

内閣府食品安全委員会事務局  
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された  
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る  
食品健康影響評価に関する調査報告書

エトキシキン

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー



## はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、エトキシキンについて、国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(以下「JMPR」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクニサーチ



# 目 次

## エトキシキン

1. 調査の目的 .....	5
2. 作業の概要 .....	5
2.1. 調査対象物質 .....	5
2.2. 評価書の翻訳 .....	7
2.2.1. 評価書 .....	7
2.3. 翻訳の整理 .....	7
3. 評価書和訳 .....	7
3.1 JMPR(1998年) .....	9
3.2 JMPR(2005年) .....	39



# 海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

## エトキシキン

### 1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

### 2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

#### 2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちエトキシキンの調査について報告した。

**表 1 調査対象の農薬等**

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗寄生虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤

番号	物質名	主な用途
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ピオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

## 2.2. 評価書の翻訳

### 2.2.1. 評価書

エトキシキンに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JMPR における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JMPR	1998	951. Ethoxyquin (JMPR Evaluations 1998 Part II Toxicological)
JMPR	2005	Ethoxyquin 241-253 JMPR 2005

### 2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

## 3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所の全訳を、評価書ごとに掲載した。



## エトキシキン 評価書和訳と情報整理

JMPR:1998

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v098pr09.htm>

951. Ethoxyquin (JMPR Evaluations 1998 Part II Toxicological)



## エトキシキン 評価書和訳と情報整理 JMPR (1998) 目次

説明 (原文 p.1) .....	13
一日摂取許容量の評価 (原文 p.1) .....	13
1. 生化学的側面 .....	13
(a) 吸収、分布、排泄 .....	13
(b) 生物学的変換 .....	15
2. 毒性試験 (原文 p.4) .....	17
(a) 急性毒性 .....	17
(b) 短期毒性試験 .....	18
ラット .....	18
イヌ .....	20
(c) 長期毒性/発癌性試験 .....	21
マウス .....	21
ラット .....	22
イヌ .....	24
(d) 遺伝毒性 .....	25
(e) 繁殖毒性 .....	25
(i) 多世代繁殖毒性 .....	25
ラット .....	25
(ii) 催奇形性 (原文 p.12) .....	28
ラット .....	28
3. ヒトでの観察 (原文 p.13) .....	29
コメント (原文 p.13) .....	29
毒性学的評価 (原文 p.14) .....	31
エトキシキンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1998) .....	34
略称 .....	38

## 原文 目次

原文ページ

説明	1
一日摂取許容量の評価	1
生化学的概要	1
吸収、分布、排泄	1
生物学的変換	2
酵素及びその他の生化学的パラメータへの影響	3
毒性試験	4
急性毒性	4
短期毒性試験	5
長期毒性／発癌性試験	7
遺伝毒性	9
繁殖毒性	9
多世代繁殖毒性	9
催奇形性	12
ヒトでの観察	13
コメント	13
毒性評価	14
引用文献	15
Explanation	1
Evaluation for acceptable daily intake	1
Biochemical aspects	1
Absorption, distribution, and excretion	1
Biotransformation	2
Effects on enzyme and other biochemical parameters	3
Toxicological studies	4
Acute toxicity	4
Short-term studies of toxicity	5
Long-term studies of toxicity and carcinogenicity	7
Genotoxicity	9
Reproductive toxicity	9
Multigeneration reproductive toxicity	9
Developmental toxicity	12
Observation in human	13
Comments	13
Toxicological evaluation	14
References	15

エトキシキンFAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)1998

第1稿は、I. Dewhurst により作成された。

農薬安全性理事会、農業・水産・食品省、Mallard House、Kings Pool、ヨーク州、英国

## 説明（原文 p.1）

エトキシキンは、以前に1969年の合同会議で評価を受け（付属文書 1、参考文献 12）、イヌにおける長期混餌投与試験及びラットにおける生殖毒性試験での無毒性量(NOEL)に基づいて、一日摂取許容量(ADI)が0～0.06mg/kg体重として設定された。本化合物は、コーデックス残留農薬部会(CCPR)の定期的審査プログラム中の当会議で審査された。このモノグラフでは、エトキシキンに関する新しいデータや以前に審査されなかったデータ、さらには以前のモノグラフから入手できた関連データが纏められている（付属文書 1、参考文献 13）。

## 一日摂取許容量の評価（原文 p.1）

### 1.生化学的側面

#### (a)吸収、分布、排泄

1950年代以降のデータは、1969年のJMPRモノグラフ中に簡潔に要約されている（付属文書 1、参考文献 13）。薬剤で前処理されたラットでは、1.5 mg相当量が尿及び糞中に排泄され、総量の64%が48時間内に排泄された。投与した放射能標識化合物の約1%は、二酸化炭素として呼気から排泄された。肝臓中、腎臓中、脂肪中、骨格筋中では残留濃度が最高値となった(1～5 mg/kg)。ラット新生児の組織内濃度は0.12～0.21 mg/kgであり、これは一部が胎盤を通過したことを示している。ラット乳汁中でも同様の濃度であったが、母動物の組織内濃度は比較に利用可能ではなかった。イヌにおいては、薬剤は未同定代謝物として、主として尿中に排泄された。ニワトリでは、経口投与した放射能標識エトキシキンの99%が48時間内に代謝物として排泄された。約130 ppmのエトキシキンをニワトリに混餌投与した際、12週後の組織内濃度は低く(0.1 mg/kg)、混餌投与の中止後にその濃度は急速に低下した。

およそ8週齢のFischer344雄ラット及びB6C3F1雄マウス(一群3匹)に対して、純度90%の3-14C(純度96%)エトキシキンの単回強制経口投与(2.5(ラットのみ)、25、250 mg/kg体重)、ないしは単回静脈内投与(25 mg/kg体重)し、その吸収、分布、排泄が調べられた。薬剤は、エタノール:エマルフォーEL620:水の割合が1:1:8の混合物として、1 mL/kg体重(25～50  $\mu$  Ci 相当量)投与された。尿、糞、呼気のサンプルは、4～72時間の様々な時間で採取された。0.25～72時間の間に順次と殺した動物から得られた、肝臓、腎臓、血液、筋肉、皮膚、脂肪組織中の各濃度を測定した。追加群のラット4匹は、25mg/kg体重投与後0.08～24時間の頸静脈血液及び血漿中の濃度測定のために、また、25又は250 mg/kg体重の6回投与後の組織中、尿中、糞便中の濃度測定のために使用された。放射能標識物は、液体シンチレーション測定によって定量し、糞便サンプルは粉末化して燃焼させた。サンプル中の親化合物であるエトキシキンの濃度は、高速液体クロマトグラフィー

(HPLC)によって測定された。

エトキシキンの吸収、分布、排泄は、経口投与と静注投与で同様であった。吸収は速やかであり、1時間以内で血中及び組織中濃度は最高値に達した。2.5及び25 mg/kg体重を経口投与した時の排泄は広範にわたり(85%以上が24時間以内)、糞便中に比べ尿中への排泄量が約1.5倍多かった。投与の24時間後時点での組織中濃度は、投与量の2%以下であった(表1)。ラットにおいては、投与量の違いによる組織中濃度の違いはほとんどなかった。ただし、高用量投与の方が低用量投与に比べて排泄が遅く、この原因は著者らによると胃からの排出遅延に帰せられた。また、有意な脂肪沈着がみられた。250 mg/kg体重の3回又は4回反復投与の結果は、25 mg/kg体重の反復ないしは単回投与の結果と同様であると報告されている。このことは、代謝酵素の誘導及び/又は通常の胃における滞留のない状況へ戻ったことを意味している(データは公表されたレポートには記載されていない)。マウスでの排泄率は、ラットのそれよりわずかに高かった。親化合物のエトキシキンがほとんどの時間で血漿中に検出されなかったことから、著者らは全体的な生物学的利用を計算できなかった。血液中の放射能標識物の約60%は血漿中に存在しており、8%は沈殿した血漿蛋白質と関連性があった。ラットへの25 mg/kg体重、及び、250 mg/kg体重投与の反復投与により、いくつかの生物学的蓄積があるとの結果(データはない)が示されたが、筋肉中ではこの事実はない。

表1. <sup>14</sup>C-エトキシキンの経口又は静脈内(i.v.)投与後の24時間後の組織分布、及び0～24時間後の排泄の割合

動物種	用量 (mg/kg体重)	血液	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚	脂肪 組織	尿	糞便
ラット	2.5(経口)	0.7	1.4	0.3	0.4	0.3	0.9	57	31
	25(経口)	1	1.3	0.2	0.7	0.4	1.7	64	26
	250(経口)	0.9	1.6	0.2	1.8	1.2	12	41	11
	25(静注)	1	1.5	0.2	1	0.7	6.4	57	23
マウス	2.5(経口)	0.4	1.2	0.1	0.4	0.7	0.6	60	42
	250(経口)	0.3	1	0.2	1.2	1.2	2.2	43	16
	25(静注)	0.5	1.1	0.2	0.9	1.2	0.9	58	33

Sanders らのデータ (1996)

3～6 匹の動物の平均値

静脈内投与後、最初に最高濃度に達した組織は、肝臓及び腎臓であった。ただし、マウスでは、投与の2時間後に一時的に脂肪組織中に高濃度となった(表2)。静脈内投与後に、両動物種ともかなりの割合で(20%)薬物が糞中に排泄され(表1)、投与の40%はカニューレが挿入されたラットの胆汁中に検出された。このことは、エトキシキンの毒物動態学において、胆汁排泄と腸肝循環が重要な役割を果たしていることを示している。親化合物のエトキシキンは、尿中からは検出されず、糞中、肝臓中、腎臓中、脂肪組織中に微量存在していた。親化合物のエトキシキンの血漿中排泄半減期は、23分と算出された(Sanders et al., 1996)。

表2. 14C-エトキシキン25 mg/kg体重の静脈内投与後の異なる時間での14Cの組織内濃度。1gあたりのmg相当量として示した。

動物種	時間	血液	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚	脂肪組織
ラット	0.25	6	66	51	9	15	29
	2	5	27	21	2	10	29
	12	2	12	11	< 1	3	24
	24	3	9	10	< 1	1	15
マウス	0.25	10	45	40	11	27	40
	2	4	27	17	3	16	67
	12	2	9	8	< 1	3	22
	24	2	5	3	< 1	2	2

Sanders らのデータ (1996)

3 匹の動物の平均値

### (b) 生物学的変換

1969年のモノグラフ(付属文書 1、参考文献 13)に要約されているデータでは、エトキシキン代謝物は同定されていないが、その代謝がラット、イヌ及びニワトリにおいては広範であることが示されている。

上記に示したSandersらの試験では、[3-14C]エトキシキンについて、経口では25又は250mg/kg体重量を、静脈注射では25 mg/kg体重量を投与したラット及びマウスから得た尿、糞便、組織の各検体を得て検査している(1996年)。尿と胆汁のサンプルは、HPLCで分離する前に凍結保存、解凍、遠心分離された。肝臓、腎臓、糞便の各サンプルは、「水:メタノール:酢酸エチル」の割合が「1:1:1」の溶媒で3回抽出され、次いで、その上清はHPLCによって分画された。血漿サンプルは、遠心分離及びHPLCによる検査の前に、1:1の割合でアセトニトリルと混合された。培養時のアリルスルファターゼ活性を持つグルクロニダーゼとの効果も調べられた。合成した参照化合物の結果との比較検討を含め、HPLC、1H-核磁気共鳴分光、三種類の質量分析の各々を駆使して代謝物が調べられた。

尿中から八種の代謝物が検出され、その内の四代謝物のみが同定された(表3、図1)。親化合物であるエトキシキンの検出は報告されていない。ラットとマウスにおける主要代謝経路は、C-6位でのO-脱エチル化、次いでC-6での硫酸抱合化(代謝物G)ないしはグルクロニド抱合化(代謝物F)を含むことが推定された。補助経路として、C-8位での水酸化及びグルクロン酸抱合化(代謝物H)、C-6位でのO-脱エチル化、C-6位での硫酸化を伴うC-3,4間のエポキシ化が提示された。ラットとマウス間の大きな相違は、マウスにおけるグルクロン酸抱合がより多かったことである。ラットにおける経口投与と静注投与試験の25 mg/kg体重投与群では、代謝物プロフィールに関しては有意差がないと報告されている。エトキシキンの250 mg/kg体重投与群と、25 mg/kg体重投与群とを比較すると、C-6硫酸抱合体(代謝物G)の放射能標識の割合が前者でより多かった(表3)。25 mg/kg体重の6回投与群の尿中代謝物プロフィールは、単回投与群のものに類似していた。250 mg/kg体重の6回投与群では、単回投与群に比べて、グルクロン酸代謝物であるFとHの割合が多くなり、代謝物GとEの割合が少

なくなった。このことは、硫酸抱合が飽和したか、あるいはグルクロン酸抱合反応が誘発されたことを意味する。腎臓及び肝臓においては、主要代謝物はGであった。糞便サンプルからは十分な抽出ができず(30%以下の回収)、信頼性における結論を導き出すことができなかつた。胆汁中においては、三種のグルタチオン抱合体が検出され、5%以下の放射能標識物が親化合物として存在していた。この知見は、他の作業員(彼らは、胆汁中の放射能標識物はエトキシキンとして存在していると報告している)の結果と対比されるものとして引用されている。著者らは、胆汁代謝物の反応スキームを提案した(図1)。このスキームでは、反応性求電子中間体(エポキシド)の産生を含んでいる(Burkaら, 1996年)。

(c) 酵素及びその他生化学的パラメータへの影響 (原文 p.3)

SDラットの雄に、5,000 ppmのエトキシキン(純度不明)を3日間混餌投与することにより、第1相と第2相の生体外代謝酵素がかなりの量で誘発された。肝臓組織標本を用いてチトクロームP450(CYP)アイソザイムmRNAのノーザンブロッティングを行ったところ、CYP2B1>2B2>3a2の順に増加していることが分かり、また、酵素活性を調べることでCYP1A2の特異的比活性は2倍、CYP2B族のそれは10倍増加していることが明らかになった。グルタチオンS-トランスフェラーゼmRNAプローブをブロッティングすることにより、エトキシキンが細胞質ゾルグルタチオンS-トランスフェラーゼの活性を約2倍に高めるとともに、Ya1、Ya2、Yb1をも増加させていることが分かった。さらに、酵素アッセイやmRNAのブロッティングによって、NADPHキノンオキシドレダクターゼ、γ-グルタミルシステインシンセターゼ、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼの各酵素活性が増加していることが分かった。エトキシキンは、細胞グルタチオン濃度を変えず、またCYP1A1を誘発しなかつた(Buetlerら, 1995年)。

表3. ラットへの<sup>14</sup>C-エトキシキン経口混餌投与後の代謝プロフィール。数字は24時間蓄積尿サンプル中の総放射能の割合として表示した。

代謝物a	用量(mg/kg体重)			
	1 × 25	6 × 25	1 × 250	6 × 250
A	6	7	4	9
B	6	5	4	7
C	9	8	5	3
D	7	6	2	< 1
E	17	12	10	6
F	5	6	3	15
G	34	42	59	30
H	3	4	4	14
親化合物	< 1	< 1	< 1	< 1

Burka らのデータ (1996年)

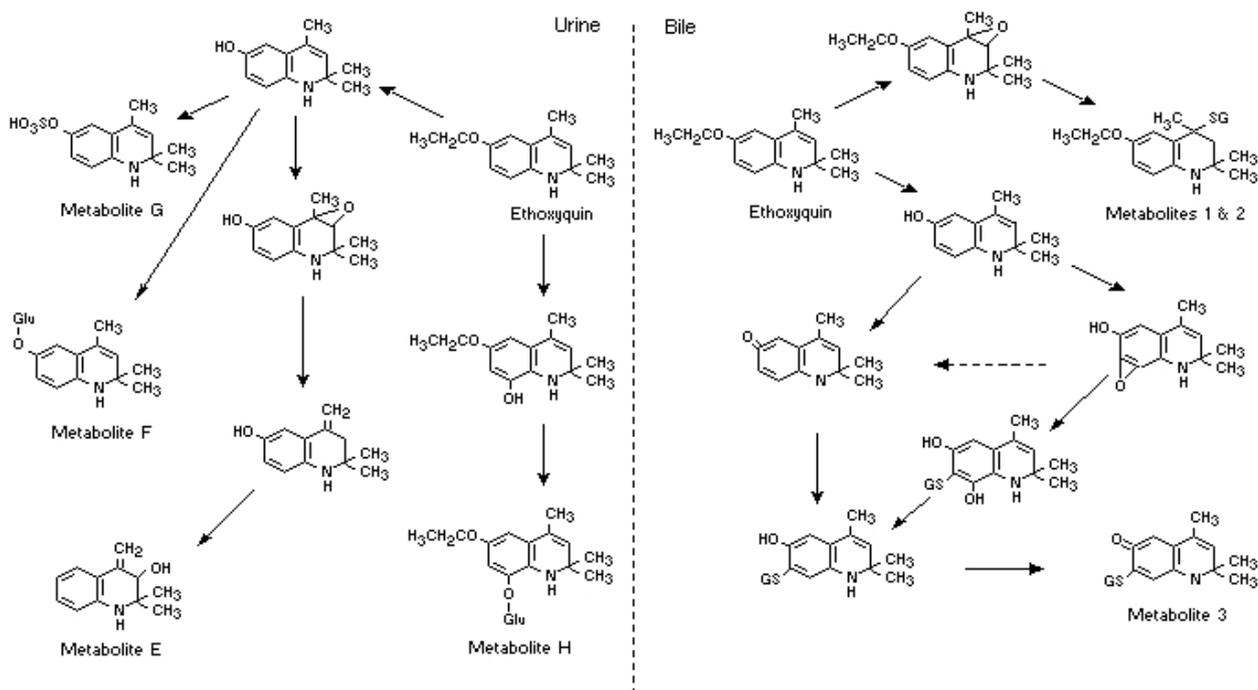
a: 構造式は図1参照

SD系ラットの雄に、エトキシキン(純度不明)(50、100、500、2,000、5,000 ppm)を14日間混餌投与したところ、生体異物性代謝システムに対する一連の作用が生じた。「肝臓/体重」比は、エトキシキンの5,000 ppm投

与で増加し、また2,000及び5,000 ppm投与時に総チトクロームP450量及びb5濃度は30%増加した。CO還元ミクロソームの紫外線スペクトルを解析することによって、エトキシキン処置動物のミクロソームが449.5 nmの最大波長を持っていることが分かり、このことは「誘導パターンは、メチルコラントレン型(ピーク波長; 448 nm)よりむしろフェノバルビタール型である」ことを意味している。スチレンオキシドが基質である時に、5,000 ppmのエトキシキンを混餌投与されたラットから得られたミクロソーム中のモノオキシゲナーゼ活性は1.5~2倍増加し、また、エポキシドヒドラーゼ活性は3倍増加したが、その活性はベンゾ[a]ピレンが基質として使用された時には僅かに減少した。フェノバルビタール又はメチルコラントレンで誘導された動物から得たミクロソームのin vitroアッセイでは、エトキシキンは、5 μmol/L以上の濃度で、アリルヒドロカーボンヒドロキシラーゼ活性を阻害した。エトキシキン処理餌(5,000 ppm)及びメチルコラントレン(20 mg/kg体重を3回腹腔内投与)を投与された動物では、薬物代謝系の追加誘導の症状はみられなかった。異物代謝酵素系での変化に対する無毒性量(NOEL)は500 ppmとなり、これは25 mg/kg体重/日に相当した(Kahl & Netter, 1977年)。

図1. ラットでのエトキシキンの推定代謝経路

Figure 1. Proposed metabolic pathway for ethoxyquin in rats



Adapted from Sanders et al. (1996)  
G, glutathione; Glu, glucuronide

Sanders(1996年)らのデータを採用した

G:グルタチオン、Glu:グルクロニド

## 2.毒性試験 (原文 p.4)

### (a)急性毒性

非経口投与の場合を除き、エトキシキンにはほとんど急性毒性は認められなかった(表4)。エトキシキン暴露

後の動物の臨床的毒性症状は、振戦 (tremor)、運動失調 (ataxia)、活動性の低下、低体温症 (hypothermia)、毛皮の赤黄色着色であった。目視及び組織病理学的変化では、消化管への刺激作用がみられた。

表4. エトキシキンの急性毒性

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> mg/kg体重又はmg/L空气中	純度 (%)	参考文献
ラット	経口強制投与	1,700	97.6	Varsho (1995a)
	経皮	> 2,000	97.6	Varsho (1995b)
	吸入(全身)	>2.0	97.6	Ulrich (1996)
マウス	腹腔内	~900		Wilson & DeEds (1959) <sup>a</sup>
	静注	~180		Wilson & DeEds (1959) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> 1969年のJMPRモノグラフからの引用

ウサギの皮膚にエトキシキンを半密封条件で4時間適用した場合、一過性の軽度の紅斑がみられた。浮腫はなかったが落屑 (desquamation) が暴露の7日後にみられた (Varsho, 1995年c)。この結果は1969年のモノグラフ中に要約されている知見と一致している (Kelly, 1960年; 1969年のJMPRモノグラフからの引用; 付属文書1、参考文献13)。

エトキシキンは、ウサギ結膜に一過性の僅かから軽度の赤変及び結膜浮腫 (chemosis) を生成した。全ての作用は、4日以内に完全に消失した (Varsho, 1995年d)。

モルモット (雄雌各6匹) を用いたエトキシキンによる感作性試験では、非常に弱い皮膚感作性がみられた。アセトン中の50%濃度での再投与試験 (challenge applications) では、誘導頻度は100%であった。投与 (challenge) と再投与 (re-challenge) 後に、処理群と対照群の両群において非常に弱い紅斑反応がみられ、試験動物の1匹は、投与と再投与の双方に対して弱い応答を示した (Varsho, 1995年e)。

## (b) 短期毒性試験

### ラット

ラットを用いたエトキシキンの200日間混餌投与による2種の試験について、1969年のモノグラフ中に要約されている。雄への500 ppmあるいはそれ以上の投与による腎臓傷害 (不特定) が報告されている。同時に、250 ppmあるいはそれ以上の雄への投与により腎臓/体重比が増加した。また、2,000 ppm投与群において、肝細胞中に細胞質封入体の出現頻度が増加した (Wilson & DeEds, 1959年; Cox) 1953年; 1969年のJMPRモノグラフよりの引用; 添付文書1、参考文献13)。

N-ニトロソジエチルアミンによる肝臓腫瘍の誘発に及ぼすエトキシキンの影響に関して詳細に記述された下記試験において、対照群にはエトキシキンのみが投与された。すなわち、フィッシャー344ラットの雌15匹 (6週

齢、0.9%食塩水を腹腔内投与されていた)に、8,000 ppm のエトキシキン(純度不明)(若年ラットでは 500 mg/kg 体重相当量)が 2 週間混餌投与された。そして 3 週目に肝臓の部分切除(66%)が行われた。8 週目に動物をと殺した際、背景レベルと同様の  $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ( $\gamma$ -GT)陽性の病巣が肝臓中に認められた(Itoら、1985年)。

SD 系ラット(一群雄雌各 5 匹)に、コーンオイル中のエトキシキン(純度, 97.6%) (0、50、250、500、1,000 mg/kg 体重/日)を 28 日間強制経口投与した。病理組織学的検査は、50、250、1,000 mg/kg 体重/日投与群の動物の肝臓、肺、腎臓、胃、目視での障害部に限定した。1,000 mg/kg 体重/日を投与された全動物は、多臓器障害で 3 日目までに死亡した。2 匹の動物の死亡原因は、前胃部の壊死及び潰瘍形成(ulceration)であると考えられた。初期の体重増加については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で 50%抑制された。250 mg/kg 体重/日投与群の雌、及び 500 mg/kg 体重/日投与群の雄雌において、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度の各々が約 10%減少した。血清臨床化学パラメータの変化が雄雌ともにみられたが、250 及び 500 mg/kg 体重/日投与群の雄でより頻繁であった。その変化には、タンパク質量、総ビリルビン、コレステロール、無機リン、カリウム、カルシウム及び  $\gamma$ -GT 活性の各増加が含まれていたが、一方ではグルコース濃度は減少した。250 mg/kg 体重/日以上投与群の雄雌群、絶対的及び相対的肝臓重量の増加(> 40%)がみられ、相対的腎臓重量は用量依存的に増加した(< 10%)。1,000 mg/kg 体重/日以下投与群には、目視による障害はなかった。病理組織学的検査では、50 及び 250 mg/kg 体重/日投与群の雄、及び 500 mg/kg 体重/日投与群の雄雌群で、腎臓障害(間質の浸潤、尿細管上皮の再生、尿細管の拡張)がみられた。500 mg/kg 体重/日投与群では、肺での出血や浮腫の発生頻度、さらに肝腫大の発生頻度が増加した。(Naas, 1997 年)。

試験開始時に 6 週齢であった SD 系ラット(一群雄雌各 10 匹)に、コーンオイル中のエトキシキン(純度, 97.6%) (0、20、40、200、4,000 mg/kg 体重/日)を 13 週間強制経口投与した。200 mg/kg 体重/日投与群では、67 日目に若干の過剰投与(2~14%)があったため、本試験での基準を満たしていないと考えられた。投与前と投与後 12 週間にわたり眼科学的検査を実施した。全動物について死後の完全な検査を行い、全ての動物からの肺、肝臓、腎臓、目視での障害部の各サンプルを組織学的に検査した。同様に、対照群及び最高用量投与群から得た 30 種の組織についても検査を行った。

試験期間中に死亡例はみられなかった。臨床症状は雄雌ともにみられたが、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌でより多く認められた。臨床症状は、種々の組織部位(特に肛門生殖器部位)の着色、流涎、褐色尿などであった。200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄で明らかな体重増加の抑制がみられたが、40 mg/kg 体重/日投与群では抑制は軽微(10%)であった。摂餌量は、試験群及び対照群で同様であった。血液学的及び臨床化学的パラメータは、400 mg/kg 体重/日投与群の雄と雌で異なっており、200 mg/kg 体重/日投与群においても多くの場合有意差があった。パラメータの変化として、網状赤血球数、総ビリルビン、血中尿素窒素、 $\gamma$ -GT 活性、コレステロール、甲状腺刺激ホルモンに増加がみられ、赤血球数、白血球数、プロトロンビン時間、グルコースで減少がみられた。尿の色は、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群において、より濃く、最高用量投与群では比重の変化はなかったものの排尿量は増加した。投与に関連した眼への作用はなかった。

主要な肉眼的所見は、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄雌における赤色化甲状腺であった。肝臓の絶

対重量と体重に対する相対重量は、用量依存的に 15～70%まで増加した。また、腎臓の上記 2 つの重量は、200 と 400 mg/kg 体重/日投与群の雄雌で 4～20%増加した。体重に対する脳及び精巣重量の相対比の変化は、体重の減少に次ぐ二次的なものと考えられた。組織学的検査によって、雄雌ともに腎臓が主要な標的臓器であることが分かり、高用量投与群の雄では尿細管の石灰化 (mineralization)、乳頭壊死、細胞質空胞化の各発生頻度の増加、及び雌群では石灰化、乳頭壊死、腎障害 (nephropathy) の各発生頻度の増加がみられた。腎障害の発生頻度は、200 mg/kg 体重/日投与群の雌においても増加していた。また、甲状腺の鰓後部嚢胞 (ultimobranchial cyst) の発生頻度は、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄、及び 200 mg/kg 体重/日投与群の雌で増加していた。高用量投与群の雄で、副腎細胞質の空胞化、副睾丸の化膿性炎症、**前立腺\***の非化膿性炎症、肺石灰化、肺胞の組織球症 (alveolar histocytosis) の発生頻度の増加がみられ、また、この投与群の雌で食道炎症、胸腺の上皮過形成の各発生頻度の増加がみられた。低用量投与群では、目視による傷害、肝臓、肺、腎臓のみを検査していることに留意すべきである。40 mg/kg 体重/日投与群の雄における体重増加の抑制は「用量-応答相関性」の一部であって、摂餌量の減少とは関連性がなかったため、この試験での無毒性量 (NOAEL) は 20 mg/kg 体重/日となった (Naas, 1996 年 a)。

\*原文の **prostrate** は **prostate** の間違いと思われる。

## イヌ

イヌ 3 匹を用いたエトキシキンの 1 年間強制経口投与試験は、1969 年のモノグラフに要約されている。NOAEL は 3 mg/kg 体重/日であった。最高用量 (10 mg/kg 体重/日) 投与群に報告されている作用として、ネフローゼやプロモスルホフタレイン保持の増加があり、これは肝臓障害及び腹部の圧痛のあることを示している (Hanzal 1955 年、1969 年の JMPR モノグラフからの引用、付属文書 1、参考文献 13)。

ビーグル犬 (一群雄雌各 1 匹) に、エトキシキン (純度, 97.6%) (0、25、50、100、200 mg/kg 体重/日) を 28 日間日カプセル経口投与した。100 ないしは 200 mg/kg 体重/日投与群の全動物は投与後 17 日までに死亡するか、ないしは 7 日目までにと殺された。50 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 匹は 21 日目にと殺された。死亡及び生存したイヌにみられた症状として、活動性の低下、排便量の減少、褐色尿、淡色化歯茎などがあつた。試験開始時の動物数や死亡例が少ないので、主な一貫性のある変化のみをここで要約した。体重増加抑制及び摂餌量減少は、全ての投与量群でみられた。肝臓障害を示す血清酵素活性は、測定した用量 (25 及び 50 mg/kg 体重/日) の全群で 4 週目に増加した。すなわち、アルカリホスファターゼ (ALP) は 5 倍、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼは 3 倍、アラニンアミノトランスフェラーゼは 20 倍、 $\gamma$ -GT は 3 倍といったようにそれぞれ増加した。活性化部分トロンボプラスチン時間の減少の徴候もあつた。体重に対する肝臓及び腎臓重量の比率は、25 及び 50 mg/kg 体重/日投与群で増加していた。通常の死後所見では、消化管の発赤や暗色化した肝臓が認められた。組織学的検査では、全処理動物で肝臓の色素沈着がみられたが、対照群にはみられなかった。NOAEL は定められなかった (Naas, 1996 年 b)。

ビーグル犬 (一群雄雌各 5 匹) を用いたエトキシキン (純度, 97.6%) (0、2、4、20、40 mg/kg 体重/日) の 90 日間カプセル投与試験が行われた。40 mg/kg 体重/日投与群で、試験開始の最初の 7 週間に、明瞭な毒性症状 (体重減少、体表面の着色、褐色尿、褐色強膜、黒色粘液性糞便、嘔吐) がみられた。一方では、空カプセルのみを投与された群 (効果的可逆性群) でも最後の 6 週間に毒性症状がみられた。臨床化学的検査 (甲状腺ホ

ルモン検査を含む)、血液学的検査、眼科学的検査は、薬剤投与前及び第4、12、13週目に実施した。死後検査として、全動物からの幅広い組織の顕微鏡検査や色素同定のための特別染色などが行われた。

最高用量投与群の雌1匹は、13日目に死亡直前にと殺された。その他の知見は雄雌間で同様であった。臨床症状として、腹部及び泌尿器領域での褐色染色化、糞便量の減少、嘔吐などがあり、それは20及び40 mg/kg 体重/日投与群では定常的にみられ、4 mg/kg 体重/日投与群では投与後4時間に時折みられた。これらの症状は、最高用量投与群で7週目と13種目(回復期)においても依然として観察された。1~7週に、40 mg/kg 体重/日投与群で体重減少がみられ、投与を中止すると元に戻ったが、雌群は試験の終了時に対照群に比べて平均体重は減少していた(12%)。20 mg/kg 体重/日投与群には、試験期間中継続して体重増加抑制(60%)がみられた。摂餌量は、20(20%)及び40 mg/kg 体重/日投与群において減少がみられた(50%まで)。血液学的パラメータの唯一の顕著な変化は、用量依存的な活性化部分トロンボプラスチン時間で、これは、雄では4 mg/kg 体重/日以上投与群に、雌では最高用量投与群にみられた。総ビリルビン濃度、アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 $\gamma$ -GT(これは肝臓障害の指標)各酵素の血清中での顕著な増加が、20 mg/kg 体重/日投与群の、4、12、13週後にみられ、また40 mg/kg 体重/日投与群の4週後にのみみられた。同様に、アラニンアミノトランスフェラーゼの増加や、程度は少ないがアルカリホスファターゼ活性の増加が、4 mg/kg 体重/日投与群にみられた。40 mg/kg 体重/日投与群(7週間投与期、6週間回復期)において、投与後13週目までに、血清パラメータはほぼ対照値並みに戻った。絶対又は相対臓器重量の有意な変化はなかった。投与に関連した肉眼及び顕微鏡的検査での変化は肝臓に限定されていた。20及び40 mg/kg 体重/日投与群の、黒ずんだ外見は、顕微鏡的に色素沈着の増加、肝細胞壊死、細胞質空胞化、胆汁管過形成と関連していた。4 mg/kg 体重/日投与群には、軽度ないしは中程度の色素沈着、肝細胞壊死、空胞化が時々起こるとの知見が記録された。色素はほとんどの場合ポルフィリン及びビリルビンであることが分かっており、ある部分はヘモシデリンで染色された。NOAELは、2 mg/kg 体重/日とされた(Naas, 1996年c)。

### (c)長期毒性/発癌性試験

#### マウス

Swiss ICR/Ha新生児マウスに、10又は50 mg/mLのエトキシキン(Santoquin<sup>®</sup>)として)溶液を、1日齢目と7日齢目(0.1 mL)及び14日齢目と21日齢目(0.2 mL)に皮下投与し、又は100 mg/mL溶液の0.1 mLを1日齢目(day1)に単回投与した。各用量は、1日齢では500、2,500、5,000 mg/kg体重相当量であり、21日齢では1,250 mg/kg体重相当量であった。低用量群は57匹、中用量群は53匹、高用量群は28匹のマウスから構成されていた。マウスが離乳するまでに、高用量群では100%、中用量群では74%、低用量群では2%が死亡した。また、同じ時期に、対照群においても15%が死亡した。53週目の試験終了時までの種々の期間で、少数群マウスをと殺した。最初に腫瘍の試験を行うため、限定範囲内での組織及び傷害を調べた。肺腫瘍及び肝癌の発生頻度は、投与群と対照群とではほぼ同様であった。悪性リンパ腫の軽度な発生頻度上昇が、低用量では雌4匹、中用量では2匹にみられた(対照群ではゼロ匹)が、この結果は著者によって不確かなものであるとされた。以上の結果から、新生マウスへのエトキシキンの致死量に近い四用量の皮下投与を行った場合、1歳齢までのマウスにおける腫瘍の発生頻度は増加しないことが示された(Epsteinら、1970年)。

## ラット

ラットを用いたエトキシキンの2年間混餌投与試験は、1969年のモノグラフに要約されている。ラット(各一群雄雌各約10匹)に、エトキシキン(0、62、125、250、500、1,000、2,000、4,000 ppm)を2年間まで混餌投与された。動物は、200、400、600、715日後にそれぞれ剖検のためにと殺された。投与群の死亡頻度は、対照群と有意差はみられなかった。2,000 ppm投与群の雄では225日後に、雌では21日後に、有意な体重増加の抑制がみられた。200日後に、250 ppm投与群の雄、1,000 ppm投与群の雌で相対的肝臓重量及び腎臓重量の増加がみられた。ヘモグロビンの値は、2,000及び4,000 ppm投与群の雄雌ともに、試験開始の100及び300日後で正常であった。2,000又は4,000 ppm投与群の雄ラットで、明らかな腎皮質における組織学的変化が投与の200日後にみられたが、雌ではこれは観察されなかった。他の全臓器は、雄雌とも200日後で正常であった。400日後に、腎臓(腎盂腎炎)、肝臓、甲状腺における各傷害が雄群にのみみられた。雄群でより顕著であったが、同様の傷害が717日まで雄雌両群にみられた。700日後に偶発的に腫瘍の発生がみられたが、発生頻度は用量と相関しておらず、対照群でも腫瘍の発生がみられた。62 ppmエトキシキンの投与後に特定の明らかな作用は観察されなかったが、500 ppm投与群の雄で腎臓中に僅かな傷害がみられた。700日後に検査した投与群における異常を、その日以降での老化(senility)の病理学的症状と区別するのは難しかった(Wilson & DeEdsm, 1959年;1969年のJMPRモノグラフよりの引用、付属文書1、参考文献13)。1969年のJMPRでは、NOAELは125 ppmで、6 mg/kg体重/日相当量である、と結論付けられた。この試験で使用された動物群は少なかったため、低い背景頻度を持つ腫瘍のような稀な事象の変化を検出するには、感度面からは制限がある。しかし、報告された結果は、用量範囲が広いこと、逐次的なサンプリング時間を採用していることによって、ある程度の保証がなされているものと考えられた。

N-nitrosoethyl-N-ethanolamineによって誘発された腎臓及び肝臓腫瘍の調査の一環として、対照群にエトキシキンのみが投与された。この群はFischer 344ラットの雄25匹から成り、8週齢から試験終了の41週齢の間、8,000 ppmのエトキシキンを混餌投与された。肝臓、腎臓の各切片、及び肉眼的傷害を組織学的に調べた。肝臓検査では、 $\gamma$ -GT陽性障害、過形成性結節、肝細胞癌のいずれも存在せず、また、腎臓傷害に関するデータも示されていなかった。対照群のFischer 344ラットの雄25匹に8,000 ppmのエトキシキンを混餌投与した。これは、平行して行われたN-nitrosoethyl-N-ethanolamineによって誘発される膀胱癌検査の一環として行われた。上記群の動物では、32週後にアスコルビン酸又はsodium erythorbateを投与された群に比べて、膀胱での単純過形成や、乳頭状又は結節性過形成の発生頻度が高く、単純過形成の発生率はN-nitrosobutyl-N-hydroxybutylamineのみを投与した群に比べてより高かった。無処置の対照群は用いらなかった。エトキシキンのみを投与した群では、膀胱乳頭腫又は癌の発生はみられなかった(Ito et al., 1985年)。

ほとんど同一の膀胱癌試験ではあるが、Fischer344ラット(一群雄15匹)に、エトキシキン(8,000 ppm;400 mg/kg体重/日相当量と考えられる)を、24週間混餌投与したが、乳頭部や結節部の過形成、或いは膀胱の乳頭腫は引き起こされなかった(Miyataら、1985年)。

Fischer344ラットを用いてエトキシキンにより誘発される腎傷害の年齢及び性別依存性が調べられた。一群

4～8匹の3～8週齢の雄ラットに、5,000 ppmのエトキシキン(純度, 90%)が、20、26、30週間混餌投与された。雌8匹には、エトキシキン5,000 ppmを8週齢から30週間混餌投与した。腎臓の病理組織学的検査には、プロモデオキシウリジン(BrdU)標識、 $\gamma$ -GT組織化学、ヘマトキシリン・エオジン染色、アリザリンレッド染色、アルブミン及び $\alpha_2$ グロブリン測定用の尿サンプル免疫ブロットング、などが含まれていた。投与動物では、体重増加が10～15%抑制されていた。雄群では、絶対腎臓重量が、続く相対重量の増加と共に5～50%増加した。雌群では、体重に対する腎臓重量比が12%増加した。全投与群の雄で、尿細管上皮細胞中のエオシン性細胞質封入体及び尿細管薄層中の蛋白質蓄積から成る腎皮質の変化がみられた。3週齢から投与群の雄ラットでは、乳頭壊死、僅かなカルシウム沈着、腎盂(renal pelvis)の移行性上皮の過形成、がみられた。投与群の雌ラットの腎臓の組織学的外観は、高濃度リポフスチンの沈着を除いて、対照群ラットのそれと類似していた。投与の30週目に、通常はヘマトキシリンとエオシンで染色されている再生好塩基性尿細管中でBrdU標識物が増加していた(20週目では増加していない)。雌に対するBrdU標識物の使用は記載されていなかった。尿中の $\alpha_2$ グロブリン濃度は、投与群の雄ラットで僅かに低くなったが、アルブミン濃度は有意に増加していた。初期暴露の際は、5,000 ppm(250 mg/kg体重/日相当量)のエトキシキンを混餌投与されたラットでは、腎臓傷害のパターンが有意に変化し、3週齢から暴露すると乳頭壊死を生じ、さらに8週齢から暴露すると大脳皮質傷害も発生した(Manson ら、1992年)。

試験開始時に3週齢であったFischer344ラット(一群雄雌各6～19匹)に、エトキシキン(純度不明)(5,000 ppm)を、18ヶ月間まで混餌投与した。一群は、エトキシキンを24週間混餌投与されてから、引き続き対照飼料を34週間与えられた。この試験は腎臓傷害の進行を調べるために設計され、4、12週目又は14、24、58、78週目に中間的にと殺が行われた。投与群の雌ラットの体重増加は1～5週目に抑制がみられ、雄の場合は3週目以降に抑制がみられた。摂餌量は、投与開始から最初の4週の間雄雌とも減少した。腎臓の病理学的検査では、雄雌間で明らかな差があった。雄では、4週目と14週目に乳頭の顕著な間質性変性があり、これは24週目までに皮質の腎盂腎炎(pyelonephritis)を伴った壊死や腎盂(renal pelvis)の尿路上皮(urothelial)過形成にまで進展した。雌では、14週目にわずかな乳頭の間質性変性がみられたのみで、一貫した進行はみられなかった。Fischer344ラットで通常見られる慢性進行性腎症は、エトキシキンを投与された場合には加速化された。著者らは、このことは雄でより一層顕著であると報告しているが、提出されたデータではそのことが実証されていない。Schmorl 染色により褐色色素(lipofuscin)として見出された金色がかかった茶色の色素沈着が、投与群のラット(特に雌)の近位尿細管内に認められた。24週目に顕われた傷害は対照飼料を34週間混餌投与された後に可逆的になるとの所見は認められなかった。著者らは、新生物発生前の増殖性傷害の形跡はなかったと考えている。本試験により、飼料中の5,000 ppm(250 mg/kg体重/日相当量)エトキシキンは、若年Fischer 344ラットに対して強力な腎毒素を持つことが示された(Hard & Neal, 1992年)。

既知発がん性物質による新生物・前新生物発生の誘導に与えるエトキシキンを含めた抗酸化剤の作用についての、いくつかの試験結果が報告されている。エトキシキンに関する試験で最も網羅的なシリーズは、おそらくIto及びその共同研究者の成果と思われる(Ito et al., 1985; Miyata et al., 1985; Masui et al., 1986)。彼らは、Fischer344ラットを用いてN-nitrosodiethylamineで誘発された肝臓での作用、N-nitrosobutyl-N-(4-hydroxyethyl) amineによって生じた腎臓及び肝臓での作用、N-nitrosoethyl-N-ethanolamineによって生じた膀胱での作用、のそれぞれの作用に与えるエトキシキンの緩和効果を試験した。

6週齢のFischer344ラットの雄(一群18匹)に、0.9%食塩水中のN-nitrosodiethylamine (200 mg/kg体重)が腹腔内投与された。2週間後に、ラットは0又は8,000 ppmエトキシキン(純度不特定)を混餌投与され、その1週間後に部分肝切除(60%)が施された。ラットは8週目にと殺され、肝臓切片をヘマトキシリン・エオジンで染色し、かつγGT陽性傷害部は組織化学的に染色した。エトキシキン投与ラットでは、障害数(0.9対3.3/cm<sup>2</sup>)及び傷害領域(0.06対0.19 mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)が有意(p < 0.001)に減少していた(Itoら, 1985年)。

Fischer344ラットの6週齢の雄(一群23匹又は27匹)に、0.1%N-nitrosoethyl-N-ethanolamineを含む飲用水が2週間投与された。3週目と殺時の32週目の間に、ラットは0又は8,000 ppmのエトキシキン(純度不明)を混餌投与された。全てのラットでγGT陽性傷害がみられたが、エトキシキン投与群ではその数がより少なく(1対 21/cm<sup>2</sup>)、かつ傷害部がより小さかった(10対22 mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)。さらに、エトキシキン投与群では、過形成性結節領域が少なく(2.3対7 mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)、肝細胞癌を持つ数が少なかった(3/27対11/23)。逆に、エトキシキン投与群の腎臓では、異型細胞傷害(0.9対0.2/cm<sup>2</sup>)や腺腫(5.6対0.8/cm<sup>2</sup>)の出現頻度がより多く、また、傷害(26/27対12/23)、腺腫(17/27対5/23)、より大きい傷害(5.6対0.9 ×10<sup>-2</sup>mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)、腺腫(24対8 ×10<sup>-2</sup>mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>)の各発生頻度がより多くみられた(Itoら, 1985年)。

Fischer344ラットの6週齢雄(一群25匹)に、0.05%のN-nitrosobutyl-N-(4-hydroxybuthyl) amineを含む飲用水を4週間与えた。4週目と殺時の36週目の間に、ラットは0又は8,000 ppmのエトキシキン(純度不明)を混餌投与された。膀胱検査の結果、エトキシキンは以下の各項目の発生頻度と程度を増加させたことが判明した。すなわち、単一過形成(25/25(8,000 ppm投与群、以下同じ)対 14/24(0 ppm投与群、以下同じ))、乳頭状又は結節性過形成(25/25対8/24; 9.4対0.48/10 cm基底膜)、乳頭腫(17/25対5/24; 1.1対0.19/10 cm)、癌(4/25対1/24; 0.17対0.04/10 cm)の各項目である(Ito et al., 1985)。同様の試験、即ちN-nitrosobutyl-N-(4-hydroxybuthyl) amine(0.05%水溶液)を2週間投与し、次いで24週目にと殺する試験によって、8,000 ppmのエトキシキン(純度不明)を混餌投与した際には、乳頭又は結節性過形成の発生頻度とその程度が増加し、膀胱の乳頭腫は増加しないことが示された(Miyataら, 1985年)。

この一連の試験では、N-nitrosodiethylamine及びN-nitrosoethyl-N-hydroxyethylamineの肝臓に与える前新生物発生作用をエトキシキンが顕著に抑制していることが示された。これは、おそらくエトキシキンの抗酸化作用及び解毒機序の誘導作用の組み合わせによるものと考えられた。N-nitrosoethyl-N-ethanolamineによって誘発された新生物及び前新生物腎臓傷害の発生頻度は、エトキシキンによってその頻度が増加したが、これはエトキシキンの腎臓に対する直接的な毒性作用に次ぐ二次的なものであった。N-nitrosobutyl-N-(4-hydroxybuthyl) amineで誘発される膀胱新生物に対するエトキシキンの作用機構は不明である。

## イヌ

イヌ及び雌イヌ(一群14頭)に、エトキシキン(0, 300 ppm)を5年間混餌投与した。血液・尿・臨床化学的評価項目(アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性、血中尿素窒素、プロモスルホフタレイン滞留)への影響はなく、また臓器重量、臓器/体重比、体重、肉眼的又は組織病理学的外観への影響もみられなかった(Monsant, 1966年; 1969年JMPPRモノグラフからの引用; 付属文書1、参考文献13)。1969年のJMPPRでは、

この試験におけるNOAELは300 ppm (7.5 mg/kg体重/日相当量)であると設定された。

#### (d) 遺伝毒性

一連の公表論文では、エトキシキンに細菌系を使った試験において遺伝毒性はないことが示されている(表5)。しかし、これらの論文は、利用可能な詳細情報が僅かなため、正当であるとは認められていない。真核生物系におけるアッセイの結果は報告されていない。

表5. エトキシキン遺伝毒性の試験結果

評価項目	試験系	濃度	純度 (%)	結果	参考文献
復帰突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	10～ 1,000µg/プレ ート	100	陰性a	Joner (1977)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 <i>E. coli</i> , WP2 hcr trp	≥ 5000 µg/ プレート	NR		Ohta ら (1980)
	NR			陰性	Zeiger (1993)
遺伝子突然変異	<i>B. subtilis</i> H17 rec+及びM45 rec	0.2 ml			Ohta ら (1980)

NR; not reported, 報告なし

a: 代謝活性化あり、及びなし

#### (e) 繁殖毒性

##### (i) 多世代繁殖毒性

##### ラット

ラットに、エトキシキン(0、250、500、1,000 ppm) (トコフェロール量が僅かに少ない)を混餌投与し、その40日後に当該ラットは、3回連続して同腹児を産出した。第2世代同腹児の生成には、1番目の同腹児の児動物を用いた。同腹児1匹の出産後、最高用量は投与中止となった(理由不明)。受胎能、同腹胎児数、児動物の生存率を考慮に入れた繁殖への影響等はみられなかった。試験飼料を与えられた動物は対照群に比べてよりうまく出産して児を飼育し、500 ppmを含む飼料が、250 ppmの飼料に比べてより効果が高かった(Wilson, 1956年; Wilson & DeEds, 1959年、1969年 JMPR モノグラフからの引用; 付属文書1、参考文献13)。交配前の投与が短期間であることや、純度及び一群あたりの動物数が不明であることは、この報告からある評価を得ることに支障をきたすが、エトキシキン500 ppm (25 mg/kg 体重/日相当量)の混餌投与は繁殖上の結果に顕著な影響を与えないと結論できるであろう。

1969年 JMPR モノグラフに引用されている他の試験では、上記に記載された結果と反対の結果がいくつか示されている。一群8匹又は9匹の雌ラットに、交配当日に0、125、375、1,125 ppmのエトキシキンが混餌投

与された。妊娠期間は全ての投与群で同じであったが、375 ppm 以上量投与群の同腹児数が僅かに抑制されていた。また、1,125 ppm 投与群では死産の発生頻度が増加し、離乳期までの生存頻度が減少した。この試験での NOAEL は、125 ppm (6 mg/kg 体重/日相当量) であった。同試験の別の部分では、ラットにエトキシキン (1,125 ppm まで) を妊娠後 1 日目と 10 日目の間に混餌投与し、同腹児数、死産数、離乳期までの生存数、離乳期体重、の各項目でエトキシキンによる作用のないことが示されている (Derse, 1956 年、1969 年 JMPR モノグラフからの引用; 付属文書 1、参考文献 13)。

## イヌ

ビーグル犬群を用いてエトキシキンの 2 世代繁殖試験が行われた。エトキシキンは、飼料の酸化的劣化防止のために商業用ドッグフードに添加されているため、イヌを選定した。初代交配 (F<sub>0</sub>) では、雄 5 匹及び雌 10 匹に、エトキシキン (Santoquin<sup>®</sup>) (平均分析濃度、0、100、225 ppm) を、イヌの交配の少なくとも 82 日前に混餌投与した。次の F<sub>1</sub> 交配のために用いられた雄児動物 8 匹及び雌児動物 13 匹には、離乳期から 10~30 ヶ月 (雌の第二発情期) の飼育期間までエトキシキン (0、100、225 ppm) を混餌投与した。精子の量、数、運動性、速度、形態を測定するために、投与後最初の 1 週間及び飼育期間中に精子サンプルを採取した。動物は日常的に観察し、また広範な身体測定を受けた。可能な場合には、分娩中でも動物の観察を行った。交配、出産、授乳の各項目の指数も測定した。投与前及び F<sub>0</sub> 期の終了時、あるいは 10、23、36、49、62 週目と F<sub>1</sub> 成長期、及び F<sub>1</sub> 交配期の終了時に、血液学的検査及び生化学検査用に尿及び血液サンプルを採取した。眼科的検査は、試験の最初及び F<sub>1</sub> 成長期と交配期の最後の各々で実施した。毒性症状のみられた全 F<sub>1</sub> 成獣及び児動物は剖検に供した。対照群及び高用量投与群の F<sub>1</sub> 成獣から得た一連の組織を組織学的に調べた。同時に、臨床症状を示した F<sub>2</sub> 児動物からの選択された組織、低用量投与群の F<sub>1</sub> 成獣から得た肝臓及び胆嚢、低用量投与群の F<sub>1</sub> 雌成獣から得た副腎及び脾臓の各々も調べた。肉眼的及び顕微鏡的検査は、死亡したかないしは成熟前にと殺した F<sub>0</sub> 動物及び F<sub>1</sub> 動物のみで行った。

F<sub>0</sub> 交配では、群内で体重のかなりの変動があったが、エトキシキン 225 ppm 投与群の F<sub>0</sub> 成獣では、投与の始めから 17 週までと妊娠の後期に体重減少の傾向がみられた。雄は、ほとんど全ての試験期間中で摂餌量が減少した。妊娠が確認された高用量投与群の雌 2 匹は出産しなかった。群間において、交配実績、分娩、出産、離乳指標、精液パラメータ、臨床症状の各項目で有意差はなかった。同腹児数、児動物の生存率、児動物体重及び成長の各項目は全ての群で同様であった。エトキシキンの 225 ppm 投与群の雄雌において、表面の皮が剥けたないしは赤色化した肛門、脱水、鼻汁、過剰な流涙 (lachrymation) の症状を呈した児動物数の増加がみられた。最後の二症状の発生頻度は、100 ppm 投与群においても増加した。高用量投与群の親動物の雄及び低用量投与群の親動物の雌に、血清アルカリホスファターゼ活性の統計的に有意な増加がみられた。全ての値は正常範囲内にあったが、雄雌とも高用量投与群において、単球数減少や部分トロンボプラスチン時間中の低下傾向がみられた。尿パラメータへの影響はなかった。雌対照群 3 匹と、雌 2 匹 (この雌は 225 ppm を投与されたが初期段階で交配に失敗していた) の再交配は、両方とも成功した。

F<sub>1</sub> 動物の中で、低用量投与群の雄 1 匹と高用量投与群の雌 2 匹が死亡するかないしは臨終時にと殺された。雄は、神経学的症状が疑われたためと殺された。雌の内の 1 匹は心臓病の疑いで死亡し、残りの 1 匹は肺炎のためと殺された。臨床症状として、過度の流涙、脱水、痩せ、淡色歯肉などがあり、その症状は、特別な症状を

持つ雄雌動物数、及び症状が観察される頻度が増加するに従って用量依存的に増加した。高用量投与群の雄では、試験の 48 週まで平均体重は対照群に比べて低かった。試験初期では、高用量投与群の動物は対照群に比べて摂餌量が多かったが、雄では 8~18 週、雌では 8~30 週において摂餌量が一貫してより低くなった。投与群及び対照群とも、試験期間を通して血液学的評価項目における少なからぬ変化がみられた。投与に関連した、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンの影響があり、これら指標は投与後、雄では 10 週目に、雌では 23 週目に、対照群に比べて 11%まで減少していた。また、部分トロンボプラスチン時間への影響もみられ、これは高用量投与群の雌で 23 週目と 62 週目に時間短縮がみられ、高用量投与群の雌では、23 週、36 週、最終分析時に短くなっていた。アルカリホスファターゼ、 $\gamma$  GT、aminotransferase、アルブミンの血清中活性の増加、及び「グロブリン:アラニン」比の減少が、高用量投与群の 10、23、36 週目の各々でみられた(低用量投与群では変動が少なかった)。こうした変化は、肝臓機能障害のあることを示していた。尿分析の結果には、顕著なものはなかった。

F<sub>1</sub> 交配では、精液分析、交配、妊娠、出産、離乳の各指標で、対照群とエトキシキン処置動物群との間に明らかな差はなかった。成獣では、投与に関連した唯一の臨床症状は、過剰の流涙で、それは対照群に比べて低用量及び高用量投与群の雄でより頻繁にみられた。血液学的観察項目は、全群で同様であった。投与に関連した、多くの臨床化学的パラメータの変化が雌でみられ、高用量投与群では、統計的に有意であった ( $p < 0.05$ )。これらの変化は、グルコース、コレステロール、蛋白質、アルブミン、アルブミン:蛋白質比の減少、総ビリルビン濃度、 $\gamma$ -GT、アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の増加、などであった。雄では、用量に相関したアルカリホスファターゼ、 $\gamma$ -GT、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の各指標の上昇があったが、これは統計的に有意ではなかった。肉眼検査では、高用量投与群の雄 1 匹と雌 2 匹に、暗プラム色になった肝臓がみられ、低用量投与群の雌 2 匹に頸部リンパ節出血がみられた。これらの悪影響は、対照動物群には観察されなかったので、投与に関連したものと考えられた。脾臓及び精巣の絶対重量の増加、さらには脳重量に対するこれら臓器重量の増加が、投与群の雄でみられ、これは体重増加に比較して統計的に有意な増加であった。雌では、肝臓(10%)、腎臓(10%)、脾臓(40%)の絶対的・相対的体重増加が報告されているが、統計的に有意ではなかった。病理組織学的検査では、肝臓、脳下垂体、脾臓が標的器官であることが分かった。肉眼的知見では、雌動物での頸部リンパ節出血の増加は確認されなかった。引き続き、プロトポルフィリン IX として同定された暗赤褐色色素は、対照群や低用量投与の雄群の肝臓中には観測されなかったが、低用量投与群の雌 7/13 匹、高用量投与群の雄 2/7 匹、高用量投与群の雌 10/11 匹でみられ、この重症度は用量依存的に増加した。雌での脾臓の線維症と出血の出現頻度は高用量投与群で増加(3/11 対 0/13(対照群))し、脳下垂体囊胞の発生頻度は対照群に比べて、高用量投与群で増加していた(雄では 2/6 匹対 0/8 匹;雌では、4/10 匹対 2/12 匹)。

雄の児動物では、灰色ないしは淡色歯茎、過剰な流涙、脱水の各発生頻度の増加が、また雌の児動物では、脱水の発生頻度の増加がみられた。出生時及び妊娠 6 週目までの児動物の体重は、雌の児動物においては用量依存的に僅かに減少( $< 10\%$ )していた。低用量投与群の児動物の死亡頻度の増加は、高用量投与群には観察されず、これは恐らく高用量投与群での同腹胎児数に関連していると考えられた。死亡率は、対照群で 7/62 匹、低用量投与群で 24/91 匹、高用量投与群で 10/77 匹であった。

ppm 投与群の雄 4 匹と、225 ppm 投与群の雌 2 匹で、神経障害の症状が試験中にみられた。動物の上記障害は、後肢機能障害、立位不能、首と体の非安定性などで、こうした症状は髄鞘変性に伴うものであることが判明した。臨床的に正常な同腹児の検査では神経学的欠陥はみられなかった。全ての影響を受けた動物の雄親の先祖は正常であることが飼育記録に示されている。この先祖は、いかなる対照動物の育種系統とも同じではなかった。児動物に影響を与えた親動物に混餌投与なしで交配させた場合には、神経学的に影響を受けた動物の発生頻度は、1 胎児の場合で 17%、それ以外の場合で 25%であった。この試験から得られた結果は、投与との遺伝的関係のあることを強く示唆している。

この試験における実際のエトキシキンの推定摂取量は、授乳中の 2 倍の摂餌量があったこと、及び通常濃度の 150、300 ppm を得るために、180、360 ppm の餌を加えたことなどによって混乱を来たした。しかし、分析の結果、平均初期濃度は、100、225 ppm であることが判明した。実際の飼料消費量は試験期間中に変化があったが、25 mg/kg 体重/日群の値が代表的平均値であると考えられた。エトキシキン 100 ppm を摂取した場合には 2.5mg mg/kg 体重/日、225 ppm を摂取した場合には 6 mg/kg 体重/日のエトキシキンを摂取したことになった。

この試験の結果は、225 ppm までのエトキシキンを混餌投与しても、ビーグル犬での繁殖能又は結果に影響を与えないことを示している。全体的な明確な NOAEL は決定されなかった。それは、過剰な流涙、脱水、臨床化学的变化、肝臓中の色素沈着、といった臨床症状の発生頻度が増加したためである。最低用量の 100 ppm (2.5 mg/kg 体重/日相当量) が、最小作用量と考えられた (Gilman & Voss, 1995年)。

## (ii) 催奇形性 (原文 p.12)

### ラット

SD 系ラット(一群 8 匹の交配後の雌)に、コーンオイル中のエトキシキン(純度, 97.6%) (0、62、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日)を、妊娠の 6~19 日目に強制経口投与し、催奇形性の用量設定試験が行われた。1,000 mg/kg 体重/日投与群の動物は全て死亡するかないしは 9 日目までにと殺された。また、500 mg/kg 体重/日投与群の 3 匹は妊娠の 10~11 日目に死亡した。死後の検査では、悪影響はみられなかった。

排便量の減少、暗色尿、毛皮の褐色化などの臨床症状が用量依存的に観察され、これは全投与群で観察された。125 mg/kg 体重/日以上投与群において、投与の初期段階で摂餌量の減少及び体重減少がみられ、9 日目以降での体重増加は 500 mg/kg 体重/日投与群までの全投与群と同様であった。対照群と比較して、125mg mg/kg 体重/日以上投与群の動物は、20 日目までに 20%の体重減少があった。胎児では、500 mg/kg 体重/日投与群では体重が減少したが、外表奇形、性比、頭殿長(crown-rump length)の各項目の、投与による影響はなかった(Nemec, 1996 年 a)。

本試験においては、交配後のSD系ラット(一群25匹の雌)に、コーンオイル中のエトキシキン(純度, 97.6%) (0、50、150、350 mg/kg 体重/日)を、妊娠の6~19日目に強制経口投与した。母動物は20目にと殺され、その子宮及び卵巣が調べられた。また全胎児はその体重、性別、外表奇形と内臓奇形について調べられた。半分

の胎児の頭はウィルソン切片化により、残り半分の頭は中央冠状切片化によって調べられた。全胎児は、骨格検査のために、アリザリンレッドSで染色された。試験期間中に死亡はみられなかった。最高用量投与群の投与後の母動物において、泌尿器の着色がみられ、また最高用量投与群及び150 mg/kg体重/日投与群の数匹の動物で、他の臓器領域での着色がみられた。350 mg/kg体重/日投与群では、母動物の体重は、投与の6～7日目に減少し、6～20日目には対照群に比べて13%の体重増加抑制が明らかにみられた。150 mg/kg体重/日投与時群には、6～20日目に5%の体重増加抑制がみられた。摂餌量は、150 mg/kg体重/日投与群では9%、350 mg/kg体重/日投与群では13%減少した。母動物の剖検では注目すべき知見はなかった。子宮体重、同腹胎児数、吸収、着床前及び着床後消失、性比の各項目は、全群と同様であった。別途、奇形、異常の発生は背景対照群の範囲内であり、投与とは関連性がなかった。変異の全発生頻度は、対照群で最も高かったが、個別の変異の著しい増加はなかった。この試験でのNOAELは、臨床症状(外皮の着色)及びより高用量投与群での母動物の体重減少に基づいて、50 mg/kg体重/日とされた。胎児毒性のNOAELは、350 mg/kg体重/日(試験した内の最高用量)とされた(Nemec, 1996年b)。

### 3. ヒトでの観察(原文 p.13)

エトキシキン进行处理した果物を扱っている作業員で、皮膚炎を発症した症例が報告されている。1969年のモノグラフに引用されているパッチ試験では、炎症の原因は、直接の刺激というよりむしろ感作作用であることが示されている(Wood, 1965年)。

一連の報告(Burrows, 1975年; van Hecke, 1977年; Zachariae, 1978年; Brandao, 1983年)では、エトキシキンを含む動物の餌を扱った作業員にしばしば見られる重度の皮膚炎の原因は、恐らくエトキシキンであることが示されている。ワセリン中のほんの0.01%濃度程度のエトキシキンを暴露された後に発症した作業員では、パッチテストが陽性であることが記録されている(Zachariae, 1978年)。いくつかの報告書の筆者らは、発症は空気汚染及び光感受性に関係があると指摘している。

1969年のモノグラフで引用されている試験では、20年間のエトキシキン生産実績の中で、皮膚刺激性又は感受性の事実はないことが示されている(Kelly, 1960年)。

### コメント(原文 p.13)

公表済みの試験では、エトキシキンはラットやマウスの消化管から迅速に吸収され、1時間以内に最高血中レベルに達するとされている。最高濃度は、肝臓、腎臓、脂肪の各組織内でみられる。エトキシキンは主として尿中に迅速に排泄され、25 mg/kg体重投与の85%以上は、24時間以内に排泄される。250 mg/kg体重投与時には、吸収及び排泄は緩徐となり、そのため、胃排出量減少につながり、投与量の50%のみが24時間以内に排泄された。25 mg/kg体重/日を反復経口投与した際には、その排泄プロフィールは単回投与と同様であったが、250 mg/kg体重/日の反復投与時の排泄プロフィールは、より低用量投与群の場合と同様であると報告されている。このことは、代謝・輸送の誘導、正常な胃排出への回帰のあったことを示している。胆汁排泄及び腸肝再循環は、エトキシキンの毒物動態において重要な役割を果たしている。25 mg/kg体重のエトキシキン静注時に、その40%以上が、胆汁管カニューレを挿入したラットの胆管中で検出されている。エトキシキンの代謝経路には、O-脱エチル化又は水酸化、引き続いての硫酸又はグルクロニドによる抱合化などがある。胆汁代謝物産生

の推定反応スキームには、反応性求電子性中間体のエポキシ化や発生などがある。植物代謝に関する情報は、入手可能ではなかった。

エトキシキン、経口(半数致死量(LD<sub>50</sub>)= 1,700 mg/kg体重)・経皮・吸入投与した時の急性毒性は低い。モルモットに局所投与した時には、眼及び皮膚へのわずかな刺激性があり、また、非常に弱い感作性を示す可能性があった。職場でのエトキシキンの暴露は、アレルギー性接触皮膚炎と関係があり、本物質はヒトに対して感作性があると考えらるべきである。

世界保健機関(WHO)は、エトキシキンの急性毒性を分類していない。

ラットへのエトキシキン(50~1,000 mg/kg体重/日又はそれ以上)の28日間反復投与後の、検査の主要標的臓器は腎臓であった。250 mg/kg体重/日相当濃度で混餌投与した時の作用機序試験では、初期の暴露時での正確な作用は年齢依存的であり、雌よりも雄において進行性かつより重篤で、24週後でも可逆的でなかった。エトキシキン(200 mg/kg体重/日以上)を28日間又は90日間暴露したラットに見られる他の作用は、変性肝臓機能と連動した、着色毛、褐色尿、血液学的パラメータの変化、肝臓重量増加、臨床化学的パラメータの変化などであった。ラットでの短期試験における全体的なNOAELは、20 mg/kg体重/日であった。

イヌにカプセル中のエトキシキン(0、2、4、20、40 mg/kg体重/日)を90日間投与した際の、主たる標的臓器は肝臓であった。肝臓機能変化を示唆する血液パラメータや臨床的化學的變化が4 mg/kg体重/日以上投与群にみられ、このとき、肝細胞壊死、空胞化、色素沈着も同時にみられた。色素がヘモジデリンであることは示唆されていたが、特別研究によって、それはプロトポルフィリンIXであることが判明した。イヌでの短期試験における全体的なNOAELは、2 mg/kg体重/日であった。これは、イヌを用いたより古い1年間試験の結果と一致するもので、そこではNOAELは、10 mg/kg体重/日投与群の腎臓及び肝臓への作用が示唆される知見に基づいて、3 mg/kg体重/日と設定されていた。

毒性又は発がん性に関する、最新の長期試験は実施されていない。1969年の会議で要約されている試験では、イヌに対して0又は300 ppmのエトキシキンを5年間混餌投与するか、又は0、3、10、50、100 mg/kg体重/日を1年間強制経口投与し、10 mg/kg体重/日ないしはそれ以上の投与が肝臓及び腎臓に及ぼす影響を試験している。NOAELは300 ppmで、7.5 mg/kg体重/日相当量であった。1959年に公表された、ラットへのエトキシキン(0、62、125、250、500、1,000、2,000、4,000 ppm)の2年間混餌投与試験では発がん性の症状はなく、全体的なNOAELは125 ppm(6 mg/kg体重/日相当量)であった。高用量投与群で、腎臓、肝臓、甲状腺における傷害がみられた。腫瘍の誘発及び増悪に関する作用機序の研究では、エトキシキンが第I段階と第II段階の両方で、異物代謝を誘導することが示されている。N-エトロソアミン投与後、エトキシキン8,000 ppmを混餌投与すると、肝臓中での前新生物及び新生物の形成頻度が減少したが、腎臓及び膀胱中のそれらの発生頻度は増加した。致死量に近いエトキシキンを4回皮下投与されたマウスで、1年後に腫瘍発生頻度の有意な増加はみられなかった。

細菌の変異原性に関する公表試験報告によれば、エトキシキンは原核生物系に対して変異原性はみられな

いことが示されている。ただし、提供されたプロトコルや詳細結果は限定的である。ほかの遺伝的評価項目は利用可能でなかった。

最新の繁殖毒性試験では、げっ歯類での試験は実施されていない。ラットにエトキシキン(0、125、250、375、500、1,000、1,125 ppm)を混餌投与した3つの試験があり、いずれも非標準プロトコルで1969年の会議時にまとめられているが、多少の議論を呼ぶ結果となっている。3つの内の2つの試験(これは最も広範囲にわたっているが)では、1,125 ppm(56 mg/kg体重/日相当量)までの混餌投与で調べられた繁殖面に関しては何らの作用のないことを明らかに示している。一方で、残りの1つの試験では、1,125 ppm投与時に死産の発生頻度が増加し、375 ppm投与時に同腹胎児数は減少している。NOAELは、125 ppm(6mg/kg体重/日相当量)となった。

イヌに0、100、225 ppmのエトキシキンを混餌投与した最新の2世代繁殖毒性試験では、試験した最高用量である225 ppm(5.6 mg/kg体重/日相当量)で、エトキシキンによる繁殖パラメータへの影響はなかった。観察された臨床症状は、脱水、過剰の流涙、特に雌にみられた肝障害、などであった。両投与群(100、225 ppm)にみられた作用は、イヌでの短期試験でみられた結果と一致していた。雌で観察された知見は、妊娠及び授乳期間中の摂餌量増加と関連性のある可能性がある。試験を実施した最低用量、つまり100 ppm(2.5 mg/kg体重/日)が、最小作用量と考えられた。

ラットに対するエトキシキン(0、50、150、350 mg/kg体重/日)の催奇形性毒性では、エトキシキンは350 mg/kg体重/日まで胎児毒性も催奇形性も認められなかった。150及び350 mg/kg体重/日投与時群に、母動物毒性、染色毛、体重増加抑制がみられた。他の動物種では、繁殖毒性の試験は実施されていない。

イヌを使った多世代試験での最少作用量が2.5 mg/kg体重/日であること、本試験でのNOAELがないこと、データベースの不完全なことを補うために500倍の安全係数をかけたこと、に基づいて、一日摂取許容量(ADI)は0~0.005 mg/kg体重/日と決定された。多世代繁殖毒性試験は、長期間を要し、強制経口投与によるイヌでの90日間試験(NOAELが2 mg/kg体重/日)より新しいものであった。

急性参照用量(RfD)は、エトキシキンの急性毒性が低いのため決定されなかった。当会議は、残留物の急性摂取によって消費者へリスクを与える可能性は低いと結論付けた。

## 毒性学的評価 (原文 p.14)

毒性作用を起こさないレベル

ラット: 125ppm、6 mg/kg体重/日相当量(2年間毒性及び発がん性試験)

500 ppm、25 mg/kg体重/日相当量(2世代繁殖毒性試験)

50 mg/kg体重/日(催奇形性試験における母動物毒性)

350 mg/kg体重/日(催奇形性試験)

- イヌ: 2 mg/kg体重/日 (90日間毒性試験における一般毒性)
- 3 mg/kg体重/日 (1年間毒性試験)
- 300 ppm、7.5 mg/kg体重/日相当量 (5年間毒性試験)
- 2.5 mg/kg体重/日 (2世代繁殖毒性試験での一般毒性の最少量)
- 5 mg/kg体重/日 (繁殖能; 試験の最高用量)

ヒトでの推定一日摂取許容量  
0~0.005 mg/kg体重

推定急性参照用量  
決まっていない(不要)

化合物の継続評価に有用な情報を提供する試験

1. 哺乳動物系における遺伝毒性試験
2. 最新のガイドラインに順じたラットでの長期毒性及び発癌性試験
3. ヒトでの観察

ガイダンス値を設定するための、経口及び非経口暴露での評価項目表  
哺乳動物における吸収、分布、排泄、代謝

経口吸収頻度及び程度	迅速(>50%)
経皮吸収	関連情報は無い
分布	広く分配された; 肝臓、腎臓、脂肪組織
蓄積の可能性	生物学的蓄積のわずかな証拠
排泄頻度及び程度	85%以上は、24 時間内に排泄される
動物における代謝	広範; 親化合物は尿中に検出されなかった
毒性学的に重要な化合物(動物、植物、環境)	親化合物と同等の毒性があると考えられた代謝物

### 急性毒性

ラット: 半数致死量(LD <sub>50</sub> ) 経口	1700 mg/kg 体重
ラット: 半数致死量(LD <sub>50</sub> ) 経皮	> 2000 mg/kg 体重
ラット: LC <sub>50</sub> 吸入	> 2 mg/L (全身暴露)
皮膚刺激性	わずかな刺激性
眼刺激性	わずかな刺激性
皮膚感作性	感作性

### 短期毒性

目標/重要な作用	多世代試験での一般毒性
最低関連NOAEL	イヌ:2.5 mg/kg体重/日以下(繁殖毒性)
最低関連経皮NOAEL	データなし
最低関連吸入NOAEL	データなし

### 遺伝毒性

遺伝毒性の実証はないが、試験は不適切である。

### 長期毒性及び発癌性

目標/重要な作用	データ不十分
最低関連NOAEL	データ不十分
発癌性	発癌性の実証はないが、試験は不適切である。

### 繁殖毒性

繁殖目標	繁殖に関する毒性作用はない
最低関連繁殖NOAEL	イヌ:5 mg/kg体重/日、多世代試験
催奇形性目標/重要な作用	催奇形性に対する悪影響はない
最低関連発生NOAEL	ラット:350 mg/kg体重/日

### 神経毒性/遅発性神経毒性

データはないが、他の試験から判断して、関連性はない

### 他の毒性試験

	ラットにおける肝臓腫瘍のイニシエーター又はプロモーターではない
	膀胱の前新生物や新生物変化を増加させる可能性がある

### 医学データ

	食物取扱いで、接触アレルギー性皮膚炎
--	--------------------

まとめ	値	試験	安全係数
一日摂取許容量(ADI)	0~0.005 mg/kg体重	イヌ、繁殖毒性の多世代試験	500

### 急性参照用量

決められていない(不要)	
--------------	--

エトキシキンの毒性試験と結果の概要（評価書：JMPR 1998）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	ラット	不明	LD <sub>50</sub> :1,700 mg/kg 体重
急性毒性 (経皮)	ラット	不明	> 2,000 mg/kg 体重
急性毒性 (全身吸入)	ラット	不明	>2.0 mg/L
急性毒性 (腹腔内)	マウス	不明	~900 mg/kg 体重
急性毒性 (静注)	マウス	不明	~180 mg/kg 体重
28 日間 亜急性毒性 (経口)	SD 系ラット	0、50、250、500、 1,000 mg/kg 体重/ 日	NOAEL は決定できなかった 1,000 mg/kg 群は多臓器障害で死亡 250 mg/kg 以上で、流涎、着色毛、褐色尿の増加、 絶対的及び相対的肝臓重量の増加。50 及び 250 mg/kg の雄群と 500 mg/kg の雄・雌群で腎臓障害。
28 日間 急性毒性 (経口)	ビーグル犬	0、25、50、100、200 mg/kg 体重/日	NOAEL は決められなかった 100 ないしは 200 mg/kg の全動物は投与後 17 日ま でに死亡もあり。活動性の低下、排便量の減少、褐 色尿、淡色化歯茎。体重増加抑制及び摂餌量減 少。肝臓障害を示している血清酵素活性の増加。
90 日間 急性経口毒 性	ビーグル犬	0、2、4、20、40 mg/kg 体重/日	NOAEL=2 mg/kg 体重/日 4 mg/kg で、軽度ないしは中程度の色素沈着、肝細 胞壊死、空胞化。4~40 mg/kg で腹部及び泌尿器 領域での褐色染色、糞便量の減少、嘔吐。20 mg/kg で体重増加抑制、酵素の血清中での顕著な 増加。20 及び 40 mg/kg で色素沈着の増加、肝細 胞壊死、細胞質空胞化、胆汁管過形成。 に基づく

13 週間亜急性毒性 (経口)	SD 系ラット	0、20、40、200、4,000 mg/kg 体重/日	NOAEL) = 20 mg/kg 体重/日 200 及び 400 mg/kg で、肛門生殖器部位の着色、流涎、褐色尿、体重増加抑制、赤色化甲状腺。高用量で、雄での尿細管の石灰化、乳頭壊死、細胞質空胞化、副睾丸の化膿性炎症、前立腺の非化膿性炎症、肺胞の組織球症と、雌での石灰化、乳頭壊死、腎障害、食道炎症、胸腺の上皮過形成、の各発生頻度の増加。 に基づき
24 週亜急性毒性 (経口)	Fischer344 ラット	8,000 ppm	乳頭部や結節部の過形成、或いは膀胱の乳頭腫を引き起こさなかった
30 週亜急性毒性 (経口)	Fischer344 ラット	5,000 ppm	体重増加抑制、肝臓重量増加、腎皮質の変化、雄ラット群で、乳頭壊死、僅かなカルシウム沈着、腎盂の移行性上皮の過形成。
200 日慢性毒性	ラット	500 ppm かそれ以上	腎臓傷害
	ラット雄	250 ppm かそれ以上	「腎臓/体重」比の増加、
		2,000 ppm	肝細胞中細胞質封入体の出現頻度の増加
1 年間慢性毒性 (経口)	イヌ	10 mg/kg 体重/日まで	NOAEL=3 mg/kg 体重/日 腎ネフローゼ、プロモスルホフタレイン滞留の増加、 に基づき
18 ヶ月慢性毒性 (経口)	Fischer344 ラット	5,000 ppm	強力な腎毒素あり。体重増加抑制。雄での乳頭の間質性変性があり、24 週目までに、壊死や腎盂の尿路上皮過形成に進展。雌での金色がかかった茶色の色素沈着。
5 年間慢性毒性 (経口)	イヌ	0、300 ppm	NOAEL=300 ppm (7.5 mg/kg 体重/日相当量) 血液・尿・臨床化学的評価項目への影響はなく、また臓器重量への影響もなし。に基づき
53 週発癌性試験 (皮下)	マウス	500、1,250、2,500、5,000 mg/kg 体重相当量	腫瘍の発生頻度を増加させない。 肺腫瘍及び肝癌の発生頻度は、投与群と対照群とではほぼ同様。

2年間慢性 毒性/発癌 性	ラット	0、62、125、250、 500、1,000、2,000、 4,000 ppm	NOAEL=125 ppm (6 mg/kg 体重/日相当量) 2,000 ppm に体重増加抑制。250 ppm の雄、1,000 ppm の雌で相対的肝臓重量及び腎臓重量の増加。 2,000 又は 4,000 ppm の雄で、腎皮質における組織学的変化、及び雄雌で腎臓(腎盂腎炎)、肝臓、甲状腺傷害。に基づき
2世代繁殖	ラット	0、250、500、1,000 ppm	NOAEL=125 mg/kg 体重/日 375 ppm 以上量投与群の児動物のサイズが僅かに抑制。1,125 ppm で、死産の発生頻度の増加、離乳期までの生存頻度の減少。に基づき
	イヌ	0、100、225 ppm	NOAEL は決められなかった。 最小作用レベルは、100 ppm (2.5 mg/kg 体重/日相当量)。 225 ppm の F <sub>0</sub> 成獣群で体重減少の傾向、雄群では摂餌量が減少、肛門部変色、脱水、鼻汁、流涙。高用量投与の雌 2 例は出産せず。 F <sub>1</sub> 動物の中で、低用量投与の雄 1 匹と高用量の雌 2 匹が死亡。臨床症状として、過度の流涙、脱水、痩せ、淡色歯肉。血液学的評価項目での変化。 高用量投与の 1 匹の雄と 2 匹の雌に、暗プラム色になった肝臓。脾臓及び精巣の絶対重量の増加、脳重量に対するこれら臓器重量の増加。暗赤褐色色素沈着。雌の高用量での脾臓の線維症、出血、脳下垂体嚢胞発生頻度の増加。雄の児動物での、灰色ないしは淡色歯茎、過剰な流涙、脱水、また雌の児動物での脱水の各発生頻度の増加。 100 ppm の雄と、225 ppm の雌で神経障害。 225 ppm までのエトキシキン混餌投与しても、ビーグル犬での生殖能又は結果に影響を与えない。
催奇形性 (用量設定 試験)	SD系ラット	0、62、125、250、 500、1,000 mg/kg 体重/日	1,000 mg/kgの動物は全て死亡。また、500 mg/kgの内の3匹は妊娠の10～11日目に死亡。 用量依存的な排便量の減少、暗色尿、毛皮の褐色化。125 mg/kg以上で投与の初期段階で、摂餌量の減少及び体重減少。胎児体重が500 mg/kgで減少。

催奇形性 (本試験)	SD 系ラット	0、50、150、350 mg/kg 体重/日	NOAEL=50 mg/kg 体重/日 (母動物) NOAEL=350 mg/kg 体重/日 (胎児) 最高用量の母動物で、泌尿器の染色、また最高用 量及び 150 mg/kg の数匹の動物で、他の臓器領域 での染色。350 mg/kg 母動物の体重減少・増加抑 制。150 mg/kg で体重増加抑制。摂餌量の減少。に 基づき
パッチテスト	ヒト	ワセリン中の 0.01% 濃度	皮膚炎
変異原性: 復帰突然変 異	S. typhimurium TA98, TA100,TA1535, TA1537,TA1538	10~1,000µg/プレー ト	陰性
	S. typhimurium TA98, TA100,TA1535, TA1537,TA1538 E.coli,WP2 hcr trp	≥ 5000 µg/ プレート	
遺伝子突然 変異	B. subtilis H17 rec+及びM45 rec	0.2 ml	
変異原性: 小核試験	データなし		
皮膚感作性	ウサギ	不明	一過性の軽度紅斑、落屑
皮膚感作性	モルモット	不明	弱い紅斑反応
眼刺激性	ウサギ	不明	「僅か~軽度」の赤変及び結膜浮腫

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
ADI	Acceptable Daily Intake	許容一日摂取量
NOAEL	No-observed adverse effect	無有害性影響量
CCPR	Codes Committee of Pesticide Residues	コーデス残留農薬部会
ppm	Part per million	百万分の1
<sup>14</sup> C	Carbon 14 labeled	炭素 14 放射化
i.v.	Intravenous	静注
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	液体クロマトグラフィー
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid	メッセンジャーリボ核酸
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量
GT	Glutamyl transpeptidase	グルタミルトランスペプチダーゼ
BrdU	Bromodeoxyuridine	ブロモデオキシウリジン
NR	Not Reported	報告なし
F <sub>0</sub>	Zero filial generation	親世代
F <sub>1</sub>	First filial generation	雑種第 1 代
F <sub>2</sub>	Second filial generation	雑種第 2 代

## エトキシキン 評価書和訳と情報整理

**JMPR: 2005**

ウェブサイト: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2005pr10.pdf>

Ethoxyquin 241-253 JMPR 2005



## エトキシキン 評価書和訳と情報整理 JMPR (2005) 目次

説明 (原文 p.1).....	43
1. 毒性試験 (原文 p.2).....	44
1.1 イヌでの急性毒性.....	44
1.2 遺伝毒性 (原文 p.4).....	46
1.3 特別な試験: 植物代謝物の試験 (原文 p.5).....	47
(a) 急性毒性.....	47
(i) MEQ.....	48
(ii) DHEQ.....	48
(iii) DHMEQ.....	50
(b) 遺伝毒性.....	51
コメント (原文 p.8).....	51
毒性学的評価 (原文 p.11).....	54
リスク評価に関連したレベル.....	55
エトキシキンの毒性試験と結果の概要 (評価書: JMPR 2005).....	56
略称.....	58

## 原文 目次

原文ページ

説明.....	241
毒性試験.....	242
イヌでの急性毒性.....	242
遺伝毒性.....	244
特別な試験: 植物代謝物に関する試験.....	245
急性毒性.....	245
遺伝毒性.....	248
コメント.....	248
毒性学的評価.....	251
参考文献.....	252
Explanation.....	241
Toxicological studies.....	242
Acute toxicity in dogs.....	242
Genotoxicity.....	244
Special studies: studies on plant metabolite.....	245
Acute toxicity.....	245
Genotoxicity.....	248
Comments.....	248
Toxicological evaluation.....	251
References.....	252

## エトキシキン(補遺)

初稿は、P.K. Gupta<sup>1</sup> 教授及びAlan Boobis<sup>2</sup> 教授によって作成された。

<sup>1</sup> Rajinder Nagar, Bareilly, UP, インド

<sup>2</sup> 実験医学及び毒性学、医学部医学科、帝国大学、ロンドン、英国

### 説明(原文 p.1)

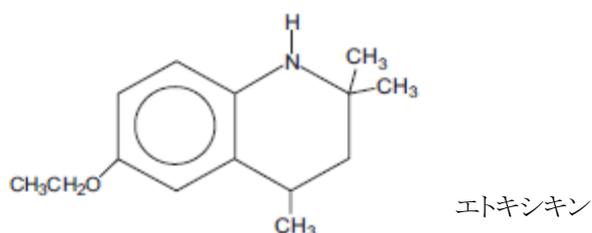
エトキシキンは、国際標準化機構(ISO)が承認した名前としては1,2-ジヒドロ-6-エトキシ-2,2,4-トリメチルキノリン(図1)である。主として、動物飼料や脱水貯蔵飼料作物の抗酸化保存剤として、また洋ナシやリンゴの日焼け止め剤として使用されている。さらに、香辛料中の着色保存剤、ゴムの抗分解剤としても使用されている。

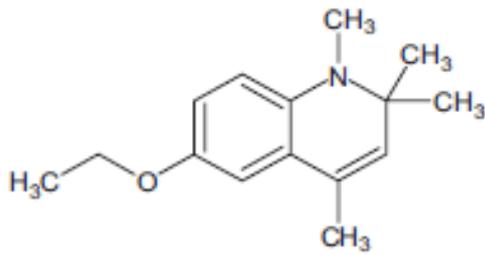
エトキシキンは、1969年の会議で最初に評価を受けた。その時は、イヌにおける長期混餌投与試験での悪影響が観察されない濃度(無毒性量(NOAEL))である結果、及びラットでの繁殖毒性試験結果に基づいて、一日摂取許容量(ADI)は0~0.06mg/kg体重と定められた。

エトキシキンは、1998年に残留農薬に関するCodex委員会による定期的審査プログラム内で再評価され、ADIは0~0.005 mg/kg体重と結論付けられた。これは、イヌの多世代繁殖試験で、臨床症状や肝臓中の色素沈着を示す最少作用量が2.5 mg/kg体重/日であったこと、及び本試験でのNOAELの欠陥とデータベースの不完全さを補足するために、500倍の安全係数をかけていることに基づいて設定されている。1998年の会議では、エトキシキンの急性参照用量(ARfD)を設定する必要はないと結論付けられた。1999年には、合同会議はエトキシキンの残留物を審査し、植物代謝物、植物分解物、C-NとN-N二量体、demethylethoxyquin (DMEQ)、methylethoxyquin (MEQ)、dehydrodemethylethoxyquin (DHMEQ)、dihydroethoxyquin (DHEQ)の各々は、ラットの体内には生成されなかったと結論した。2000年に、当会議は、エトキシキンの評価を完了させるためには植物代謝物/分解物の急性毒性及び遺伝毒性に関する情報が必要であると勧告した。

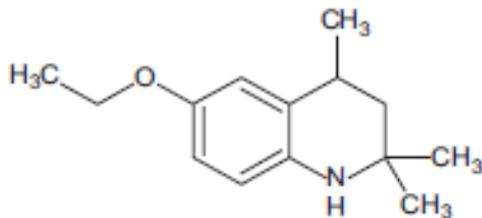
当会議は、遺伝毒性及び急性毒性データ、イヌにおける三種の植物代謝物/分解物(MEQ, DHMEQ, DHEQ)データ、以前に評価された関連データ、公表済み文献からの他の情報の各々の新規データを審査した。DMEQは十分な安定性がなかったため、合成や試験を行えなかった。当会議での審査のために提供された全ての新しい試験は、試験実施規範(GLP)基準に準拠していた。

図1. エトキシキンと3つの植物代謝物の化学構造: MEQ, DHEQ, DHMEQ

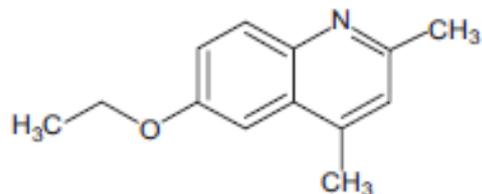




メチルエトキシキン(MEQ)



ジヒドロエトキシキン(DHEQ)



デヒドロデメチルエトキシキン(DHMEQ)

## 1. 毒性試験 (原文 p.2)

### 1.1 イヌでの急性毒性

本試験は試験実施規範(GLP)に準拠している。ビーグル犬(一群雄雌各6匹)に、カプセル入りのエトキシキン(純度, 98.93%) (50、100、200 mg/kg体重)を単回経口投与した。同時に行った対照群のイヌには、同じ方法で空のカプセルを与えた。一群雄雌各4匹のイヌは、投与の24時間後に最初の剖検が予定されていた。残りの一群雄雌各2匹のイヌは、14日間の非投与回復期間が予定されていた。

動物の死亡及び瀕死状態を1日2回観察した。臨床検査は毎日行い、身体診察は毎週行なった。個々の体重を毎日記録した。摂餌量は毎日記録し、毎週記録した。臨床病理学的評価(血液学的・血清化学的・尿分析)を、投与開始前(試験 -1週)、試験第0週(投与日)、試験第2週(回復期間)に実施した。眼科検査は、投与開始前(試験 -1週)、試験第0週(全動物)、試験第2週(回復群)に実施した。全てのイヌを対象として完全な剖検を行い、選択した臓器重量を計画した剖検時に測定した。全動物の選択組織の顕微鏡検査を行った。

全動物は計画した剖検時まで生存した。体重、摂餌量、血液学的パラメータの各検査項目は、被検物質の投与によって影響を受けなかった。被検物質に関連した眼科的知見は認められなかった。被検物質に関連した肉眼所見や臓器重量パラメータに及ぼす作用もみられなかった。

試験2週(回復評価期間)において、対照群に比べ、50、100、200 mg/kg体重投与群の雄、及び100、200 mg/kg体重投与群の雌において、血清アルカリホスファターゼ活性及びアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の平均値の上昇がみられた。しかし、この現象は、試験のこの期間中に一群あたり2匹の動物にみられたのみであった。総血清ビリルビン濃度は全投与群の雄雌においてより高く、尿素窒素濃度は、試験評価第1日目に全投与量の雌群においてより低かった(表1)。顕微鏡的には腎疾患はみられなかったが、尿素窒素濃度が低く、これが軽度の肝不全に起因していた。試験評価第1日目にみられたビリルビンの増加は、回復期間の終了時(試験2週)に正常値に戻った。試験評価第1日目に全投与群で、尿中のビリルビンや暗色尿(琥珀色)の頻度の増加がみられた。

最初の剖検では、顕微鏡的所見は肝臓に限定されており、全てのイヌで、50、100、200 mg/kg体重投与群に、僅かから軽度の胆汁鬱滞が肝臓中にみられた。胆汁鬱滞は、肝臓内胆細管(canaliculi)での胆汁の球状集積を特徴としており、血清化学プロフィールに記載されている総ビリルビン量の増加と顕微鏡的に相関性があるとみなされた。胆汁鬱滞に加えて、200 mg/kg体重投与群の全てのイヌにおいて、肝細胞グリコーゲンの沈着物が通常的に激減した。雄イヌ1匹において、肝臓内血管の白血球の増加と肝細胞細胞質の変性(泡状～網状の細胞基質形態で特徴づけられた)がみられた。

壊死回復時に観察された被検物質関連顕微鏡的知見は肝臓に限られ、雄では50、100、200 mg/kg体重投与群に、雌では100及び200 mg/kg体重投与群に、肝臓中での僅かな胆汁鬱滞が観察された。

表1. エトキシキンを含んだカプセルを投与した雌イヌを用いた急性経口毒性試験における血清化学検査の平均値の概要

パラメータ	測定時	数	投与量(mg/kg体重)			
			0(対照)	50	100	200
尿素窒素(mg/dL)	週-1	6	13.0 ± 1.13	11.3 ± 2.17	11.0 ± 1.71	12.7 ± 2.68
	週 0	6	15.5 ± 1.27	11.3* ± 2.65	11.1** ± 2.74	11.9* ± 2.0
	週 2	2	14.8 ± 1.20	13.2 ± 0.07	10.4 ± 1.84	13.4 ± 1.41
アルブミン: グロブリン比	週 0	6	1.51 ± 0.111	1.73 ± 0.112	1.85* ± 0.249	1.84* ± 0.247
	週 2	2	1.61 ± 0.255	1.74 ± 0.085	1.43 ± 0.071	1.54 ± 0.184
総ビリルビン(mg/dL)	週-1	6	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.00
	週 0	6	0.1 ± 0.04	0.3** ± 0.5	0.3** ± 0.08	0.5** ± 0.08
	週 2	2	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.07

Harriman(2004年a)からの引用

\* Dannettの検定を用いて、対照群から0.05の有意差

\*\* Dannettの検定を用いて、対照群から0.01の有意差

50 mg/kg投与群において観察された肝臓への作用を示すような血清生化学パラメータへの影響は、最少から軽度であった。その毒性学的重要性ははっきりしない。当会議では、これが毒性学的に重要とは考えず、またイヌにおけるエトキシキンのNOAELは50 mg/kg体重であると結論した(Harriman, 2004a)。

## 1.2 遺伝毒性 (原文 p.4)

エトキシキンの遺伝毒性は、*in vitro*及び*in vivo*で試験されている。結果を表2にまとめた。

骨髄細胞に対するエトキシキンの抗変異原性を調べるため、明確な遺伝学的評価項目を持つ3種の細胞遺伝学的試験を適用した。試験変異原のクロホスファミド及び抗酸化剤のエトキシキンを、チャイニーズハムスターに胃管経由で連続的に投与した。シクロホスファミドの用量は各試験で同量であったが、エトキシキンの用量を、エトキシキン:シクロホスファミド比として1:25(ある場合には1:50)まで増加させた。シクロホスファミドにより誘導される娘染色分体変換の生成は、最高用量投与群でもエトキシキンによる影響を受けなかった。しかし、小核形成試験では、エトキシキンは最低用量(20 mg/kg)投与群においても、小核形成頻度が完全に抑えられ、また100 mg/kg投与群ではシクロホスファミドによる影響が相殺された。シクロホスファミドに対するエトキシキンの作用は、ラット及びマウスを使った当該試験系でも認められている。二2種のマウス近交系でも同様の反応が示されたが、小核形成頻度はより高く、またエトキシキンの用量増加に対応した小核形成の減少はより遅くなった。染色体異常試験では、エトキシキンは明確な抗染色体異常を誘発する応答を示した。エトキシキンのより高用量使用によって、全てのシクロホスファミドで誘導された染色体損傷は、自然発生頻度のレベルにまで低減化された。エトキシキンの抗染色体異常誘発性作用は、小核形成及び染色体異常の両試験における影響と定量的に同様であり、わずかな定性的差異のみが認められている(Renner, 1984年)。

抗酸化剤及び食品保存剤として知られているエトキシキン(1,2-ジヒドロ-6-エトキシ-2,2,4-トリメチルキノリン)について、*in vitro*でのヒト染色体に及ぼす影響を調べるために染色体異常試験を実施した。3人の健康ドナー(供与者)から得られたリンパ球を代謝活性系の存在、ないしは非存在下で、0.01~0.5 mmol/Lのエトキシキンと共に培養した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析を用いた安定性試験では、エトキシキンはリンパ球との共培養条件下で安定であった。この試験の結果から、エトキシキンは染色体間隙、切断、二動原体(dicentric)、異常転座などの染色体異常を誘発することが示された(Blaszczyk et al., 2003年)。

エトキシキンとその2種の塩(エトキシキン塩酸塩(エトキシキン・HCl)、エトキシキンリン酸(エトキシキン・P))の細胞毒性を調べた。これらの中では、エトキシキンが最も細胞毒性が高く(50%阻害濃度(IC<sub>50</sub>) = 0.09 mmol/L)、エトキシキン・P(IC<sub>50</sub> = 0.8 mmol/L)が最も細胞毒性が低いことが示された。ターミナル・デオキシヌクレオチジル・トランスフェラーゼ-dUTPニック末端標識法(TUNEL)によってエトキシキンとその塩の特性を解析し、アポトーシス誘導を評価した。エトキシキンは、特に0.25及び0.5 mmol/L濃度で、培養ヒトリンパ球の細胞死を誘導した(Blaszczyk & Skolimowski, 2005年)。

*In vitro*及び*in vivo*におけるエトキシキンの遺伝毒性を評価した。細菌(*S. typhimurium*及び*E. coli*)を用いた遺伝子突然変異試験で、エトキシキンの遺伝毒性の事実はみられなかった。チャイニーズハムスター卵巣細胞では、エトキシキンは、代謝活性系の存在下ないしは非存在下で染色体異常を誘発し、その作用程度は活性化系存在下の方がより大きかった。*In vivo*においては、エトキシキンはマウス骨髄の小核誘導試験において陰性の結果を示した。動物は、最大耐容用量まで投与されたが、単色赤血球に対する多色性赤血球の割合(PCE:NCE)に変化はなかった(Mecchi, 2004年a)。当会議は、*in vivo*において、エトキシキンは遺伝毒性の可能性はないと結論付けた。

表2. エトキシキンによる遺伝毒性の結果の概要

評価項目	試験対象	濃度/用量	純度(%)	結果	参考文献
<i>In vitro</i>					
逆突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	10.0～5,000µg/プレート DMSO中	98.93	陰性 <sup>a</sup>	Mecchi, (2004年a) <sup>b</sup>
	<i>E.coli</i> WP2uvrA	33.3～5,000µg/プレート DMSO中			
染色体異常	チャイニーズハム スター卵巣細胞	6.78～1,000µg/mL DMSO±S9		*1	Murli (2004年a) <sup>b</sup>
<i>In vivo</i>					
小核	CD-1マウス、一群 6匹の雄 骨髄細胞	コーンオイル中で、 375、750、 1,500mg/kg体重の単 回経口投与。 24及び48時間後にサ ンプリング	98.93	陰性	Erexson (2004年a) <sup>b</sup>

\*1: 20.0, 30.0µg/mL-S9、及び15.0, 20.0µg/mL+S9の時に、染色体異常発生頻度の有意な増加

30.0µg/mL-S9、及び20.0µg/mL+S9の時に、倍数体発生頻度の有意な増加が観察された。

10.0, 15.0, 20.0µg/mL+S9の時に核内倍化の有意な増加が観察されたが-S9の時は観察されなかった。

DMSO: ジメチルスルホキシド; S9, 9,000×g げっ歯類肝臓から得た上清

a: 代謝活性化あり、及びなし、の結果から

b: GLP及び提供された品質保証(QA)に準じている

### 1.3 特別な試験: 植物代謝物の試験 (原文 p.5)

#### (a) 急性毒性

GLP規定に従った試験では、ビーグル犬(一群雄雌各6匹)に、カプセルに入った3種のエトキシキン植物代謝物(MEQ(純度, 99.52%)、DHEQ(純度, 99.52%)、DHMEQ(純度, 99.61%))の内の各1種を、50、100、200 mg/kg体重の用量で単回経口投与した。平行して行われた対照群には、同様のレジユメで空カプセルを経口投与した。一群雄雌各4匹の動物は、投与の24時間後に最初の剖検が予定されていた。残りの一群

雄雌各2匹の動物は、14日間の非投与回復期間の観察に供された。

動物が死亡したかないしは瀕死状態にあるかを1日2回観察した。臨床検査は毎日行われ、詳細な身体検査は週毎に行われた。個々の体重は毎日記録された。摂餌量は毎日記録され毎週報告された。臨床病理学的評価(血液学的検査、血清化学検査、尿検査)は、投与開始前(試験 -1週)、試験0週(投与後)、試験2週(回復期間)に実施した。眼科検査は、投与開始前(試験 -1週)、試験0週(全動物)、試験2週(回復群)に実施した。全てのイヌを対象として完全な剖検を行い、計画されたと殺時に、選択した臓器重量を測定した。全ての動物から得た選択した組織について、顕微鏡検査を行った。

#### (i) MEQ

全動物とも、予定された剖検日まで生存した。被検物質の投与によって、体重及び摂餌量は影響を受けなかった。被検物質投与に関連した血液学パラメータや眼底検査所見への影響もなく、また被検物質投与に関連した、肉眼的所見又は臓器重量への影響もなかった。被検物質投与に関連した、臨床所見(嘔吐)が、100及び200 mg/kg の MEQ 投与の4時間後と回復期間の最初の2日間に、雌1~2匹でみられた。

100 mg/kg体重投与群の雄では、絶対平均好中球数は、試験の第1日目に対照群に比べて有意に高かった( $p < 0.05$ )が、「用量-応答」相関性がないので、これは投与物質との関連性はないものと考えられた。

評価の第1日目に、50、100、200 mg/kg体重投与群のイヌ雄雌で、ビリルビンの総血清中濃度が高値( $p < 0.05$ 又は $p < 0.01$ )になっていることが観察された(表3)。200 mg/kg体重投与群の雄1匹を除いて、総ビリルビン濃度の高値は、2週目には継続されていなかった。薬剤投与の第2週目に、50、100、200 mg/kg体重投与群の雄及び/又は雌に、アラニンアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アミノトランスフェラーゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼの各酵素のより高い活性化がみられ、このことにより被検物質は肝臓に対する影響があることが示唆された。

投与第1日目に、尿中ビリルビンの発生頻度の増加、尿色の変化の増加がみられた。尿色は概して黒ずんだ「麦藁色~琥珀色」であった。顕微鏡的には、最初と回復期での剖検時に50、100、200 mg/kg体重投与雌の雄に、肝臓の細管中、肝細胞中、細胆管中での、僅か~中等度の胆汁色素蓄積が観察され、これは血清ビリルビン、アルカリホスファターゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性の高値と連動していた。加えて、最初と回復期での剖検時に100、200 mg/kg体重投与群の雄に、巨大な多核細胞がみられ、また雄での精巣の輸精管有病頻度の増加がみられた。

50 mg/kg体重投与群において、肝臓への作用が示唆されるような血清生化学パラメータへの影響は僅かから軽度であった。本会議はこのことが毒性学的に意義があるとは見なさず、MEOのイヌにおけるNOAELは50 mg/kg体重と結論した。最小毒性量(LOAEL)は、試験した最小用量の100 mg/kg体重であった(Harriman, 2004年b)。

#### (ii) DHEQ

全動物は予定された剖検日まで生存した。体重、摂餌量、血液学的パラメータの各項目は、被検物質の投与による影響を受けなかった。被検物質に関連した眼科的所見もなく、また被検物質に関連した臓器重量に与える肉眼的ないしは顕微鏡的所見や作用もなかった。

100、200 mg/kg体重投与群の雄雌において4時間後に対照群に比較してより高頻度の被検物質に関連した口周りの透明物質の存在や嘔吐がみられた。嘔吐は全て、投与2時間後の観察でみられた。200 mg/kg体重投与群の雌で、投与4時間後に目の周りに分泌物のあることが観察された。

100 mg/kg体重投与群の雌及び200 mg/kg体重投与群の雄雌において、対照群の値に比べて統計的に有意 ( $p<0.05$ 又は $p<0.01$ )な高濃度の総血清ビリルビン、血清トリグリセリド値(表4)が認められた。回復群におけるこれらのパラメータの値は、対照群動物の値と異ならなかった。ビリルビンは、DHEQを投与された動物の尿中に高頻度で存在し、尿の色は全投与群の評価第1日目に、概してより暗色(黒ずんだ琥珀色)となった。尿中のビリルビンの発生頻度は、雄におけるより雌において多かった。肝臓は、全ての用量、投与時で正常であった。

50 mg/kg投与群に観察される影響は、僅かから軽度であり、その毒性学的意義は不明である。最低用量投与群の、黒ずんだ色の尿の存在は、本化合物又はその誘導体中の発色団の存在に起因している。本会議は上記のことは毒性学的に重要であると見なさず、DHEQのNOAELは50 mg/kg体重であると結論した。

表3. MEQをカプセル混餌投与された雌イヌにおける経口急性毒性試験での血清化学平均値のまとめ

パラメータ	測定時	数	用量(mg/kg体重)			
			0(対照)	50	100	200
総ビリルビン (mg/dl)	週-1	6	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.04
	週 0	6	0.1 ± 0.04	0.3** ± 0.05	0.3** ± 0.04	0.4** ± 0.05
	週 2	2	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00

Harriman(2004年b)からの引用

MEQ: methylethoxyquin

\*\*Dannettの検定を用いて、対照群から0.01の有意差

表4. DHEQをカプセル混餌投与された雌イヌにおける経口急性毒性試験での血清化学平均値のまとめ

パラメータ	計測時	数	用量(mg/kg体重)			
			0(対照)	50	100	200
トリグリセリド (mg/dl)	週-1	6	22 ± 3.9	29* ± 5.7	23 ± 3.6	28* ± 3.8
	週 0	6	23 ± 5.3	31* ± 7.5	35** ± 3.1	37** ± 4.8
	週 2	2	24 ± 7.1	22 ± 2.8	32 ± 0	32 ± 2.1
総ビリルビン (mg/dl)	週-1	6	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.05
	週 0	6	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.5	0.2* ± 0.08	0.3** ± 0.05
	週 2	2	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.00

Harriman(2004年c)からの引用

DHEQ; dihydroethoxyquin

\*\*Dannettの検定を用いて、対照群から0.05の有意差

\*\*Dannettの検定を用いて、対照群から0.01の有意差

### (iii) DHMEQ

全動物が予定されていた剖検日まで生存した。被検物質による摂餌量、血液学、血清化学、眼の各パラメータへの影響はみられなかった。予定された剖検日において、被検物質に関連した肉眼的ないしは顕微鏡的所見はみられなかった。

50、100、200 mg/kg体重投与群や時々未投与の動物において、臨床知見（口周りの透明物質や嘔吐）が散発的にみられた（表5）。より高用量（雄雌とも100、200 mg/kg体重）投与時には、上記知見の発生頻度がより高く、継続的で、投与後30分という速さでみられた。さらに、DHMEQ 200 mg/kg体重を投与された雄では、6匹中5匹、投与4時間後に眼において透明な分泌物が観察された。これらの所見は、100、200 mg/kg体重の被検物質投与に関連していると考えられたが、50 mg/kg体重投与群の影響は発生頻度が低く、かつ用量依存性がないので偶発的なものであると示唆された。200 mg/kg体重投与時点及び試験開始日（day0）での、投与後の全時間帯における雌1匹、50 mg/kg体重投与2時間後の雌1匹、200 mg/kg体重投与4時間後の雄2匹各々に、振戦（shivering）がみられた。最後の知見のDHMEQ との相関性は明らかではなかった。試験開始後1日目（day1）においては、全投与群の尿はより濃くなった。他に関連したものがないので、上記のことは投与による悪影響と考えられた。本試験では、最高用量を投与された雌6匹のうち3匹において微量のビリルビンが尿中に存在していた。この変化は、試験の第2週には持続せず、また顕微鏡的所見とは相関性がなかった。

表5. DHMEQをカプセル混餌投与された雄イヌにおける経口急性毒性試験での臨床所見（投与4時間後）のまとめ

(匹)

体部位	所見	用量 (mg/kg体重)			
		0 (対照)	50	100	200
挙動/CNS	震戦	0/0	0/0	0/0	2/2
眼/耳/鼻	透明な分泌物、左目	0/0	1/1	1/1	2/2
	透明な分泌物、右目	0/0	0/0	1/1	5/5
口/歯	口周りの透明物質	1/1	0/0	2/2	2/2
	食物を含む嘔吐	0/0	1/1	5/5	4/4
	白色物質を含む嘔吐	0/0	0/0	0/0	2/2
	黄色物質を含む嘔吐	0/0	0/0	1/1	1/1

Harrimanからのデータ(2004年d)

CNS; 中枢神経系、DHMEQ; dehydrodemethylethoxyquin

試験0週での評価では、個々の投与群において、赤血球量分画、好中球割合、リンパ球割合、アルカリホスファターゼ活性の各平均値について中程度の変化がみられた。しかし用量との相関性はなく、こうした知見は偶発的なものと考えられた。高用量投与群の、口周りの透明物質の存在及び/又は嘔吐を含む臨床知見に基づいて、イヌにおける DHMEQの急性経口毒性のNOAELは50 mg/kg体重とされた(Harriman, 2004年d)。

## (b) 遺伝毒性

*In vitro*及び*in vivo*で、3種の植物代謝物(MEQ, DHEQ, DHMEQ)の遺伝毒性を評価した。これら試験の結果は表6にまとめられている。いずれの代謝物も、細菌(*S.typhimurium*及び*E.coli*)を用いた遺伝子変異試験において遺伝毒性がある事実はなかった。MEQ 及び DHMEQ は、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常誘発性作用試験において、活性化系の非存在下で陰性結果を示したが、代謝活性系の存在下では染色体異常及び核内倍加の両方で陽性の結果を示した。DHEQは、代謝活性系の存在下ないしは非存在下での染色体異常や代謝活性化の存在下での核内倍加について陽性の結果を示した。

*In vivo*においては、3種の代謝物ともに、マウス骨髄中の小核形成試験で陰性の結果であった。MEQ 及び DHMEQ は、最高用量投与群で、多染性赤血球(PCE)対正染性赤血球(NCE)比が減少した。DHEQ は骨髄細胞に対して毒性を示さなかった。

当会議は、試験した3種の植物代謝物(MEQ, DHEQ, DHMEQ)のいずれも*in vivo*で、遺伝毒性の可能性はないと結論した。

## コメント (原文 p.8)

過去の評価では、エトキシキンハムスター及びマウスの消化管から迅速に吸収され、1時間以内に血中濃度が最高値に達するとしている。組織内最高濃度は、肝臓中、腎臓中、脂肪組織中でみられた。排泄は代謝物の形で尿経路で速やかに行われ、25 mg/kg体重投与量までは、投与量の85%以上が24時間以内に排泄された。エトキシキンはラットにおいて、経口(平均致死量、LD<sub>50</sub> = 1700 mg/kg体重)、経皮(LD<sub>50</sub> = 2,000 mg/kg体重以上)、吸入(LC<sub>50</sub> = 2 mg/L以上)のそれぞれの投与経路で低毒性であるとこれまでに報告されている。

表6. エトキシキンの3種の植物代謝物による遺伝毒性試験の結果

### (a) MEQ

評価項目	試験対象物	濃度/用量	純度(%)	結果	参考文献
<i>in vitro</i>					
逆突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	3.33~5,000 µg/プレート DMSO中		陰性 <sup>a</sup>	Mecchi (2004b) <sup>c</sup>
	<i>E. coli</i> WP2 uvrA		99.52		
染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	5.43~800 µg/mL DMSO中		*	Murli (2004b) <sup>c</sup>
<i>In vivo</i>					
小核形成	CD-1マウス、一群6匹の雄、骨髄細胞	375, 750, 1,500 mg/kg体重 コーンオイル中 48時間目にサンプリング	99.52	陰性	Erexson (2004b) <sup>c</sup>

\* 10µg/mL<sup>b</sup>で染色体異常の増加、及び核内倍加の有意な増加が観察された。

a; 代謝活性の存在下、ないしは非存在下

b; 代謝活性の存在下

c; GLP及び提供されたQAの記述に準拠している

**(b) DHEQ**

評価項目	試験対象物	濃度/用量	純度(%)	結果	参考文献
<i>In vitro</i>					
逆突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA98,	10.0~5,000 µg/プレート	99.52	陰性 <sup>a</sup>	Mecchi (2004c) <sup>d</sup>
	TA100, TA1535, TA1537	DMSO中			
染色体異常	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/mL	99.52	*	Murli (2004b) <sup>d</sup>
	チャイニーズハムスター 卵巣細胞	DMSO中			
<i>In vivo</i>					
小核形成	CD-1マウス、一群6匹の雄、 骨髄細胞	250,500,1,000mg/kg 体 重、コーンオイル中 48時間目にサンプリング	99.52	陰性	Erexson (2004b) <sup>c</sup>

\* 125<sup>c</sup>, 4.00及び6.00 µg/mL<sup>b</sup>で核内倍加の有意な増加

a;代謝活性の存在下、ないしは非存在下

b:代謝活性の存在下

c;GLP及び提供されたQAの記述に準拠している

**(c) DHMEQ**

評価項目	試験対象物	濃度/用量	純度(%)	結果	参考文献
<i>In vitro</i>					
逆突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA98,	3.33~25,000 µg/プレート	99.61	陰性 <sup>a</sup>	Mecchi (2004d) <sup>c</sup>
	TA100, TA1535, TA1537	DMSO中			
染色体異常	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	10.0~3,330 µg/プレート	99.61	*	Murli (2004d) <sup>c</sup>
	チャイニーズハムスター卵巣 細胞	5.43~3,330 µg/mL <sup>a</sup> DMSO中			
<i>In vivo</i>					
小核形成	CD-1マウス、一群6匹の雄、 骨髄細胞	250, 500, 1,000 mg/kg 体重、コーンオイル中 48時間目にサンプリング	99.52	陰性	Erexson (2004d) <sup>c</sup>

\* 25及び50 µg/mL<sup>b</sup>で染色体異常の増加、及び25, 100, 150 µg/mL<sup>b</sup>で核内倍加の有意な増加が観察された。

a;代謝活性の存在下、ないしは非存在下

b:代謝活性の存在下

c;GLP及び提供されたQAの記述に準拠している

イヌを用いたエトキシキン及び3種の植物代謝物／分解物(MEQ, DHMEQ及びDHEQ)の単回経口投与試験では、4種の化合物とも標的臓器は肝臓であった。過去の試験では、イヌはエトキシキンの毒性作用に、より敏感であることが示されているため、ラットの使用より優先させてイヌを使用した。

イヌに、エトキシキン、MEQ, DHMEQ, DHEQ(50~200 mg/kg体重)の各々を単回カプセル経口投与した。エトキシキン、MEQ, DHEQ の3剤は、全投与群で血清中及び尿中のビリルビン濃度を増加させた。DHEQ は、最高用量投与群で、ビリルビン濃度に対してわずかな影響を与えた。エトキシキン及びMEQは、胆汁うっ血及び／又は胆汁色素の蓄積で示される肝臓変化を生じさせた。同様の変化が、過去のエトキシキンによる長期試験実施時に報告されている。2週間の回復期間中に(一群雄雌各2匹)、肝機能を示す血清中酵素(アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼ)の上昇が認められた。3つの代謝物／分解物の投与後、嘔吐及び口腔内分泌物の出現を含む臨床症状がみられた。利用可能な情報に基づいて、4化合物の毒性強度の序列は以下ようになった(毒性の低い化合物が先頭):MEQ> エトキシキン>DHEQ>DHMEQ。50 mg/kg体重投与群にみられた影響は、僅かから軽度であり、毒性学的な有意性は不明瞭であった。化合物の最低用量投与群にみられた暗色尿の存在は、その化合物ないしは誘導体中の発色団の存在に由るものであった。当会議は、このことは毒物学上重要ではないと見なし、4種の化合物ともNOAELは50 mg/kg体重と結論付けた。

エトキシキンと3種の植物代謝物／分解物について、*in vitro*及び*in vivo*において適切な試験範囲内で遺伝毒性が評価された。全化合物ともに、細菌を用いた変異原性試験(代謝活性系の存在下ないしは非存在下)で陰性であり、この結果はエトキシキンに関する過去に公表された報告の結果を確認したことになった。チャイニーズハムスター卵巣細胞を使った染色体異常試験では、4種の化合物が全て陽性を示した。エトキシキンは、公表されている試験においても陽性結果を示している。この試験では、分離ヒト末梢血リンパ球を使って染色体異常の有無を調べている。4化合物とも、*in vitro*での染色体誘発性が陽性とされているが、全化合物とも、*in vivo*でのマウス骨髄細胞を使った小核形成試験においては陰性の結果が得られている。このことによって、過去の公表された試験結果、すなわちエトキシキンは骨髄中に大核細胞を形成させることが確認された。一方、エトキシキンは、*in vivo*で、染色体異常や姉妹染色分体交換の試験では陰性であったとの報告もある。

当会議は、試験されたエトキシキン及び3植物代謝物／分解物は、*in vivo*で遺伝毒性リスクを持たないと結論した。

1969年及び1998年の会議では、エトキシキンをげっ歯類に長期間投与した一連の公表報告書の審査を行った。これらの報告書は、エトキシキンには発がん応答を引き起こす可能性はないことを明らかにしている。

*In vivo*において、DNAへの反応性や染色体異常誘発性作用がないこと、さらにげっ歯類において腫瘍の発生がないことを考慮して、当会議は、ヒトへの発癌リスクは、本化合物を経口暴露したとしてもないものと結論した。

1969年の会議では、3種の繁殖毒性試験が評価された。この試験では、ラットにエトキシキンを1,125 ppmまでの濃度で混餌投与した。3試験とも標準的のプロトコルに従って試験を実施しておらず、その結果は一致していない。最も大規模な2つの試験では、実施した最高用量(56 mg/kg体重/日相当量)でも試験の評価項目への明らかな影響は示されなかった。一方では、他の1つの試験では、1,126 ppm投与時に死産の発生頻度の増加や、375 ppm投与時の同腹胎児数が小さいことが示されている。当会議は、これら試験の設計及び報告が不十分であったと、結論付けた。

1998年の会議では、イヌを用いたエトキシキン(0、100、225ppmの濃度で給餌)の2世代繁殖毒性試験

が評価された。試験を行った最高用量(5.6 mg/kg体重/日相当量)まで、繁殖パラメータに対する影響はなかった。臨床症状として、脱水、過度な流涙などがみられ、特に雌イヌにおいて肝毒性がみられた。この作用は、行った試験の最小濃度である100 ppmでみられ、イヌを用いた短期試験で観察された影響と一致していた。試験の最小濃度である100 ppm(2.5 mg/kg体重/日相当量)は、臨床毒性症状や肝臓への影響を示す最小作用濃度と考えられた。

ラットにおける催奇形性毒性試験は、1998年のJMPRによって評価された。ラットに、エトキシキン(350 mg/kg体重/日まで)を強制経口投与した。エトキシキンは試験を実施した最高用量まで胎児毒性はなく、また催奇形性もみられなかった。母動物毒性のNOAELは、高用量投与群における体重増加の抑制に基づいて、50 mg/kg体重/日とされた。他の動物種では、催奇形性毒性試験は実施されなかった。

### 毒性学的評価(原文 p.11)

JMPR は1998年に、イヌを用いた多世代試験において臨床症状を示した最小作用量が2.5 mg/kg体重/日であったことや安全係数が500であったことに基づいて、ADI は0~0.005 mg/kg体重投与と設定した。これは、本試験では、遺伝毒性試験や長期毒性試験を欠いていることからNOAELが決定されず、またデータベースが不完全であったためである。エトキシキン及びその3種の代謝物の遺伝毒性に関する情報は提供されていたが、エトキシキンの長期作用に関する追加情報は本会議では利用可能ではなかった。本会議は、これらの化合物は*in vivo*で遺伝毒性はないと結論した。植物代謝物/分解物である DHEQ 及び DHMEQ の急性毒性は、エトキシキンの急性毒性と比べて大きくはなかった。一方、同じく植物代謝物/分解物である MEQ の毒性は、エトキシキンよりわずかに大きいようであった。しかし、本会議は、500という安全係数は、この毒性の差を補うのに十分であると結論付けた。また1998年のJMPRで決定されたADI を、3種の植物代謝物/分解物(MEQ、DHMEQ、DHEQ)にまで拡大して確認した。

エトキシキンとその植物代謝物/分解物のイヌでの急性毒性作用に基づき、本会議はNOAELが50 mg/kg体重であること(これは、イヌへの単回投与試験の高用量投与群における肝胆道への作用及び臨床症状のあった用量である)及び安全係数が100であることに基づいて、ARfD を0.5 mg/kg体重とした。ラットでの繁殖毒性試験は、ARfD 偏差の適切な根拠になるとは考えられなかった。設定されたARfD は、エトキシキンや3種の植物代謝物/分解物(MEQ、DHMEQ、DHEQ)に適用された。それは、全集団に適用可能となった。

## リスク評価に関連したレベル

動物種	試験	作用	NOAEL	LOAEL
ラット	発生毒性 <sup>a</sup>	母動物毒性	50 mg/kg体重/日	150 mg/kg体重/日
		胎児毒性	350 mg/kg体重/日 <sup>d</sup>	—
	1年毒性試験 <sup>a</sup>	一般毒性	3 mg/kg体重/日	10 mg/kg体重/日
		一般毒性	—	100 ppm, 2.5 mg/kg体重/日相当量 <sup>e</sup>
イヌ	2世代 <sup>b</sup>	繁殖機能	225 ppm, 5.6 mg/kg体重/日相当量 <sup>d</sup>	—
	親化合物及び植物代謝物の単回経口投与毒性試験 <sup>c</sup>		50 mg/kg体重/日	100 mg/kg体重/日

a; 強制経口投与

b; 給餌投与

c; カプセル投与

d; 試験した内の最高用量

e; 脳アセチルコリンエステラーゼへの周作用的作用。毒性との関連性は疑わしい。

### ヒトでの一日摂取許容量の推定値

0~0.005 mg/kg体重; エトキシキン、MEQ、DHMEQ、DHEQ に適用可能

### 急性参照用量推定値

0.5 mg/kg体重; エトキシキン、MEQ、DHMEQ、DHEQ に適用可能

### 化合物の継続評価に有用な情報

ヒトでの暴露時の、疫学的、職業上の健康、その他の観察試験から得た結果。

エトキシキンの毒性試験と結果の概要（評価書：JMPR 2005）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	イヌ	50、100、200 mg/kg 体重	NOAEL=50 mg/kg 体重 全投与量で総血清ビリルビン濃度の高値(雄雌)、 尿素窒素濃度の低値(雌)。尿中のビリルビン、暗色 尿存在頻度の増加。肝臓中の「僅か～軽度」の胆汁 うっ血。に基づき
変異原性: 染色体異常	ヒトリンパ球	0.01~0.5 mmol/L	染色体間隙、切断、二動原体、異常転座などの染 色体異常の誘発
細胞毒性		不明	IC <sub>50</sub> = 0.09 mmol/L(エトキシキン) IC <sub>50</sub> = 0.8 mmol/L(エトキシキンリン酸塩)
デオキシウリ ジン三リン酸 ニック末端標 識化		0.25、0.5 mmol/L	培養ヒトリンパ球の細胞死の誘導
変異原性: 遺伝子突然 変異	Typhimurium、 E.coli	10.0~5,000 µg/プ レート	陰性
変異原性: 染色体異常	チャイニーズハム スター卵巣細胞	6.78~1,000 µg/mL	染色体異常発生・倍数体発生頻度の有意な増加、 +S9 の時に核内倍化の有意な増加。
変異原性: 小核試験	マウス骨髄細胞	375、750、1,500 mg/kg 体重	陰性
急性毒性 (エトキシキン 代謝物 MEQ)(経 口)	ビーグル犬	50、100、200 mg/kg 体重	LOAEL=100 mg/kg 体重 100 及び 200 mg/kg で嘔吐(雌)。全投与量で、肝 臓中酵素の活性化。尿中ビリルビンの発生頻度の 増加、尿色変化の増加。100、200 mg/kg の雄で、 巨大な多核細胞、精巣の輸精管有病率の増加。に 基づき
急性毒性 (エトキシキン 代謝物 DHEQ)(経 口)			NOAEL=50 mg/kg 体重 100、200 mg/kg で口周りの透明物質存在や嘔吐。 200 mg/kg の雌で目の周りの分泌物存在。高濃度 で、総血清ビリルビン、血清トリグリセリド。尿中のビリ ルビンの高発生頻度。に基づき
急性毒性 (エトキシキン 代謝物 SHMEQ) (経口)			NOAEL=50 mg/kg 体重 全投与量で口周りの透明物質存在や嘔吐。50 mg/kg 投与 2 時間後の 1 匹の雌、200 mg/kg 投与 4 時間後の 2 匹の雄に振戦。全投与量で濃い尿色。 に基づき

エトキシキン 代謝物の変 異原性: 遺伝子突然 変異	S. typhimurium	3.33~5,000 µg/プレ ート	陰性
	E.coli		陰性
エトキシキン 代謝物の変 異原性: 染色体異常	チャイニーズハム スター卵巣細胞	5.43~800 µg/mL	10µg/mL で染色体異常の増加、及び核内倍加の有意な増加。
エトキシキン 代謝物の変 異原性: 小核試験	CD-1 マウス雄骨 髄細胞	375,750,1,500 mg/kg体重	陰性
亜急性毒性 慢性毒性 発癌性 2 世代繁殖 催奇形性 皮膚感作性 眼刺激性	データなし		

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ISO	International organization for standardization	国際標準化機構
ADI	Acceptable Daily Intake	許容一日摂取量
LOAEL	lowest observable adverse effect level	最小毒性量
ARfD	Acute Reference Dose	急性参照用量
DMEQ	Demethylethoxyquin	デメチルエトキシキン
MEQ	Methylethoxyquin	メチルエトキシキン
DHMEQ	Dehydrodemethylethoxyquin	デヒドロデメチルエトキシキン
DHEQ	Dihydroethoxyquin	デヒドロエトキシキン
GLP	Good Laboratory Practice	試験実施規範
HPLC	High performance liquid chromatography	液体クロマトグラフィー
IC <sub>50</sub>	50% Lethal concentration	半数致死濃度
dUTP	Deoxyuridine triphosphate	デオキシウリジン三リン酸
TUNEL	Deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling	デオキシヌクレイチジルトランスフェラーゼ介在 dUTP ニック末端標識
PCE	Polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
NCE	Normochromatic erythrocyte	正染性赤血球
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
QA	Quality Assurance	品質保証
CNS	Central nervous system	中枢神経系
S. typhimurium		ネズミチフス菌
E. coli		大腸菌
LC <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量
DNA	Deoxy ribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ppm	Part per million	百万分の1
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LOAEL	Lowest observable adverse effect level	最小毒性量

