児>：胚・胎児死亡率の増加、体重の減少、口蓋裂・外脳症の発生率の増加

（参照 7 6）【157 Rogersら（1993）】

表 17-2 ~~メタノール~~ 毒性所見

投与群	毒性所見
4,000 mg/kg体重/日	母動物：死亡（1匹） —— 体重の減少（妊娠末期）—— 胎児：胚・胎児死亡率の増加 —— 体重の減少 —— 口蓋裂・外脳症の発生率の増加

~~本専門調査会としては、マウスでは母体へのストレスによって胎児に外脳症及び口蓋裂が誘発されるとの報告があることから、本試験条件下では被験物質~~

1 ~~投与の影響は適切に評価できないと判断した。また、本試験は単用量での試験~~
 2 ~~であることから、本試験におけるNOAELは得られないと判断した。~~

事務局より：

第 165 回専門調査会での御議論を受け、記載場所を参考資料に変更するとともに、「毒性所見」を「その他の所見」に変更しています。また、本専門調査会としての御判断について、第 165 回専門調査会での御議論を踏まえ、参考資料とした理由に関する記載を加筆することについて、御検討をお願いします。

宇佐見専門委員、北條専門委員：

参考資料の記載法として、本試験については、自然発生奇形が多いマウスを用いた単用量の試験であることなどが、評価対象に出来ない理由であると思いますので、毒性所見をその他の所見に移す必要はないと思いますが、他の毒性試験と統一するべきであると思います。71 ページでは参考資料の最初に参考資料とした理由が記載してあるので、ここでも、最初に記載した方が統一感があると思います。

事務局より：

他の毒性試験と統一するため、参考資料では毒性所見とその他の所見をまとめて、認められた所見として記載できればと思います。

3
4 ⑦ ヒトにおける知見

5 a. 中毒影響のレビュー（Skrzydłewska（2003））

6 メタノール中毒の症状には、軽い中枢神経系の障害の期間に続き、12～24 時
 7 間の無症候期間が生じるという特徴がある。無症候期間の後、一般的に代謝性
 8 アシドーシス、中枢神経系の機能障害が認められ、失明に至る視覚障害から死
 9 亡も認められるようになる。メタノールのヒトにおける毒性量及び致死量は今
 10 のところ明らかではない。40%メタノールを 15 mL 摂取して死亡した例がある
 11 一方、同様の溶液を 500 mL 摂取後生存した例もある（Bennett ら（1952））。

12 メタノール中毒への感受性の個人差は、同時に摂取したエタノール、食事中
 13 の葉酸含有量及びメタノール代謝系の活性の違いによる可能性がある。同時に
 14 エタノールを摂取していないヒトにおいて、メタノールの最小致死量は 1 g/kg
 15 体重と考えられている（Röe（1982））。

16 メタノールの毒性は、主にメタノールの代謝により生じるギ酸によるもので
 17 ある。細胞傷害はギ酸だけでなく、ホルムアルデヒドやフリーラジカルといっ
 18 た他の代謝産物等によっても引き起こされる。（参照 4 7）【追加 1】

19
20 b. 中毒影響のレビュー（WHO 環境保健クライテリア（EHC）（1997））

21 メタノールの血液中の濃度が 200 mg/L（6 mmol/L）以上になると中枢神経

1 系への作用が発現し、500 mg/L（16 mmol/L）以上になると眼症状が発現し、
2 1,500～2,000 mg/L（47～62 mmol/L）になると適切に処置しない場合には患
3 者は死亡する。

4 ヒトにおけるメタノール毒性に関する情報のほとんどは、慢性ばく露よりも
5 急性ばく露に関する報告であった。メタノール中毒の多くは、メタノールを混
6 入した飲料やメタノール含有製品によって引き起こされている。経口摂取は中
7 毒発生の最も多い経路であるが、高濃度のメタノール蒸気の吸入と液状メタノ
8 ールの経皮吸収も急性毒性の発現に際して、経口摂取と同様の変化が認められ
9 ている。また、低濃度のメタノールを長期間ばく露した場合の注目すべき健康
10 への影響は、眼に及ぼす変化と考えられる。

11 空気中から約 1,500 mg/m³（1,200 ppm）又はそれ以上の濃度でメタノール
12 のばく露を受けた作業従事者で視覚障害が報告されている。

13 メタノールの職業的ばく露限界は 260 mg/m³（200 ppm）となり、この濃度
14 は、メタノールから生じるギ酸による代謝性アシドーシスと眼及び神経への毒
15 性から作業者を保護する値として設定されている。なお、260 mg/m³（200 ppm）
16 以上のばく露において、軽度の皮膚及び眼への刺激を起こす以外は、ヒトにお
17 けるメタノールのその他の有害な影響は報告されていない。（参照 4 0）【68】

18
19 c. 国際機関等における評価（FDA（1993））

20 根拠とする知見が確認できず詳細は不明だが、FDA（1993）は、ヒトにおけ
21 る知見からメタノールについての NOAEL を 71～84 mg/kg 体重/日とし、安全
22 係数 10 を用いて ADI を 7.1～8.4 mg/kg 体重/日としている。（参照 1 9）【23】

23
24 ⑧ 毒性のまとめ

25 ・・・（文案調整中）
26

1 (3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)

2 ① 遺伝毒性

3 N-CMCの遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

5 ② 急性毒性

6 N-CMCのうち、N-カルボメトキシアミノ酸を被験物質とした急性毒性試験
7 の成績は、表 22 のとおりである。

9 表 22 N-カルボメトキシアミノ酸 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	被験物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス (雌)	N-カルボメトキシアラニン	5,534	LANXESS 社内資料 (Steinhof f (1973) (JECFA (1991)で 引用)) (参照 1 4、77) 【31、97】
	N-カルボメトキシグリシン	6,275	
	N-カルボメトキシロイシン	4,633	
	N-カルボメトキシアスパラギン	>15,000	
	N-カルボメトキシモノシステイン	4,733	
	N-カルボメトキシジシステイン	6,397	
	N-カルボメトキシプロリン	5,403	
	N-カルボメトキシヒドロキシプロリン	9,115	
	N-カルボメトキシフェニルアラニン	6,926	
	N-カルボメトキシグルタミン酸	5,435、6,390	
N-カルボメトキシアルギニン・1/2 H ₂ O	>15,000		
ラット (雌)	N-カルボメトキシアラニン	6,000~6,500	LANXESS 社内資料 (Steinhof f (1973) (JECFA (1991)で 引用)) (参照 1 4、77) 【31、97】
	N-カルボメトキシグリシン	6,000~7,000	
	N-カルボメトキシロイシン	>5,000	
	N-カルボメトキシアスパラギン	約 15,000	
	N-カルボメトキシモノシステイン	>4,000	
	N-カルボメトキシジシステイン	>10,000	
	N-カルボメトキシプロリン	6,000~10,000	
	N-カルボメトキシヒドロキシプロリン	約 12,000	
	N-カルボメトキシグルタミン酸	>8,000、>15,000	
	N-カルボメトキシアルギニン・1/2 H ₂ O	>15,000	

11 ③ 反復投与毒性

12 N-CMCの反復投与毒性に関する知見は認められなかった。

14 ④ 発がん性

15 N-CMCの発がん性に関する知見は認められなかった。

17 ⑤ 生殖発生毒性

18 N-CMCの生殖発生毒性に関する知見は認められなかった。

20 ⑥ ヒトにおける知見

21 N-CMCのヒトにおける知見は認められなかった。

1

2 ⑦ 毒性のまとめ

3 ・・・(文案調整中)

4

1 (4) 炭酸エチルメチル (MEC)

2 ① 遺伝毒性

3 MEC の遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

5 ② 急性毒性

6 MEC を被験物質とした急性毒性試験の成績は、表 23 のとおりである。

8 表 23 MEC 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス (雌)	>15,000	LANXESS 社内資料 (Steinhoff (1973) (JECFA (1991) で引用)) (参照 1 4、7 8) 【31、99】
ラット (雌)	>15,000	

10 ③ 反復投与毒性

11 a. ラット 3 か月間反復投与毒性試験 (BayerAG 社内資料 (Löser (1973) (JECFA
12 (1991) 及び EFSA (2015) で引用)))

13 Wistar ラット (雌雄、対照群 40 匹、投与各群 20 匹) に MEC を表 24 のよ
14 うな投与群を設定して、3 か月間飲水投与する試験が実施されている。

16 表 24 MEC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.1、0.3、1.0%
mL/kg 体重/日	雄 : 0、0.11、0.34、1.08 mL/kg 体重/日 雌 : 0、0.13、0.40、1.30 mL/kg 体重/日
mg/kg 体重/日 ²⁶	雄 : 0、111、344、1,094 mg/kg 体重/日 雌 : 0、131、405、1,316 mg/kg 体重/日

17
18 その結果、生存率、一般状態、摂餌量、飲水量、体重、血液学的検査、血液生
19 化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において、被験物質の投与に
20 関連した影響は認められなかった。

21 Löser は、本試験において MEC1.0%の投与量までラットへの影響は認めら
22 れなかったとしている。

23 EFSA (2015) は、本試験における NOAEL を雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌
24 で 1,316 mg/kg 体重/日としている。(参照 1 4、1 5、7 9)【31 JECFA(1991)、
25 35 EFSA (2015) 、100 Löser (1973) 】

26
27 本専門調査会としては、本試験における NOAEL は最高用量である 1.0% (雄
28 で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日) と判断した。

高橋専門委員：

²⁶ EFSA(2015)が、密度 1.013 g/cm³ (Bayer (2006)) に基づき換算。

「本試験における NOAEL は最高用量である 1.0% (雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日)と判断した。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

著者や ESFA の判断と同様で、雌雄ともに最高用量が NOAEL でいいと思います。

塚本専門委員：

「本専門調査会としては、本試験における NOAEL は最高用量である 1.0% (雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日) と判断した。」でいいと思います。

1

2 ④ 発がん性

3 MECの発がん性に関する知見は認められなかった。

4

5 ⑤ 生殖発生毒性

6 a. ラット発生毒性試験 (BayerAG 社内資料 (Machemer (1976) (JECFA (1991)

7 及び EFSA (2015) で引用))
8 妊娠 Long Evans ラット (雌、各 20 匹 ; 膣垢中精子確認日 = 妊娠 0 日) に
9 MEC を表 25 のような投与群を設定して、飲水投与で妊娠 6~15 日の 10 日間
10 母動物に摂取させ、妊娠 20 日に胎児を検査する試験が実施されている。

11

12 表 25 MEC 用量設定

用量設定	0 (対照群) 、0.01、0.1、1%
mg/kg 体重/日 ²⁷	0、12.5、125、1,250 mg/kg 体重/日

13

14 その結果、各投与群で認められた所見は、以下のとおりである。

15

- 16 ・ 1%投与群 (母動物) : 摂水量の有意な減少
- 17 ・ 0.1%投与群 (母動物) : 妊娠期間中の体重増加の有意な抑制
- 18 ・ 0.01%以上の投与群 (母動物) : 摂水量の用量依存的な減少傾向、投与期間
19 中の体重増加の非用量依存的な抑制傾向

19

20 なお、母動物の一般状態及び死亡率、着床数、吸収胚数、生存胎児数、胎児体
21 重、胎盤重量、低体重の胎児の頻度、胎児の性比及び奇形学的検査の結果につ
22 いて、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

²⁷ EFSA (2015) で換算。EFSA (2012) Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data に従って換算したとの記述がある。

1 Machemer は、全投与群における母動物の摂水量の減少は被験物質含有飲水
 2 の不快な味と刺激臭に起因し、母動物の体重増加の抑制は摂水量の減少に起因
 3 すると考えられ、母動物に毒性徴候は認められなかったと考察している。また、
 4 投与群の胎児で軽度の骨格変化が認められたが、対照群を含む全群で観察され
 5 ており、骨格所見とその出現の部位及び頻度は使用系統のラットの特性と考
 6 られたことから、被験物質投与に関連した影響とは考えられなかったと考察し
 7 ている。本試験において MEC1.0%の投与用量まで、発生毒性及び催奇形性は
 8 認められなかったとしている。

9 EFSA（2015）は、本試験における MEC1.0%（1,250 mg/kg 体重/日）の投
 10 与用量まで、発生毒性は認められなかったとした著者の結論に同意するとして
 11 いる。（参照 14、15、80）【31 JECFA（1991）、35 EFSA（2015）、
 12 101 Machemer（1976）】

13
 14 本専門調査会としては、一般毒性及び発生毒性に係る NOAEL は最高用量であ
 15 る 1,250 mg/kg 体重/日であると判断した。催奇形性は認められなかった。

北條専門委員：

生殖能力について検査していないので、生殖毒性に関する NOAEL の言及は無
 しでいかがでしょうか。

宇佐見専門委員：

詳細が分からないので、生殖毒性の NOAEL に言及しないことに同意します。

16
 17 ⑥ ヒトにおける知見

18 MEC のヒトにおける知見は認められなかった。

19
 20 ⑦ 毒性のまとめ

21 MEC を被験物質とした遺伝毒性の試験成績は認められなかったものの、
 22 DMDC 添加ワインを用いた反復投与毒性・発がん性併合試験（60 ページ）、
 23 DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性（53 ページ）及び反復投与毒
 24 性・発がん性併合試験（60 ページ）の試験成績、並びに構造が類似する MC の
 25 遺伝毒性（78 ページ、後述）の試験成績を検討した結果、本専門調査会として
 26 は、MEC について生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

27 ・・・(文案調整中)

1 (5) カルバミン酸メチル (MC)

中江専門委員：

主に検討すべきであるのは、カルバミン酸メチル (MC) の発がん性と考えます。遺伝毒性が陰性であり、NOAEL が設定でき、NOAEL と一日摂取量とを比較すると十分なマージンがあるため、安全性に懸念はないと考えます。

2

3 ① 遺伝毒性

4 MC を被験物質とした遺伝毒性試験の成績は、表 26 のとおりである。

5

6 表 26 MC に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
DNA 損傷	DNA 修復試験 (<i>in vitro</i>)	酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D3)	5%	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Simmon (1979) (参照 8 1) 【132】
	DNA 修復試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>E. coli</i> <i>pol A</i> ⁺ 、 <i>pol A</i> ⁻)	250 µg/mL	陰性 (代謝活性化系有り)	Rosenkranz and Poirier (1979) (参照 8 2) 【127】
	DNA 修復試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>E. coli</i> WP2、WP2- <i>uvrA</i> 、CM611 <i>uvrAlexA</i> 、WP67 <i>uvrApolA</i> 、WP100 <i>recAuvrA</i> 、W3110 <i>polA</i> ⁺ 、p3478 <i>polA</i> ⁻)	5,000 µg/well	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	McCarroll ら (1981) (参照 8 3) 【133】
	DNA 修復試験 (Rec - assay) (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Bacillus subtilis</i> H17 <i>rec</i> ⁺ 、M45 <i>rec</i> ⁻)	5,000 µg/well	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	McCarroll ら (1981) (参照 8 4) 【134】
	UDS 試験 (<i>in vitro</i>)	ラット肝細胞 (Fischer344、雄)	最高用量 1,000 µg/mL	陰性	NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用) (参照 1 4、1 5、8 5) 【105、31、35】
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>B. subtilis</i> 168i ⁻)	最高用量 6.0%	陰性	De Giovanni-Donnelly ら (1967) (参照 8 6) 【123】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. Typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537)	最高用量 1,000 µg/plate	陰性 (代謝活性化系有り)	McCann ら (1975) で引用 (JECFA (1991) で引用) (参照 1 4、8 7) 【31、128】

毒性 (MC)

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. Typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1536、 TA1537、TA1538)	1,000 µg/plate	陰性 (代謝 活性化系の 有無にかか わらず)	Simmon (1979) (JECFA (1991) で引用) (参照 14、 88) 【31、124】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. Typhimurium</i> TA1535、TA1538)	500 µg/plate	陰性 (代謝 活性化系の 有無にかか わらず)	Rosenkranz and Poirier (1979) (参照 89) 【127】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>S. Typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA1535)	最高用量 10 mg/plate	陰性 (代謝 活性化系の 有無にかか わらず)	NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用) (参照 14、15、 84) 【31、35、105】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>E. Coli</i> B/Sd-4)	最高用量 8% (24 時間 処理)	陰性	Demerec ら (1951) (参照 89) 【125】
	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>E. Coli</i> Sd-4)	最高用量 80 mg/mL (3 時間処理)	陰性	Hemmerly and Demerec (1955) (参照 90) 【126】
染色体異常	マウスリン フォーマ試 験 (MLA) (<i>in vitro</i>)	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	最高用量 21,208 µg/mL	陰性 (代謝 活性化系存 在下)	Amacher and Turner (1982) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用) (参照 14、1 5、91) 【31、 35、130】
	MLA (<i>in vitro</i>)	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	最高用量 5 mg/mL	陰性 (代謝 活性化系の 有無にかか わらず)	NTP (1987) (JECFA (1991) 及 び EFSA (2015) で 引用) (参照 14、15、8 4) 【31、35、105】
	染色体 異常試験 (<i>in vitro</i>)	チャイニーズ ハム スター卵巣細胞 (CHO 細胞)	最高用量 5 mg/mL	陰性	NTP (1987) (JECFA (1991) 及 び EFSA (2015) で 引用) (参照 14、15、 84) 【31、35、105】
	染色体異常 試験 (<i>in vitro</i>)	糸状菌 (<i>Aspergillus</i> <i>nidulans</i> P)	最高用量 0.4 mg/mL	陰性	Morpurgo ら (1979) (JECFA (1991) で 引用) (参照 14、92) 【31、129】

毒性 (MC)

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
	姉妹染色 分体交換試 験 (SCE 試 験) (<i>in vitro</i>)	CHO 細胞	最高用量 5mg/mL	陰性	NTP (1987) (JECFA (1991) 及 び EFSA (2015) で 引用) (参照 14、15、 84)【31、35、105】
	形質転換 試験 (<i>in vitro</i>)	シリアンハムスター 胚細胞 (SHEM 細胞)	最高用量 50 µg/mL	陰性	Dunkel ら (1981) (JECFA (1991) で引用) (参照)137、31】
	形質転換 試験 (<i>in vitro</i>)	ラウジャーマウス 白血病ウイルス感染 F344 ラット胚細胞 (R-MuLV-RE 細胞)	最高用量 1,200 µg/mL	陽性	Dunkel ら (1981) (参照)【137】
	SCE 試験 (<i>in vivo</i>)	マウス (BDF ₁) 骨髓細胞、肺胞マク ロファージ、再生肝細胞	最高用量 6.75 mmol/kg 体重、 単回腹腔内投 与	陰性	Cheng ら (1981) (参照 93)【135】
	SCE 試験 (<i>in vivo</i>)	マウス (BD2F ₁ 、各群 4 匹) 骨髓細胞、肺胞マク ロファージ、再生肝 細胞	最高用量 6.6 mmol/kg 体 重 (495mg/kg 体重)、 単回腹腔内投 与	陰性	Cheng ら (1981) (JECFA (1991) 、 EFSA (2015) で参 照) (参照 14、15、 94)【31、35、136】
	優性致死 試験 (<i>in vivo</i>)	マウス (ICR/Ha Swiss、雄 7~9 匹)	最高用量 1,000 mg/kg 体重 単回腹腔内 投与	陰性	Epstein ら (1972) (JECFA (1991) で引用) (参照 14、95) 【31、131】

- 1
- 2 本専門調査会としては、MCについて*in vitro*および*in vivo*で実施されたいずれの
- 3 試験の結果も陰性であることから、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと
- 4 考えた。

事務局より：

一部陽性の試験も含まれておりますが、MC の遺伝毒性の有無について御検討
をお願いいたします。

「形質転換試験」は、過去の評価の際に記載不要との御判断をいただいております。
今回は陽性の試験も含まれていますが、いかがでしょうか。

- ・次亜臭素酸水：記載不要（陰性）
- ・ミョウバン：記載不要（陰性）

山田専門委員：

「形質転換試験」は基本的に発がんプロモーターを調べる試験のため、過去の評価の際での判断は、記載不要ということではなく、遺伝毒性試験ではないから本項に記載しないということです。

必要なら記載すればよいと思いますが、遺伝毒性以外の箇所が適切と思います。ただ、もし、陽性結果が、イニシエータであることによるのであれば、注釈付で遺伝毒性の箇所に記載してもよいかもしれません。

戸塚専門委員：

問題の陽性となった論文では、細胞播種後 48 時間で被験物質にばく露させ、7 日間ばく露しています。その後は培地交換をして継代維持しているようです。素直に読むと被験物質は添加していないように読めますが、はっきりしません。この場合はプロモーター活性を見ていると考えると良いのでしょうか。

杉山専門委員：

山田専門委員の御意見のとおり、狭義には遺伝毒性試験に非該当とのご意見に異論はございません。その上で、戸塚専門委員の御意見のとおりプロモーター活性を見ているか不確実ですが、文献からは陽性を示す細胞は R-MuLV ウイルスによりイニシエートされた細胞とも読み取れます。この場合、プロモーション活性が陽性と判断されうることにはなりますが、MC の発がん性については、評価書案の「ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）」において発がん性を指摘する内容になっていることから、参考資料として適切な箇所にデータを残すことはされてもよいとは考えます。

山田専門委員：

プロモーション活性は発がんのプロモーションであるので、遺伝毒性の箇所に記載することには賛成できません。先の意見のとおり、イニシエーション活性が示唆されるのであれば、遺伝毒性の箇所に参考資料として記載することはできるかもしれませんが、（発がん）プロモーション活性が陽性という試験結果なら、発がん試験の参考資料として記載すべきではと思います。

事務局より：

本専門調査会としての判断の記載について御判断をおねがいします。

また、形質転換試験について、どの項目（遺伝毒性の参考資料、発がん性の参考資料）にどのように記載するのがよろしいでしょうか。

戸塚専門委員：

形質転換試験を参考資料として、遺伝毒性について上記のような記載とすることに異論はありません。形質転換試験の記載場所については当日の議論の結果に従います。

杉山専門委員：

調査会としての判断については「『現時点で入手できる知見からは』 特段問題となる遺伝毒性はないと考えた」と追記してはどうかと思います。

形質転換試験の記載については、これまで本調査会として遺伝毒性の参考資料として用いている実績があれば、そのまま今回も本試験は広義には遺伝毒性試験に相当するとの整理で、遺伝毒性の項の参考資料としての取り扱いでよろしいかと思えます。

山田専門委員：

まとめの文章は、上記のような記載でいいと思えます。

『現時点で入手できる知見からは』を挿入するとすると「『現時点で入手できる知見からは』 生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた」の位置だと思いますが、これはどの評価書のどの試験についてもいえる大前提ではないでしょうか

形質転換試験は表から参考試験に移動することに同意します。

高橋専門委員、高須専門委員：

形質転換試験を発がん性試験の項に記載することは適切でないと考えます。

事務局より：

農薬評価書「カズサホス（第4版）」（2017年5月）の審議において、形質転換試験は「遺伝毒性」から「その他の試験」へ移されました。

今後、添加物専門調査会においても同様に「その他の試験」（本評価書案では119ページ）に記載することでよろしいでしょうか。

（参考）2017年3月29日第146回農薬専門調査会幹事会

●カズサホス評価書（第4版）（案） p.29

【本間専門委員より】

形質転換試験は遺伝毒性試験ではなく、*in vitro* 発がん性試験と認識しています。従って、本試験は、その他の試験に移し、遺伝毒性は全て陰性と判断します。

また、形質転換試験陽性は、発がん性試験陰性であるため本試験結果は偽陽性と考えます。従って、生体にとって問題ないと判断します

【事務局より】

形質転換試験をその他の試験へ移しました。

●議事録

納屋座長代理：今後は重版と言えども形質転換試験が遺伝毒性の範疇に入っていたら外して、その他のところに持っていくことを徹底していただければと思います。

1
2
3
4
5

② 急性毒性

MC を被験物質とした急性毒性試験の成績は、表 27 のとおりである。

表 27 MC 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス (系統不明、雄)	6,200	Suvalova (1973) (参照 9 6) 【103】
マウス (NMRI、雌)	6,310	Bayer 社内資料 (Steinhoff (1978)) (参照 9 7) 【104】
マウス (B6C3F ₁ 、雄)	4,925	NTP (1987) (参照 8 5) 【105】
マウス (B6C3F ₁ 、雌)	4,925	
ラット (Fischer344/N、雄)	4,287	
ラット (Fischer344/N、雌)	2,462	
ラット (Wistar、雌)	4,935	Bayer 社内資料 (Steinhoff (1977)) (参照 9 8) 【107】
ラット (Wistar、雌)	3,900	German Cancer Research Centre 社内資料 (Rüdiger (1979)) (参照 9 9) 【108】

6
7

③ 反復投与毒性

事務局より：

本試験「マウス16日間経口投与試験 (NTP (1987))」及び後述の「ラット7日間経口投与試験 (Bayer社内資料 (Bomhard and Kaliner (1984)))」及び「ラット16日間経口投与試験 (NTP (1987))」はより長期間の試験を実施するための用量設定試験です。本試験を記載する必要があるか、(削除する場合) 続く長期間の試験に係る議論にあたり参考情報として評価書案に記載する必要な箇所があるか、記載の要否について御検討をお願いします。

高橋専門委員：

すべて参考資料として別項目に記載するのが良いのではないのでしょうか。「ラット7日間経口投与試験 (Bomhardら (1989))」も同様に参考資料とすることになります。

高須専門委員：
高橋専門委員の意見に同意いたします。

事務局より：
参考資料に移しました。

~~a. マウス 16日間経口投与試験²⁸ (NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))~~

~~B6C3F₁マウス (雌雄、各5匹) にMCを表 28-1のような投与群を設定して、16日間強制経口投与する試験が実施されている。~~

表 28-1 MC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重/日
------	---

~~その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 26-2 のとおりである。~~

表 28 -2 MC 毒性所見

投与群	毒性所見
4,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄5匹、雌5匹)
2,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄5匹、雌1匹)

~~NTP (1987) は、全群について剖検を行い、1,000 mg/kg体重/日投与群で病理組織学的検査を実施した結果、1,000 mg/kg体重/日投与群において、肉眼的病理所見又は病理組織学的所見に、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。(参考14、15、84) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】~~

高橋専門委員：

~~より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思いますが、敢えて評価するのであれば「本試験におけるNOAELは雌雄とも1,000 mg/kg 体重/日と判断した。ただし、本試験は投与期間が12日間だけの試験であることは考慮する必要がある。」とすればよいと思います。~~

高須専門委員：

~~この試験は、より長期間の試験を実施するための用量設定試験です。従っ~~

²⁸—原著では、試験名を“Sixteen-Day Studies”としているが、投与期間について“consecutive weekdays for 12 dose over 16d”としている。

~~て、毒性 (エンドポイント) が死亡例であり、投与期間も短期間であることから、この試験からNOAELを判断することは適当でないと考えます~~

~~事務局より:~~

~~—本試験はより長期間の試験を実施するための用量設定試験です。調査会としての判断に係る記載の必要性はありますでしょうか。~~

~~塚本専門委員:~~

~~—「1,000 mg/kg体重/日投与群において、肉眼的病理所見又は病理組織学的所見に、被験物質の投与に関連した影響は認められなかった。」とありますが、短期間の試験ですし、「NOAEL」を求めるのは適当ではないと判断します。~~

1

~~事務局より:~~

~~—原著と同様、試験名を『「16日間」経口投与試験』としていますが、原著では“consecutive weekdays for 12 dose over 16d”と記述されているため、脚注に記載しました。~~

2

3 ~~a-b.~~ マウス 13 週間経口投与試験 (Quest ら (1987) (NTP (1987) (JECFA
4 (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

5 B6C3F₁マウス (雌雄、各群10匹) にMCを表 28-1のような投与群を設定し
6 て、週に5日間、13週間強制経口投与する試験が実施されている。

7

8 表 28-1 MC 用量設定

用量設定	雄: 0 (対照群)、93.75、187.5、375、750、1,500 mg/kg 体重/日 雌: 0 (対照群)、125、250、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日
------	--

9

10 その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 27-2 のとおりである。

11

12 表 28-2 MC 毒性所見

投与群 (雄)	毒性所見
1,500 mg/kg 体重/日	体重増加の抑制、肝細胞腺腫 (1匹)
投与群 (雌)	
2,000 mg/kg 体重/日	死亡 (1匹)
500 mg/kg 体重/日以上	体重増加の抑制、肝臓相対重量の増加
125 mg/kg 体重/日	体重増加の抑制

13

14 その他、以下の所見が認められた。

- 1 • 1,500 mg/kg体重/日投与群 (雄) : 嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸 (投与3
- 2 週間後まで)、急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向
- 3 • 1,000 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雌) : 嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸
- 4 (投与投与3週間後まで)
- 5 • 250 mg/kg体重/日投与群 (雌) : 体重増加の抑制傾向

7 NTP (1987) は、1,500 mg/kg体重/日投与群 (雄) 及び2,000 mg/kg体重/日
 8 投与群 (雌) において、嗜眠及び頻呼吸 (雄: 投与1~2週間後、雌: 投与1~3
 9 週間後)、125 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雌) において体重増加の抑制、並び
 10 に投与群 (雄) において軽度~中度の急性多巣性肝細胞壊死又は有糸分裂の増
 11 加が認められたとしている。

12 JECFA (1991) は、全投与群 (雄) において軽度から中程度の急性多巣性
 13 肝細胞壊死又は有糸分裂の増加が認められたとしている。

14 EFSA (2015) は、187.5 mg/kg体重/日投与群を除く全群 (雄) において、軽
 15 度から中程度の急性多巣性の肝細胞壊死又は有糸分裂の増加が認められ、肝小
 16 葉中に特異的に限局することない多巣性の病巣であったとしている。また本試
 17 験の結果から、NOAELを250 mg/kg体重/日としている。(参考14、15、84、
 18 100) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、110 Quest
 19 ら (1987)】

21 本専門調査会としては、本試験で認められた所見を判断するための十分な情
 22 報を参照できないことから、本試験ではNOAELを得ることはできない判断で
 23 きないと考えた。

事務局より：

第166回審議では、次の点について、御検討をお願いします。

- 現時点では 原著の判断に倣い、表 28-2のような毒性所見とする案としてい
 1 るが、本調査会としてどのように判断するか
 - 「毒性所見」とされている、1,500 mg/kg体重/日投与群 (雄) の「肝細胞腺
 2 腫」は偶発的な所見といえるか
 - 雌の「体重増加の抑制」の扱い
- 毒性所見と判断できる毒性所見が表に記載のとおり認められる場合、NOAEL
 3 を得られないと考える理由について本文中に記載する必要がないか
 4 (例) 毒性所見が不明瞭、検査値が不明、背景データが不明、最低用量で毒
 5 性所見あり、等
- 原著において統計学的有意差を求めている所見等、現時点では評価書案に

においてその他の所見として記載している所見について、統計学的有意差の有無に関わらず、毒性所見とすべき所見があるか

- ・ 「その他の所見」に記載した「急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向」 (1,500 mg/kg体重/日投与群 (雄)) を毒性所見とみなさなくてもよいか

1

高橋専門委員：

「本試験における詳細が一部で不明なためNOAELは判断できないと考えた。」とすればよいと思います。

事務局より：

他の試験の評価と平仄をとり、「得ることはできない」で統一しています。

2

(肝臓関係について)

事務局より：

「その他の所見」に記載した「急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向」について、雄の各群10匹において、対照群：1匹、93.75 mg/kg体重/日投与群：1匹、187.5mg/kg体重/日投与群：0匹、375mg/kg体重/日投与群：2匹、750mg/kg体重/日投与群：2匹、1500mg/kg体重/日投与群：5匹で認め、用量依存的な発生の増加があったとQuestの論文に記載されています。対照群でも発生しており、差がありそうなのは1500mg/kg体重/日投与群のみですが、所見の記述方法について、御教授ください。

高橋専門委員：

「その他の所見」に書かれたように、(「急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向」は) 1,500mg/kg体重/日のみの記載で十分です。

高須専門委員：

肝細胞壊死は対照群にもみられる変化であり、壊死巣が小葉内に不規則にみられることから、自然発生の病変の可能性も考えられるため、病変の程度や対照群の背景データなども踏まえて判断するべきだと思います。しかし、そのような記述はありません。ただし、発生頻度に用量依存性がありそうなので、最高用量の毒性所見とするのは如何でしょうか。

塚本専門委員：

肝細胞壊死は1500mg/kg体重/日投与群のみで上昇でいいと思います。

(体重増加抑制について)

高須専門委員：

体重増加抑制に関して、雌は用量依存性も見られないと思います。

事務局より：

体重増加抑制（傾向）（雌）について、対照群と比較した場合の投与群（生存個体）の体重の変化量（最終体重の対照群の比較体重と比較した場合の割合）は、0、125、250、500、1,000及び2,000 mg/kg体重/日の各群においてそれぞれ+8.9、+7.2、+7.6、+6.7、+6.4及び+6.0 g（-、91.3、94.9、90.6、91.0及び91.3%）です。

1
2

事務局より：

Quest (1987) 【110】とNTP (1987) 【105】について、Questの以下の記載や、試験方法等が同一であることから、JECFA (1991)、EFSA (2015)と同様に、両文献の内容を一つの記載にまとめておりますが、よろしいでしょうか。

Questら (1987) : (p389 本文 2段落) This chemical was selected for carcinogenicity testing by the National Toxicology Program (NTP) The chronic carcinogenesis bioassay of this compound is currently in progress. As part of the protocol design of the bioassay, an oral subchronic study of 13 weeks duration was conducted in F344/N rats and B6C3F₁ mice to determine toxicological activity and to establish dose levels for use in the carcinogenicity test. This communication summarizes the result of the 13-week study in which degenerative and proliferative changes were observed in the liver of rats

高橋専門委員：

両者を1つにまとめていただいて結構です。

3
4
5
6
7
8
9

~~○ ラット7日間経口投与試験 (Bayer 社内資料 (Bomhard and Kaliner (1984) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))
Wistarラット (雄、各群5匹) にMCを表 30-1のような投与群を設定して、7日間強制経口投与する試験が実施されている。~~

1 ~~表 30-1 MC 用量設定~~

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
-----------------	---

2
3 ~~その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 28-2 のとおりである。~~

5 ~~表 30-2 MC 毒性所見~~

投与群	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	摂餌量及び摂水量の減少、体重の減少、 血漿中アルカリホスファターゼ (ALP) 活性の低下、 血漿中トリグリセリド濃度の減少、 血漿中コレステロール濃度の増加
500 mg/kg 体重/日以上	肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的な減少

6
7 ~~その他、以下の所見が認められた。~~
8 ~~→ 1,000 mg/kg 体重/日投与群：一般状態の悪化 (1例)~~
9 ~~→ 500 mg/kg 体重/日以上の投与群：肝臓及び脾臓の絶対重量の用量依存的な~~
10 ~~減少傾向~~
11 ~~→ 500 mg/kg 体重/日投与群：体重増加のわずかな抑制~~

13 ~~Bomhard及びKalinerは、1,000 mg/kg 体重/日投与群で認められた血漿中トリ~~
14 ~~グリセリド濃度の減少及びコレステロール濃度の増加について、脂質代謝への~~
15 ~~影響と解釈できるとしている。また、Wistarラットで認められた所見はNTPで~~
16 ~~実施されたFischer344ラットを用いた13週間反復投与試験で認められた肝臓~~
17 ~~障害の所見 (投与群：400 mg/kg 体重/日以上 (雄)、500 mg/kg 体重/日以上 (雌))~~
18 ~~²⁹と異なることから、肝毒性に関してWistarラットとFischer344ラットでは大~~
19 ~~きく異なることが示唆されると考察している。~~

20 ~~以上のことから、有害影響を及ぼさないMCの許容量を250 mg/kg 体重/日と~~
21 ~~している。~~

22 ~~JECFA (1991) は、500 mg/kg 体重/日以上の投与群において、肝臓及び脾臓~~
23 ~~の絶対及び相対重量の減少並びに脾臓表面の凹凸が認められたとしている。~~

24 ~~EFSA (2015) は、500 mg/kg 体重/日以上の投与群において、肝臓及び脾臓~~
25 ~~の絶対及び相対重量の有意な減少が認められたとしている。また、NOAELを~~
26 ~~250 mg/kg 体重/日と評価しているが、病理組織学に検査された組織数が少ない~~
27 ~~ことや血液学的検査が実施されていないことから、リスク評価には限定的にし~~
28 ~~か利用できないとしている。(参考14、15、101) 【31JECFA (1991)、~~
29 ~~35EFSA (2015)、109 Bomhard and Kaliner (1984)】~~

²⁹ ~~NTP (1987) によるとラット 13 週間反復投与試験の実施期間は 1980 年 6 月～8 月。~~

1

高橋専門委員:

~~—より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思いますが、敢えて評価するのであれば「本試験におけるNOAELは250 mg/kg 体重/日と判断した。ただし、本試験は検索対象臓器が肝臓、脾臓、精巣および骨髄に限定しており、病理組織学的検討も最高用量群の肝臓のみであることを考慮する必要がある。」とすればよいと思います。~~

高須専門委員:

~~この試験は後述の長期間の試験の用量設定として行っている試験だと思えます。従って、肝臓に対する影響に限った解析をしており、それ以外の解析はほとんど実施していません。従って、NOAEL等の判断は、詳細が不明なため判断が難しいと思えます。~~

事務局より:

~~—本試験はより長期間の試験を実施するための用量設定試験です。調査会としての判断に係る記載の必要性はありますでしょうか。~~

塚本専門委員:

~~—高橋先生、高須先生と同意見です。有害影響を及ぼさないMCの許容量は250 mg/kg体重/日だが、NOAELの判定は詳細不明のため困難と判断します。~~

2

~~Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に MC を表 31-1 のような投与群を設定して、7 日間強制経口投与する試験が実施されている。~~

3

4

5

6

~~表 31-1 MC の用量設定~~

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	---

7

8

~~その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 31-2 のとおりである。~~

9

10

~~表 31-2 MC 毒性所見~~

投与群	毒性所見
500 mg/kg 体重/日以上	血漿中AST³⁰活性の用量依存的な上昇 (Fischer344ラット)
250 mg/kg 体重/日以上	血漿中ALT³¹活性の用量依存的な上昇

~~³⁰ Bomhard ら (1989) では ASAT (aspartase-aminotransferase) と記述されている。~~

~~³¹ Bomhard ら (1989) では ALAT (alanine-aminotransferase) と記述されている。~~

~~—(Fischer344ラット)—~~

~~その他、以下の所見が認められた。~~

~~・500 mg/kg 体重/日以上の投与群：単細胞壊死及び好塩基細胞質内封入体の存在の特徴的な発現 (Fischer344ラット)~~

~~・250 mg/kg 体重/日以上の投与群：用量依存的な肝障害 (Fischer344ラット)~~

~~なお、WistarラットではALT及びASTの活性について、投与による影響は認められなかった。またWistarラットではわずかであるが用量依存的な肝重量の減少が認められ、Fischer344ラットでは減少が認められた。さらに病理組織学的所見について、Wistarラットでは認められなかった。~~

~~また、投与開始後1、3、5、7日目に採尿して、尿中に排泄されたMCをGCで分析するとともに、投与終了後に肝臓ホモジネート上清中の酵素 (EOD、ALD、EH及びGSH-T³²) の活性を測定する試験が実施されている。~~

~~その結果、FischerラットはWistarラットと比較して、投与開始後1、3及び5日目のMCの尿中排泄率は低かったが、投与開始後7日目の排泄率は両系統で同様になった。また、肝臓ホモジネート上清中の酵素 (EOD、ALD、EH及びGSH-T) 活性については、Wistarラットの投与群では、対照群と比較してEOD及びEHの活性に僅かな増加が認められたが、Fischer344ラットの投与群では対照群と比較してALDの活性の50%以上の低下が認められた。~~

~~Bomhardらは、両系統間で、MCの動態及び肝臓薬物代謝酵素への影響に明らかな差異が認められており、形態学的に異なる変化をもたらす可能性があるとしている。(参照102)【78 Bomhardら (1989)】~~

~~e. ラット16日間経口投与試験²⁸ (NTP (1987) (JECFA (1991) 及びEFSA (2015) で引用))~~

~~Fischer344ラット (雌雄、各5匹) にMCを表32-1のような投与群を設定して、16日間強制経口投与する試験が実施されている。~~

~~表 32-1 MC 用量設定~~

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重/日
-----------------	---

~~その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 29-2 のとおりである。~~

~~表 32-2 MC 毒性所見~~

投与群	毒性所見
----------------	-----------------

~~³² Bomhardら (1989) ではGSH-T (gultathion-S-transferase) と記述されている。~~

2,000 mg/kg 体重/日以上	死亡 (雄5匹、雌5匹)
1,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄3匹)

~~その結果、以下の結果が認められた。~~

- ~~• 1,000 mg/kg 体重/日以上 (雌雄) : 流涙、毛の立毛、嗜眠~~
- ~~• 500 mg/kg 体重/日投与群以上 (雄) : 体重増加の濃度依存的抑制傾向~~
- ~~• 1,000 mg/kg 体重/日投与群 (雌) : 体重増加の抑制傾向~~

~~NTP (1987) は、1,000 mg/kg 体重/日以上~~の投与群 (雄) ~~及び全投与群 (雌)~~で剖検を実施し、~~500 mg/kg 体重/日投与群~~で病理組織学的検査を実施した結果、~~500 mg/kg 体重/日投与群~~において、病理組織学的所見で被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。

~~EFSA (2015) は、500 mg/kg 体重/日投与群~~において、病理組織学的所見で被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。また、本試験の結論について、試験方法の詳細が不明であることから、リスク評価には限定的にしか使用できないとしている。(参考14、15、84、100) **【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、110 Questら (1987)】**

高橋専門委員：

~~—より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思いますが、敢えて記載するのであれば「本試験におけるNOAELは雌で500 mg/kg 体重/日と判断した。雄では500 mg/kg 体重/日以下の群で解剖が行われていないためNOAELを得ることはできないと考えた。本試験は投与期間が12日間のみ~~の試験であることを考慮する必要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

~~—この試験は後述の長期間の試験の用量設定として行っている試験だと思います。また、雄ラットは1,000 mg/kg以上でしか剖検が実施されていないなど解析方法に不明な点がありますので、NOAELの判断は適当でないと思います。~~

事務局より：

~~—本試験はより長期間の試験を実施するための用量設定試験です。調査会としての判断に係る記載の必要性はありますでしょうか。~~

塚本専門委員：

~~—短期間の試験ですし、“NOAEL”を求めるのは適当ではないと判断します。~~

事務局より：

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17

~~原著と同様、試験名を『「16日間」反復経口投与試験』としていますが、原著では“consecutive weekdays for 12 dose over 16d”と記述されているため、脚注に記載しました。~~

1
2 **b.** ラット 13 週間経口投与試験 (Quest ら (1987) (NTP (1987)、JECFA (1991)、
3 EFSA (2015) で引用))
4 Fischer344ラット (雌雄、各群10匹) にMCを表 29-1のような投与群を設
5 定して、週に5日間、13週間強制経口投与する試験が実施されている。

6
7 表 29-1 MC 用量設定

用量設定	雄：0 (対照群)、50、100、200、400、800 mg/kg 体重/日 雌：0 (対照群)、62.5、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	--

8
9 その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 30-2 のとおりである。

10
11 表 29-2 MC 毒性所見

投与群 (雄)	毒性所見
800 mg/kg 体重/日	死亡 (5匹) 変異肝細胞巣 (好塩基性) の増加 骨髓低形成
400 mg/kg 体重/日以上	体重増加の抑制 変異肝細胞巣 (好酸性/明細胞性) の増加 脾臓の色素沈着の増加 精巣の萎縮
200 mg/kg 体重/日以上	肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加
投与群 (雌)	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	死亡 (4匹) 変異肝細胞巣 (好塩基性) の増加
500 mg/kg 体重/日以上	体重増加の抑制 変異肝細胞巣 (好酸性/明細胞性) の用量依存的な増加 脾臓の色素沈着の増加 骨髓低形成
250 mg/kg 体重/日以上	肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加

12
13 その他、以下の所見が認められた。
14 ・ 800 mg/kg体重/日投与群 (雄) : 嗜眠、憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動障

害及び肝小葉の数々の病巣又は斑紋の拡大からなる肝臓の色調減少

・ 400 mg/kg体重/日投与群 (雄) : 嗜眠 (投与12週間後)

・ 1,000 mg/kg体重/日投与群 (雌) : 嗜眠、憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動
障害及び肝小葉の数々の病巣又は斑紋の拡大からなる肝臓の色調減少

・ 500 mg/kg体重/日投与群 (雌) : 嗜眠 (投与12週間後)

Questらは、肝臓における広範囲で細胞学的変化を伴う病巣の増加の知見から、MCに肝毒性があり、ばく露が長期にわたれば肝細胞癌になることを示唆しているとしている。また、B6C3F₁マウスにおける13週間経口投与毒性試験で得られた毒性知見との違いは、MCによる影響への応答性に種差があることを示唆していると考えしている。

NTP (1987) は、400 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雄) において肝臓の絶対及び相対重量の減少、500 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雌) において肝臓の絶対重量の減少が認められたとしている。

JECFA (1991) は、1,000 mg/kg体重/日 (雌) において体重増加の抑制、400 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雄) において肝臓の相対重量の減少が認められたとしている。

EFSA (2015) は、400 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雄) 及び1,000 mg/kg体重/日投与群 (雌) において体重増加の抑制傾向、400 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (雄) において肝臓相対重量の減少が認められたとしている。また、本試験の結果から、NOAELを125 mg/kg体重/日としている。(参照14、15、84、100) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、110 Questら (1987)】

本専門調査会としては、本試験におけるNOAELは雄で100 mg/kg 体重/日、雌で125 mg/kg 体重/日と判断した。

事務局より：

第166回審議では、次の点について、御検討をお願いします。

○現時点では 原著の判断に倣い、表 29-2のような毒性所見とする案としているが、本調査会としてどのように判断するか

- ・ 体重増加抑制が認められている用量での臓器に係る所見 (精巣の萎縮) 等について、毒性所見とすることでよいか

【体重の変化量】

雄 0、400、800 mg/kg体重/日投与群 : +219 g +169 g、+104 g

雌 0、500、1000 mg/kg体重/日投与群 +89 g、+76 g、+45 g

○現時点では評価書案において「その他の所見」として記載している所見につ

いて、統計学的有意差の有無に関わらず、毒性所見とすべき所見があるか

1

高橋専門委員：

「本試験におけるNOAELは雄で100 mg/kg 体重/日、雌で125 mg/kg 体重/日と判断した。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

試験は成立していると思います。毒性は肝臓が主たる標的臓器で、高用量群では脾臓や骨髄など造血（血液）系への影響がみられます。肝細胞内の封入体に関して、著者らは特殊染色や電顕による観察から核様構造物もしくはアポトーシス小体であると考察しておりますが、文献で示された写真は不鮮明で判断できません。しかし、この封入体が障害部位によく見られること、核酸やしばしば変性した細胞内小器官を含むことなどから、肝細胞分裂の亢進と関連する変化だと考え、毒性学的な変化であると考えます。従って、NOAELは雄100 mg/kg、雌125 mg/kgと判断しました。

塚本専門委員：

高橋先生、高須先生と同意見です。

2

事務局より：

Quest (1987) 【110】とNTP (1987) 【105】について、JECFAでは、NTP (1987) に係る記載 (p253、一番下の項) とQuest (1987) に係る記載 (p254、一番上の項) を分離している一方で、EFSA (2015) では、「NTP,1987;Quest et al., 1987」とまとめて記載されています (p27、一番下の項)。本評価書案p50のマウス13週間経口投与試験と同様に本評価書案では一つの記載にまとめておりますが、よろしいでしょうか。

高橋専門委員：

まとめて記載していただいて結構です。

3

4 ~~C-8~~. ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験 (BayerAG 社内資料 (Bomhard and
5 Karbe (1985) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用)) ³³)

6 Wistar ラット (雌雄、各群 5 匹) に MC を表 31-1 のような投与群を設定し、
7 13 週間強制経口投与又は飲水投与する試験が実施されている。

8

³³ Bomhard and Karbe (1985) では The study was carried out in Bayer AG's Institute fur Toxikologie in accordance with the OECD's guidelines for good laboratory practice (GLP)とされているが、EFSA (2015) では non-GLP study とされている。

1 表 30-1 MC 用量設定

用量設定	強制経口投与：0 (対照群)、200、400、800 mg/kg 体重/日 飲水投与：0 (対照群)、800 mg/kg 体重/日
------	--

2
3 その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 31-2 のとおりである。

5 表 30-2 MC 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
800 mg/kg 体重/日	<p><u><投与4週間後のみ></u> 血漿中ALP活性の低下、AST³⁴、ALT³⁵活性、トリグリセリド濃度の増加</p> <p><u><投与4週間後及び13週間後></u> 体重増加の抑制、肝臓の絶対重量の減少、脾臓・精巣の絶対及び相対重量の減少 血漿中コレステロール濃度の増加</p>	<p><u><投与4週間目></u> 死亡 (1匹)、</p> <p><u><投与4週間後のみ></u> 血漿中コレステロール濃度の増加、ビリルビン濃度の低下</p> <p><u><投与4週間後及び13週間後></u> 体重増加の抑制、肝臓の絶対重量の減少、脾臓の絶対及び相対重量の減少、 血漿中AST, ALT活性、トリグリセリド濃度の増加、総タンパク質濃度の低下</p>
400 mg/kg 体重/日	<p><u><投与13週間後></u> 体重増加の抑制、肝臓の<u>絶対全体</u>重量の減少、脾臓の絶対及び相対重量の減少</p>	<p><u><投与4週間後></u> 血漿中<u>アルカリホスファターゼ (ALP)</u>活性の低下、ALT活性の増加、トリグリセリド濃度の増加、ビリルビン濃度の低下</p> <p><u><投与13週間後></u> 体重増加の抑制、肝臓の絶対重量の減少、脾臓の絶対及び</p>

³⁴ 原著では GOT とされている。

³⁵ 原著では GPT とされている。

		相対重量の減少
200 mg/kg 体重/日	<u><投与13週間後></u> 脾臓の相対重量の減少	<u><投与4週間後></u> 血漿中ビリルビン濃度の低下 <u><投与13週間後></u> 血漿中ALT活性の増加

1

飲水投与	雄	雌
800 mg/kg 体重/日	<u><投与4週間後及び13週間後></u> ≥ 体重増加の抑制、 精巣の絶対及び相対重量の減少、 血漿中AST、ALT活性、コレステロール濃度の増加	<u><投与4週間後></u> 血漿中ビリルビン濃度の低下 <u><投与4週間後及び13週間後></u> ≥ 体重増加の抑制 血漿中ALT活性、コレステロール濃度の増加、総たんぱく質濃度の低下 <u><投与13週間後></u> 血漿中AST活性、トリグリセリド濃度の増加

2

3

その他、以下の所見が認められた。

4

<経口強制投与>

5

・ 800 mg/kg体重/日投与群 (雌雄) : 全身状態の悪化、感情鈍麻、~~毛の~~立毛、
わき腹の陥凹、肝臓Kupffer細胞の鉄含有顆粒色素の増加

6

7

・ 400 mg/kg体重/日以上投与群 (雄) : 摂餌量の用量依存的減少傾向、摂水量の減少傾向、~~肝臓の絶対重量の減少~~

8

9

・ 400 mg/kg体重/日以上投与群 (雌) : 摂餌量の用量依存的減少傾向、~~肝臓の絶対重量の減少~~

10

11

・ 200 mg/kg体重/日の投与群 (雌) : 摂水量の減少傾向

12

13

<飲水投与>

14

・ 800mg/kg体重/日投与群 (雌雄) : 感情鈍麻、~~毛の~~立毛、わき腹の陥凹、肝臓Kupffer細胞の鉄含有顆粒色素の増加

15

Bomhard 及び Karbe は、以下の見解を述べている。

- ・ 血漿中の AST 活性及び ALT 活性の増加について、わずかな増加であることから肝細胞膜に被験物質が及ぼした影響とは考えられず、病理組織学的検査でも、肝細胞に障害は認められていない。
- ・ 血漿中のコレステロール濃度及びトリグリセリド濃度の増加について、脂質代謝の機能的障害によるものと考えられ、組織学的所見と関連づけられる所見ではない。
- ・ 400 mg/kg 体重/日投与群 (雌) における血漿中の ALT 活性及びトリグリセリド濃度の増加について、投与 4 週間後のみであり、対照群との差もわずかで、正常範囲内の変動に入ることから、明らかな肝毒性として解釈することはできない。
- ・ 肝臓 Kupffer 細胞及び肝細胞の鉄含有顆粒色素の増加について、赤血球の破壊の増加に由来したものと考えられ、肝毒性の影響の症状として解釈すべきではない。
- ・ 精巣及び脾臓への投与に依存した影響については、被検動物の数が比較的に少なく、個体間の差が比較的大きいことから、確かな関係性を見いだせない。
- ・ NTP で行われた Fischer344 ラットを用いた 13 週間経口投与毒性試験で認められた肝臓障害の所見 (投与群 : 400 mg/kg 体重/日以上 (雄)、500 mg/kg 体重/日以上 (雌)) (Dinowitz ら (1980)、Hall ら (1982)) が認められなかったことから、遺伝的要因、代謝の違いにより系統間で所見に相違が生じた可能性がある。

Bomhard 及び Karbe は、MC が有害影響を及ぼさない許容量を 200 mg/kg 体重/日として、Wistar ラットの肝臓は、Fischer344 ラットとは基本的に明らかに異なる挙動振る舞いをするとしている。(参考 14、15、103) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、111Bomhard and Karbe (1985)】

本専門調査会としては、本試験において、肝臓以外の病理組織学的所見は不明であることから、NOAEL を得ることはできないと考えた。

事務局より :

第166回審議では、次の点について、御検討をお願いします。

○現時点では 原著の判断に倣い、表 30-2 のような毒性所見とする案としているが、本調査会としてどのように判断するか

- ・ 軽微、もしくは4週間後に認められたが、13週間後には認められていないような一過性の所見 (ビリルビン濃度の低下等) の扱いについて
- ・ 体重増加抑制が認められている用量での臓器に係る所見 (肝臓等) につい

て、毒性所見とすることでよいか御確認をお願いします。

【体重の変化量】

雄 0、200、400、800 (強制経口)、800 (飲水) mg/kg体重/日投与群：
319、325、275、189、197 g

雌 0、200、400、800 (強制経口)、800 (飲水) mg/kg体重/日投与群：
203、198、189、172、155 g、

○毒性所見と判断できる毒性所見が表に記載のとおり認められる場合、NOAELを得られないと考える理由について本文中に追記する必要があるか

(これまでにあった御意見)

－肝臓以外の病理組織学的所見は不明であること

－脾臓の変化が認められているが、血液学的な詳細等も不明であること

(例) 毒性所見が不明瞭、検査値が不明、背景データが不明、最低用量で毒性所見あり、等

○現時点では評価書案において「その他の所見」として記載している所見について、統計学的有意差の有無に関わらず、毒性所見とすべき所見があるか

石塚専門委員：

NOAELを得られないと考える理由について、主な理由は「肝臓以外の病理組織学的所見は不明であること」かと思えますので、今のままでも良いかと思えます。

1

事務局より：

ミョウバンの評価において、組織学的変化がない場合でも、臓器の絶対・相対重量が同方向に、かつ、用量相関性を持って変化している場合毒性と考えることを基本と確認し、違う運用をする場合は考え方を議論することがよい旨の御指摘がありました。

本試験では、脾臓について、病理組織学的所見の考察はありませんが、雌雄ともに400 mg/kg体重/日以上投与群で絶対重量の減少、雄で200 mg/kg体重/日以上投与群及び雌で400 mg/kg体重/日以上投与群で相対重量の減少が認められています。雄の200 mg/kg体重/日の投与群では相対重量のみの減少ですが、いかがでしょうか。

高橋専門委員：

上記のように考えました。「本試験において、肝臓以外の病理組織学的所見は不明であることから、NOAELを得ることはできないと考えた。」とすればよい

と思います。

高須専門委員：

この試験は、FischerとWistarの差異を見ることを目的としており、肝臓しか病理検査をしておりません。脾臓の変化に関しては、重量変化には用量依存性が認められますが、脾臓の病理所見はなく、クッパー細胞などで色素沈着がみられることから、血球系に影響がある可能性を考えると、脾臓の変化が投与の影響であることを否定できないと思います。しかし、肝臓以外の病理の詳細が不明なことに加えて、血液学的な詳細等も不明であることから、NOAEL等の判断は適さないと考えます。

塚本専門委員：

「本専門調査会としては、本試験において、肝臓以外の病理組織学的所見は不明であることから、NOAELを得ることはできないと考えた。」でいいと思います。

1
2 d. 参考資料

3 以下の知見については、より長期の試験を実施するための用量設定試験である
4 ことから、参考資料として記載する。

5
6 (a) マウス 16 日間経口投与試験³⁶ (NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA
7 (2015) で引用))

8 B6C3F₁マウス (雌雄、各5匹) にMCを表 31-1のような投与群を設定し
9 て、16日間強制経口投与する試験が実施されている。

10
11 表 31-1 MC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重/日
------	--

12
13 その結果、各投与群で以下のような所見が認められた。認められた毒性所
14 見は表 26-2 のとおりである。

15 4,000 mg/kg 体重/日投与群：死亡 (雄 5 匹、雌 5 匹)

16 2,000 mg/kg 体重/日投与群：死亡 (雄 5 匹、雌 1 匹)

17
18 ~~MC~~ 毒性所見

投与群	毒性所見
-----	------

³⁶ 原著では、試験名を“Sixteen-Day Studies”としているが、投与期間について“consecutive weekdays for 12 dose over 16d”としている。

4,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄5匹、雌5匹)
2,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄5匹、雌1匹)

1
2
3
4
5
6
7

NTP (1987) は、全群について剖検を行い、1,000 mg/kg体重/日投与群で病理組織学的検査を実施した結果、1,000 mg/kg体重/日投与群において、肉眼的病理所見又は病理組織学的所見に、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。(参考14、15、84) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】

高橋専門委員：

より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思いますが、敢えて評価するのであれば「本試験におけるNOAELは雌雄とも1,000 mg/kg 体重/日と判断した。ただし、本試験は投与期間が12日間のみ試験であることは考慮する必要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

この試験は、より長期間の試験を実施するための用量設定試験です。従って、毒性(エンドポイント)が死亡例であり、投与期間も短期間であることから、この試験からNOAELを判断することは適当でないと考えます

塚本専門委員：

「1,000 mg/kg体重/日投与群において、肉眼的病理所見又は病理組織学的所見に、被験物質の投与に関連した影響は認められなかった。」とありますが、短期間の試験ですし、「NOAEL」を求めるのは適当ではないと判断します。

事務局より：

本試験「マウス16日間経口投与試験 (NTP (1987))」及び後述の「ラット7日間経口投与試験 (Bayer社内資料 (Bomhard and Kaliner (1984)))」及び「ラット16日間経口投与試験 (NTP (1987))」はより長期間の試験を実施するための用量設定試験です。本試験を記載する必要があるか、(削除する場合) 続く長期間の試験に係る議論にあたり参考情報として評価書案に記載する必要な箇所があるか、記載の要否について御検討をお願いします。

高橋専門委員：

すべて参考資料として別項目に記載するのが良いのではないのでしょうか。「ラット7日間経口投与試験 (Bomhardら (1989))」も同様に参考資料とすることになります。

高須専門委員：
高橋専門委員の意見に同意いたします。

事務局より：
参考資料として記載を整理しました。

(b) ラット 7 日間経口投与試験 (Bayer 社内資料 (Bomhard and Kaliner (1984) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Wistarラット (雄、各群5匹) にMCを表 32-1のような投与群を設定して、7日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 32-1 MC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	----------------------------------

その結果、各投与群で以下のような所見が認められた。認められた毒性所見は表 28-2 のとおりである。

- ・1,000 mg/kg 体重/日投与群：摂餌量及び摂水量の減少、体重の減少、血漿中 ALP 活性の低下、血漿中トリグリセリド濃度の減少、血漿中コレステロール濃度の増加、一般状態の悪化 (1 例)
- ・500 mg/kg 体重/日以上の投与群：肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的な減少、肝臓及び脾臓の絶対重量の用量依存的な減少傾向
- ・500 mg/kg 体重/日投与群：体重増加のわずかな抑制

~~-2- MC 毒性所見~~

投与群	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	摂餌量及び摂水量の減少、体重の減少、血漿中アルカリホスファターゼ (ALP) 活性の低下、血漿中トリグリセリド濃度の減少、血漿中コレステロール濃度の増加
500 mg/kg 体重/日以上	肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的な減少

~~その他、以下の所見が認められた。~~

- ~~・1,000 mg/kg 体重/日投与群：一般状態の悪化 (1 例)~~
- ~~・500 mg/kg 体重/日以上~~の投与群：肝臓及び脾臓の絶対重量の用量依存的な減少傾向
- ・500 mg/kg 体重/日投与群：体重増加のわずかな抑制

1
2 Bomhard及びKalinerは、1,000 mg/kg体重/日投与群で認められた血漿中トリ
3 グリセリド濃度の減少及びコレステロール濃度の増加について、脂質代謝への
4 影響と解釈できるとしている。また、Wistarラットで認められた所見はNTPで
5 実施されたFischer344ラットを用いた13週間反復投与試験で認められた肝臓
6 障害の所見（投与群：400 mg/kg体重/日以上（雄）、500 mg/kg体重/日以上（雌））
7 37と異なることから、肝毒性に関してWistarラットとFischer344ラットでは大
8 きく異なることが示唆されると考察している。

9 以上のことから、有害影響を及ぼさないMCの許容量を250 mg/kg体重/日と
10 している。

11 JECFA（1991）は、500 mg/kg体重/日以上の投与群において、肝臓及び脾臓
12 の絶対及び相対重量の減少並びに脾臓表面の凹凸が認められたとしている。

13 EFSA（2015）は、500 mg/kg体重/日以上の投与群において、肝臓及び脾臓
14 の絶対及び相対重量の有意な減少が認められたとしている。また、NOAELを
15 250 mg/kg体重/日と評価しているが、病理組織学に検査された組織数が少ない
16 ことや血液学的検査が実施されていないことから、リスク評価には限定的にし
17 か利用できないとしている。（参考14、15、104）【31JECFA（1991）、
18 35EFSA（2015）、109 Bomhard and Kaliner（1984）】

19 高橋専門委員：

より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思
いますが、敢えて評価するのであれば「本試験におけるNOAELは250 mg/kg 体重/
日と判断した。ただし、本試験は検索対象臓器が肝臓、脾臓、精巣および骨髄に限
定しており、病理組織学的検討も最高用量群の肝臓のみであることを考慮する必
要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

この試験は後述の長期間の試験の用量設定として行っている試験だと思
います。従って、肝臓に対する影響に限った解析をしており、それ以外の解析はほとんど
実施していません。従って、NOAEL等の判断は、詳細が不明なため判断が難しい
と思います。

塚本専門委員：

高橋先生、高須先生と同意見です。有害影響を及ぼさないMCの許容量は250
mg/kg体重/日だが、NOAELの判定は詳細不明のため困難と判断します。

37 NTP（1987）によるとラット13週間反復投与試験の実施期間は1980年6月～8月。

(c) ラット 7日間経口投与試験 (Bomhard ら (1989))

Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に MC を表 33-1 のような投与群を設定して、7 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 33-1 MC の用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	----------------------------------

その結果、各投与群で以下のような所見が認められた。認められた毒性所見は-2のとおりである。

- ・ 500 mg/kg 体重/日以上の投与群：血漿中 AST³⁸活性の用量依存的な上昇、単細胞壊死及び好塩基細胞質内封入体の存在の特徴的な発現 (Fischer344 ラット)
- ・ 250 mg/kg 体重/日以上の投与群：血漿中 ALT³⁹活性の用量依存的な上昇、用量依存的な肝障害 (Fischer344 ラット)

なお、Wistar ラットでは ALT 及び AST の活性について、投与による影響は認められなかった。また Wistar ラットではわずかであるが用量依存的な肝重量の減少が認められ、Fischer344 ラットでは減少が認められた。さらに病理組織学的所見について、Wistar ラットでは認められなかった。

~~また、投与開始後 1、3、5、7 日目に採尿して、尿中に排泄された MC を GC で分析するとともに、投与終了後に肝臓ホモジネート上清中の酵素 (EOD、ALD、EH 及び GST⁴⁰) の活性を測定する試験が実施されている。~~

~~その結果、Fischer ラットは Wistar ラットと比較して、投与開始後 1、3 及び 5 日目の MC の尿中排泄率は低かったが、投与開始後 7 日目の排泄率は両系統で同様になった。また、肝臓ホモジネート上清中の酵素 (EOD、ALD、EH 及び GST) 活性については、Wistar ラットの投与群では、対照群と比較して EOD 及び EH の活性に僅かな増加が認められたが、Fischer344 ラットの投与群では対照群と比較して ALD の活性の 50% 以上の低下が認められた。~~

~~Bomhard らは、両系統間で、MC の動態及び肝臓薬物代謝酵素への影響に明らかな差異が認められており、形態学的に異なる変化をもたらす可能性があるとしている。(参照 105) 【78 Bomhard ら (1989)】~~

事務局より：
⑤. 体内動態 (5) カルバミン酸メチル (MC) の「代謝等の系統差」から記

³⁸ Bomhard ら (1989) では ASAT (aspartase-aminotransferase) と記述されている。

³⁹ Bomhard ら (1989) では ALAT (alanine-aminotransferase) と記述されている。

⁴⁰ Bomhard ら (1989) では GSH-T (gultathion-S-transferase) と記述されている。

載を移しました。本知見が記載すべき内容かどうか、一般薬理試験（または「一般薬理試験」「その他の試験」等の他の項目）に記載すべき内容があるかどうか、記載の要否も含め、ご検討をお願いします。

高橋専門委員：

「反復投与毒性」の部分に移動することに異論はありませんが、「また、投与開始後1、3、5、7日目に採尿して、」以降の記載の必要はないと思います。

高須専門委員：

同意いたします。

(d) ラット 16 日間経口投与試験²⁸ (NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Fischer344 ラット (雌雄、各 5 匹) に MC を-1 のような投与群を設定して、16 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 34-1 MC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重/日
------	--

その結果、各投与群で以下のような所見が認められた。認められた毒性所見は表 29-2 のとおりである。

- ・ 2,000 mg/kg 体重/日以上の投与群：死亡 (雄 5 匹、雌 5 匹)
- ・ 1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群 (雌雄)：流涙、立毛、嗜眠 (
- ・ 1,000 mg/kg 体重/日投与群 (雄)：死亡 (3 匹)
- ・ 500 mg/kg 体重/日投与群以上 (雄)：体重増加の濃度依存的抑制傾向
- ・ 1,000 mg/kg 体重/日投与群 (雌)：体重増加の抑制傾向

~~-2- MC 毒性所見~~

投与群	毒性所見
2,000 mg/kg 体重/日以上	死亡 (雄5匹、雌5匹)
1,000 mg/kg 体重/日	死亡 (雄3匹)

~~その結果、以下の結果が認められた。~~

- ~~・ 1,000 mg/kg 体重/日以上 (雌雄)：流涙、立毛、嗜眠~~
- ~~・ 500 mg/kg 体重/日投与群以上 (雄)：体重増加の濃度依存的抑制傾向~~
- ~~・ 1,000 mg/kg 体重/日投与群 (雌)：体重増加の抑制傾向~~

1 NTP (1987) は、1,000 mg/kg体重/日以上 of 投与群 (雄) 及び全投与群 (雌)
 2 で剖検を実施し、500 mg/kg体重/日投与群で病理組織学的検査を実施した結果、
 3 500 mg/kg体重/日投与群において、病理組織学的所見で被験物質の投与に関連
 4 した影響は認められなかったとしている。

5 EFSA (2015) は、500 mg/kg体重/日投与群において、病理組織学的所見で
 6 被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。また、本試験
 7 の結論について、試験方法の詳細が不明であることから、リスク評価には限定的
 8 的にしか使用できないとしている。(参考14、15、84、100) 【31JECFA
 9 (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、110 Questら (1987)】

10

高橋専門委員：

より長期間の試験の用量設定のための試験であり、NOAELの判断は不要と思
 いますが、敢えて記載するのであれば「本試験におけるNOAELは雌で500 mg/kg
 体重/日と判断した。雄では500 mg/kg 体重/日以下の群で解剖が行われていない
 ためNOAELを得ることはできないと考えた。本試験は投与期間が12日間のみの
 試験であることを考慮する必要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

この試験は後述の長期間の試験の用量設定として行っている試験だと思いま
 す。また、雄ラットは1,000 mg/kg以上でしか剖検が実施されていないなど解析
 方法に不明な点がありますので、NOAELの判断は適当でないと思います。

塚本専門委員：

短期間の試験ですし、「NOAEL」を求めるのは適当ではないと判断します。

11

12 ④ 発がん性

12

13 ~~マウス 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間発がん性試験 (NTP (1987) (JECFA~~
 14 ~~(1991) 及び EFSA (2015) で引用))~~

13

14

15 ~~B6C3F₁マウス (雌雄、各10匹) にMCを表 31のような投与群を設定して、~~
 16 ~~6か月間、12か月間及び18か月間、週に5日、それぞれ強制経口投与する試験~~
 17 ~~が実施されている。~~

15

16

17

18

19 ~~表 31 用量設定~~

用量設定	0 (対照群)、1,000 mg/kg 体重/日
------	-------------------------------------

19

20

21 ~~NTP は、各投与期間後の肝臓において、被験物質に関連した病理組織学的傷~~
 22 ~~害は認められなかったとしている。(参考) 【31JECFA (1991)、35EFSA~~

21

22

1 ~~-(2015)、105 NTP (1987)]~~

高橋専門委員：

「本試験は一用量の試験であるため、NOAELを得ることはできないと判断した。」
とすればよいと思います。後に出てくるマウス103週間発がん性試験とまとめた記
載にしてはいかがでしょうか。

高須専門委員：

この試験は、2年間投与して認められた変化の経時的な観察を目的とした試験で
す。従って、次の試験と一緒にするのはいかがでしょうか。

事務局より：

次の試験とまとめた記載について、御確認ください。

2

3 a. マウス 6 か月間、12 か月間、18 か月間及び 103 週間発がん性試験 (NTP
4 (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

5 B6C3F1マウス (雌雄、各10匹) にMCを表 32-1のような投与群を設定して、
6 6か月間、12か月間及び18か月間、週に5日、それぞれ強制経口投与する試験 (試
7 験I) が、103週間発がん性試験の継時的な観察を目的に実施されている。

8 また、B6C3F1マウス (雌雄、各群50匹) にMCを表 35のような投与群を設
9 定して、週に5日、103週間強制経口投与する試験 (試験II) が実施されている。

10

11 表 35 MC 6 か月間、12 か月間、18 か月間試験 (試験 I) 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1,000 mg/kg 体重/日
------	--------------------------

12

13

14 表 35-2 MC 103 週間試験 (試験 II) 用量設定

用量設定	0 (対照群)、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	------------------------------

15

16 その結果、~~試験I6か月間、12か月間及び18か月間試験~~の各投与群では、各
17 投与期間後ともに、~~の~~肝臓において、~~被験物質~~に関連した病理組織学的な影響
18 は認められなかった。

19

20 試験II103週間試験では、各投与群に以下の所見が認められた。

- 21 ・ 1,000 mg/kg体重/日投与群 (雌雄)：肺の組織球増生及び腺腫様過形成の出
22 現頻度の増加傾向
- 23 ・ 1,000 mg/kg体重/日投与群 (雄)：肝細胞癌の発現頻度の有意な増加
- 24 ・ 500 mg/kg体重/日以上投与群 (雄)：肝臓における多核巨細胞の出現頻度

1 の増加傾向

2
3 なお、~~試験II103週間試験~~の1,000 mg/kg体重/日投与群 (雄) において、肝
4 細胞腺腫又は肝細胞癌の合計の発現頻度には、有意差が認められなかった。

5
6 ~~NTPは、これらの試験の結果からについて、NTPは、腫瘍の発生率について、~~
7 被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。

8 EFSA (2015) は、MCの発がん性について、1,000 mg/kg体重/日の用量まで
9 発がん性の証拠はないとするNTPの結論に同意するとしている。(参考14、1
10 5、84) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】

11
12 本専門調査会としては、この試験結果から、MCについては発がん性の懸念
13 はないものと判断した。

事務局より：

第166回審議では、次の点について、御検討をお願いします。

○本試験ではいくつかの所見が認められていますが、発がん性の懸念はないとの判断に至った考え方について評価書案にまとめられるか

(例) 本専門調査会としては、この試験結果から、
(これまでにあった御意見)

- ・肝細胞癌発現に至る多段階の変化 (変異肝細胞巢の発生) が認められないこと
- ・肝細胞癌の発生頻度は背景データ内にあること
- ・全体の腫瘍発生頻度に変化がないこと

を考え、MCについて発がん性の懸念はないものと判断した。

○原著において、統計学的有意差を求めている所見については、現時点では評価書案においてその他の所見で「・・・傾向」として記載していますが、統計学的有意差の有無に関わらず、毒性所見とすべき所見があるか

○体重増加抑制について、毒性所見またはその他の所見として追記する必要があるか

石塚専門委員：

発がん性の懸念はないとの判断に至った考え方について、過去の評価書の記載のように理由をすべて書かずとも「NTPおよびEFSAの評価を是とし、... (事務局註：MCについては発がん性の懸念はないものと判断した。)」でもよいかと思いました。

事務局より：

以上の所見を毒性とするかの御判断をお願いいたします。

特に、投与群及び対照群（各群 50 匹）に以下のような所見が認められておりますが、いかがでしょうか。

(肺)

・肺の腺腫様過形成；【雄】対照群：13 匹、500 mg/kg/日投与群：19 匹、1000 mg/kg 体重/日投与群：24 匹、【雌】対照群：7 匹、500 群：10 匹、1000 群：18 匹

(肝臓)

・肝細胞癌；【雄】対照群：5 匹、500mg/kg/日投与群：6 匹、1000 mg/kg 体重/日投与群：10 匹

・肝臓多核巨細胞；【雄】対照群：14 匹、500mg/kg/日投与群：31 匹、1000 mg/kg 体重/日投与群：31 匹

高橋専門委員：

上記の記載（この試験結果から、MC については発がん性の懸念はないものと判断した。）で結構だと思います。

高須専門委員：

肝細胞癌の発生頻度は B6C3F1 マウスの背景内程度あり、全体の腫瘍発生頻度に変化がないこと、段階的な変化（変異肝細胞巢の発生）も見られないことを合わせて考えると、発がん性を示唆するものではないと思います。

また、多核巨細胞の増加は加齢マウスで比較のみられる変化であり、細胞周期や細胞分裂に関連する変化である可能性が考えられますが、前がん病変ではないと思いますので、発がん性を示唆するものではないと考えます。

塚本専門委員：

「本専門調査会としては、この試験結果から、MC については発がん性の懸念はないものと判断した」でいいと思います。

1
2
3
4
5
6
7
8

b. マウス 2 世代発がん性試験 (BayerAG 社内資料 (Steinhoff (1978) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用)))

NMRIマウス（雌雄、各群75匹）にMCを表 36のような投与群を設定して、3週間飲水投与中に雌雄を1：1で交配し、雌については妊娠、出産及び4週間の授乳期間終了時まで投与を継続し、児動物（F1：雌雄、各群54～64匹）についても4週齢から母動物と同様の飲水投与を生涯行う試験が実施されている。

1 表 36 MC 用量設定

用量設定 ⁴¹	0 (対照群)、0.5、2.5、12.5、62.5 mg/kg 体重/日
--------------------	--------------------------------------

2
3 その結果、Steinhoffは、病理組織学的所見から、腫瘍発生数はいずれの群
4 においても生物学的な変動範囲内であり、認められた腫瘍の種類も正常範囲内
5 であったと判断し、MCには発がん性を示す証拠が認められなかったとしてい
6 る。

7 EFSA (2015) は、MCには発がん性を示す証拠は認められなかったとする
8 Steinhoffの結論に同意するとしている。(参考14、15、97)【31JECFA
9 (1991)、35EFSA (2015)、104 Steinhoff (1978)】

10
11 本専門調査会としては、発生した腫瘍の詳細が不明であるが、この試験結果
12 について、発がん性を示唆する結果ではないと考えた。

高橋専門委員：

「この試験結果から、MCはマウスにおいて62.5 mg/kg 体重/日では発がん性の懸念はないものと判断した。ただし、発生した腫瘍の詳細が不明であることに留意する必要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

この試験は、古い試験であり現状と異なるプロトコールで実施されている。腫瘍発生数などに変化がないことは確認できるものの、サマリーが発生臓器と腫瘍の良悪性で解析されているなど、詳細が不明な点も多い。従って、この試験において、発がん性を示唆する結果ではないと考えるものの、判断には適さないと考える。

事務局より：

調査会としての判断に係る記載について、御確認をお願いします。

13
14 ~~ラット 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間発がん性試験 (NTP (1987) (JECFA~~
15 ~~(1991) 及び EFSA (2015) で引用))~~
16 ~~Fischer344ラット (雌雄、各群10匹) にMCを表 34-1のような投与群を設定し~~
17 ~~て、週に5日、6、12、18か月間強制経口投与する試験が実施されている。~~

18
19 表 34-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、400 mg/kg 体重/日
------	------------------------

20

⁴¹ EFSA (2015) では、用量設定が「0 (対照群)、2.5、12.5、62.5 mg/kg 体重/日」とされている

その結果、各試験期間の投与群で認められた毒性所見は表 34-2 のとおりである。

表 34-2 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
-(6 か月)-	肝細胞変異巣及び腫瘍性結節の出現個体の増加	肝細胞変異巣及び腫瘍性結節の出現個体の増加
-(12 か月)-	死亡 (1 匹) 肝細胞変異巣、腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加	肝細胞変異巣、腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加
-(18 か月)-	死亡 (9 匹) 肝細胞癌の出現個体の増加 転移 (7 匹)	死亡 (2 匹) 腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加

その他、以下の所見が認められた。

• ~~12か月間試験 (雄)~~ : ~~精巣萎縮の出現個体の増加~~

• ~~18か月間試験 (雌雄)~~ : ~~網膜萎縮の出現個体の増加~~

~~(雄)~~ : ~~骨髓低形成及び白内障の出現個体の増加~~

NTPは、これらの試験の結果から、肝細胞変異巣、腫瘍性結節の増殖及び肝細胞癌の発生の間で、肝がん発症における時間的關係性が立証され、MCによる病理組織学的変化は順次誘導され、まず肝細胞変異巣及び過形成病変が発生し、引き続き腫瘍性結節、そして肝細胞癌が発生するとしている。さらに、6か月～18か月発がん性試験で得られたマウスとラットの間の毒性及び発がん性の所見の相違から、MC投与の影響に対して、これらの種で反応性が異なることが示唆され、この相違はこれらの種における排泄率の相違に由来する可能性があると考えられている。(参考)【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】

事務局より :

NTPの考察は続くe. ラット103週間発がん性試験も含めた考察となっています。本専門調査会としての考察についても、別々に考察を記述するか、まとめて記述するかも含めて記載ぶりを御検討いただければと思います。

高橋専門委員 :

両者をまとめて記載するのがよいと思います。

高須専門委員：

この実験群は2年で見られた変化を継時的に観察する群であり、発がん性のデータをサポートするものですので、下記 (e) の試験と合わせた方がいいと考えます。

事務局より：

次の試験とまとめた文案を作成しましたので、御確認ください。

c. ラット 6 か月間、12 か月間、18 か月間及び 103 週間発がん性試験 (NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

Fischer344ラット (雌雄、各10匹) にMCを表 37-1のような投与群を設定して、6か月間、12か月間及び18か月間、週に5日、それぞれ強制経口投与する試験 (試験I) が、103週間発がん性試験の継時的な観察を目的に実施されている。

また、Fischer344ラット (雌雄、各群50匹) にMCを表 37-2のような投与群を設定して、週に5日、103週間強制経口投与する試験 (試験II) が実施されている。

表 37-1 MC 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間試験 (試験 I) 用量設定

用量設定	0 (対照群)、400 mg/kg 体重/日
------	------------------------

表 37-2 MC 103 週間試験 (試験 II) 用量設定

用量設定	0 (対照群)、100、200 mg/kg 体重/日
------	----------------------------

その結果、~~試験 I 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間試験~~において、各試験期間の投与群で認められた毒性所見は表 37-3 のとおりである。

表 37-3 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間試験 (試験 I) 毒性所見

投与群	投与期間	毒性所見	
		雄	雌
400 mg/kg 体重/日	6 か月	肝細胞変異巣及び腫瘍性結節の出現個体の増加	肝細胞変異巣及び腫瘍性結節の出現個体の増加
	12 か月	死亡 (1 匹) 肝細胞変異巣、腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加	肝細胞変異巣、腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加
	18 か月	死亡 (9 匹) 肝細胞癌の出現個体の増加 転移 (7 匹)	死亡 (2 匹) 腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の増加

1
2 その他、試験Iの各投与群6か月間、12か月間及び18か月間試験において、
3 以下の所見が認められた。

- 4 ・ 12か月間試験 (雄) : 精巣萎縮の出現個体の増加
- 5 ・ 18か月間試験 (雌雄) : 網膜萎縮の出現個体の増加
- 6 (雄) : 骨髄低形成及び白内障の出現個体の増加

7
8 試験 II-103 週間試験において、各投与群で認められた毒性所見は表 37-4 のと
9 おりである。

10
11 表 37-4 MC 103 週間試験 (試験 II) 毒性所見

投与群	毒性所見
200 mg/kg/日	肝臓の腫瘍性結節又は肝細胞癌の出現個体の合計の増加 (雌)

12
13 その他、試験IIの各投与群103週間試験において、以下の所見が認められ
14 た。

15 ・ 200 mg/kg/日投与群

- 16 (雄) : 単核細胞性白血病の出現個体の有意な減少、肝細胞変異巣、腫瘍性
17 結節の増加傾向
- 18 (雌) : 乳腺線維腺腫の出現個体の有意な減少、肝細胞の過形成の増加傾向、
19 心臓の慢性炎症及び多巣性線維化の増加傾向
- 20 (雌雄) : 肝細胞癌、肝臓の慢性炎症巣の増加傾向、脾臓の色素沈着の増加
21 傾向、白内障の増加傾向

22
23 ・ 100 mg/kg/日以上の投与群

- 24 (雄) : 下垂体前葉腺腫又は下垂体前葉癌の出現個体の合計及び副腎の褐
25 色細胞腫の出現個体の用量依存的な有意な減少、肝細胞の過形成
26 の増加傾向
- 27 (雌) : 肝臓の細胞の変性の増加傾向、眼の強膜の骨化生の増加傾向
- 28 (雌雄) : ハーダー腺の炎症巣の増加傾向、網膜萎縮の増加傾向

29
30 これらの試験結果から、NTP (1987) は、Fischer344ラットにおいてMCに
31 明らかな発がん性があり、肝臓癌発症における時間的關係性が立証され、MCに
32 よる病理組織学的変化は順次誘導され、まず肝細胞変異巣及び過形成病変が発
33 生し、引き続き腫瘍性結節、そして肝細胞癌が発生するとしている。さらに、
34 マウスとラットの間毒性及び発がん性の所見の相違から、MCに対して、これ
35 らの種で反応性が異なることが示唆され、この相違はこれらの種における排泄

1 率の相違（ラットはマウスに比べ排泄率が低い）に由来する可能性があると考え
2 察している。

3 JECFA（1991）は、肝細胞の腫瘍化又は細胞増殖の増加の結果から、
4 Fischer344ラットにおいてMCに明らかな発がん性があるとしている。

5 EFSA（2015）は、NTPは肝細胞の腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現頻度の増
6 加の結果から、Fischer344ラットにおいてMCに明らかな発がん性があると結
7 論づけているとしている。また、103週間試験の200 mg/kg/日投与群（雄）にお
8 ける肝細胞癌の増加について有意差はなく、200 mg/kg/日投与群（雌）におけ
9 る肝細胞腺腫と肝細胞癌の組合せでの増加について有意差があるとしている。

10 （参考14、15、84）【31JECFA(1991)、35EFSA(2015)、105NTP(1987)】

11
12 本専門調査会としては、これらの試験結果から、MCはFischer344ラットに
13 14 おいて雄では400 mg/kg 体重/日、雌では200 mg/kg体重/日投与により肝臓に
対する発がん性があるものと判断した。

事務局より：

第166回審議では、次の点について、御検討をお願いします。

○現時点では原著の判断に倣い、表 37-3、表 37-4のような毒性所見とする案
としているが、本調査会としてどのように判断するか。

○発がん性の有無に係る判断にあたり、判断に至った考え方や発がん性に係る
考察について評価書案にまとめられるか

- ・ 本試験で認められたその他の腫瘍に関する知見の扱い
- ・ 発がん性に係るNOAELを設定できるか

（これまでにあった御意見）

- 試験II 200 mg/kg体重/日投与群の雄で認められた腫瘍性結節、雌雄で認
められた肝細胞癌には対照群との有意差が認められないこと
- 遺伝毒性試験は陰性であり、NOAELを設定することができる

○原著において、統計学的有意差を求めている所見については、現時点では
評価書案においてその他の所見で「・・・傾向」として記載していますが、統
計学的有意差の有無に関わらず、毒性所見とすべき所見があるか

- ・ 特に試験IIの100 mg/kg体重/日（反復投与毒性試験（ラット13週間）で得ら
れているNOAELと同じ値）投与群で認められている所見について、毒性と
考える必要があるか

○体重増加抑制について、毒性所見またはその他の所見として追記する必要は

あるか

1

事務局より：

以上の所見を毒性とするかの御判断をお願いいたします。

特に、投与群及び対照群（各群 50 匹）に以下のような所見が認められておりますが、いかがでしょうか。

・肝細胞腺腫性結節；【雄】対照群：3 匹、100 mg/kg/日投与群：0 匹、200 群：3 匹、【雌】対照群：0 匹、100 群：0 匹、200 群：5 匹

・肝細胞癌；【雄】対照群：1 匹、100mg/kg/日投与群：0 匹、200 群：4 匹、【雌】対照群：0 匹、100mg/kg/日投与群：0 匹、200 群：2 匹

高橋専門委員：

有意差がみられないため毒性とはせず、その他の所見とすればよいと思います。

「この試験結果から、MC は Fischer344 ラットにおいて雄では 400 mg/kg 体重/日、雌では 200 mg/kg 体重/日投与により肝臓に対する発がん性があるものと判断した。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

200mg/kg 群で増加傾向がありそうですが、いずれも統計学的に有意差はないので、所見として記載し、表中は腫瘍発生の合計でよろしいではないでしょうか。

非投与 F344 ラットの NTP 背景データ（1990 年頃）は、

Neoplastic nodule (Male, 4.1% (0-12); Female, 2.3% (0-10))

Hepatocellular carcinoma (Male, 1.0% (0-6); Female, 0.2% (0-2))

です。

経時的な観察も踏まえると 200mg/kg では発がん性は認められると思います。

塚本専門委員：

高橋先生、高須先生と同意見です。

2

3 d. ラット 2 世代発がん性試験 (BayerAG 社内資料 (Steinhoff ら (1977) (JECFA
4 (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

5 Wistar ラット (雌雄、各群 75 匹) に MC を表 38 のような投与群を設定し
6 て、1 週間飲水投与後に雌雄を 1 : 1 で交配 (交配期間 : 3 週間) し、雌につい
7 ては妊娠、出産及び 4 週間の授乳期間終了時まで飲水投与を継続して、F1 動物
8 (各群 54 ~ 62 匹) についても 4 週齢から親動物と同様の飲水投与を生涯行う試
9 験が実施されている。

10

1 表 38 MC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.5、2.5、12.5、62.5 mg/kg/日
------	-----------------------------------

2

3 その結果、MCの発がん性を示す証拠は認められなかった。

4 JECFA (1991) は、Steinhoffが投与群で合計の腫瘍発生数に変化が認めら
5 れず、腫瘍発生に用量依存性がないことから、本試験においてMCに発がん性
6 は認められなかったと結論づけたとしている。

7 EFSA (2015) は、MC投与による腫瘍発生数の増加は認められなかったと
8 している。(参考14、15、98)【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、
9 105 NTP (1987)、107Steinhoff (1977)】

10

11 本専門調査会としては、発生した腫瘍の詳細が不明であるが、この試験結果
12 について、発がん性を示唆する結果ではないと考えた。

高橋専門委員：

「この試験結果から、MCはWistarラットにおいて62.5 mg/kg 体重/日では発がん性の懸念はないものと判断した。ただし、発生した腫瘍の詳細が一部不明であることに留意する必要がある。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

この試験は、古い試験であり、現状と異なるプロトコールで実施されている。腫瘍発生数などに変化がないことは確認できるものの、サマリーが発生臓器と腫瘍の良悪性で解析されているなど、詳細が不明な点も多い。従って、この試験は発がん性を示唆する結果ではないと考えるものの、判断には適さないと考える。

塚本専門委員：

「本専門調査会としては、発生した腫瘍の詳細が不明であるが、この試験結果について、発がん性を示唆する結果ではないと考えた。」でいいと思います。

事務局より：

調査会としての判断に係る記載について、御検討をお願いします。

13

事務局より：

【112】Portら (1980) については、JECFA (1991) において、十分な試験計画とは言えず、MCに催腫瘍性がないと断定できなかったとあり、記載していません。なお、概要書では1980年の文献とありますが、JECFA (1991) は、同一の題名、著者の文献について、1979年の文献 (未発表資料) としています。

14

⑤ 生殖発生毒性

MCの生殖発生毒性に関する知見は認められなかった。

⑥ 一般薬理試験

a. 代謝酵素活性等への影響(ラット) (BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) (JECFA (1991) で引用))

Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に MC を 1 日 1 回連続 7 日間強制経口投与 (0 (対照群)、800 mg/kg 体重/日) し、投与終了後、肝臓ホモジネート上清中のシトクロム P450 依存性モノオキシゲナーゼ (biphenyl-4-hydroxylase (BPH-4-OH) (無処置群のみ)、7-ethoxycoumarin deethylase (ECOD⁴²) 及び aldrin epoxidase (ALD)) 及び epoxide hydrolase (EH) の活性並びに細胞質中の GSH-TGST⁴³の活性を測定する試験が実施されている。

その結果、無処置群においては、Wistar ラットと比較して Fischer344 ラットで、BPH-4-OH の活性が平均で約 4 倍高く、また ALD の活性も約 50%高かった。一方、EH 及び GST の活性はそれぞれ約 25%及び約 50%低かった。無処置群と 7 日間投与群との比較においては、Wistar ラットでは、7 日間投与群は、無処置群に比較対して ECOD、EH 及び GSH-TGST の活性が、それぞれ約 70%、約 50%及び約 20%高かった。一方、Fischer344 ラットでは、7 日間投与群は、無処置群に対して EH の活性が約 10%高く、ALD 及び GSH-TGST の活性がそれぞれ約 60%及び約 10%低かった。

(参照 1 4、5 4) 【31 JECFA (1991)、77 Schmidt and Schmidt (1987)】

事務局より：

MCに係る他の体内動態の知見及び毒性の知見の議論を踏まえ、記載の要否も踏まえ、記載箇所について御検討をお願いします。

毒性の「一般薬理試験」の項に記載することでよろしいでしょうか。

なお、原著では GSH-transferase (glutation transferase) と記述されていますが、GST と記載しました。

頭金専門委員：

「一般薬理試験」の項でよいと思います。

石井専門委員：

「一般薬理試験」の項に記載することでよろしいと思います。

⁴² BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) では EOD と略されている。

⁴³ BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) では GSH-transferase (glutation transferase) とされている。

石塚専門委員

EOD は一般的には「ECOD」かと思います。次の試験も同様です。原著のままでも結構です。

事務局より：

御指摘を受け、修正しました。

1
2 b. 代謝酵素活性等への影響 (ラット) (Bomhard ら (1989))

3 Wistar ラット (雄、各群 5 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 5 匹) に
4 MC を表 39 -1 のような投与群を設定して、7 日間強制経口投与する試験が実
5 施されている。

6
7 表 39-1 MC の用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500、1,000 mg/kg 体重/日
------	----------------------------------

8
9 投与開始後 1、3、5、7 日目に採尿して、尿中に排泄された MC を GC で分
10 析するとともに、投与終了後に肝臓ホモジネート上清中の酵素 (ECOD、ALD、
11 EH 及び GST⁴⁴) の活性を測定する試験が実施されている。

12 その結果、Fischer ラットは Wistar ラットと比較して、投与開始後 1、3 及
13 び 5 日 目の MC の尿中排泄率は低かったが、投与開始後 7 日 目の排泄率は両系
14 統で同様になった。また、肝臓ホモジネート上清中の酵素 (ECOD、ALD、EH
15 及び GST) 活性については、Wistar ラットの投与群では、対照群と比較して
16 ECOD 及び EH の活性に僅かな増加が認められたが、Fischer344 ラットの投
17 与群では対照群と比較して ALD の活性の 50%以上の低下が認められた。

18 Bomhard らは、両系統間で、MC の動態及び肝臓薬物代謝酵素への影響に明
19 らかな差異が認められており、形態学的に異なる変化をもたらす可能性がある
20 としている。(参照 1 0 2) 【78 Bomhard ら (1989)】

事務局より：

⑤. 体内動態 (5) カルバミン酸メチル (MC) の「代謝等の系統差」から記
載を移しました。本知見が記載すべき内容かどうか、一般薬理試験 (または他の
項目) に記載すべき内容があるかどうかについてご検討をお願いします。

なお、現在記載している内容は反復投与試験に記載の内容の一部抜粋 (毒性に
係る内容を除いたもの) です。

21
22 ⑦ その他の試験

⁴⁴ Bomhard ら (1989) では GSH-T (gultathion-S-transferase) と記述されている。

1 a. 形質転換試験 (Dunkelら (1981) (JECFA (1991) で引用))

2 MC について⁴⁵ シリアンハムスター胚細胞 (SHEM 細胞) (最高用量 50
3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)⁴⁵ 又はラウシャーマウス白血病ウイルス感染 F344 ラット胚細胞 (R-
4 MuLV-RE 細胞) (12、120 及び 1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を用いた形質転換試験が実施さ
5 れた。

6 その結果、SHEM 細胞では陰性であったが、R-MuLV-RE 細胞では 120
7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上のばく露で陽性であった。(参照 106) 【137】

8
9 b. 形質転換試験 (Sakaiら (2010))

10 MC について、Bhas42 細胞⁴⁵ (最高用量 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (13.3 mmol/L) を用い
11 た形質転換試験が実施された。

12 その結果、イニシエーション活性、プロモーター活性ともに陰性であった。 (参
13 照 107、108) 【追加 12-1 Sakaiら (2010) ,追加 12-2 Sakaiら (2010)】

14
事務局より：

形質転換試験は「その他の試験」に記載することによろしいでしょうか。また、記載方法 (表にまとめたほうがよいかなど) についても御検討をお願いいたします。

【参考】

農薬評価書「カズサホス (第4版)」(2017年3月)

(3) 形質転換試験

マウス線維芽細胞 BALB/3T3 を用いた形質転換試験が実施された。結果は表 23 に示されている。(参照 58)

表 23 形質転換試験 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果
形質転換試験	マウス線維芽細胞 (BALB/3T3)	0.06~0.09 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (+S9) 0.01~0.07 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (-S9) (+/-S9 とともに 2 時間処理)	陽性 (+S9)

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

戸塚専門委員：

形質転換試験についての資料※を添付します。

⁴⁵ BALB/c 3T3 細胞に v-Ha-ras を導入し、v-Ha-ras を有する細胞のクローニング、正常形態を示すが TPA により形質転換するクローンのスクリーニングにより樹立された細胞

※追加資料7 （財）食品薬品安全センター秦野研究所、佐々木澄志ら（2012）
（厚生労働省、2012年11月28日平成24年度化学物質のリスク評価検討会（第4回有害性評価小検討会）資料1）

山田専門委員：

追加資料7にもMCの形質転換試験の結果が記載されています。Bhas 42を用いてイニシエーションもプロモーションも陰性です。これも参考情報に加えてはいかがでしょうか。

事務局より：

（財）食品薬品安全センター秦野研究所、佐々木澄志ら（2012）（厚生労働省、2012年11月28日平成24年度化学物質のリスク評価検討会（第4回有害性評価小検討会）資料1に記載の形質転換試験の原著について、Sakai et al., Mutat. Res., 702, 100-122 (2010)を追加資料12-1として、そのErratumであるSakai et al., Mutat. Res., 703, 209-226 (2010)を追加資料12-2として追加しています。

1
2
3
4
5
6
7

⑧ ヒトにおける知見

MCのヒトにおける知見は認められなかった。

⑨ 毒性のまとめ

(文案調整中) . . .

1 (6) 炭酸ジメチル (DMC)

2 ① 遺伝毒性

3 DMC の遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

5 ② 急性毒性

6 DMC を被験物質とした急性毒性に関する試験成績は、表 40 のとおりであ
7 る。

9 表 40 DMC 単回経口投与試験における LD50

動物種	LD50 (mg/kg 体重)	参照
マウス (雌)	10,163	LANXESS 社内資料 (Steinhoff (1974)) (参照 109) 【138】
ラット (雌)	10,349	

11 ③ 反復投与毒性

12 a. ラット 3 か月間経口投与毒性試験 (BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1982)
13 (EFSA (2015) で引用))

14 Wistarラット (雌雄、各群20匹) にDMCを表 41のような投与群を設定し
15 て、3か月間飲水投与する試験が実施されている。

17 表 41 DMC 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1,000、3,000、10,000 ppm
mg/kg 体重/日 ⁴⁶	雄：0、100、280、890 mg/kg 体重/日 雌：0、120、370、1,110 mg/kg 体重/日

18 その結果、生存率、一般状態、摂餌量、飲水量、体重、血液学的検査、血液生
19 化学的検査、尿検査、肉眼所見、病理組織学的検査において被験物質の投与に
20 よる影響は認められなかった。

21 Eiben らは、本試験における DMC の許容量を 10,000ppm としている。

22 EFSA (2015) は、Eiben らの本試験における DMC の NOAEL を雄で 890
23 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日と結論づけているとし、これらの
24 NOAEL に同意するとしている。(参照 15、110) 【35EFSA (2015)、
25 139Eiben ら (1982)】

26
27
28 本専門調査会としては、本試験における NOAEL は最高用量である 10,000
29 ppm (雄で 890 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日) と判断した。

高橋専門委員：

⁴⁶ EFSA(2015)で換算

「本試験における NOAEL は最高用量である 10,000 ppm（雄で 890 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日）と判断した。」とすればよいと思います。

高須専門委員：

最高用量が NOAEL でいいと思います。

塚本専門委員：

高橋先生、高須先生と同意見です。「本専門調査会としては、本試験における NOAEL は最高用量である 10,000 ppm（雄で 890 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日）と判断した。」でいいと思います。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

④ 発がん性

DMC の発がん性に関する知見は認められなかった。

⑤ 生殖発生毒性

DMC の生殖発生毒性 （経口投与） に関する知見は認められなかった。

a. 参考資料

（吸入試験について、文案調整中）

⑥ ヒトにおける知見

DMC のヒトにおける知見は認められなかった。

⑦ 毒性のまとめ

DMC を被験物質とした遺伝毒性の試験成績は認められなかったものの、DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性（53 ページ）及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績（60 ページ）並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（78 ページ）の試験成績を検討した結果、本専門調査会としては、DMC について生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

・・・（文案調整中）

~~（7）ヒトにおける知見~~

事務局より：

化合物毎に「毒性のまとめ」の項を作成したことに併せて、「ヒトにおける知見」も同様に整理しました。

23
24

~~（8）毒性試験のまとめ~~

事務局より：

化合物毎に「毒性のまとめ」の項を作成し、記載し直しました。

1

事務局より：（遺伝毒性：MEC、DMC）

MEC、DMC を被験物質とした遺伝毒性の試験成績は認められておりませんが、第 164 回専門調査会での議論を踏まえ、本項に下記のとおり記載されております。本調査会としての御判断について御検討をお願いします。

毒性試験のまとめでなく、各化合物の「遺伝毒性」の項で初出とするほうがよろしいでしょうか。

戸塚専門委員：

下記の記載に特に異論はありません。

山田専門委員：

遺伝毒性のまとめを、毒性の項目の最後に持ってくることはそれでよいと考えます。一部に、発がん試験の試験成績に触れている品目がありますので、発がん試験の後に記載しないと記載が矛盾するからです。

事務局より：

化合物毎に「毒性のまとめ」の項を作成し、記載を移しました。なお、DMDC 関連化合物の毒性について、後述の MC の遺伝毒性の試験成績を参照する場合等は、その旨を明記しています。

2

3

4

5

1 III. 一日摂取量の推計等

2 添加物「二炭酸ジメチル」の一日摂取量の推計等を検討するに当たっては、
3 DMDCのほか、添加飲料に残留するDMDC関連化合物についても検討を行った。

4
5 1. 我が国における摂取量

6 (1) 現在の食品由来の摂取量

7 添加物「二炭酸ジメチル」は未指定であり、使用実績がない。

8
9 DMDC関連化合物のうち、メタノールについては、新鮮な果物、野菜、フ
10 ルーツジュース、発酵飲料等の飲食物にも含まれている。

11 Françot & Geoffroy (1956)は、メタノールが果実ジュースに 12~680 mg/mL
12 (平均 141 mg/mL)、各種ワインに平均 32~452 mg/mL ~~のメタノールが~~含ま
13 れるとしている。(参照 1 1 1) 【71 Françot P & Geoffroy P (1956)】

14 Wucherpfenning ら (1983)は、メタノールが果実ジュース (果肉無し) に
15 83~289 mg/L、同 (果肉入り) に 64~326 mg/L ~~メタノールが~~含まれるとし
16 ている。(参照 1 1 2) 【65 Wucherpfenning ら (1983)】

17 また、LANXESS社内資料 (Kock (2008))では、欧州で市販されている典型
18 的な果汁飲料にはメタノールが10 mg/L以下、カシスジュースには最大23.5
19 mg/L含まれていたとしている。(参照 1 2) 【3 LANXESS社内資料 (Koch
20 (2008))】

21 なお、食品衛生法において、アルコール飲料中のメタノール濃度は1 mg/mL
22 までと規定されている⁴⁷。

事務局より：

第165回専門調査会における御指摘を受け、Françot P & Geoffroy P (1956)
の知見の単位の誤記を修正しました。

23
24 (2) 使用基準策定後の食品由来の摂取量の推計

事務局より：(補足資料提出依頼中)

補足資料が提出され次第、改めての御確認をお願いします。

25
26 指定等要請者は、我が国におけるDMDCの使用対象飲料の摂取量を、厚生労
27 働省(2015)又は一般社団法人全国清涼飲料工業会(2016)による報告値から
28 以下のとおり推計している。

47 「有毒飲食物等取締令の廃止について」(昭和29年7月15日付け衛食第182号)(抄)「なお、含有メタノール量からみて、当該食品等が食品衛生法第四条第二号に該当するか否かの判定の基準については、従前どおり、酒精飲料一立方センチメートル中一ミリグラム以上のメタノールを含むものは有害な飲料と認められるので念のため申し添える。」

厚生労働省が実施した平成 26 年国民健康・栄養調査の食品群別摂取量データのうち野菜ジュース、果汁・果汁飲料及び嗜好飲料類（日本酒及びビールを除外）がすべて DMDC の使用対象と仮定すると、DMDC の適用が予想される飲料の平均摂取量（総数、1 歳以上）は表 42 のとおりである。（参照 113）

【167】

表 42 DMDC の適用が予想される飲料の 1 人あたり平均摂取量

食品群			平均摂取量（総数、1 歳以上）（g/人/日）
野菜類	野菜ジュース		11.4
果物類	果汁・果汁飲料		9.4
嗜好飲料	アルコール飲料	洋酒・その他	33.3
		茶	257.7
	その他の嗜好飲料	コーヒー・ココア	131.2
		その他の嗜好飲料	101.2
合計			544.2

（平成 26 年国民健康・栄養調査に基づく推計）

また、飲料の生産量統計資料に基づく年間生産量及び年間輸入・輸出量等から推計された 1 人当たりの推定年間消費量及び推定一日消費量は表 43 のとおりである。（参照 114、115）【8 一般社団法人全国清涼飲料工業会（2016）、168 国税庁（2015）】

表 43 DMDC の適用が予想される飲料の 1 人あたり平均摂取量（mL/人）⁴⁸

	国内生産量に基づく推定消費量		年間輸入／輸出量	国内生産量、年間輸入・輸出量に基づく推定消費量	
	年間	一日		年間	一日
果汁・野菜系飲料	18,628	51	1,912/34	20,506	56
（内訳）果実ジュース	3,325	9	/	/	/
果汁入り飲料	10,902	30			
野菜系飲料	4,401	12			

⁴⁸ 2015 年（平成 27 年）人口 127,110 千人（2015 年国勢調査人口速報集計による人口を基準として算出した人口推計の確定値を用いて一般社団法人全国清涼飲料工業会推定）。酒類は成人人口を対象として、10,502 万人で推計。

清涼飲料系	111,896	307	878/641	112,133	307
(内訳) コーヒー飲料	23,430	64	/	/	/
スポーツ飲料	11,586	32			
炭酸飲料	29,338	80			
茶系飲料	45,128	124			
ノンアルコール飲料	2,414	7			
果実酒類	3,704	10	0 ⁴⁹ /34 ⁵⁰	3,670	10
合計	134,228	368	2,790/709	136,309	373

(飲料生産量統計調査に基づく推計)

指定等要請者は、上記の推計のうち、過小な見積もりを防ぐため、より摂取量が多く推計される厚生労働省による国民健康・栄養調査に基づく平均摂取量を一日摂取量として、それに表 44 に記載の DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量を乗じて、DMDC 関連化合物の推定一日摂取量を推計している⁵¹。

事務局より：

「ワイン(ぶどう酒)」という記載が、評価書案中他の箇所との整合がとれていないとの第 165 回専門調査会における御指摘を受け、脚注 51 の記載を修正しました。「品目の概要」における関連記載についても第 167 回専門調査会にて確認いただけるよう見直します。

なお、DMDC については最終製品に残留しないことから、推計していない。

表 44 国民・健康栄養調査に基づく DMDC 関連化合物の推定一日摂取量

	添加対象飲料の推定一日摂取量 (g/人/日)	DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量 (mg/L)	推定一日摂取量	
			(mg/人/日)	(mg/kg 体重/日)
メタノール	544.2	120	65.3	1.19
N-CMC	544.2	5	2.72	0.050
MEC	33.3 ⁵²	10	0.33	0.006
MC	544.2	0.025	0.014	0.00025
DMC	544.2	0.5	0.27	0.005

⁴⁹ 酒量の生産量は国税庁課税数量(国産分及び輸入分の合計)による。

⁵⁰ 「酒類の輸出金額・数量の推移」国税庁課税部酒税課(2016)による。【168】

⁵¹ すべての飲料の比重を 1 として計算。~~ワイン(ぶどう酒)~~に対して提案されている添加量上限は 200 mg/L であるが、国民健康・栄養調査の「洋酒・その他」ではぶどう酒~~ワイン~~とそれ以外の洋酒類を区別していないため、他の飲料の添加量上限 250 mg/L を用いて計算。体重は、国民平均：55.1 kg(平成 26 年 3 月 31 日食品安全委員会決定)を利用。

⁵² MEC はアルコール飲料でのみ生成と想定。

2. 国際機関等における推計

(1) JECFA における推計

JECFA (1991) は、DMDC は飲料に添加後速やかに分解され、DMDC 250 mg/L 添加により、メタノールが 120 mg/L、CMC が約 4 mg/L、MC が 20 µg/L 未満、また、DMC が 0.5 mg/L 未満の濃度で生成すると推定している。加えて、11% (v/v) アルコール飲料においては、MEC が約 1.5 mg/L 生成するとしている。これらの数値を用いた摂取量評価はされていないが、MC の生成量について、Fischer 344 ラットの肝腫瘍形成に対する NOAEL 100 mg/kg 体重/日と比較して、大きな安全マージンが存在するとしている。また、Stafford & Ough (1976) によれば、メタノールの生成量は天然の果汁やアルコール飲料に含まれる濃度と同程度又はそれ未満であるとしている。(参照 14) 【WHO FAS 28 (1990) 31】

13

(2) 米国における推計

FDA (1996) は、DMDC 100 mg/L 添加時にメタノールが 48.7 mg/L 生じるとして、通常の果汁及びワイン並びに DMDC 添加飲料由来のメタノールの一日摂取量の上限 90 パーセンタイル値を 59 mg/kg 体重/日と推計している。また、一連の評価において、MC の推定一日摂取量上限 90 パーセンタイル値がワイン (DMDC 200 mg/L 添加) の場合 2.4 µg/人/日、茶系飲料 (DMDC 250 mg/L 添加) の場合 0.8 µg/人/日及びスポーツドリンク等の場合 1.5 µg/人/日と推計しているほか、DMDC 100~200 mg/L 添加による MEC 及び CMC の摂取量は総計 2~5 mg/人/日と推定している。(参照 18、20、21) 【22FR (1988)、24FR (1994)、25FR (1996)】

24

(3) 欧州における推計

SCF (1997) は、DMDC はノンアルコール飲料に添加後分解され、DMDC 250 mg/L 添加により、メタノールが 120 mg/L、CO₂ が 160 mg/L、CMC 1.7~5 mg/L、MC が 25 µg/L 未満及び DMC が 0.5 mg/L 未満の濃度で生成すると推定している。

SCF (2001) は、アルコール飲料に対して DMDC 250 mg/L 添加により、MEC が 8.2~10.3 mg/L の濃度で生成すると推定している。

EFSA (2015) は上述の JECFA (1991) による推計も考慮の上、DMDC は飲料に添加後、半減期 15~20 分 (20°C) で分解されて検出されず (検出限界 0.05 mg/L) として、生成する関連化合物の摂取量を、SCF (1997) 又は SCF (2001) で設定した生成量を用いて推計している (表 45)。

また、EFSA (2015) は、EFSA ANS Panel (2013) を引用し、メタノールの摂取量を、~~アスパルテーム~~、通常の食生活から摂取されるメタノール摂取及び内在性内因性メタノールの合計として、平均で 8.4~18.9 mg/kg 体重/日、

1 対象食品高消費群で 15.1～35.1 mg/kg 体重/日としている。(参照 1 5、2 3、
2 2 4) 【35EFSA (2015)、33 SCF (1997)、34 SCF (2001)】

事務局より：

「アスパルテーム」は「通常の食生活」に含有されるとして、修正しました。

3

4 表 45 DMDC 関連化合物の推定一日摂取量 注 1)

対象物質	4～11 か 月児	12～35 ヶ月児	3～9 歳	10～17 歳	18～64 歳	65 歳以上	注 2)
メタノール (mg/kg 体重/日)	<0.1- 0.3	<0.1- 2.0	0.1- 1.7	0.2- 1.2	0.1- 0.6	0.1- 0.3	①
	(< 0.1- 2.0)	<0.1- 5.8	0.6- 4.3	0.7- 2.9	0.5- 2.1	0.3- 0.8	②
MEC (µg /kg 体重/日)	<0.01- 0.08	<0.01- 0.23	<0.01- 1.29	0.01- 1.32	0.65- 12.3	2.38- 18.5	①
	<0.01- <0.01	<0.01- 0.11	<0.01- 5.15	<0.01- 9.77	<0.01- 54.3	13.2- 58.8	②
MC (µg /kg 体重/日)	<0.01- 0.07	<0.01- 0.41	0.03- 0.34	0.04- 0.25	0.02- 0.13	0.01- 0.06	①
	<0.01- 0.42	<0.01- 1.20	0.13- 0.90	0.15- 0.61	0.10- 0.43	0.07- 0.17	②
DMC (µg /kg 体重/日)	<0.1- 1.4	<0.1- 8.2	0.5- 6.9	0.7- 4.9	0.4- 2.6	0.3- 1.1	①
	<0.1- 8.4	<0.1- 24.0	<0.1- 24.0	3.1- 12.1	1.9- 8.6	1.4- 3.4	②

5 注 1) メタノール、MC、DMC：DMDC の最大使用可能量を用いた推計

6 MEC：報告された DMDC の使用量を用いた推計

7 注 2) ①：推定摂取量の平均値の下限・上限、②：推定摂取量の 95 パーセンタイル値の下限・上限

8

9 3. 摂取量の推計等のまとめ

事務局より：

「加工助剤（殺菌料及び抽出溶媒）の食品健康影響評価の考え方」（「添加物に関する食品健康影響評価指針」（2017 年 7 月改正）附則）において、一日摂取量の推計について、「原則として、残留試験の結果から最終食品において想定される最大残留量を計算し、最大残留量と使用対象食品の一日摂取量を乗じて求める。残留値が検出限界値以下である場合は、原則として検出限界値を最大残留量とする。食品の一日摂取量は、国民健康・栄養調査の食品群別摂取量又はその他の資料等により適切に推定する。使用中に生じる可能性がある分解物等について

も、原則として、残留試験の結果から最大残留量を計算し、残留量と使用対象食品の一日摂取量を乗じて分解物等の一日摂取量を推計する。一日摂取量の推定に当たっては、最新の食品安全委員会決定に基づく平均体重を用いる。」とされています。

DMDC 関連化合物については、DMDC を使用基準案の最大添加量を添加時の最大残留量を用いた指定等要請者の推計を是認し、また、指定等要請者が推計していない DMDC については指定等要請者が推計した対象食品の摂取量及び検出限界値から推計する案を作成しておりますが、よろしいでしょうか。ご検討をお願いします。

西専門委員：

推計の方法については特に異論ありません。国民健康・栄養調査については、すでに平成 28 年の結果が報告されています。ご確認ください。

事務局より：

要請者は飲料の摂取量について、平成 26 年国民健康・栄養調査（調査人数 8,047 人）を参照していますが、最新の平成 28 年国民健康・栄養調査（平成 29 年 12 月；調査人数 26,133 人）では下記のとおりです。評価書案で更新した方がよろしいでしょうか。

表 DMDC の添加が予想される飲料の平均摂取量（1 人 1 日あたり（g））

食品群		平成 26 年 国民健康・栄養調査	平成 28 年 国民健康・栄養調査	
野菜類	野菜ジュース	11.4	12.2	
果物類	果汁・果汁飲料	9.4	10.7	
嗜好飲料	アルコール飲料	33.3	28.6	
	その他の嗜好飲料	茶	257.7	237.9
		コーヒー・ココア	131.2	133.3
		その他の嗜好飲料	101.2	134.7
合計		544.2	557.4	

西専門委員：

国民健康・栄養調査については、最新かつサンプル数の大きい平成 28 年の数値

に更新いただくのがよいと思います。

事務局より：（補足資料提出依頼中）

補足資料が提出され次第、改めての御確認をお願いします。なお、現在は国民全体における飲料摂取量を基に、国民全体の推計値のみ記載していますが、年代毎に推計することを考えております。

1 本専門調査会としては、指定等要請者の推計を是認し、DMDC の使用により
2 生じる可能性がある分解物等関連化合物の一日摂取量について、表 46 のとおり
3 と判断した。

4 DMDC については、最終製品において検出限界以下とされており、検出限界
5 値を最大残留量とし、指定等要請者が推計した国民健康・栄養調査による添加対
6 象飲料の一日摂取量を用いて推定摂取量を推計した。

7

8 表 46 DMDC 及びその分解物等の推定一日摂取量

	DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量	推定一日摂取量
DMDC	<0.05 mg/L (検出限界未満)	0.5 µg/kg 体重/日
メタノール	120 mg/L	1.19 mg/kg 体重/日
N-CMC	5 mg/L	50 µg /kg 体重/日
MEC	10 mg/L	6 µg /kg 体重/日
MC	0.025 mg/L	0.25 µg /kg 体重/日
DMC	0.5 mg/L	5 µg /kg 体重/日

9 注) DMDC 推定一日摂取量の推計：添加対象飲料一日摂取量を 544.2 g/人/日、全ての飲料の比重を 1、

10 DMDC 検出限界値を 0.05 mg/L、平均体重（国民全体）を 55.1 kg 体重/人として、

11 $544.2 \text{ (g/人/日)} \div 1 \text{ (g/mL)} \times 0.05 \text{ (mg/L)} \div 55.1 \text{ (kg 体重/人)} = 0.5 \text{ (µg/kg 体重/日)}$

12

13 IV. 食品健康影響評価

14 (文案作成中)

15

事務局より：

追って作成いたします。

16

17

1 <別紙 1 : 略称>

略称	名称等

2

3

事務局より：
追って作成いたします。

4

5

<参照> 参考資料一覧

- ¹ 厚生労働省：二炭酸ジメチルに係る添加物指定要請に関する食品健康影響評価について,第 680 回食品安全委員会（平成 30 年 1 月 16 日）【第 680 回食品安全委員会資料】
- ² Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Dimethyl Dicarbonate. Prepared at the 37th JECFA, published in FNP 52, 1990 【37】
- ³ Laying down specification for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council (Text with EEA relevance). Commission Regulation (EU) No 232/2012 of 9 March 2012. Official Journal of the European Union: 83 1-287 【41】
- ⁴ ランクセス会社：二炭酸ジメチル 概要書, 平成 30 年 1 月, 【概要書】
- ⁵ LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® (DMDC) stability test 2008 (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月) 【Koch F】 【46】
- ⁶ Krefeld-Uerdingen GH: Dimethyl dicarbonate – a new disappearing substance for alcohol-free soft drinks containing fruit juice. Mineralwasser-Zeitung 1979; 13: 1-15 【61】
- ⁷ LANXESS Deutschland GmbH: Dimethyl Dicarbonate (DMDC) - Chemical and Physical Properties - (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月) 【36】
- ⁸ LANXESS Deutschland GmbH: Hydrolysis of DMDC in alcoholic beverages (Test report Nr.: AX9010147-0148/0) (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月) 【62】
- ⁹ Labor Haase-Aschoff: Standard operation procedure- SOP0012E, Dimethyl dicarbonate (DMDC), determined by GC/MS (Labor Haase-Aschoff 社内資料、1992 年 2 月) 【50】
- ¹⁰ Labor Dr. Haase-Aschoff: Sample preparation and determination of DMDC (Labor Dr. Haase-Aschoff 社内資料、1998 年 9 月) 【51】
- ¹¹ Bayer AG: Dimethyl dicarbonate (DMDC), Technical effect (Bayer AG 社内資料、1988 年 3 月) 【2】
- ¹² LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® – natural methanol contents in soft drinks (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2008 年 10 月) 【3】
- ¹³ LANXESS Deutschland GmbH: List of related substances (LANXESS

Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 8 月) 【63】

¹⁴ Dimethyldicarbonate (DMDC). In WHO (ed.), Food Additives Series 28. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the 37th meeting of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Geneva, 1991 【31】

¹⁵ European Food Safety Authority: Scientific opinion on the re-evaluation of dimethyl dicarbonate (DMDC, E 242) as a food additive. EFSA Journal 2015; 13: 4319 【35】

¹⁶ Stafford PA and Ough CS: Formation of methanol and ethyl methyl carbonate by dimethyl dicarbonate in wine and model Solutions. Am. J. Enol. Viticult. 1976; 27: 7-11 【98】

¹⁷ Ough CS and Langbehn L: Measurement of methylcarbamate formed by the addition of dimethyl dicarbonate to model solutions and to wines. J. Agric. Food Chem. 1976; 24: 428-30 【102】

¹⁸ Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Direct Food Additives: Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption, Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 1988; 53(204): 41325-9 【22】

¹⁹ Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 1993; 58(15): 6088-91 【23】

²⁰ Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 1994; 59(24): 5317-20 【24】

²¹ Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 1996; 61(104): 26786-8 【25】

²² Commission of the European Communities: Dimethyldicarbonate (DMDC). Commission of the European Communities, food –science and techniques, Report of the Scientific Committee for Food Twenty-sixth series, 1992: 4-10 【32】

²³ European Commission: Opinion on Dimethyldicarbonate (DMDC, Velcorin). European Commission, food science and techniques, Report of the Scientific Committee for Food 39th series, 1997: 23-26 【33】

²⁴ Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the use of dimethyl dicarbonate (DMDC) in wines, 12 July 2001 【34】

²⁵ Codex Alimentarius Commission: General Standard for Food Additives, CODEX STAN 192-1995, Revision 2017 【17】

²⁶ Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Committee on Food Additives, Forty Fifth session, 18-22 March 2013 【21】

²⁷ Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.35 2000 【26】

²⁸ Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.483 2005 【27】

²⁹ Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 2001; 66(45): 13652-3 【28】

³⁰ U.S. Government Publishing Office: Code of Federal Regulations, 21 CFR Part 172 Ch.1 (4-1-16 Edition) § 172.133 Dimethyl dicarbonate 2016 【29】

<https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2016-title21-vol3/pdf/CFR-2016-title21-vol3-sec172-133.pdf>

³¹ European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. 1995. Official Journal of the European Union: 61 1-53 【30】

³² Commission Directive 2010/69/EU of 22 October 2010 amending the Annexes to European Parliament and Council Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners (Text with EEA relevance). Official Journal of the European Union: 279: 22-31 【66】

³³ Commission Regulation (EC) No 606/2009 of 10 July 2009 laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards the categories of grapevine products, oenological practices and the applicable restrictions. Official Journal of the European Union: 193: 1-59 【67】

³⁴ Government of New Zealand: Food Standards Australia New Zealand Act 1991: Australia New Zealand Food Standards Code - Amendment No. 121 - 2011. New Zealand Gazette 2011; 14: 318-9 【5】

³⁵ Food Standards Australia New Zealand: Application A1025: Classification of DMDC explanatory statement. Food Standards Australia New Zealand - Amendment No. 121 - 2011 【6】

³⁶ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Dimethyl Dicarbonate. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1990 【20】

³⁷ Bayer AG: Toxicological assessment of the small amounts of methanol anticipated in the sterilization of drinks with dimethyl dicarbonate. (Bayer AG 社内資料、1987 年)

³⁸ 第 594 回食品安全委員会資料 1 - 2 (厚生労働省提出資料), 生食用鮮魚介類、生食用かき及び冷凍食品の加工基準に係る食品安全基本法第 24 条第 1 項第 1 号に基づく食品健康影響評価について, 2016 【64】

³⁹ 第 8 版食品添加物公定書解説書, 2007 年 【追加 3】

⁴⁰ WHO : メタノール, 環境保健クライテリア No.196, 1998 年 ; WHO : Methanol, Environmental Health Criteria No.196, 1997 【68】

⁴¹ NTP: NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Methanol, 2003 【追加 4】

⁴² LEAF G and Zatman LJ: A study of the conditions under which methanol may exert a toxic hazard in industry. Brit. J.industr. Med. 1952; 9: 19-31 【追加 11】

⁴³ 財団法人エネルギー総合工学研究所, 財団法人工業開発研究所及び株式会社 三菱化成安全科学研究所 : 昭和 58 年度石油火力発電所メタノール転換等実証試験 (環境安全性実証試験) 委託業務報告書, 1983 年 【69】

⁴⁴ Røe O: Species differences in methanol poisoning. Crit. Rev. Toxicol. 1982; 10: 275-86 【72】

⁴⁵ Lund A: Metabolism of methanol and formic acid in rabbits. Acta pharmacol. 1948; 4: 99-107 【追加 9】

⁴⁶ Makar AB, Tephly TR and Mannering GJ: Methanol metabolism in the monkey. Mol. Pharmacol. 1963; 4: 471-483 【追加 10】

⁴⁷ Skrzydlewska E: Toxicological and Metabolic Consequences of Methanol Poisoning. Toxicology Mechanisms and Methods. 2003; 11: 277-293 【追加 1】

⁴⁸ 新エネルギー開発機構 : 昭和 58 年度石油火力発電所メタノール転換等実証試験 (環境安全性実証試験) 委託業務報告書, 1984 年 【70】

⁴⁹ Bayer AG: Investigations of the enzymolysis of N-carbomethoxy proline (Bayer AG 社内資料、1978 年 1 月) 【Schmidt U (1978)】 【73】

⁵⁰ Bayer AG: Enzymatic hydrolysis of carbomethoxy compounds (Bayer AG 社内資料、1974 年 12 月) 【Rauenhusch (1974)】 【74】

⁵¹ Ioannou YM, Sanders JM and Matthews HB: Methyl carbamate Species-dependent variations in metabolism and clearance in rats and mice. *Drug Metab. Dispos.* 1988; 6: 435-40 【79】

⁵² Boyland E and Papadopoulos D: The metabolism of methyl carbamate. *Biochem. J.* 1952; 52: 267-9 【75】

⁵³ Williams K, Kunz W, Petersen K and Schnieders B: Changes in mouse liver RNA induced by ethyl carbamate (urethane) and methyl carbamate. *Z. Krebsforsch. Klin. Onkol. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1971; 76: 69-82 【80】

⁵⁴ Bayer AG: Methyl carbamate: Renal elimination and liver enzyme activities after oral treatment of Wistar and Fisher rats. (Bayer AG 社内資料、1987 年 5 月) 【Schmidt U and Schmidt WH (1987)】 【77】

⁵⁵ Boyland E and Nery R: The metabolism of urethane and related compounds. *Biochem. J.* 1965; 94: 198-208 【76】

⁵⁶ Bayer AG: DMDC (Dimethyldicarbonate), Salmonella/microsome Test for the investigation of point mutagenic effects. (Bayer AG 社内資料、1978 年 12 月) 【Herbold B (1978)】 【93】

⁵⁷ Bayer AG: Orange juice treated with 4000 ppm Velcorin. Salmonella/microsome test. (Bayer AG 社内資料、1989 年 8 月) 【Herbold B (1989)】 【95】

⁵⁸ Bayer AG: Velcorin treated orange juice. Micronucleus test on the mouse. (Bayer AG 社内資料、1989 年 10 月) 【Herbold B (1989)】 【96】

⁵⁹ Bayer AG: Dimethyl dicarbonate: Acute Toxicity Male Mice (single administration with stomach tube). (Bayer AG 社内資料、1974 年) 【Steinhoff D (1974)】 【82】

⁶⁰ Bayer AG: Dimethyl dicarbonate (DMDC) in fruit juices and alcoholic drinks. Subchronic toxicity studies on rats (3-month drinking experiment) (Bayer AG 社内資料、1974 年 7 月) 【Löser E (1974)】 【86】

⁶¹ Bayer AG: Orange juice sterilized with DMDC/Velcorin. Chronic toxicological tests on rats (30 months drinking test). (Bayer AG 社内資料、1983 年 3 月) 【Löser E, Eiben R, Schilde B and Jander (Regensburg) B (1983)】 【89】

⁶² Bayer AG: Wine, sterilized with DMDC/Velcorin®. Chronic Toxicity Study in

Rats (30 month drinking study). (Bayer AG 社内資料、1984 年 7 月) 【Eiben R, Löser E, Luckhaus G and Janda B (1984)】 【90】

^{6 3} CIVO Institutes TNO: One-year oral toxicity study with DMDC-treated orange juice in dogs (Final report). (CIVO Institutes TNO 社内資料、1983 年 5 月) 【Lina BAR, Til HP and Kuper CF (1983)】 【88】

^{6 4} Bayer AG: Orange juice, sterilized with DMDC/Velcorin® Generation test on rats (2-generations study). (Bayer AG 社内資料、1983 年 1 月) 【Eiben R, Löser E, and Janda B (Regensburg) (1983)】 【91】

^{6 5} Bayer AG: Velcorin-treated orange juice. Investigations into preimplantation damage, embryotoxic and teratogenic effects following oral administration to rats. (Bayer AG 社内資料、1980 年 7 月) 【Schluter (1980)】 【92】

^{6 6} Shimizu H, Suzuki Y, Takemura N, Goto S and Matsushita H: The results of microbial mutation test for forty-three industrial chemicals. Sangyo Igaku. 1985; 27:400-19 【162】

^{6 7} Smith EN and Taylor RT: Acute toxicity of methanol in the folate-deficient acatalasemic mouse. Toxicology 1982; 25: 271-87 【141】

^{6 8} Welch H and Slocum GG: Relation of length of carbon chain to the primary and functional toxicities of alcohols. J. Lab. Clin. Med. 1943; 28: 1440-5 【145】

^{6 9} Deichmann WB and Mergard EG: Comparative evaluation of methods employed to express the degree of toxicity of a compound. J. Ind. Hyg. Toxicol. 1948; 30: 373-8 【147】

^{7 0} Gilger AP and Potts AM: Studies on the visual toxicity of methanol: V. The role of acidosis in experimental methanol poisoning. Am. J. Ophthalmol. 1955; 39: 63-86 【146】

^{7 1} Kimura ET, Ebert DM and Dodge PW: Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1971; 19: 699-704 【144】

^{7 2} Smyth HFJ, Seaton J and Fischer L: The single dose toxicity of some glycols and derivatives. J. Ind. Hyg. Toxicol. 1941; 23: 259-68 【140】

^{7 3} Cooper JR and Felig P: The biochemistry of methanol poisoning: II. Metabolic acidosis in the monkey. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1961; 3: 202-9 【148】

^{7 4} Youssef A F, Baggs RB, Weiss B and Miller RK: Teratogenicity of methanol following a single oral dose in Long-Evans rats. Reprod. Toxicol., Vol. II, 4, 503-510. 【160】

-
- ⁷⁵ Cummings AM: Evaluation of the effects of methanol during early pregnancy in the rat. *Toxicology* 1993; 79: 205-14 【161】
- ⁷⁶ Rogers JM, Mole ML, Chernoff N, Barbee BD, Turner CI, Logsdon TR et al.: The developmental toxicity of inhaled methanol in the CD-1 mouse, with quantitative dose-response modeling for estimation of benchmark doses. *Teratology* 1993; 47: 175-88 【157】
- ⁷⁷ Bayer AG: N-Carbomethoxy compounds. (Bayer AG 社内資料、1973年) 【Steinhoff D (1973)】 【97】
- ⁷⁸ Bayer AG: Methyl ethyl carbonate: Acute toxicity in mice and rats. (Bayer AG 社内資料、1973年) 【Steinhoff D (1973)】 【99】
- ⁷⁹ Bayer AG: Methyl ethyl carbonate (MEC): Subchronic toxicity study in rats. (3-month experiment) (Bayer AG 社内資料、1973年12月) 【Löser E (1974)】 【100】
- ⁸⁰ Bayer AG: Methyl ethyl carbonate: Investigation for embryotoxic and teratogenic effects in rats after administration in drinking water. (Bayer AG 社内資料、1976年2月) 【Machemer L (1976)】 【101】
- ⁸¹ Simmon VF: In vitro assays for recombinogenic activity of chemical carcinogens and related compounds with *Saccharomyces cerevisiae* D3. *J. Natl. Cancer Inst.* 1979; 62: 901-9 【132】
- ⁸² Rosenkranz HS and Poirier LA: Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *J. Nat. Cancer Inst.* 1979; 62: 873-91. 【127】
- ⁸³ McCarroll NE, Piper CE and Keech BH: An *E. coli* microsuspension assay for the detection of DNA damage induced by direct-acting agents and promutagens. *Environ. Mutagen.* 1981; 3: 429-44 【133】
- ⁸⁴ McCarroll NE, Keech BH and Piper CE: A microsuspension adaptation of the *Bacillus subtilis* "rec" assay. *Environ. Mutagen.* 1981; 3: 607-16 【134】
- ⁸⁵ National Institutes of Health: Toxicology and carcinogenesis studies of methyl carbamate in F344/N rats and B6C3F1 mice. NTP TR 328. NIH Publication 1987; No. 88-2584 【105】
- ⁸⁶ de Giovanni-Donnelly R, Kolbye SM and Dipaolo JA: The effect of carbamates on *Bacillus subtilis*. *Mutat. Res.* 1967; 4: 543-51. 【123】
- ⁸⁷ McCann J, Choi E, Yamasaki E and Ames BN: Detection of carcinogens as

mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1975; 72: 5135-9. 【128】

⁸⁸ Simmon VF: In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with Salmonella typhimurium. J. Natl. Cancer Inst. 1979; 62: 893-9 【124】

⁸⁹ Demerec M, Bertani G and Flint J: A survey of chemicals for mutagenic action on E. coli. Am. Nat. 1951; 85: 119-36. 【125】

⁹⁰ Hemmerly J and Demerec M: XIII. Tests of chemicals for mutagenicity. Cancer Res. 1955; 15: 69-75. 【126】

⁹¹ Amacher DE and Turner GN: Mutagenic evaluation of carcinogens and non-carcinogens in the L5178Y/TK assay utilizing postmitochondrial fractions (S9) from normal rat liver. Mutat. Res. 1982; 97: 49-65 【130】

⁹² Morpurgo G, Bellincampi D, Gualandi G, Baldinelli L and Crescenzi OS: Analysis of mitotic nondisjunction with Aspergillus nidulans. Environ. Health Perspect. 1979; 31:81-95 【129】

⁹³ Cheng M, Conner MK and Alarie Y: Multicellular SCE study of some carbamates esters. Environ Mutagen 3: 385 (Abstract). 【135】

⁹⁴ Cheng M, Conner MK and Alarie Y: Potency of some carbamates as multiple tissue sister chromatid exchange inducers and comparison with known carcinogenic activities. Cancer Res. 1981; 41, 4489-92. 【136】

⁹⁵ Epstein SS, Arnold E, Andrea J, Bass W and Bishop Y: Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1972; 23: 288-325 【131】

⁹⁶ Suvalova TI: A study of the toxic and specific effects of alkyl carbamates and their binary mixture. Toksikol. Nov. Prom. Khim. Veshchestv. 1973; 13: 86-91 【103】

⁹⁷ Bayer AG: Carcinogenesis study with methyl carbamate on oral administration to mice. (Bayer AG 社内資料、1978年1月) 【Steinhoff D (1978)】 【104】

⁹⁸ Bayer AG: Carcinogenesis study with methyl carbamate on oral administration to rats. (Bayer AG 社内資料、1977年10月) 【Steinhoff D, Dycha J, Artik N (1977)】 【107】

⁹⁹ Institute of Toxicology and Chemotherapy, German Cancer Research Center: Methyl, ethyl, n-propyl and n-butyl carbamate: testing for carcinogenic effect in the foetal or postnatal life stages of Wistar rats and Swiss mice. (Institute of

Toxicology and Chemotherapy, German Cancer Research Center 内部資料 1979 年) 【Port R (1979)】 【108】

¹⁰⁰ Quest JA, Chan PC, Crawford D, Kanagalingam KK and Hall WC: Thirteen-week oral toxicity study of methyl carbamate in rats and mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1987; 8: 388-99 【110】

~~¹⁰¹ Bayer AG: Methyl carbamate: Exploratory subacute toxicity study on Wistar rats relating to the question of a hepatotoxic effect. (Bayer AG 社内資料、1984年12月) 【Bomhard E and Kaliner G (1984)】 【109】~~

~~¹⁰² Bomhard E, Schmidt U and Karbe E: Differences in liver sensitivity to methyl carbamate between Wistar and Fischer 344 rats. *Arch. Toxicol. Suppl.* 1989; 13: 319-21 【78】~~

¹⁰³ Bayer AG: Methylcarbamate: Subchronic toxicity study on Wistar rats. (13 week experiment with administration of test compound by gavage or in drinking water) (Bayer AG 社内資料、1985年6月) 【Bomhard E and Karbe E (1985)】 【111】

¹⁰⁴ Bayer AG: Methyl carbamate: Exploratory subacute toxicity study on Wistar rats relating to the question of a hepatotoxic effect. (Bayer AG 社内資料、1984年12月) 【Bomhard E and Kaliner G (1984)】 【109】

¹⁰⁵ Bomhard E, Schmidt U and Karbe E: Differences in liver sensitivity to methyl carbamate between Wistar and Fischer 344 rats. *Arch. Toxicol. Suppl.* 1989; 13: 319-21 【78】

¹⁰⁶ Dunkel VC, Plenta RJ, Sivak A and Traul KA: Comparative neoplastic transformation responses of Balb/3T3 cells, Syrian hamster embryo cells, and Rauscher murine leukemia virus-infected Fischer 344 rat embryo cell to chemical carcinogens. *J. Natl. Cancer Inst.* 1981; 67: 1303-15 【137】

¹⁰⁷ Sakai A, Sasaki K, Muramatsu D, Arai S, Endou N et al.: A Bhas 42 cell transformation assay on 98 chemicals: The characteristics and performance for the prediction of chemical carcinogenicity, *Mutat. Res.* 2010; 702: 100-122 【追加 12-1】

¹⁰⁸ Sakai A, Sasaki K, Muramatsu D, Arai S, Endou N et al.: Erratum to “A Bhas 42 cell transformation assay on 98 chemicals: The characteristics and performance for the prediction of chemical carcinogenicity” [*Mutat. Res.* 702 (2010) 100–122]. *Mutat. Res.* 2010; 703: 209-226 【追加 12-2】

¹⁰⁹ Bayer AG: Dimethyl carbonate, Acute toxicity (Bayer AG 社内資料、1974年) 【Steinhoff D (1974)】 【138】

¹¹⁰ Bayer AG: Dimethyl carbonate (DMC). Subchronic toxicology study in rats.

3-month drinking experiment. (Bayer AG 社内資料、1982 年 8 月) 【Eiben R, Löser E and Kaliner G (1982)】 【139】

¹¹¹ Françot P and Geoffroy P: Methanol in fruit juices, fermented beverages, alcohols and spirits. Rev. Ferment. Ind. Aliment. 1956; 11: 279-87 【71】

¹¹² Wucherpfenning H, Dietrich H and Bechtel J: Alcohol: Free, total and potential methanol content of fruit juices. Flüssiges Obst 1983; 8: 348-54 【65】

¹¹³厚生労働省：平成 26 年国民健康・栄養調査 第 1 部 栄養素等摂取状況調査の結果 第 5 表の 1 食品群別摂取量 - 食品群、年齢階級別、平均値、標準偏差、中央値 - 総数、1 歳以上，平成 27 年（2016 年 12 月取得）【167】

¹¹⁴一般社団法人全国清涼飲料工業会：清涼飲料関係統計資料，2016 年 5 月 【8】

¹¹⁵国税庁：酒のしおり（平成 28 年 3 月） 酒類の輸出金額・数量の推移，平成 28 年 【168】