

(案)

添加物評価書

二炭酸ジメチル

2018年5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
＜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	14
9. 諸外国における使用状況	14
10. 国際機関等における評価	17
11. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要	21
II. 安全性に係る知見の概要	22
1. 体内動態	27
(1) 二炭酸ジメチル (DMDC)	27
(2) メタノール	28
(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)	39
(4) 炭酸エチルメチル (MEC)	41
(5) カルバミン酸メチル (MC)	42
(6) 炭酸ジメチル (DMC)	48
(7) 体内動態のまとめ	49
2. 毒性	51
(1) DMDC	53
(2) メタノール	67
(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)	75
(4) 炭酸エチルメチル (MEC)	77
(5) カルバミン酸メチル (MC)	80
(6) 炭酸ジメチル (DMC)	110
III. 一日摂取量の推計等	113
1. 我が国における摂取量	113
2. 国際機関等における推計	118
3. 摂取量の推計等のまとめ	120

1	IV. 食品健康影響評価	124
2	＜別紙 1：略称＞	125
3	＜参照＞参考資料一覧	126
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
<u>2018年5月30日</u>	<u>補足資料の接受(2018年3月14日依頼分)</u>
<u>2018年5月31日</u>	<u>第167回添加物専門調査会</u>

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
佐藤 恭子
祖父江 友孝
高須 伸二
高橋 智
塚本 徹哉
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。

I. 評価対象品目の概要

佐藤専門委員：

以下のとおり修正することで結構です。

1. 用途

殺菌料（参照 1）【第 680 回食品安全委員会諮問資料】

2. 主成分の名称

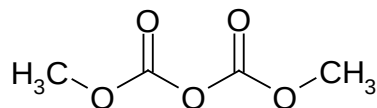
和名：二炭酸ジメチル（DMDC¹）

英名：Dimethyl dicarbonate

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】

3. 分子式及び構造式

$C_4H_6O_5$



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

4. 分子量

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 (2012)】

5. 性状等

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。」、性状として、「本品は、無色の液体である。」とされている。（参照 4）【概要書】

6. 製造方法

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。

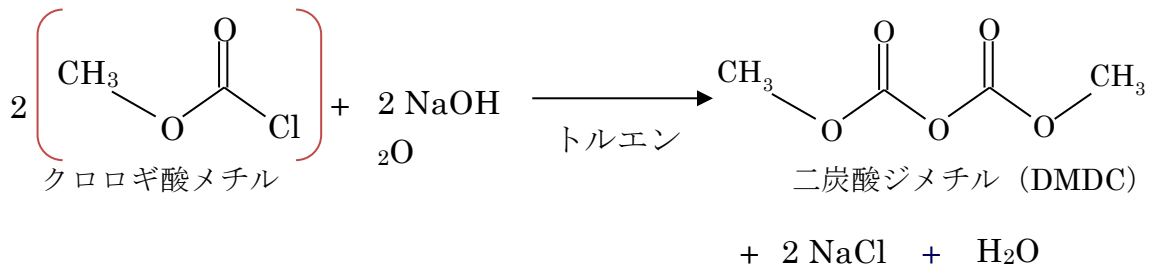


図1 DMDCの製造方法

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。使用基準案の上限量(250 mg/L)添加した場合、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、Genth (1979)によれば、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、61GenthKrefeld-Uerdingen (1979)、36 LANXESS 社内資料(2011)、62LANXESS 社内資料(2011)】

佐藤専門委員：

本段落の3行目に「全量の加水分解」とありますが、濃度の記載がなく、「全量」でよいのでしょうか。使用基準上限量添加した場合でしょうか。

事務局より：

概要書、【36 LANXESS 社内資料(2011)】に記載のデータは250 mg/L DMDC添加時のもののため文言を補足しました。なお、【61Genth (1979)】によると、DMDC 30 g/Lを20℃、pH4、1 barの条件下で添加した場合、DMDCの量は0.5時間で30%、1.0時間で9%、2.0時間で1%となっています。

佐藤専門委員：

了解しました。

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 であるとされている。（参照 9、10）【50 Labor Haase-Aschoff 社内資料（1992）、51 Labor Haase-Aschoff 社内資料（1998）】

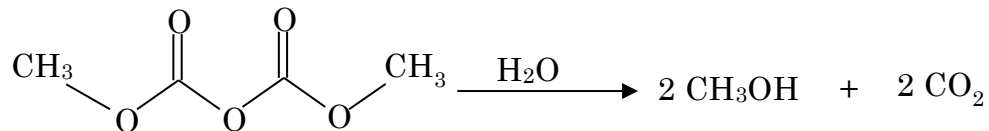


図2 DMDC の加水分解（参照 6）

（２）飲料に残存する DMDC 関連化合物

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。

事務局より：

図表の説明文の直後に当該図表の記載が続くよう、文章の構成を変更しています。それに伴い修文しています。

DMDC は飲料中でメタノール及び二酸化炭素 ~~CO₂~~ に速やかに加水分解されるほか、種々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、製造工程中の副生成物としても微量生成する。

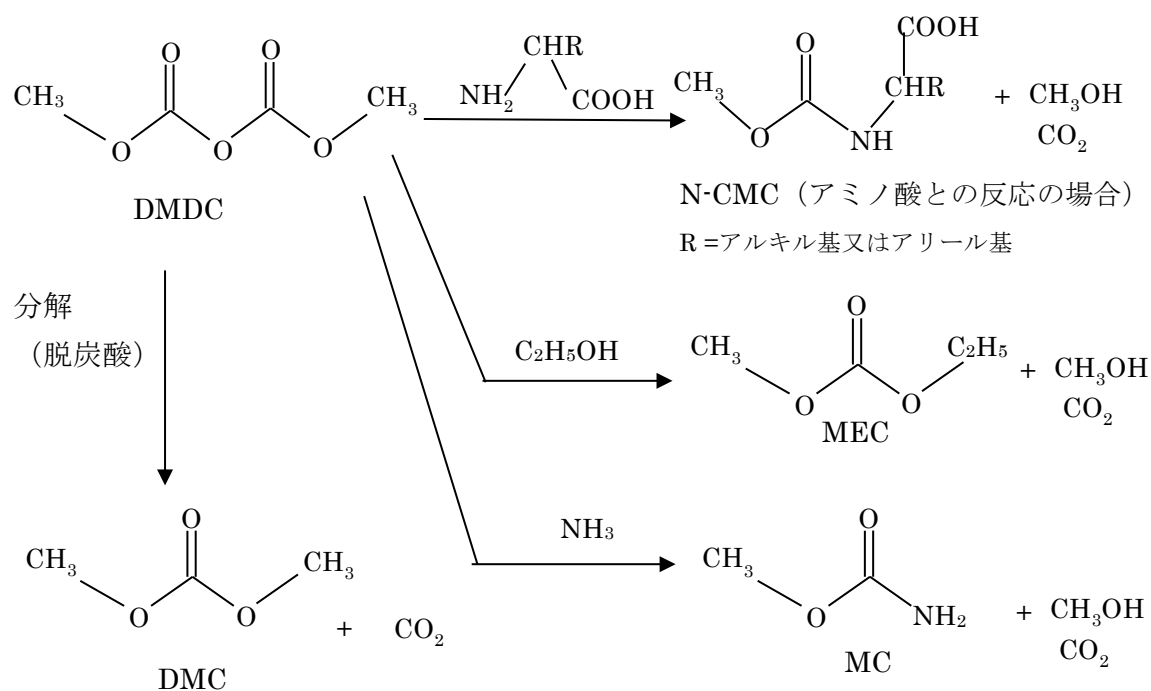


図3 DMDC 関連化合物の生成 (参照6)

表1にDMDC 関連化合物（メタノール、二酸化炭素 CO_2 、CMC、MEC、MC 及びDMC）の一般名等についてまとめた。

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：

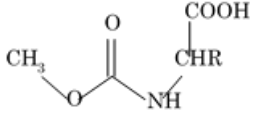
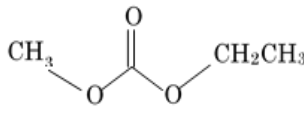
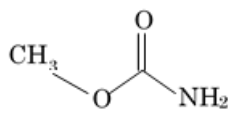
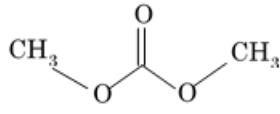
下記のとおり、修正しました。

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。

表1 DMDC 関連化合物

名称	一般名（略称）	CAS No. 注	化学式	備考
メタノール	methanol	67-56-1	CH_3OH	<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 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> <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 と飲料中のエタノールとの反応生成物</u>
カルバミン酸メチル	methylcarbamate (MC)	598-55-0		<u>DMDC 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</u>
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 (脱炭酸)</u> (以下「副生成物等」)

注) 参照 11 【35 EFSA (2015)】

また、表 2 に DMDC の検出量及び DMDC 関連化合物の生成量 (以下「検出量等」という。) について、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)、米国 FDA 及び欧州食品安全機関 (EFSA) が評価で言及している検出量等、LANXESS 社内資料 (2011) に記載の検出量等 (試験成績は未提出) 並びに指定等要請者が摂取量推計で用いた検出量等をまとめた。

表 2 DMDC の検出量及び DMDC 関連化合物の生成量 (DMDC を 250 mg/L 添加した場合の最大量)

	JECFA <u>注 1</u>	FDA <u>注 4</u>	EFSA <u>注 9</u>	LANXESS 社内資料 (2011) <u>注 13</u>	指定等要請 者推計 <u>注 14</u>
DMDC	<u>添加後速やかに分解</u>	検出限界値 <u>(0.04)</u>	検出限界値 <u>(0.05)</u>	記載なし	検出限界値 <u>(0.05)</u>

			mg/L) 未 満 ^{注5}	mg/L) 未 満 ^{注10}		mg/L) 未 満
DMDC 加水分解 生成物	メタノール	<u>119 mg/L</u>	121.8 mg/L ^{注6}	120 mg/L	119 mg/L	120 mg/L
	<u>二酸化炭素</u>	<u>記載なし</u>	炭酸飲料濃 度以下	160 mg/L ^{注11}	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	<u>記載なし</u> ^{注7}	1.7～5 mg/L ^{注11}	4 mg/L	5 mg/L
	MEC	1.5 mg/L ^{注2}	<u>記載なし</u> ^{注7}	10 mg/L ^{注12}	10 mg/L	10 mg/L
	MC	20 µg/L ^{注3}	25 µg/L ^{注8}	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

^{注1} JECFA の評価 (1991) において参照した検出量、生成量の最大値。(参照 1 2) 【31 JECFA (1991)】

^{注2} アルコール飲料 (エタノール 11%) に添加した場合の生成量。

^{注3} JECFA (1991) は、Ough & Langbehn (1976) を参照し DMDC 100 mg/L 添加時の MC の生成が 10 µg/L 未満であると記述。DMDC 250 mg/L 添加時の最大ばく露は 20 µg/L と推定して評価を実施。

^{注4} FDA の評価 (1988、1993、1994、1996) において参照した検出量、生成量。DMDC 100 mg/L 添加時の値を 2.5 倍した換算値。なお、原著での ppm 表記は mg/L 表記とした。(参照 1 3、1 4、1 5、1 6) 【22 FR (1988)、23FR (1993)、24FR (1994)、25FR (1996)】

^{注5} DMDC 検出限界 0.04 mg/L は FDA (1996) による。

^{注6} DMDC 100 mg/L 添加時の値 (メタノール 48.7 mg/L、FDA (1996)) を 2.5 倍した換算値。

^{注7} FDA (1988) において、MEC 及び CMC 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 パーセンタイル値が 232 g/人/日) としている。

^{注8} MC は DMDC 100 mg/L 添加時の値 (10 µg/L、FDA (1993)) を 2.5 倍した換算値。

^{注9} 二酸化炭素及び CMC を除いて、EFSA の評価 (2015) において摂取量推計に用いられた検出量及び生成量 (EFSA は、MEC については SCF (2001)、メタノール、MC 及び DMC については SCF (1997) を参照している)。(参照 1 1、1 7、1 8、1 9) 【35 EFSA (2015)、32SCF (1992)、33SCF (1997)、34SCF (2001)】

^{注10} DMDC 検出限界 0.05 mg/L は EFSA (2015) による。

^{注11} SCF (1997) による。

^{注12} アルコール飲料 (エタノール濃度について記載なし) に添加した場合

^{注13} CMC として、N-カルボメトキシ化合物類 (N-カルボメトキシアラニン、N-カ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-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-カルボメトキシプロリン) が挙げられている。(参照 2 0) 【63 LANXESS 社内資料 (2011)】

^{注14} 指定等要請者：概要書において、摂取量推計に用いた検出値、生成量。DMDC 検出限界 0.05 mg/L (参照 4、9) 【概要書、50 Labor Haase-Aschoff 社内資料 (1992)】

事務局より：

表中「－」は「記載なし」と整理しました。また、JECFA における DMDC の検出量について、具体的な検出限界値の記載がないため、「添加後速やかに分解」としています。

白ワイン用ブドウ品種 (8 種) 及び赤ワイン用ブドウ品種 (5 種) 由来の各種
ぶどう酒 ³ワイン (エタノール 9.7～13.5 約 11～14%含有) に DMDC (100

³ 本評価書では、参照とした文献等において、「ワイン」「wine」となっている記載について、食品衛生法下での「ぶどう酒」(ぶどうを主原料として発酵させた酒類) 及び「果実酒」(ぶどう酒、りんご酒、なし酒等果実

mg/L) を添加した場合、最大 5.75 mg/L の MEC の生成が認められ、ある 1 種の白ワインに DMDC (0~200 mg/L) を添加した場合結果、用量依存的に MEC の生成が増加して、最大 8.67 mg/L の MEC の生成 ~~(DMDC 200 mg/L 添加時、飲料の 0.001%未満)~~ が認められた。また、上記の各種ぶどう酒に DMDC (100 mg/L) を添加した場合、メタノールの増加量 (添加前元のメタノール含有量からの生成による増加量) は 44~55 mg/L であったが認められた。(参照 2 1) 【98 Stafford & Ough (1976)】

事務局より：

原著の記述と比較して誤りがあったため訂正しました。

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 濃度」という。) の上昇、若しくはまた pH の上昇とともに増加する。が、MC の生成が多くなると考えられるような、通常のワインぶどう酒の中でも最も極端な条件の状態一般的な飲料 (NH₃ 濃度 20 mg/L 以下、pH 3.75 以下) に DMDC (100 mg/L) を添加すると、MC の正味の生成は 10 µg/L 未満であった。また、ワイ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 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。(参照 2 2) 【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 (pH ≤ 3.75, 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。また、文脈が自然となるよう加筆しました。

ぶどう酒に添加した場合の MC の生成量について、DMDC 無添加のぶどう酒における MC の量と、添加後のぶどう酒における MC の量の差のことを指しますので、「正味の生成量」としてしています。「また、ワインへの添加では・・・」という文章の内容について、その前の文章の内容に含まれると考えられるため、削除しております。

DMDC (100 mg/L) を 10%又は 50%果汁飲料に添加した場合結果、24 時間後、メタノールがそれぞれ 47.645 mg/L 又は、47.437 mg/L、二酸化炭素 CO₂

を主原料として発酵させた酒類)にあたると思われるものは、「ぶどう酒」及び「果実酒」と記載している。穀物 (米等) 等のその他の農産物を原料として発酵させた酒類を含む場合又は不明な場合は「ワイン」と記載している。

がそれぞれ 65.511 mg/L ~~又は~~ 65.227 mg/L、DMC がいずれも 0.2 mg/L、種々の CMC がそれぞれ 0.7292 mg/L ~~又は~~ 2.0220 mg/L 生成していた。(参照 2 3)

【2 Bayer AG 社内資料 (1988)】

~~国際機関等が摂取量推計で用いた、DMDC 及び DMDC 関連化合物の生成量の残留量 (以下「残留量等」という。)、LANXESS 社内資料 (2011) に記載の残留量等 (試験成績は未提出) 及び指定等要請者が摂取量推計で用いた残留量等は表 2 のとおりである。(参照 4、9、13、14、15、24、25、26、27、28、29、30) 【概要書、50 Labor Haase-Aschoff 社内資料 (1992)、63 LANXESS 社内資料 (2011)、31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、22 Federal Register (FR) (1988)、23 FR (1993)、24 FR (1994)、25 FR (1996)、32 SCF (1992)、33 SCF (1997)、34 SCF (2001)】~~

~~また以上より、指定等要請者は、SCF (1997) を引用し、ノンアルコール飲料とアルコール飲料との比較で、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る。(参照 4、30) 【概要書、33 SCF (1997)】~~

8. 起源又は発見の経緯

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に加工助剤として市販したと説明している。(参照 4、29) 【概要書、33 SCF (1997)】

9. 諸外国における使用状況

(1) コーデックス委員会

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、コーヒー及び茶等) 及び ぶどう酒を除くワイン⁴ ~~(ぶどう酒を除く。)~~ に 250 mg/kg、ぶどう酒及びハチミツ酒に 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 DMDC が検出されないこととされている。(参照 31) 【17 GSFA (2015)】

2013 年、コーデックス委員会食品添加物部会 (CCFA) 第 43 回会合において、加工助剤一覧 (Inventory of Processing Aids) の項が更新され、DMDC は加工助剤の中の微生物制御剤 (Micro-organism control agents) に分類されている。(参照 32) 【21 CCFA (2013)】

⁴ GSFA では、果実酒のほか、穀物 (米等) 等のその他の農産物を原料として発酵させた酒類を含む。

（２）米国における使用状況

米国においては、1988 年、DMDC はワイン⁵の酵母菌の不活化のために使用が認められ、その後各種飲料用に使用の許可が拡大され、ノンアルコール飲料（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。2001 年、DMDC の使用目的は微生物制御剤に**変更分類**された。（参照 2 4、2 5、2 6、2 7、3 3、3 4、3 5、3 6）【22 Federal Register (FR) (1988)、23FR (1993)、24FR (1994)、25FR (1996)、26FDA (2000)、27FDA (2005)、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。

（３）欧州連合（EU）における使用状況

EU においては、1995 年、DMDC は**保存料として**、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**）~~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、~~ぶどう酒を除く果実酒ワイン（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 1 1、2 8、2 9、3 0、3 7、3 8、3 9）【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⁶に 200 mg/L までの使用が認められている。2011 年、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（Food Standards Australia New Zealand ; FSANZ）は要請者の申請により DMDC の特性等を評価した結果、DMDC を食品添加物（保存料）から加工助剤として分類し直すことを決定した。~~DMDC は加工助剤に分類された。~~（参照 4 0、4 1）【5 NZ gazette (2011)、6 FSANZ (2011)】

⁵ FDA (1988) では「wine」と記載。the Federal Alcohol Administration Act (FAA Act)における wine にはぶどう酒のほか、果実や穀物（米等）等を原料として発酵させた酒類を含む。

⁶ NZ gazette (2011) では、ぶどう酒のほか、果実や野菜、ハチミツ等を原料として発酵させた酒類を含む。

事務局より：

「国際機関等における評価」から一部の記載を移動させました。

(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、果実酒等~~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。

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) <u>(参照 3 1)</u> <u>【17GSFA (2017)】</u>	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）、 <u>及び</u> <u>ぶどう酒及びハチミツ酒を除く</u> ワイン（ぶどう酒を除く。）
米国 <u>(参照 3 3、3 4、3 6)</u> <u>【26FDA (2000)、27FDA (2005)、29CFR (2013)】</u>	ワイン <u>(低アルコールワイン及びノンアルコールの同等品を含む)</u> ワイン	ノンアルコール飲料 <u>(香料入り飲料、果汁飲料及び茶系飲料)</u>
欧州連合 (EU) <u>(参照 3 8、3 9)</u> <u>66 EU 指令 2010/69/ EU (2010)、67 EU 規則 606/ 2009 (2009)】</u>	ぶどう酒	ノンアルコール飲料 <u>(香料入り飲料、濃縮茶系飲料及びノンアルコールワイン)</u> 、 <u>及びぶどう酒を除く果実酒等</u> ワイン（ぶどう酒を除く）

		<u>低アルコールの同等品を含む</u>
<u>オーストラリア・ニュージーランド豪・NZ</u> <u>(参照 40、41)【5</u> <u>NZ gazette (2011)、</u> <u>6 FSANZ (2011)】</u>	ワイン	<u>ノンアルコール飲料 (香料入り飲料、果樹飲料及び茶系飲料)</u>

10. 国際機関等における評価

(1) JECFA における評価

1990 年、~~FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)~~ は第 37 回会合において、DMDC 及び DMDC 関連化合物 (メタノール、CMC、MEC、MC 及び 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、二酸化炭素 CO_2 については検討していない。

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、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。また、DMDC 添加飲料の急性毒性試験、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及び遺伝毒性試験、CMC の急性毒性試験、MEC の急性毒性試験、反復投与毒性試験及び発生毒性試験並びに及びDMC の急性毒性試験及び反復投与毒性試験の試験では毒性は認められないとしている。MC については、遺伝毒性は認められず、Fischer344 ラットを用いた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。

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、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 12、42、43)【31WHO FAS28 (1991)、20 JECFA (1990)、163Bayer AG 社内資料 (1987)】

(2) 米国における評価

1988 年、FDA は、DMDC 及び DMDC 関連化合物 (メタノール、二酸化炭素 CO_2 、N-CMC、MEC、MC 及び DMC) の試験成績等を基に、DMDC のワインへの使用許可に際し、評価を行っている。

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び成人のヒトは有害事象の発現なく 1,500 mg/時でのメタノールを有害事象の発現なく代謝可能であり、通常の食習慣でのメタノールの摂取量 (ワイン及び

果実ジュースは平均 140 mg/L までのメタノールを含有)ることを考慮しても、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としている。二酸化炭素 CO_2 も炭酸飲料中の二酸化炭素 CO_2 の量より少なく、有害とする根拠はないとしている。また、DMDC 添加飲料、MEC 及び DMC の試験では毒性は認められないとしている。MC については、Fischer 344/N-ラットを用いた毒性試験成績を基に、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 (NTP) は MC が Fischer 344/N-ラットに対する発がん性を有すると結論づけているが、FDA は 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、安全性上の懸念はないとしている。(参照 2 4) 【22FR (1988)】

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

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 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 2 5) 【23FR (1993)】

事務局より：

dealcoholized wine, and low alcohol wine について、「低アルコールワイン等」としています。

また、1994 年及び—1996 年における評価では、茶系飲料及びスポーツドリンク等へ 250 mg/L までの DMDC を添加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。(参照 2 6、2 7) 【24FR (1994)、25FR (1996)】

事務局より：

評価の背景について追記しました。

ready-to-drink tea beverages を「茶系飲料」、

“carbonated or noncarbonated, nonjuice-containing (less than or equal to 1 percent juice), flavored or unflavored beverages containing added electrolytes (5–20 milliequivalents/liter sodium ion (Na^+) and 3–7 milliequivalents/ liter potassium ion (K^+))” 及び “carbonated, dilute beverages containing juice, fruit flavor, or both, with juice content not to exceed 50 percent” を「スポーツドリンク等」

と記載しています。

(3) 欧州における評価

1990 年、欧州食品科学委員会（SCF）はノンアルコール飲料（ソフトドリンク、果実ジュース）への DMDC の添加（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と同等又はそれより少なく、毒性学的に重要でないと評価し、DMDC 関連化合物のうち MC のみに毒性学的に懸念する事項があるとされた。

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 について、ラットの一系統⁷の高用量投与群で肝細胞腫瘍が認められたが、遺伝毒性は認めらないとしている。DMDC に由来する MC の摂取量は最大に見積もっても 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らないとした。

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 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 8）【32 SCF (1992)】

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、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 Fischer 344 ラットで認められた発がん性の所見に関してについて、発がん性所見が認められなかった Wistar ラットとの違いを説明するために、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、~~F344 ラットにおける発がん性所見について、遺伝毒性を示唆する証拠はなく、NOEL 及び安全係数による設定評価手法は~~適切であり、追加の試験は評価結果に影響を与えないとしている。（参照 2 9）【33 SCF (1997)】

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求められ、メタノール等の DMDC 関連化合物の生成は、添加対象飲料がアルコール飲料及びワインとノンアルコール飲料かによらず、との間で同等であるとして、過去の DMDC のノン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、メタノールについて、健常人は 1,500 mg/時で問題なく代謝す~~

⁷ 腫瘍を認めたラットの系統名は記載されていないが、NTP (1987) methyl- carbamate NTP TR 328 を参照文献として記載されており、Fischer344 ラットを指すと推測される。

1 ~~るとしている。~~（参照 3 0）【34 SCF （2001）】

事務局より：

「なお、原著が確認できず詳細は不明だが、メタノールについて、健常人は1,500 mg/時で問題なく代謝するとしている。」の文章は体内動態の記載とも重複するため削除しています。

2
3 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、
4 DMDC 及び DMDC 関連化合物（メタノール、MEC、MC 及びDMC）について試験成績等を基に評価している。

5
6 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
7 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 mg/kg 体重/日）を MC の NOAEL としている。MEC 及び DMC の遺伝毒性の試験成績は認められなかったが、EFSA は OECD Quantitative Structural
8 Activity Relationship (QSAR) Toolbox⁸を用いて、構造アラートはないとしている。MEC、MC、及び DMC は Cramer クラス I に分類され、許容ばく露閾値/摂取許容値（TTC）が 30 µg/kg 体重/日 となり、MC 及び DMC の推定摂取量の 95 パーセンタイル値は全ての年齢層で TTC の範囲内であったが、MEC の推定摂取量については、となるものの、食物喫食量から摂取量を推計したところ、
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19 一部の年齢層（18 歳以上）において MEC の摂取量の 95 パーセンタイル値が、TTC を超えていたとしている。

20
21 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 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る。
22
23 ただし、推奨事項として、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性質及び量について更なる情報を得ることべきであり、この
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000
1001
1002
1003
1004
1005
1006
1007
1008
1009
1010
1011
1012
1013
1014
1015
1016
1017
1018
1019
1020
1021
1022
1023
1024
1025
1026
1027
1028
1029
1030
1031
1032
1033
1034
1035
1036
1037
1038
1039
1040
1041
1042
1043
1044
1045
1046
1047
1048
1049
1050
1051
1052
1053
1054
1055
1056
1057
1058
1059
1060
1061
1062
1063
1064
1065
1066
1067
1068
1069
1070
1071
1072
1073
1074
1075
1076
1077
1078
1079
1080
1081
1082
1083
1084
1085
1086
1087
1088
1089
1090
1091
1092
1093
1094
1095
1096
1097
1098
1099
1100
1101
1102
1103
1104
1105
1106
1107
1108
1109
1110
1111
1112
1113
1114
1115
1116
1117
1118
1119
1120
1121
1122
1123
1124
1125
1126
1127
1128
1129
1130
1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145
1146
1147
1148
1149
1150
1151
1152
1153
1154
1155
1156
1157
1158
1159
1160
1161
1162
1163
1164
1165
1166
1167
1168
1169
1170
1171
1172
1173
1174
1175
1176
1177
1178
1179
1180
1181
1182
1183
1184
1185
1186
1187
1188
1189
1190
1191
1192
1193
1194
1195
1196
1197
1198
1199
1200
1201
1202
1203
1204
1205
1206
1207
1208
1209
1210
1211
1212
1213
1214
1215
1216
1217
1218
1219
1220
1221
1222
1223
1224
1225
1226
1227
1228
1229
1230
1231
1232
1233
1234
1235
1236
1237
1238
1239
1240
1241
1242
1243
1244
1245
1246
1247
1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263
1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273
1274
1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283
1284
1285
1286
1287
1288
1289
1290
1291
1292
1293
1294
1295
1296
1297
1298
1299
1300
1301
1302
1303
1304
1305
1306
1307
1308
1309
1310
1311
1312
1313
1314
1315
1316
1317
1318
1319
1320
1321
1322
1323
1324
1325
1326
1327
1328
1329
1330
1331
1332
1333
1334
1335
1336
1337
1338
1339
1340
1341
1342
1343
1344
1345
1346
1347
1348
1349
1350
1351
1352
1353
1354
1355
1356
1357
1358
1359
1360
1361
1362
1363
1364
1365
1366
1367
1368
1369
1370
1371
1372
1373
1374
1375
1376
1377
1378
1379
1380
1381
1382
1383
1384
1385
1386
1387
1388
1389
1390
1391
1392
1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406
1407
1408
1409
1410
1411
1412
1413
1414
1415
1416
1417
1418
1419
1420
1421
1422
1423
1424
1425
1426
1427
1428
1429
1430
1431
1432
1433
1434
1435
1436
1437
1438
1439
1440
1441
1442
1443
1444
1445
1446
1447
1448
1449
1450
1451
1452
1453
1454
1455
1456
1457
1458
1459
1460
1461
1462
1463
1464
1465
1466
1467
1468
1469
1470
1471
1472
1473
1474
1475
1476
1477
1478
1479
1480
1481
1482
1483
1484
1485
1486
1487
1488
1489
1490
1491
1492
1493
1494
1495
1496
1497
1498
1499
1500
1501
1502
1503
1504
1505
1506
1507
1508
1509
1510
1511
1512
1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525
1526
1527
1528
1529
1530
1531
1532
1533
1534
1535
1536
1537
1538
1539
1540
1541
1542
1543
1544
1545
1546
1547
1548
1549
1550
1551
1552
1553
1554
1555
1556
1557
1558
1559
1560
1561
1562
1563
1564
1565
1566
1567
1568
1569
1570
1571
1572
1573
1574
1575
1576
1577
1578
1579
1580
1581
1582
1583
1584
1585
1586
1587
1588
1589
1590
1591
1592
1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608
1609
1610
1611
1612
1613
1614
1615
1616
1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636
1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669
1670
1671
1672
1673
1674
1675
1676
1677
1678
1679
1680
1681
1682
1683
1684
1685
1686
1687
1688
1689
1690
1691
1692
1693
1694
1695
1696
1697
1698
1699
1700
1701
1702
1703
1704
1705
1706
1707
1708
1709
1710
1711
1712
1713
1714
1715
1716
1717
1718
1719
1720
1721
1722
1723
1724
1725
1726
1727
1728
1729
1730
1731
1732
1733
1734
1735
1736
1737
1738
1739
1740
1741
1742
1743
1744
1745
1746
1747
1748
1749
1750
1751
1752
1753
1754
1755
1756
1757
1758
1759
1760
1761
1762
1763
1764
1765
1766
1767
1768
1769
1770
1771
1772
1773
1774
1775
1776
1777
1778
1779
1780
1781
1782
1783
1784
1785
1786
1787
1788
1789
1790
1791
1792
1793
1794
1795
1796
1797
1798
1799
1800
1801
1802
1803
1804
1805
1806
1807
1808
1809
1810
1811
1812
1813
1814
1815
1816
1817
1818
1819
1820
1821
1822
1823
1824
1825
1826
1827
1828
1829
1830
1831
1832
1833
1834
1835
1836
1837
1838
1839
1840
1841
1842
1843
1844
1845
1846
1847
1848
1849
1850
1851
1852
1853
1854
1855
1856
1857
1858
1859
1860
1861
1862
1863
1864
1865
1866
1867
1868
1869
1870
1871
1872
1873
1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025
2026
2027
2028
2029
2030
2031
2032
2033
2034
2035
2036
2037
2038
2039
2040
2041
2042
2043
2044
2045
2046
2047
2048
2049
2050
2051
2052
2053
2054
2055
2056
2057
2058
2059
2060
2061
2062
2063
2064
2065
2066
2067
2068
2069
2070
2071
2072
2073
2074
2075
2076
2077
2078
2079
2080
2081
2082
2083
2084
2085
2086
2087
2088
2089
2090
2091
2092
2093
2094
2095
2096
2097
2098
2099
2100
2101
2102
2103
2104
2105
2106
2107
2108
2109
2110
2111
2112
2

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 Standards Australia New Zealand；FSANZ）は要請者の申請により DMDC の特性等を評価した結果、2011年、DMDC を食品添加物（保存料）から加工助剤として分類し直すことを決定した。ための~~評価を実施した際にも ~~2011年に~~ ~~においても~~、安全性につい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。（参照 4 0、4 1）【5New Zealand Gazette (2011)、6FSANZ (2011)】

1 1. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要

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る。

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、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 680 回食品安全委員会諮問資料】

II. 安全性に係る知見の概要

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績は限られた情報しか提出されていない。

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 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 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 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、61Krefeld-UerdingenGenth (1979)、36 LANXESS 社内資料 (2011)、62LANXESS (2011b)】

二酸化炭素 CO_2 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、炭酸飲料又はビールに容量比で液量の 3～4 倍の二酸化炭素が含まれており通常の炭酸飲料中に 3～4 ガス容 (容量比で液量の 3～4 倍) 含まれ、また、二酸化炭素 CO_2 の水溶液 (炭酸水、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。また、第 594 回食品安全委員会資料 (厚生労働省提出資料) によればにおいて、通常の炭酸飲料 500 mL に 1.5L の二酸化炭素が含まれている中の CO_2 の濃度は 1.5 L/500 mL とされている。(参照 4 4、4 5)【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)】

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摂取する二酸化炭素 CO_2 の量と比べ、DMDC 添加 (最大添加量 250 mg/L) により飲料中に生じる二酸化炭素 CO_2 の量 (250 mg/L DMDC 添加時の場合、0.045 L/500 mL 飲料¹⁰⁾ は十分少ないと考えられることから、二酸化炭素 CO_2 の安全性に係る知見に関する検討は行わないこととした。

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うこととした。

¹⁰⁾—指定等要請者は、DMDC の加水分解により DMDC の 65.7%の二酸化炭素が生成するとして、炭酸飲料 500 mL に添加した DMDC を添加 (250 mg/L) した場合、加水分解による二酸化炭素 CO_2 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)。

- 1 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
- 2 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
- 3 とに留意するべきである。

事務局より：

第 164 回専門調査会での御議論を受け、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。

4

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で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：

修文しました。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。

事務局より：

「炭酸飲料中の CO₂ の濃度は 1.5 L/ 500 mL とされている」について、日本語として自然となるよう「通常の炭酸飲料 500 mL に 1.5L の二酸化炭素が含まれている」と修文しています。

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。

1

(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きませんが、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、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（112 ページ）において御議論をお願いします。

2

3

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、「内因性のメタノール」として記載の下記2知見を「体内動態」に記載することに違和感があるとの御意見があり、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。

事務局より：

以下のような記載の変更案について御検討いただければと存じます。

案1 下記の2知見（またはいずれかのみ）を「ヒトにおける知見」に移す

案2 記載場所を変更せず、表題を変更する。

案3 体内動態に吸収、分布、代謝、排泄の後ろに、

「その他（一般状態におけるメタノール）」「その他の知見」（仮）という項を新設し、知見を移す。

※オプション ・項に「参考資料」と明記する

・脚注に吸入に関する知見も含むが経口に関する知見と併せて記載した旨記載する。

案4 変更しない

伊藤清美専門委員：

bのみ許容ばく露量の記載がありますので、aは体内動態、bは毒性でも良いかと思いますが、aとbは類似の内容を含みますので、別々の箇所に記載するのは少し違和感もあります。吸入した時のメタノールあるいはギ酸の血中濃度についても記載がありますので、いずれも体内動態のままでもよいのではないのでしょうか。

吸入あるいは経口摂取した場合についての記載がありますので、「内在性のメタノール」というタイトルは相応しくないと考えております。

頭金専門委員：

強い意見ではありませんが、違和感があるということであれば、案 3 のように移動させ、項目名を「ヒトにおける内在性のメタノールとギ酸の血中濃度」としてはいかがでしょうか。

石井専門委員：

特に強く主張するわけではありませんが、頭金先生のお考えに賛同いたします。

事務局より：

御意見を受け、対応しています。

~~a. ヒト（WHO 環境保健クライテリア（EHC）（1997））~~

~~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 0.3～2.61 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。~~

~~健常人における内因性メタノールの血液中濃度は 0.5 mg/L（0.02 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が上昇する場合がある。~~

~~健常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 mg/m³ 以下の量で吸入した場合又はメタノールを 20 mg/kg 体重以下の量で経口摂取した場合でも、内因性ギ酸の量以上のギ酸の蓄積は起こらない。~~

~~通常、血液中のギ酸濃度は 0.07～0.4 mmol/L である。（Medinsky & Dorman（1994））（参照 4 6）【68 WHO EHC196（1997）】~~

~~b. ヒト（NTP（2003））~~

~~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（Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction：CERHR）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）したヒトの血液中のメタノール濃度は 10 mg/L 未満であった。（参照 4 7）【追加 4 NTP（2003）】~~

①② 吸収

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（10～20 mL）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（50 mL）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46、48）【68 WHO EHC196（1997）、追加11 Leaf and Zatman（1952）】

②③ 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の血液中/硝子体液中比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、腓臓、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46）【68 WHO EHC196（1997）】

事務局より：

P32、a. 吸収（ヒト）レビュー（WHO（1997））中の「メタノール濃度の尿中/血液中比」という表現に倣って修文しています。

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）¹¹（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尾静脈より血液を採取

¹¹ 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 して、血液中の $[^{14}\text{C}]$ メタノールの放射活性を調べる試験が実施されている。

2 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、
3 125 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
4 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 $[^{14}\text{C}]$ メタノールの
5 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
6 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
7 した。（参照 4 9）【69 NEDO（1983）】

9 ③④ 代謝

10 a. 代謝（ヒト、ウサギ、イヌ及びサル）レビュー（Röe（1982））¹²

11 ~~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2
12 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
13 mmol/Lであり、肝臓中のギ酸濃度は13.2 mmol/kg及び21.3 mmol/kgであった
14 （Lund（1948c））。~~Eriansonらによる1965年の報告では、~~一般病院から透析
15 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、その後、
16 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0.275 g/L及び
17 0.277 g/L、ギ酸濃度は14.8 mmol/L及び22.8 mmol/Lであった（Eriansonら
18 （1965））。

19 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、メタノールは
20 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））。

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

25 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、メタノールは
26 37 mg/kg体重/時で代謝された（Makarら（1968））。また、ヒトで重篤なアシ
27 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の代謝
28 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 5 0、5 1、5 2）【72 Roe（1982）、追加9 Lund
32 （1948a）、追加10 Makarら（1968）】

事務局より：

第166回専門調査会において、経口投与以外の知見を参考資料としない場
合は考え方を注釈等で補足する必要があるとの御意見がありました。

¹² 静脈内投与、腹腔内投与の知見も含まれているが、同一のレビューの一部であり、経口投与の知見と併せて体内動態の検討に有用な情報と考えたため、ともに記載する

静脈内投与、腹腔内投与等の経口投与以外の知見について
 （案１）分離して、参考資料とする
 （案２）このまま記載するが、注釈で「静脈内投与の知見も含まれているが、経口投与の知見と併せて体内動態の検討に有用な情報と考えたため、ともに記載する。」といった記載を加える
 ことのどちらがよろしいでしょうか。

頭金専門委員：

レビューの一部ですので、分離せず、注釈を入れる方法がよいと思います。

石井専門委員：

頭金先生のお考えに賛同いたします。

事務局より：

脚注案（脚注12）を記載しています。

b. 代謝（ほ乳類）レビュー（WHO-EHC（1997））

体内に摂取されたメタノールは、ほとんど（96.9%）が肝臓において二酸化炭素 CO_2 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、ホルムアルデヒド、ギ酸そして二酸化炭素 CO_2 という連続的な酸化過程を経て代謝される。しかし、メタ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、大きな種差が認められている（Rietbrock（1969）、Palese and Tephly（1975）、McMartin ら（1977）、Eells ら（1981a, 1983））。

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、霊長類ではADHがこの反応を触媒する（Makar ら（1968）、Röe（1982））。一方、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 ら（1968）、Noker ら（1980）、Eells ら（1981a, 1983））。

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。（Jones（1987））。なお、ADHによる反応は、飽和性を持ち、メタノールの代謝反応の律速の段階となる。

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）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

(1955)、Kinoshita and Masurat (1958)、Goodman and Tephly (1971))。なお、この反応はpHに依存している。

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、半減期約1分という非常に短い時間で行われる(Rietbrock (1965)、McMartin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 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(Makar and Tephly (1977)、McMartinら (1977、1980a))。

ほ哺乳類の体内では、ギ酸はテトラヒドロ葉酸依存性の代謝経路を介して二酸化炭素 CO_2 に酸化される(Meninsky and Dorman (1994))。このテトラヒドロ葉酸は食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))。

このテトラヒドロ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の蓄積による霊長類の感受性を説明している(Tephly and McMartin (1984))。

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、ギ酸は代謝性アシドーシスの原因とされている(McMartinら (1975、1977、1980)、Eellsら (1983)、Jacobsen and McMartin (1986)、Eells (1991)、Murrayら (1991)、Leeら (1994))。

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失は、エタノールと比較すると遅い(Tephly and McMartin (1984)、Tephly (1991))。(参照46) 【68 WHO EHC196 (1997) 】

c. 代謝（ほ乳類）レビュー (Skrzydowska (2003))

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、栄養状態及びエタノールの摂取状況）に依存している(Dohmenら (1996)、Lieber (1994))。

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、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 Maker (1977))、その結果ラットにおいてギ酸は蓄積しないが、サル及びヒトにおいては蓄積することになる。

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

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により決定されると考えられる。

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（Johlinら（1987））。また、サルでは、酸化速度は遅く（40 mg/kg/h）、ブタで最も遅かった（2040 mg/kg/h）（Johlinら（1987）、Makarら（1990））。ヒト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、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けやすい動物種であると考えられている。

（参照 5 3）【追加 1 Skrzydlewska（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。

d. —(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（ラット）（NEDO（1984））

Fischer344ラット（雄、各群5匹）にメタノールを腹腔内投与（0、25、125、600及び3,000 mg/kg体重）し、投与48時間後まで採血して、血液中の酸塩基平衡関連指標（pH、二酸化炭素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されている。

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濃度の増加傾向が認められた。（参照 5 4）【70 NEDO（1984）】

(b).—代謝（サル）（NEDO（1984））

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関連指標（pH、二酸化炭素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されている。

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、血液中の二酸化炭素 CO_2 分圧及び炭酸水素イオン濃度は、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シドーシスが認められた。（参照 5 4）【70 NEDO（1984）】

（c）代謝（ヒト）（FDA（1998）及びSCF（2001））

FDA（1998）は、成人のヒトは有害事象の発現なく1,500 mg/時でメタノールを代謝可能である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 mg/時で代謝するとしている

SCF（2001）は、健康人は有害事象の発現なく1,500 mg/時でメタノールを代謝可能である健康なヒトは生理的に問題なく、メタノールを1,500 mg/時で代謝するとしている。（参照 2 4、3 0）【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。

④⑤ 排泄

a. 排泄（霊長類及びラット）レビュー（WHO-EHC（1997））¹³

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、さらに酸化されて二酸化炭素 CO_2 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、

¹³ 腹腔内投与の知見も含まれているが、同一のレビューの一部であり、経口投与の知見と併せて体内動態の検討に有用な情報と考えたため、ともに記載する

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 $[^{14}\text{C}]$ 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 ^{14}C 放射活性率は89%となり、そのうち呼気中に二酸化炭素 CO_2 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 $[^{14}\text{C}]$ 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 $[^{14}\text{C}]$ 二酸化炭素 CO_2 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二酸化炭素 CO_2 排泄量の割合は、ラットでサルよりも多かった(Katoh(1989))。(参照46、48)

【68 WHO EHC196(1997)、追加11 Leaf and Zatman(1952)】

事務局より：

第166回専門調査会において、経口投与以外の知見を参考資料としない場合は考え方を注釈等で補足する必要があるとの御意見がありました。

静脈内投与、腹腔内投与等の経口投与以外の知見について

(案1) 分離して、参考資料とする

(案2) このまま記載するが、注釈で「静脈内投与の知見も含まれているが、経口投与の知見と併せて体内動態の検討に有用な情報と考えたため、ともに記載する。」といった記載を加える

ことのどちらがよろしいでしょうか。

頭金専門委員：

レビューの一部ですので、分離せず、注釈を入れる方法がよいと思います。

石井専門委員：

頭金先生のお考えに賛同いたします。

事務局より：

脚注案（脚注13）を記載しています。

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 $[^{14}\text{C}]$ 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、糞便を採取して、呼気中の $[^{14}\text{C}]$ 二酸化炭素 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 $[^{14}\text{C}]$ 放射活性を調べる試験が実施されている。

その結果、呼気中の $[^{14}\text{C}]$ 二酸化炭素 CO_2 の排泄率は、25 mg/kg体重投与群では投与後0 - 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 - 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 $[^{14}\text{C}]$ 二酸化炭素 CO_2 の排泄量は投与後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、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、呼気中の $[^{14}\text{C}]$ 二酸化炭素及び $[^{14}\text{C}]$ メタノールの放射活性を合計すると、~~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 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。

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、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ぼ完了していた。

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、二酸化炭素 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に飽和と遅延が生じると考察している。（参照49）【69 NEDO（1983）】

⑤ ヒトにおける内在性のメタノールとギ酸の血中濃度

a. ヒト（WHO（1997））

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 0.3～2.61 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。

健常人における内在性のメタノールの血液中濃度は 0.5 mg/L (0.02 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が上昇する場合がある。

健常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 mg/m³ 以下の量で吸入した場合又はメタノールを 20 mg/kg 体重以下の量で経口摂取した場合でも、内在性のギ酸の量以上のギ酸の蓄積は起こらない。

通常、血液中のギ酸濃度は 0.07～0.4 mmol/L である。（Medinsky & Dorman（1994））（参照 5 5）【68 WHO EHC196（1997）】

b. ヒト（NTP（2003））

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（Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction： CERHR）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¹⁴。また条件管理された臨床試験において、メタノールを吸入（260 mg/m³）したヒトの血液中のメタノール濃度は 10 mg/L 未満であった。（参照 5 6）【追加 4 NTP（2003）】

¹⁴ NTP（2003）において、職業的ばく露限界の下、inhalation rate 20 m³/日、70kg 体重のヒトが 8 時間/日吸入と仮定し、8 時間 260 mg/m³ x 20 m³/day x 8 hour/24 hours x 1/70 kg で算出。

(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)

① 吸収

N-CMCの体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

② 分布

N-CMCの体内動態 (分布) に関する知見は認められなかった。

③ 代謝

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

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 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) 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で分析する試験 (II) が実施されている。

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、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-CMP及びN-CMAの残存率はそれぞれ40%及び14%であった。

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-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%であった。(参照 57) 【73 Schmidt (1978)】

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

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-カルボメトキシ化された各アミノ酸 (N-CMC-AA¹⁵) 溶液0.5 mLを添加し、37°Cの温浴中で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、

¹⁵ 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

加水分解後のアミノ酸を検出する試験が実施されている。

その結果、概して脂肪族N-CMC-AA¹⁶は、ヒト及びブタの肝臓及び腎臓由来酵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。

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、それぞれ加水分解されなかった。(参照 5 8)【74 Rauenbusch (1974)】

④ 排泄

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

Wistarラット (雌) にN-CMP又はN-CMAを経口投与 (それぞれ0.5、1、2、4 mg/動物¹⁷) し、投与後48時間まで採取した尿中のN-CMP及びN-CMAを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。

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/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、投与量の減少に依存した排泄率の低下は認められなかった。

Schmidtは、N-CMPまたはN-CMAをラットに経口投与した場合、未変化体として速やかに腎臓より排泄されたとしている。(参照 5 7)【73 Schmidt (1978)】

¹⁶ 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、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

¹⁷ 原著によると、0.5 mg/動物 = 3.3 mg/kg 体重

(4) 炭酸エチルメチル (MEC)

① 吸収

MEC の体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

② 分布

MEC の体内動態 (分布) に関する知見は認められなかった。

③ 代謝

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

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 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 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。

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 58) 【74 Rauenbusch (1974)】

④ 排泄

MEC の体内動態 (排泄) に関する知見は認められなかった。

(5) カルバミン酸メチル (MC)

① 吸収

MC の体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

② 分布

a. 分布 (マウス及びラット) (Ioannou ら (1988)) ¹⁸

B6C3F₁ マウス (雄、各群 3 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 3 匹) に、^[14C]MC 含有 MC (約 20 μ Ci/kg 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 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 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。

各試験における結果は以下のとおりである。

< 単回経口投与試験 (I) >

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 量の比が、両種で類似していたことから、組織中の量には差が見られるものの、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。

表 4 試験 I: 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 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	

< 静脈内投与試験 (II) >

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

¹⁸ 静脈内投与の知見も含まれているが、経口投与の知見と併せて体内動態の検討に有用な情報と考えたため、ともに記載する。

組織の合計量は投与後 72 時間には 5%未満となったが、ラットにおいては、40%以上が残存していた。

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、マウス、ラットともに未変化体に由来していた。

表 5 **試験 II：投与後の MC の経時的組織中分布率**

	投与後	血液 (%)	肝臓 (%)	皮膚 (%)	脂肪組織 (%)	筋肉 (%)	腎臓 (%)
マウス	15 分	5.1	4.7	13.4	4.2	53.8	1.1
	2 時間	5.7	4.1	14.6	5.7	54.8	1.5
	6 時間	1.7	1.6	4.3	1.0	45.7	0.5
	24 時間	2.6	1.4	4.6	1.5	14.9	0.5
	72 時間	2.0	0.2	0.5	0.1	1.3	0.1
ラット	15 分	6.0	3.4	14.8	3.9	52.6	0.9
	2 時間	8.6	3.5	14.1	1.3	45.9	0.8
	6 時間	6.3	3.2	10.8	0.7	44.5	0.7
	24 時間	5.7	2.6	10.8	1.7	37.6	0.6
	72 時間	4.0	1.7	7.4	1.3	26.1	0.4

＜反復経口投与試験（Ⅲ）＞

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ったものの、ラットにおいては、9 回反復投与後 1 日の組織中の MC 量は、単回投与後 1 日の量の 2~8 倍であった。（参照 5 9）【79 Ioannou ら（1988）】

事務局より：

第 166 回専門調査会において、表のタイトルのつけ方について全体として整合がとれるよう整理することとされました。御検討をお願いします。

例）表 5 のタイトルを「**試験 II：MC 静脈内投与（400 mg/kg 体重）72 時間後までの MC の経時的組織中分布率**」

第 166 回専門調査会において、経口投与以外の知見を参考資料としない場合は考え方を注釈等で補足する必要があるとの御意見がありました。脚注 18（42 ページ）について御確認をお願いします。脚注ではなく、本文としたほうがよろしいでしょうか。

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) (Boyland and Papadopoulos (1952) (JECFA (1991) で引用))

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 mg/kg 体重) し、投与後 144 時間まで血液、肺及び肝臓における MC 濃度を調べる試験が実施されている。

その結果、MC は両投与量の個体において、投与後 1 時間には血液、肺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 時間まで残留し、消失半減期は 24 時間であった。(参照 12-14、60)

【31JECFA (1991)、75 Boyland and Papadopoulos (1952)】

事務局：

【81 Lawson ら (1973)】については、第 166 回専門調査会において、記載不要と確認されました。

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が不明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 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 12、61) 【31JECFA (1991)、80 Williams ら (1971)】

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されている。

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、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%、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、Fischer344 ラットと比較して Wistar ラットで投与開始 5 日後まで各採取日ともわずかに高かった。

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 2、6 2)【31 JECFA (1991)、77 Schmidt and Schmidt (1987)】

b. 排泄 (マウス及びラット (Ioannou ら (1988) (JECFA (1991) で引用))¹⁸

B6C3F₁ マウス (雄、各群 3 匹) 及び Fischer344 ラット (雄、各群 3 匹) に、^[14C]MC (約 20 µCi/kg 体重) 含有 MC を経口投与 (40、400 及び 1,000 mg/kg 体重) し、投与後 24 時間の尿中及び糞便中の放射活性並びに呼気中の 二酸化炭素 CO_2 及び揮発性物質の放射活性により排泄率を調べる試験 (I) が実施されている。また、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 時間の尿及び糞便中の放射活性並びに呼気中の 二酸化炭素 CO_2 及び揮発性物質の放射活性により排泄率を調べる試験 (400 mg/kg 体重) (II)、また、二酸化炭素 CO_2 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) (III) が実施されている。

各試験の結果は次のとおりである。

<経口投与試験 (400 mg/kg 体重) (I) >

投与後 0~24 時間の 二酸化炭素 CO_2 としての排泄率は、マウスで平均 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マウスで平均 3.4%、ラットで 0.5%であり、呼気中で両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た。

<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 体重) 群 (II) >

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、ラット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、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%)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、揮発性物質中では専ら未変化体が認められた。

< 静脈内投与群 (0.4 及び 400 mg/kg 体重) (Ⅲ) >

投与量に1,000倍の違いがあるにも関わらず、マウス、ラットともに二酸化炭素 CO_2 への代謝に影響は認められず、両種ともに時間依存的に直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、ラットよりマウスで6倍速くMCから二酸化炭素 CO_2 に代謝されており、投与48時間後にはマウスで約70%、ラットで約18%が二酸化炭素 CO_2 として排泄されている。

Ioannou らは、前掲の分布に関するデータ(42 ページ)及び排泄に関するデータにおいて、マウスではラットよりもMCが二酸化炭素 CO_2 として多く排泄され、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。

(参照 12、59) 【79 Ioannou ら (1988)、31 JECFA (1991)】

c. 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) (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は腎臓において濃縮されないとしている。(参照 60) 【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、

1 両日の尿中排泄率を調べる試験が実施されている。

2 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
3 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
4 均 0.008%及び 0.06%が排泄された。

5 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
6 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
7 29%及び 3.9%が排泄された。

8 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
9 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
10 考 1 2、6 3) 【31 JECFA (1991)、76 Boyland and Nery (1965)】

(6) 炭酸ジメチル (DMC)

① 吸収

DMC の体内動態 (吸収) に関する知見は認められなかった。

② 分布

DMC の体内動態 (分布) に関する知見は認められなかった。

③ 代謝

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

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べる試験が実施されている。

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 8) 【74 Rauenbusch (1974) 】

④ 排泄

DMC の体内動態 (排泄) に関する知見は認められなかった。

（７）体内動態のまとめ

（文案調整中）

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 DMDC が飲料中成分と反応して生成する N-CMC、MEC 及び MC についても評価を行った。

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、まずホルムアルデヒド、次いでギ酸、さらに及び二酸化炭素 CO_2 へと連続的に酸化される。ヒトを含む霊長類では、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二酸化炭素 CO_2 へ代謝解毒される。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な差が認められ、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。

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 よりも速やかに加水分解される。MC については、ラットでの二酸化炭素 CO_2 として排泄される量はマウスと比較して少なく、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、第 168 回以降の調査会でまとめについて議論いただきたいと考えております。

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によいです。

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 168 回専門調査会での御議論を予定しています。

1

2

（１）DMDC

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。

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す。

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がありますが。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 遺伝毒性

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 のとおりである。

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 11、12、64) 【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 ¹⁹	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、TA1535、TA1537)	DMDC (4,000 ppm) を添加したオレンジジュース	最高用量 400 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 (1989)) (参照 65) 【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 ²¹ 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 11、12、66) 【31、35、96】

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

¹⁹ 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。

²⁰ 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。

²¹ 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。

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ような遺伝毒性の懸念はないと考えた。
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伝毒性の懸念はないと考えた。

事務局より：

53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。

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、記載の可否については、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。

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 に関する急性毒性の試験成績—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 1 2、6 7) 【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) ²²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 <u>投与飲料</u>	性別	飲料摂取量 (mL/kg 体重/日)	DMDC 摂取相当量²³ <u>(mg/kg 体重/日)</u>
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	＝
4	DMDC4,000 mg/L 添加 カシスジュース	雄	225.67	903
		雌	327.01	1,308

²² JECFA (1991) では Löser (1978) とされている。

²³ ~~(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。~~

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	ぶどう酒ワイン	雄	122.12	＝
		雌	149.84	＝
8	DMDC4,000 mg/L 添加 ぶどう酒ワイン	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 11、12、68) 【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：(66 ページ項まで、同様。)

53 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。

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

高須専門委員：

このような整理方法で良いかと思えます。

1

事務局より：

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、削除することによって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。

高須専門委員：

誤解を避けるため記載しない方がよろしいかと思えます。

2

3

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））

4

5

Wistarラット（雌雄、各群50匹）にDMDC添加飲料（4,000 mg/L²⁴）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。

6

7

8

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

9

10

11

12

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。

13

14

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。

²⁴ Bayer AG 社内資料（Löser（1974））では 4,000 ppm と記述されている。

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 11、12、69) 【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、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/L²⁵) 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	<u>投与飲料飲料(媒体)又は被験物質を添加した飲料</u>	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	<u>DMDC 摂取相当量 (mg/kg 体重/日)</u>
1	水道水	雄	27	—
		雌	25	—
2	<u>ぶどう酒ワイン</u>	雄	29	—
		雌	26	—
3	DMDC4,000 mg/L 添加 <u>ぶどう酒ワイン</u>	雄	38	<u>390</u>
		雌	34	<u>580</u>

その結果、摂餌量については、水道水摂取群と比較してぶどう酒ワイン及び DMDC 添加 ぶどう酒ワイン 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 ぶどう酒ワイン 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 ぶどう酒ワイン 摂取群における飲料摂取量の変化について、ぶどう酒ワイン 中で DMDC から分解した 二酸化炭素 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 ぶどう酒ワイン の摂取によるラットへ

²⁵ BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1984) では 4,000 ppm と記述されている。

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 1、1 2、7 0) 【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、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/L²⁶) 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 1、1 2、7 1) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、88 Lina ら (1983)】

²⁶ CIVOInstitutes TNO 社内資料 (Lina ら (1983)) では 4,000 ppm と記述されている。

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。~~

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/L²⁴) を表 12のような試験群投与群を設定して、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 11、12、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/L²⁵) を表

13 のような試験群投与群を設定して、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	ぶどう酒ワイン	雄	29	＝
		雌	26	＝
3	DMDC4,000 mg/L 添加 ぶどう酒ワイン	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 添加ぶどう酒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 11、12、70) 【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/L²⁶) 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 11、12、71) 【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/L²⁷) 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	<u>飲料 (媒体) 又は被験物質を投与した飲料投与飲料</u>	性別	飲料摂取量 (mL/動物/日)	DMDC 摂取相 当量 —(mg/動物/日)— 28
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	—

²⁷ BayerAG 社内資料 (Eiben ら (1983)) では 4,000 ppm

²⁸ ~~(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。~~

3	DMDC4,000 mg/L 添加オレンジ ジュース	F ₀ 雄 77	77 77	308
		F _{1b} 雄	79	316
		F ₀ 雌 78	78 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 の摂取に関連した影響は認められなかった。

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。

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

EFSA (2015) は、本試験の結果から 4,000 mg DMDC /L オレンジジュース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としている。(参照 11、12、72) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、91 Eiben 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 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、DMDC 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。

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

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 日) に、DMDC 添加飲料 (4,000 mg/L²⁹) を表 16 のような試験群を設定して、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。

表 16 DMDC 試験群の設定

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

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

²⁹ Schlüter (1980) では 4,000 ppm と記載されている。

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かった。

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認められなかったとしている。

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。

EFSA (2015) は、Schlüter の本試験における結論に同意するとしている。
(参照 11、12、73) 【31 JECFA (1991)、35 EFSA (2015)、92 Schluter (1980)】

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 Schlüter らの結論を是認できると考えた。

~~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。~~

⑥ ヒトにおける知見

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。

⑦ 毒性のまとめ

・・・ (文案作成中)

（２）メタノール

① 遺伝毒性

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 のとおりである。

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 49) 【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 74) 【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 49) 【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） ³⁰ 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	

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 NEDO の見解を、本専門調査会としては支持できると考えた。

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（1983））は陰性であった。

³⁰ 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。

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うな遺伝毒性はないと考えた。

② 急性毒性

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 のとおりである。

表 18 メタノールに関する急性毒性の試験成績—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 7 5) 【141】
ラット (雄)	9,100	Welch ら (1943) (参照 7 6) 【145】
ラット	12,000 071 (Behrens <u>法による</u>) ³¹ 11,000 289 (Bliss <u>法による</u>)	Deichmann and Mergard (1948) (参照 7 7) 【147】
ラット (23 系統)	約 9,500	Gilger and Potts(1955) (参照 7 8) 【146】
ラット	5,800 46 (14 日齢) ³² 24 10,000 270 (若齢) 7,000 6,952 (老齢)	Kimura ら(1971) (参照 7 9) 【144】
ラット	12,880	Smyth ら(1972) (参照 8 0) 【140】
サル	7,000～9,000	Cooper and Felig (1961) (参照 8 1) 【148】

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。

③ 反復投与毒性

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。

a. 参考資料

(吸入試験について、文案調整中)

④ 発がん性

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。

³¹ 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 (1997))、水の密度 1.000 g/cm³ (4℃) として算出。比重 ~~0.79~~ (WHO EHC (1997)) として換算。

³² 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 (1997))、水の密度 1.000 g/cm³ (4℃) として算出。

a. 参考資料

（吸入試験について、文案調整中）

⑤ 生殖発生毒性

~~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17-1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 17-1 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、表17-2のとおりである。（参照）【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（72ページ）としました。

b-a. ラット発生毒性試験（Youssef ら（1997））

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

表 19-1 メタノール 試験群の設定用量設定

用量設定	0（対照群）、1.3、2.6、5.2 mL/kg 体重
mg/kg 体重 ³¹	0（対照群）、1,000、2,100、4,100 mg/kg 体重

その結果、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。（参照 8 2）【160 Youssef ら（1991）】

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

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 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
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ると判断した。

事務局より：

第165回専門調査会の御議論を受け、最低用量で毒性所見が認められた場合のNOAELの表現について修正しています。

b-e. ラット生殖発生毒性試験（Cummings（1993））

妊娠Holtzmanラット（雌、各群8匹／試験；交尾確認日＝妊娠0日）にメタノールを表 20-1のような試験群投与群を設定して、妊娠1～8日に強制経口投与した後に妊娠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（雌、各群8匹）についてもメタノールを表 20のような試験群投与群を設定して、偽妊娠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検査する試験（試験IV）が実施されている。

表 20-1 メタノール 試験群の設定用量設定

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

各投与群で認められた毒性所見は、表 20-2のとおりである。

表 20-2 メタノール 毒性所見

投与群	毒性所見 ^注
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、試験I妊娠9日に安楽死させた試験）
2,400 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（偽妊娠雌、試験IV妊娠9日に安楽死させた試験） 着床部位重量の減少（母動物、試験I妊娠9日に安楽死させた試験）
1,600 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（母動物、試験I妊娠9日に安楽死させた試験）

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
試験IV 偽妊娠ラット、妊娠9日に検査した試験

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。

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 8 3）【161 Cummings (1993)】

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。

事務局より：

第165回専門調査会の御議論を受け、最低用量で毒性所見が認められた場合のNOAELの表現について修正しています。

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ると、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のような試験群投与群を設定して、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 メタノール 試験群の設定用量設定

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 8 4）【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。73 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。

⑦ ヒトにおける知見

a. 中毒影響のレビュー（Skrzydowska（2003））

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一方、同様の溶液を 500 mL 摂取後生存した例もある（Bennett ら（1952））。

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 体重と考えられている（Röe（1982））。

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

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た他の代謝産物等によっても引き起こされる。（参照 5 3）【追加 1】

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

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、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者は死亡する。

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への影響は、眼に及ぼす変化と考えられる。

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。

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）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 6）【68】

c. 国際機関等における評価（FDA（1993））

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 2 5）【23】

⑧ 毒性のまとめ

・・・（文案調整中）

(3) N-カルボメトキシ化合物 (N-CMC)

① 遺伝毒性

N-CMCの遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

② 急性毒性

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の成績は、表 22 のとおりである。

表 22 N-カルボメトキシアミノ酸に関する急性毒性の試験成績——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 2、85) 【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 2、85) 【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	

③ 反復投与毒性

N-CMC の反復投与毒性に関する知見は認められなかった。

④ 発がん性

N-CMC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

N-CMC の生殖発生毒性に関する知見は認められなかった。

1 ⑥ ヒトにおける知見

2 N-CMC のヒトにおける知見は認められなかった。

3

4 ⑦ 毒性のまとめ

5 ・・・（文案調整中）

6

（４）炭酸エチルメチル（MEC）

① 遺伝毒性

MEC の遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

② 急性毒性

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。

表 23 MEC に関する急性毒性の試験成績—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 2、8 6) 【31、99】
ラット（雌）	>15,000	

③ 反復投与毒性

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

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

表 24 MEC 試験群の設定用量設定

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 ³³	雄：0、111、344、1,094 mg/kg 体重/日 雌：0、131、405、1,316 mg/kg 体重/日

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。

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れなかったとしている。

EFSA (2015) は、本試験における NOAEL を雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日としている。(参照 1 1、1 2、8 7)【31 JECFA(1991)、35 EFSA (2015) 、100 Löser (1973) 】

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。

高橋専門委員：

³³ 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。

④ 発がん性

MEC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

a. ラット発生毒性試験（BayerAG 社内資料（Machemer（1976）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））

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

表 25 MEC 試験群の設定用量設定

用量設定	0（対照群）、0.01、0.1、1%
mg/kg 体重/日 ³⁴	0、12.5、125、1,250 mg/kg 体重/日

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。

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

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いて、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

³⁴ 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。

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、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えられたことから、被検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認められなかったとしている。

EFSA（2015）は、本試験における MEC1.0%（1,250 mg/kg 体重/日）の投与用量まで、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いる。（参照 11、12、88）【31 JECFA（1991）、35 EFSA（2015）、101 Machemer（1976）】

本専門調査会としては、一般毒性及び発生毒性に係る NOAEL は最高用量である 1%（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。

⑥ ヒトにおける知見

MEC 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

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、DMDC 添加 ぶどう酒マイン を用いた反復投与毒性・発がん性併合試験（62 ページ）、DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性（55 ページ）及び反復投与毒性・発がん性併合試験（62 ページ）の試験成績、並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（80 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。

・・・（文案調整中）

山田専門委員：

遺伝毒性部分に修正はありません。

(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。

① 遺伝毒性

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。

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 89)【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 90)【127】
	DNA 修復試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>E. coli</i> WP2、WP2 <i>uvrA</i> 、CM611 <i>uvrA</i> <i>lexA</i> 、WP67 <i>uvrA</i> <i>polA</i> 、WP100 <i>recA</i> <i>uvrA</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 91)【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 92)【134】
	不定期 DNA 合成試験 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 11、12、93)【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 94)【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 12、95)【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 1 2、 9 6) 【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 9 7) 【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 1 1、1 2、 9 1) 【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 9 7) 【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 9 8) 【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 1 1、1 2、9 9) 【31、 35、130】
	<u>マウスリン フォーマ試 験 MLA</u> (<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 <u>1 1、1 2、9 1</u>) 【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 1 1、1 2、 9 1) 【31、35、105】
	染色体異常 試験 (<i>in vitro</i>)	糸状菌 (<i>Aspergillus nidulans</i> P)	最高用量 0.4 mg/mL	陰性	Morpurgo ら (1979) (JECFA (1991) で 引用) (参照 <u>1 2</u> 、1 0 0) 【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 <u>11</u> 、 <u>12</u> 、 <u>92</u>)【31、35、105】
	姉妹染色 分体交換試験 <u>SCE 試験</u> (<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 101)【135】
	姉妹染色 分体交換試験 <u>SCE 試験</u> (<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 11、12、102)【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 <u>12</u> 、 <u>103</u>)【31、131】

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考えた。

事務局より：

第166回専門調査会での指摘を受け、遺伝毒性の表中の試験種類の略称について次のとおり整理しています。

- ・基本的に試験種類の略称は使用しない
- ・本文において略称を使用する場合、その略称を括弧に入れて付記する

また、UDS試験は評価書案中で本表にしか記載がないため略称での表記を削除しました。

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 に関する急性毒性の試験成績—~~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 104)【103】
マウス (NMRI、雌)	6,310	Bayer 社内資料 (Steinhoff (1978))

		) (参照 105) 【104】
マウス (B6C3F ₁ 、雄)	4,925	NTP (1987) (参照 93) 【105】
マウス (B6C3F ₁ 、雌)	4,925	
ラット (Fischer344 AN 、雄)	4,287	
ラット (Fischer344 AN 、雌)	2,462	
ラット (Wistar、雌)	4,935	Bayer 社内資料 (Steinhoff (1977)) (参照 106) 【107】
ラット (Wistar、雌)	3,900	German Cancer Research Centre 社内資料 (Rüdiger (1979)) (参照 107) 【108】

③ 反復投与毒性

事務局より：

第 166 回専門調査会の御議論において、

- ・ 毒性所見、その他の所見として記載する所見
- ・ 専門調査会としての判断

について、Questら又はNTPのいずれによる所見・評価かが分かるように整理が必要とされ、現在文案調整中です。(99ページまで)

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

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。

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
------	--

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。

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

その他、以下の所見が認められた。

- ・ 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

週間後まで)、急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向

- ・ 1,000 mg/kg体重/日以上 of 投与群 (雌) : 嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸 (投与投与3週間後まで)

- ・ 250 mg/kg体重/日投与群 (雌) : 体重増加の抑制傾向

NTP (1987) は、1,500 mg/kg体重/日投与群 (雄) 及び2,000 mg/kg体重/日投与群 (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週間後)、125 mg/kg体重/日以上 of 投与群 (雌) において体重増加の抑制、並びに投与群 (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加が認められたとしている。

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。

EFSA (2015) は、187.5 mg/kg体重/日投与群を除く全群 (雄) において、軽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。また本試験の結果から、NOAELを250 mg/kg体重/日としている。(参考14、15、92、108) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、110 Questra (1987)】

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あるか
(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

○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。

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。

b. ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）（NTP（1987）、JECFA（1991）、EFSA（2015）で引用））

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。

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
------	--

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 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

その他、以下の所見が認められた。

- ・ 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 of 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 of 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 of 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~~、92、108) 【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によいか

【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

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。

1

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。

2

3 c. ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験 (BayerAG 社内資料 (Bomhard and
4 Karbe (1985) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用)) ³⁵⁾

5 Wistar ラット (雌雄、各群 5 匹) に MC を表 30-1 のような投与群を設定し、
6 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。

7

8 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
------	--

9

10 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。

11

12 表 30-2 MC 毒性所見

投与群	毒性所見	
強制経口投与	雄	雌
800 mg/kg 体重/日	<投与4週間後のみ> 血漿中ALP活性の低下、	<投与4週間目> 死亡 (1匹)、 <投与4週間後のみ>

³⁵⁾ 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。

毒性 (MC)

	AST³⁶、ALT³⁷活性、トリグリセリド濃度の増加 <投与4週間後及び13週間後> 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	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 <投与4週間後及び13週間後> 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
400 mg/kg 体重/日	<投与13週間後> 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	<投与4週間後> 血漿中アルカリホスファターゼ (ALP) 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 <投与13週間後> 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
200 mg/kg 体重/日	<投与13週間後> 脾臓の相対重量の減少	<投与4週間後> 血漿中ビリルビン濃度の低下 <投与13週間後> 血漿中ALT活性の増加

1

飲水投与	雄	雌
800 mg/kg 体重/日	<投与4週間後及び13週間後> 体重増加の抑制、精巣の絶対及び相対重量の減	<投与4週間後> 血漿中ビリルビン濃度の低下 <投与4週間後及び13週間後

³⁶ 原著では GOT とされている。

³⁷ 原著では GPT とされている。

	少、 血漿中AST、ALT活性、コレ ステロール濃度の増加	> 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 <投与13週間後> 血漿中AST活性、トリグリセ リド濃度の増加
--	-------------------------------------	---

事務局より：

毒性所見について、< 4 週間後> < 4 週間後及び13週間後> <13週間後>の順に並び替えました。

その他、以下の所見が認められた。

<経口強制投与>

- ・ 800 mg/kg体重/日投与群（雌雄）：全身状態の悪化、感情鈍麻、立毛、わき腹の陥凹、肝臓Kupffer細胞の鉄含有顆粒色素の増加
- ・ 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
- ・ 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
- ・ 200 mg/kg体重/日の投与群（雌）：摂水量の減少傾向

<飲水投与>

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

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。
- ・精巣及び脾臓への影響については、被検動物の数が比較的少なく、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ををするとしている。（参考~~1-4~~、~~1-5~~、109）【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」かと思いますので、今のままでも良いかと思います。

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 of 投与群で絶対重量の減少、雄で200 mg/kg体重/日以上 of 投与群及び雌で400 mg/kg体重/日以上 of 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。

d. 参考資料

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ことから、参考資料として記載する。

(a) マウス 16 日間経口投与試験³⁸ (NTP (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

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

表 31 MC 試験群の設定用量設定

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。

4,000 mg/kg 体重/日投与群：死亡 (雄 5 匹、雌 5 匹)

2,000 mg/kg 体重/日投与群：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、92) 【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

³⁸ 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。

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のような試験群投与群を設定して、7日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 32 MC 試験群の設定用量設定

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。

- ・ 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/日以上との投与群：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

Bomhard及びKalinierは、1,000 mg/kg体重/日投与群で認められた血漿中トリ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))³⁹と異なることから、肝毒性に関してWistarラットとFischer344ラットでは大きく異なることが示唆されると考察している。

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/日としている。

JECFA (1991) は、500 mg/kg体重/日以上との投与群において、肝臓及び脾臓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。

EFSA (2015) は、500 mg/kg体重/日以上との投与群において、肝臓及び脾臓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か利用できないとしている。(参考14、15、110)【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、109 Bomhard and Kalinier (1984)】

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。

³⁹ 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。

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。

(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 のような試験群を設定して、7 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 33 MC 試験群の設定の用量設定

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。

- ・ 500 mg/kg 体重/日以上 of 投与群：血漿中 AST⁴⁰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 of 投与群：血漿中 ALT⁴¹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。(参照 111) 【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「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：

⁴⁰ Bomhard ら (1989) では ASAT (aspartase-aminotransferase) と記述されている。

⁴¹ Bomhard ら (1989) では ALAT (alanine-aminotransferase) と記述されている。

同意いたします。

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

Fischer344 ラット (雌雄、各 5 匹) に MC を表 34 のような試験群投与群を設定して、16 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 34 MC 試験群の設定用量設定

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。

- ・ 2,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群：死亡 (雄 5 匹、雌 5 匹)
- ・ 1,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群 (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

NTP (1987) は、1,000 mg/kg体重/日以上以上の投与群 (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、92、108) 【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日間のため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。

④ 発がん性

事務局より：

第 166 回専門調査会の御議論において、「6 か月間、12 か月間、18 か月間」の試験と「103 週間」の試験は用量設定が異なるため分けて記載することとされました。また、

- ・ 毒性所見、その他の所見として記載する所見
- ・ 専門調査会としての判断

について整理が必要とされ、現在文案調整中です。(107 ページまで)

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 (1987) (JECFA (1991) 及び EFSA (2015) で引用))

B6C3F1マウス (雌雄、各10匹) にMCを表 35-1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、B6C3F1マウス (雌雄、各群50匹) にMCを表 35-2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 35-1 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
------	--------------------------

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
------	------------------------------

その結果、試験Iの各投与群では、各投与期間後ともに、肝臓において被験物質に関連した病理組織学的な影響は認められなかった。

試験IIでは、各投与群に以下の所見が認められた。

- ・ 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現頻度の増加傾向
- ・ 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
- ・ 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

の増加傾向

なお、試験IIの1,000 mg/kg体重/日投与群（雄）において、肝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。

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

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、9 2) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】

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。

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。

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のような試験群投与群を設定して、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。

表 36 MC 試験群の設定用量設定

用量設定 ⁴²	0 (対照群)、0.5、2.5、12.5、62.5 mg/kg 体重/日
--------------------	--------------------------------------

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る。

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Steinhoffの結論に同意するとしている。(参考~~14~~、~~15~~、105)【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、104 Steinhoff (1978)】

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。

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。

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。

⁴² 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

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 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

その他、試験Iの各投与群において、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) : 骨髄低形成及び白内障の出現個体の増加

試験 II において、各投与群で認められた毒性所見は表 37-4 のとおりである。

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)

その他、試験IIの各投与群において、以下の所見が認められた。

- ・ 200 mg/kg/日投与群

(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、腫瘍性結節の増加傾向

(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、心臓の慢性炎症及び多巣性線維化の増加傾向

(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傾向、白内障の増加傾向

- ・ 100 mg/kg/日以上投与群

(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、肝細胞の過形成の増加傾向

(雌) : 肝細胞の変性の増加傾向、眼の強膜の骨化生の増加傾向

(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

これらの試験結果から、NTP (1987) は、Fischer344ラットにおいてMCに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、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 (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られている。

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

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。
(参考、9 2) 【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)】

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があるか

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。

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

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 (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験が実施されている。

表 38 MC 試験群の設定用量設定

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

その結果、MC の発がん性を示す証拠は認められなかった。

JECFA (1991) は、Steinhoff が投与群で合計の腫瘍発生数に変化が認めら

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に発がん性は認められなかったと結論づけたとしている。

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している。(参考、106)【31JECFA (1991)、35EFSA (2015)、105 NTP (1987)、107Steinhoff (1977)】

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。

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。

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。

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 (ビフェニル-4-ヒドロキシラーゼ biphenyl-4-hydroxylase (BPH-4-OH) (無処理群のみ)、7-エトキシクマリン-O-デエチラーゼ 7-ethoxycoumarin deethylase (ECOD⁴³) 及び アルドリンエポキシダーゼ aldrin-epoxidase (ALD)) 及び エポキシドヒドロラーゼ epoxide-hydrolase (EH) の活性並びに細胞質中の GST⁴⁴の 酵素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 酵素活性が平均で約 4 倍高く、また ALD の 酵素活性も約 50%高かった。一方、EH 及び GST の 酵素活性はそれぞれ約 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、無処置群に比較して ECOD、EH 及び GST の 酵素活性が、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 酵素活性が約 10%高く、ALD 及び GST の 酵素活性がそれぞれ約 60%及び約 10%低かった。

(参照 1 2、6 2) 【31 JECFA (1991)、77 Schmidt and Schmidt (1987)】

事務局：

酵素名を日本語にするなどの記載整備を行いました。

b. 代謝酵素活性等への影響 (ラット) (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 39 のような 試験群投与群を設定して、7 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 39 MC 試験群の設定の用量設定

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

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 (ECOD、ALD、EH 及び GST⁴⁵) 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 日の MC の尿中排泄率は低かったが、投与開始後 7 日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 (ECOD、ALD、EH 及び

⁴³ BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) では EOD と略されている。

⁴⁴ BayerAG 社内資料 (Schmidt and Schmidt (1987) では GSH-transferase (glutathione transferase) とされている。

⁴⁵ Bomhard ら (1989) では GSH-T (glutathione-S-transferase) と記述されている。

GST) の活性については、Wistar ラットの投与群では、対照群と比較して ECOD 及び EH の酵素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 の酵素活性の 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 1 1 2) 【78 Bomhard ら (1989)】

⑦ その他の試験

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

MC について、シリアンハムスター胚細胞 (SHEM 細胞) (最高用量 50 µg/mL) 又はラウシャーマウス白血病ウイルス感染 Fischer344 ラット胚細胞 (R-MuLV-RE 細胞) (12、120 及び 1,200 µg/mL) を用いた形質転換試験が実施された。

その結果、SHEM 細胞では陰性であったが、R-MuLV-RE 細胞では 120 µg/mL 以上のばく露で陽性であった。(参照 1 1 3) 【137】

b. 形質転換試験 (Sakai ら (2010))

MC について、Bhas42 細胞⁴⁶ (最高用量 1,000 µg/mL (13.3 mmol/L) を用いた形質転換試験が実施された。

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。(参照 1 1 4、1 1 5) 【追加 12-1 Sakai ら (2010) ,追加 12-2 Sakai ら (2010)】

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) . . .

⁴⁶ 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

（６）炭酸ジメチル（DMC）

① 遺伝毒性

DMC の遺伝毒性に関する知見は認められなかった。

② 急性毒性

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

表 40 DMC に関する急性毒性の試験成績—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）	10,163	LANXESS 社 内 資 料 (Steinhoff (1974)) (参照 1 1 6) 【138】
ラット（雌）	10,349	

③ 反復投与毒性

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

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

表 41 DMC 試験群の設定用量設定

用量設定	0（対照群）、1,000、3,000、10,000 ppm
mg/kg 体重/日 ⁴⁷	雄：0、100、280、890 mg/kg 体重/日 雌：0、120、370、1,110 mg/kg 体重/日

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よる影響は認められなかった。

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

EFSA（2015）は、Eiben らの本試験における DMC の NOAEL を雄で 890 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 NOAEL に同意するとしている。（参照 1 1 7）【35EFSA（2015）、139Eiben ら（1982）】

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。

高橋専門委員：

⁴⁷ 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。

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（55 ページ）及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績（62 ページ）並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（80 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）

山田専門委員：

遺伝毒性部分に修正はありません。

1 ~~（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。

2

3

4 ~~（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。

5

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。

6

7

8

9

III. 一日摂取量の推計等

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、DMDC のほか、添加飲料中で生成するに残留するDMDC 関連化合物についても検討を行った。

1. 我が国における摂取量

(1) 現在の食品由来の摂取量

添加物「二炭酸ジメチル」は未指定であり、使用実績がない。

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、果実フルーツジュース、発酵飲料等の飲食物にも含まれている。

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 までと規定されている⁴⁸。

我が国における知見ではないが、果実ジュース等におけるメタノールの濃度について、次のような報告がある。

Bayer AG（社内資料）（1987）によると、v. Fellenberg（1913 & 1918）はカブ（Palatinate turnips）に 2,050 mg/kg、カリフラワーに 650 mg/kg、リンゴに 680 mg/kg、ケールに 1,910 mg/kg のメタノールが含まれていると報告し、また、Baumann and Gierschner（1974）はカシスに 106～290 mg/kg のメタノールが含まれていたと報告している。（参照 1 1 8）【163 Bayer AG（社内資料）】

Françot & Geoffroy（1956）は、メタノールが果実ジュースに 12～680 mg/mL（平均 141 mg/mL）、各種果実酒ワインに平均 32～452 mg/mL のメタノールが含まれるとしている。（参照 1 1 9）【71 Françot P & Geoffroy P（1956）】

Wucherpfenning ら（1983）は、メタノールが果実ジュース（果肉無し）に 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ている。（参照 1 2 0）【65Wucherpfenning ら（1983）】

また、LANXESS社内資料（Kock（2008））では、欧州で市販されている典型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 mg/L含まれていたとしている。（参照 1 2 1）【3 LANXESS社内資料（Kock（2008））】

~~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 までと規定されている。~~

森田専門委員：

⁴⁸「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。」

これまで、明らかに添加前の食品にも含まれている化合物については、その値も推定して、最終的な一日摂取量を求めています。メタノールやMCなどDMDC関連化合物についても、明らかに一般的な食品にも含まれているのであれば、それらも必要かと思えます。

メタノールは果実ジュースに680 mg/L、アルコールに食品衛生法上限まで含まれているとすると、小児の場合、DMDC由来メタノール＋食品（果実ジュース；国民健康・栄養調査における「果汁・果汁飲料」）では2.84mg/kg体重/日となり、国民総数で、DMDC由来メタノール＋食品（アルコール飲料；国民健康・栄養調査における「アルコール飲料」（日本酒、ビール、洋酒・その他））では3.01mg/kg体重/日となりました。

品目の概要（14ページ）の文章からは、MCも添加前から含まれているように考えられます。DMDC添加前のそれぞれの物質の含有量のデータが読み取れる文献があれば、それらもこちらへ記載していただくのはどうでしょうか。

事務局より：

メタノールは新鮮な果物、野菜、果実ジュース、発酵飲料等の飲食物に含まれているとされています。メタノールの食品中濃度のデータが得られているのは一部の食品群（果汁・果汁飲料、果実酒等）のみですが、DMDC由来メタノールが食品由来のメタノール摂取量と比べてどの程度か考察する上で参考となると考えられることから、情報が得られている範囲内で食品由来の摂取量（平均値、最大値等）を求め、ここに記載のように、DMDC由来メタノールの推計値と比較し、考察することによってよろしいでしょうか。

なお、MCについては、Ough & Langbehn（1976）にぶどう酒における情報はありますが、その他の食品での含有量は不明です。ぶどう酒の場合も記載のとおり微量ですが、食品由来の摂取量について記載の必要性がありますでしょうか。

【記載例】

食品中での含有量が報告されている化合物について、食品中での濃度及び喫食量を基に食品由来の摂取量推計を行った。

その結果、メタノールについて、果実ジュースから国民平均（1歳以上）では最大7.3 mg/人/日、平均1.5 mg/人/日、小児（1～6歳）では最大17 mg/人/日、平均3.6 mg/人/日[注釈1]、アルコール飲料から国民平均では最大99.1 mg/人/日、小児では最大1.4 mg/人/日[注釈2]となった。

[注釈1] 食品中でのメタノールの濃度はFrançois & Geoffroy（1956）に基づき、最大680 mg/L、平均140 mg/Lとして、また、喫食量は平成28年国民健康・栄養調査の食品群別摂取に基づき、「果汁・果汁飲料」国民平均10.7 g/日、小児25.6 g/

日として算出した。

[注釈2] 食品中でのメタノールの濃度は食品衛生法下での基準（厚生省通知）に基づき、最大1,000 mg/Lとして、また、喫食量は平成28年国民健康・栄養調査の食品群別摂取量に基づき、「アルコール飲料」（日本酒、ビール、洋酒・その他）国民平均99.1 g/日、小児1.4 g/日として算出した。

また、Ough & Langbehn（1976）では、ぶどう酒にDMDCを添加する前のMCの量は2.0～5.5 µg/L（検出限界値約2 µg/L）として、ぶどう酒にDMDCを添加した後に生成するMCの正味の生成量を算出している。

MCの摂取量は「洋酒・その他」から国民平均0.16 µg/日以下[抽出3]と算出された。

[注釈3] 食品中でのMCの濃度はOugh & Langbehn（1976）に基づき、最大5.5 µg/Lとして、また、喫食量は平成28年国民健康・栄養調査の食品群別摂取量に基づき、「洋酒・その他」国民平均28.6 g/日、小児0.2 g/日として算出した。

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。

（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：

補足資料に基づき修正しています。

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、厚生労働省（~~2017~~2015）又は一般社団法人全国清涼飲料工業会（2016）による報告値から以下のとおり推計している。

厚生労働省が実施した平成~~28~~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国民平均（1歳以上）及び小児（1～6歳）における平均摂取量（総数、1歳以上）は表42のとおりである。（参照122）【167】

表42 国民健康・栄養調査によるDMDC添加対象飲料の平均摂取量（g/人/日）注
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
-----	-------

			国民平均 平均摂取量（総数、 1 歳以上） （g/人/日）	小児 <u>（1～6 歳）</u>
野菜類	野菜ジュース		<u>12.2</u> 11.4	<u>10.0</u>
果物類	果汁・果汁飲料		<u>10.7</u> 9.4	<u>25.6</u>
嗜好飲料	アルコール飲料	洋酒・その他	<u>28.6</u> 33.3	<u>0.2</u>
	その他の嗜好飲料	茶	<u>237.9</u> 257.7	<u>38.9</u>
		コーヒー・ココア	<u>133.3</u> 131.2	<u>1.7</u>
		その他の嗜好飲料	<u>134.7</u> 101.2	<u>169.1</u>
合計			<u>557.5</u> 544.2	<u>245.5</u>

注) ~~（平成2826年国民健康・栄養調査（2017）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123、124）【8 一般社団法人全国清涼飲料工業会（2016）、168 国税庁（2015）】

表43 生産量統計資料によるDMDC添加対象飲料の平均摂取量（mL/人）注1
~~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）~~

		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			
	果汁・野菜系飲料（小計）	18,628	51			
	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			
清涼飲料（小計）		111,896	307	878／641	112,133	307
果実酒類		3,704	10	0注2／34注3	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)—

注1) 2016年 清涼生産量統計調査(一般社団法人全国清涼飲料工業会(2016))、2015年 酒類の輸出金額・数量の推移(国税庁課税部酒税課(2016))に基づく推計。人口は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)による。酒類は成人人口を対象として、10,502万人で推計している。

注2) 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。

注3) 「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】

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等(DMDCの残留量及びDMDC関連化合物の生成量の最大値)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⁴⁹。

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49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。

「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。」とされていることから、DMDCの「残留量」という記載ぶりとしています。

なお、DMDCについては、検出限界値0.05mg/Lを「最大残留量」として、検出限界値に対象飲料の合計1日摂取量を乗じて推計している。指定等要請者は、使用基準案に従って使用する限りDMDCは飲料に添加後短時間内に加水分解し、消費される時点で飲料製品中に残存しないため、DMDCが消費者に摂取されることはないことから、この数値は過大な推計と考えられるとしている。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及び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
---------	---------

⁴⁹ 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。

	推定一日摂取量		DMDC 250 mg/L 添加時 の最大残留量 等 (mg/L)				
	(g/人/日)			(mg/人/日)		(mg/kg 体重/日)	
	平均 ^{注1}	小児 ^{注2}		平均 ^{注1}	小児 ^{注2}	平均 ^{注1}	小児 ^{注2}
DMDC	557.5	245.5	0.05 ^{注3}	0.028	0.012	0.00051	0.00074
メタノール	557.5 544.2	245.5	120	66.9 65.3	29.5	1.21 1.19	1.79
N-CMC	557.5 544.2	245.5	5	2.79 2.72	1.23	0.051 0.050	0.074
MEC ^{注4}	28.6 33.3	0.2	10	0.29 0.33	0.002	0.0052 0.006	0.00012
MC	557.5 544.2	245.5	0.025	0.014 0.014	0.006	0.00025 0.00025	0.00037
DMC	557.5 544.2	245.5	0.5	0.28 0.27	0.12	0.0051 0.005	0.0074

注1) 平均：国民平均（1歳以上）、体重は55.1 kg（平成26年3月31日食品安全委員会決定）を利用。

注2) 小児：1～6歳、体重は16.5 kg（平成26年3月31日食品安全委員会決定）を利用。

注3) 消費される段階ではDMDCは残留しないとして、検出限界値（0.05 mg/L）を最大残留量とした。

注4) MECはアルコール飲料（洋酒・その他）でのみ生成と仮定。

事務局より：

概要書に「したがって、N-CMCの体重kg当たり1日摂取量は最大でそれぞれ51 μg/kg 体重/日、74 μg/kg 体重/日となるが、本化合物にはDMDCがフェノール、アミノ酸等飲料中の他成分と反応した結果生成する一連の化合物が含まれることから、N-CMCと総称される個々の化合物の体重kg当たり1日摂取量はさらに低い数値になると推定できる」と記載があるため、「N-CMC」ではなく、「CMC」として記載しています。

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 以下、CMCが約4 mg/L、MCが20 μg/L 未満、また、DMCが0.5 mg/L 以下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している。また、Stafford & Ough（1976）等によれば、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12）【WHO

FAS 28 (1990) 31】

(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/人 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 24、26、27)【22FR(1988)、24FR (1994)、25FR (1996)】

(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、二酸化炭素 CO_2 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℃) 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 パネル 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、対象食品高消費群メタノール摂取量が多い群で 15.1~35.1 mg/kg 体重/日としている。(参照 11、29、30)【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。

表 45 DMDC 関連化合物の推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日) 注1)

対象物質	注2)	4~11 か月児	12 ~ 35 ヶ月児	3~9 歳	10~17 歳	18 ~ 64 歳	65 歳以上

メタノール	平均値の範囲	<0.1-0.3	<0.1-2.0	0.1-1.7	0.2-1.2	0.1-0.6	0.1-0.3
(—mg/kg 体重/日)	95 パーセンタイル値の範囲	(< 0.1-2.0)	<0.1-5.8	0.6-4.3	0.7-2.9	0.5-2.1	0.3-0.8
MEC	平均値の範囲	<0.00001-0.00008	<0.00001-0.00023	<0.00001-0.00129	0.00001-0.00132	0.00065-0.0123	0.00238-0.0185
(—μg/kg 体重/日)	95 パーセンタイル値の範囲	<0.00001-	<0.00001-0.00011	<0.00001-0.00515	<0.00001-0.00977	<0.00001-0.0543	0.0132-0.0588
MC (μg/kg 体重/日)	平均値の範囲	<0.00001-0.00007	<0.00001-0.00041	0.00003-0.00034	0.00004-0.00025	0.00002-0.00013	0.00001-0.00006
	95 パーセンタイル値の範囲	<0.00001-0.00042	<0.00001-0.00120	0.00013-0.00090	0.00015-0.00061	0.00010-0.00043	0.00007-0.00017
DMC	平均値の範囲	<0.0001-0.0014	<0.0001-0.0082	0.0005-0.0069	0.0007-0.0049	0.0004-0.0026	0.0003-0.0011
(—μg/kg 体重/日)	95 パーセンタイル値の範囲	<0.0001-0.0084	<0.0001-0.0240	<0.0001-0.0240	0.0031-0.0121	0.0019-0.0086	0.0014-0.0034

注1) [EFSA \(2015\) \(参照 1 1\)](#)。メタノール、MC、DMC : DMDC の最大使用可能量を用いた推計、

—MEC : 報告された DMDC の使用量を用いた推計

注2) [平均値の範囲④](#) : 推定摂取量の平均値の下限・上限、[95 パーセンタイル値の範囲⑤](#) : 推定摂取量の 95 パーセンタイル値の下限・上限

事務局より：

表中の数値について、mg/kg 体重/日とμg/kg 体重/日が混在していましたが、mg/kg 体重/日で統一するほか、記載整備しました。

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	洋酒・その他	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：

補足資料に基づき、修正しています。

西専門委員：

平成 28 年国民健康・栄養調査を用いた再推計による資料案に、特に問題となるところはないと思います。

本専門調査会としては、~~指定等要請者の推計を是認し~~、DMDC の使用により生じる可能性がある DMDC 及び DMDC 分解物等 関連化合物の一日摂取量について、表 46 のとおりと判断した。

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、「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）に基づき、検出限界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象飲料の一日摂取量を用いて推定摂取量を推計した。

表 46 DMDC 及びその分解物等の推定一日摂取量

	<u>DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量等 (mg/L)</u>	<u>推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日)</u>	
		<u>国民平均^{注1}</u>	<u>小児^{注2}</u>
<u>DMDC</u>	<u>0.05^{注3}</u>	<u>0.00051</u>	<u>0.00074</u>
<u>メタノール</u>	<u>120</u>	<u>1.21</u>	<u>1.79</u>
<u>CMC</u>	<u>5</u>	<u>0.051</u>	<u>0.074</u>
<u>MEC</u>	<u>10</u>	<u>0.0052</u>	<u>0.00012</u>
<u>MC</u>	<u>0.025</u>	<u>0.00025</u>	<u>0.00037</u>
<u>DMC</u>	<u>0.5</u>	<u>0.0051</u>	<u>0.0074</u>

注1) 平均：国民平均（1歳以上）、体重は 55.1 kg（平成 26 年 3 月 31 日食品安全委員会決定）を利用。

注2) 小児：1～6 歳、体重は 16.5 kg（平成 26 年 3 月 31 日食品安全委員会決定）を利用。

注3) 消費される段階では DMDC は残留しないとして、検出限界値（0.05 mg/L）を最大残留量とした。

	<u>DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量</u>	<u>推定一日摂取量</u>
<u>DMDC</u>	<u><0.05 mg/L（検出限界未満）</u>	<u>0.5 µg/kg 体重/日</u>
<u>メタノール</u>	<u>120 mg/L</u>	<u>1.19 mg/kg 体重/日</u>
<u>N-CMC</u>	<u>5 mg/L</u>	<u>50 µg/kg 体重/日</u>
<u>MEC</u>	<u>10 mg/L</u>	<u>6 µg/kg 体重/日</u>
<u>MC</u>	<u>0.025 mg/L</u>	<u>0.25 µg/kg 体重/日</u>
<u>DMC</u>	<u>0.5 mg/L</u>	<u>5 µg/kg 体重/日</u>

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、
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、
 $544.2 \text{ (g/人/日)} \div 1 \text{ (g/mL)} \times 0.05 \text{ (mg/L)} \div 55.1 \text{ (kg 体重/人)} = 0.5 \text{ (}\mu\text{g/kg 体重/日)}$

事務局より：

表中の数値について、mg/kg 体重/日と $\mu\text{g/kg}$ 体重/日が混在していましたが、mg/kg 体重/日で統一しています。

事務局より：

121ページ「(1) 現在の摂取量」において、食品由来の一日摂取量を推計する場合、DMDC由来関連化合物の摂取量と比較できるように、情報が得られている範囲内で食品由来の摂取量 (平均値、最大値等) を求め、下表のようにまとめることによろしいでしょうか。

(イメージ)

	DMDC 250 mg/L 添加時の最大残留量等 (mg/L)	DMDC 由来推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日)		(参考) 食品由来推定一日摂取量 (mg/kg 体重/日)	
		国民平均 (体重 : 55.1 kg)	小児 (体重 : 16.5 kg)	国民平均 (体重: 55.1 kg)	小児 (体重 : 16.5 kg)
DMDC	0.05 (検出限界値)	0.00051	0.00074	知見なし	知見なし
メタノール	120	1.21	1.79	果汁・果汁飲料、アルコール飲料由来 : 最大 1.93 平均 ●	果汁・果汁飲料、アルコール飲料 : 最大 1.21 平均 0.23
CMC	5	0.051	0.074	知見なし	知見なし
MEC	10	0.0052	0.00012	知見なし	知見なし
MC	0.025	0.00025	0.00037	洋酒・その他由来 : 最大 0.000003	洋酒・その他由来 : 最大 0.00000007
DMC	0.5	0.0051	0.0074	知見なし	知見なし

1 IV. 食品健康影響評価
2 (文案作成中)

3

事務局より：
追って作成いたします。

4

5

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 [41] 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 [46] LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® (DMDC) stability test 2008 (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月) 【Koch F】 【46】
- ⁶ [61] ~~Genth HKrefeld-Uerdingen-GH~~: Dimethyl dicarbonate – a new disappearing substance for alcohol-free soft drinks containing fruit juice. Mineralwasser-Zeitung 1979; 13: 1-15 【61】
- ⁷ [36] LANXESS Deutschland GmbH: Dimethyl Dicarbonate (DMDC) - Chemical and Physical Properties - (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月) 【36】
- ⁸ [62] 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 [20] 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 [51] Labor Dr. Haase-Aschoff: Sample preparation and determination of DMDC (Labor Dr. Haase-Aschoff 社内資料、1998 年 9 月) 【51】
- ¹¹ [35] 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】
- ¹² [31] 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】

^{1 3} [22] 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】

^{1 4} [23] 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】

^{1 5} [24] 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】

^{1 6} [25] 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】

^{1 7} [32] 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】

^{1 8} [33] 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】

^{1 9} [34] Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the use of dimethyl dicarbonate (DMDC) in wines, 12 July 2001 【34】

^{2 0} [35] LANXESS Deutschland GmbH: List of related substances (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 8 月) 【63】

^{2 1} [98] 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】

^{2 2} [102] 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】

^{2 3} [2] Bayer AG: Dimethyl dicarbonate (DMDC), Technical effect (Bayer AG 社内資料、1988 年 3 月) 【2】

^{3 1} [17] Codex Alimentarius Commission: General Standard for Food Additives, CODEX STAN 192-1995, Revision 2017 【17】

^{3 2} [21] Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Committee on Food Additives, Forty Fifth session, 18-22 March 2013 【21】

^{3 3} [26] Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.35 2000 【26】

^{3 4} [27] Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.483 2005 【27】

^{3 5} [28] Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarboxylate. Federal Register 2001; 66(45): 13652-3 【28】

^{3 6} [29] 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>

^{3 7} [30] 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】

^{3 8} [66] 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】

^{3 9} [67] 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】

^{4 0} [5] 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】

^{4 1} [6] Food Standards Australia New Zealand: Application A1025: Classification of DMDC explanatory statement. Food Standards Australia New Zealand - Amendment No. 121 - 2011 【6】

^{4 2} [20] 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】

^{4 3} 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)

^{4 4} [64] 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】

^{4 5} [追加 3] 第 8 版食品添加物公定書解説書, 2007 年 【追加 3】

~~^{4 6} [68] 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】~~

~~^{4 7} [追加 4] NTP: NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Methanol, 2003 【追加 4】~~

^{4 8} [追加 11] 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】

^{4 9} [69] 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】

^{5 0} [72] Røe O: Species differences in methanol poisoning. Crit. Rev. Toxicol. 1982; 10: 275-86 【72】

^{5 1} [追加 9] Lund A: Metabolism of methanol and formic acid in rabbits. Acta pharmacol. 1948; 4: 99-107 【追加 9】

^{5 2} [追加 10] Makar AB, Tephly TR and Mannering GJ: Methanol metabolism in the monkey. Mol. Pharmacol. 1963; 4: 471-483 【追加 10】

^{5 3} [追加 1] Skrzydlewska E: Toxicological and Metabolic Consequences of Methanol Poisoning. Toxicology Mechanisms and Methods. 2003; 11: 277-293 【追加 1】

^{5 4} [70] 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】

^{5 5} [68] 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】

^{5 6} [追加 4] NTP: NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Methanol、2003【追加 4】

^{5 7} [73] Bayer AG: Investigations of the enzymolysis of N-carbomethoxy proline (Bayer AG 社内資料、1978 年 1 月)【Schmidt U (1978)】【73】

^{5 8} [74] Bayer AG: Enzymatic hydrolysis of carbomethoxy compounds (Bayer AG 社内資料、1974 年 12 月)【Rauenhusch (1974)】【74】

^{5 9} [79] 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】

^{6 0} [75] Boyland E and Papadopoulos D: The metabolism of methyl carbamate. Biochem. J. 1952; 52; 267-9【75】

^{6 1} [80] 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】

^{6 2} [77] 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】

^{6 3} [76] Boyland E and Nery R: The metabolism of urethane and related compounds. Biochem. J. 1965; 94; 198-208【76】

^{6 4} [93] 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】

^{6 5} [95] Bayer AG: Orange juice treated with 4000 ppm Velcorin. almonella/microsome test. (Bayer AG 社内資料、1989 年 8 月)【Herbold B (1989)】【95】

^{6 6} [96] 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】

^{6 7} [82] 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】

^{6 8} [86] 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】

^{6 9} [89] 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】

^{7 0} [90] 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】

^{7 1} [88] 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】

^{7 2} [91] 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】

^{7 3} [92] 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】

^{7 4} [162] 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】

^{7 5} [141] Smith EN and Taylor RT: Acute toxicity of methanol in the folate-deficient acatalasemic mouse. Toxicology 1982; 25: 271-87 【141】

^{7 6} [145] 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】

^{7 7} [147] 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 8} [146] 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 9} [144] 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】

^{8 0} [140] 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】

^{8 1} [148] Cooper JR and Felig P: The biochemistry of methanol poisoning: II. Metabolic acidosis in the monkey. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1961; 3: 202-9 【148】

^{8 2} [160] 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】

^{8 3} [161] Cummings AM: Evaluation of the effects of methanol during early pregnancy in the rat. *Toxicology* 1993; 79: 205-14 【161】

^{8 4} [157] 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】

^{8 5} [97] Bayer AG: N-Carbomethoxy compounds. (Bayer AG 社内資料、1973 年) 【Steinhoff D (1973)】 【97】

^{8 6} [99] Bayer AG: Methyl ethyl carbonate: Acute toxicity in mice and rats. (Bayer AG 社内資料、1973 年) 【Steinhoff D (1973)】 【99】

^{8 7} [100] 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】

^{8 8} [101] 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】

^{8 9} [132] 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】

^{9 0} [127] 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】

^{9 1} [133] 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】

^{9 2} [134] McCarroll NE, Keech BH and Piper CE: A microsuspension adaption of the *Bacillus subtilis* "rec" assay. Environ. Mutagen. 1981; 3: 607-16 【134】

^{9 3} [105] 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】

^{9 4} [123] de Giovanni-Donnelly R, Kolbye SM and Dipaolo JA: The effect of carbamates on *Bacillus subtilis*. Mutat. Res. 1967; 4: 543-51. 【123】

^{9 5} [128] 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】

^{9 6} [124] Simmon VF: In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with *Salmonella typhimurium*. J. Natl. Cancer Inst. 1979; 62: 893-9 【124】

^{9 7} [125] Demerec M, Bertani G and Flint J: A survey of chemicals for mutagenic action on *E. coli*. Am. Nat. 1951; 85: 119-36. 【125】

^{9 8} [126] Hemmerly J and Demerec M: XIII. Tests of chemicals for mutagenicity. Cancer Res. 1955; 15: 69-75. 【126】

^{9 9} [130] 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】

^{1 0 0} [129] 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】

^{1 0 1} [135] Cheng M, Conner MK and Alarie Y: Multicellular SCE study of some carbamates esters. Environ Mutagen 3: 385 (Abstract). 【135】

^{1 0 2} [136] 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】

^{1 0 3} [131] 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】

^{1 0 4} [103] 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】

¹⁰⁵ [104] 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】

¹⁰⁶ [107] 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】

¹⁰⁷ [108] 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】

¹⁰⁸ [110] 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】

¹⁰⁹ [111] 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】

¹¹⁰ [109] 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】

¹¹¹ [78] 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】

¹¹³ [137] 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】

¹¹⁴ [追加 12-1] 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】

¹¹⁵ [追加 12-2] 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】

¹¹⁶ [138] Bayer AG: Dimethyl carbonate, Acute toxicity (Bayer AG 社内資料、1974 年) 【Steinhoff D (1974)】 【138】

¹¹⁷ [139] 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】

¹¹⁸ [163] 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 11 月)

¹¹⁹ [71] Françot P and Geoffroy P: Methanol in fruit juices, fermented beverages, alcohols and spirits. Rev. Ferment. Ind. Aliment. 1956; 11: 279-87 【71】

¹²⁰ [65] Wucherpfenning H, Dietrich H and Bechtel J: Alcohol: Free, total and potential methanol content of fruit juices. Flüssiges Obst 1983; 8: 348-54 【65】

¹²¹ [3] LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® - natural methanol contents in soft drinks (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2008 年 10 月) 【3】

¹²² [追加 8] 厚生労働省：平成 28 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 29 年 (2018 年 1 月取得) 【追加 8】

¹²³ [8] 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】

¹²⁴ [168] 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】