第 168 回資料２

（案）

添加物評価書

二炭酸ジメチル

２０１８年８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 8
　７．安定性 8
　８．起源又は発見の経緯 13
　９．諸外国における使用状況 14
　１０．国際機関等における評価 16
　１１．評価要請の経緯及び添加物指定の概要 20
Ⅱ．安全性に係る知見の概要 21
　１．体内動態 25
　（１）二炭酸ジメチル（DMDC） 25
　（２）メタノール 26
　（３）カルボメトキシ化合物（CMC） 36
　（４）炭酸エチルメチル（MEC） 40
　（５）カルバミン酸メチル（MC） 41
　（６）炭酸ジメチル（DMC） 47
　（７）体内動態のまとめ 48
　２．毒性 51
　（１）DMDC 51
　（２）メタノール 70
　（３）カルボメトキシ化合物（CMC） 90
　（４）炭酸エチルメチル（MEC） 93
　（５）カルバミン酸メチル（MC） 96
　（６）炭酸ジメチル（DMC） 135
Ⅲ．一日摂取量の推計等 138
　１．我が国における摂取量 138
　２．国際機関等における推計 142
　３．摂取量の推計等のまとめ 144

Ⅳ. 食品健康影響評価 146
１．二炭酸ジメチル（DMDC） 147
２．メタノール 147
３．カルボメトキシ化合物（CMC） 149
４．炭酸エチルメチル（MEC） 150
５．カルバミン酸メチル（MC） 150
６．炭酸ジメチル（DMC） 153
７．添加物「二炭酸ジメチル」 153
＜別紙１：略称＞ 155
＜参照＞参考資料一覧 156

＜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
2018 年 5 月 30 日	補足資料の接受（2018 年 3 月 14 日依頼分）
2018 年 5 月 31 日	第 167 回添加物専門調査会
2018 年 8 月 27 日	補足資料の接受（2018 年 3 月 1 日依頼分）
2018 年 8 月 29 日	第 168 回添加物専門調査会

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2017年~~6~~61月~~30~~307日までから）	（2017年7月1日から）
佐藤　洋　（委員長）	佐藤　洋　（委員長）
山添　康　（委員長代理）	山本　茂貴（委員長代理）
吉田　緑	川西　徹
山本　茂貴	吉田　緑
石井　克枝	香西　みどり
堀口　逸子	堀口　逸子
村田　容常	吉田　充

＜食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿＞

（2017 年 ~~3~~10 月 ~~3~~11 日までから）

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
髙須　伸二
髙橋　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
髙須　伸二
髙橋　智
塚本　徹哉
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 添加飲料、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及び飲料中での脱炭酸反応の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：
「カルボメトキシ化合物（CMC）」「カルボメトキシ○○○」と記載しておりますが、調査会後に IUPAC 命名法に沿って、「メトキシカルボニル化合物(MCC)」「メトキシカルボニル○○○」と表記を変更する予定です。現時点においては、代謝試験の一知見でメトキシカルボニルアスパルテームという表現を使用しているほかは、「カルボメトキシ○○○」と記載しており、２つの表現が混在していますが、最終的に記載整理します。

Ⅰ．評価対象品目の概要

事務局より：
飲料の呼称について、本評価書で、「ワイン」はぶどう酒と同様の意味で使用し、ぶどう酒以外の果実酒や穀物等を主原料として発酵させた日本酒等を含む場合は「ワイン類」と記載し、脚注で補足説明を加えています。

１．用途

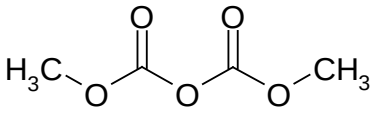
殺菌料（参照 １）【第 680 回食品安全委員会諮問資料】

２．主成分の名称

和名：二炭酸ジメチル（DMDC[1]）
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

134.09[2] （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

[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。

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】

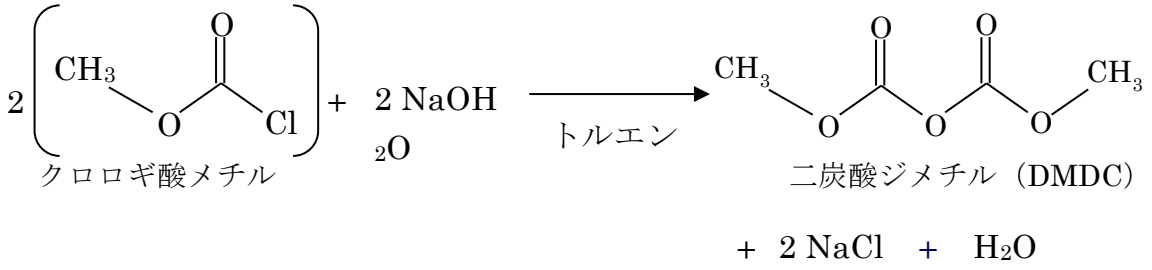


図１　DMDC の製造方法

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（CO_2）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）を添加した場合、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。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、61Genth（1979）、36 LANXESS 社内資料（2011）、62LANXESS 社内資料（2011）】

なお、ガスクロマトグラフィー／質量分析法（GC/MS）による DMDC の検出限界値は 0.05 mg/L、定量限界値は 0.2 mg/L である。（参照 9、１０）【50

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

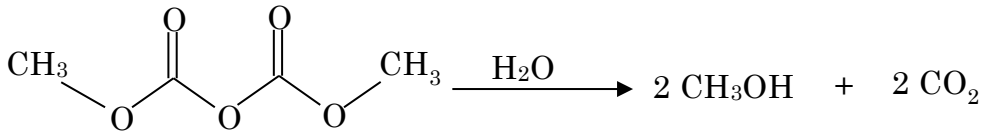


図２　DMDC の加水分解（参照 6）

（２）飲料に残存する DMDC 関連化合物

DMDC は飲料中でメタノール及び二酸化炭素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）を生成する（図３）。また、DMC は、製造工程中の副生成物としても生成する。

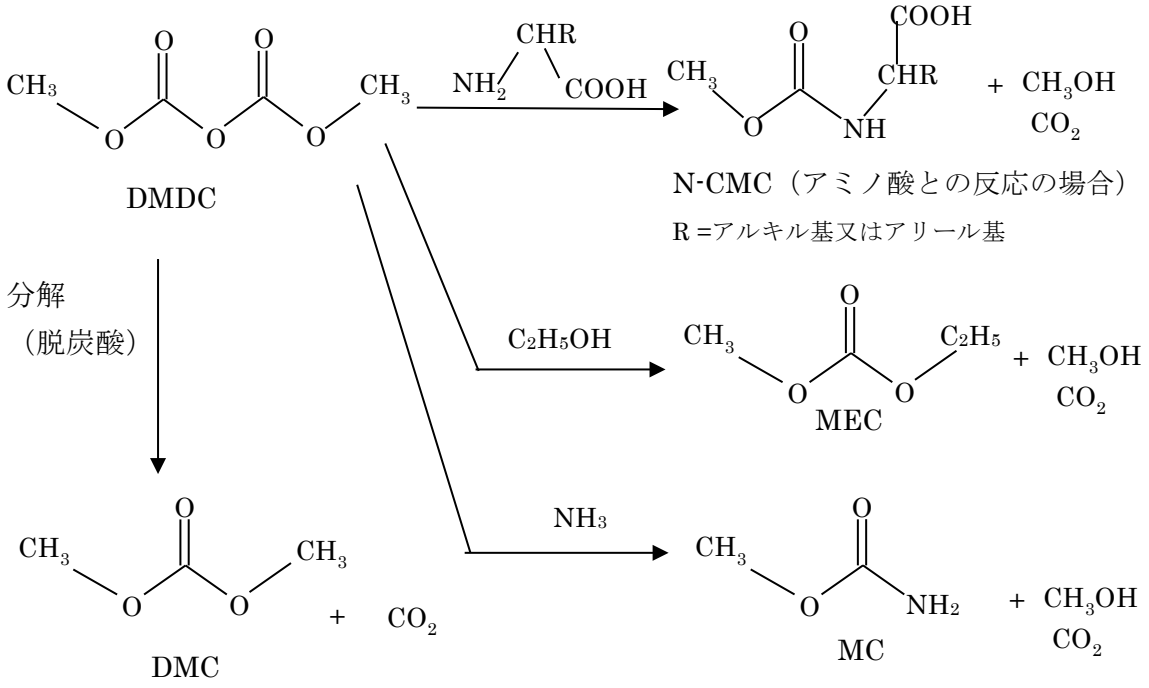
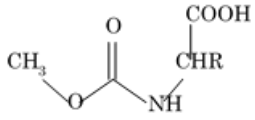
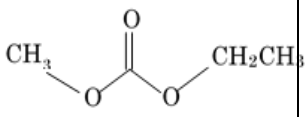
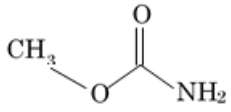
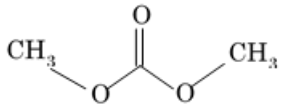


図３　DMDC 関連化合物の生成（参照６）

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

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	DMDC 加水分解生成物
二酸化炭素	carbon dioxide	124-38-9	CO_2	DMDC 加水分解生成物
カルボメトキシ化合物	carbomethoxy compounds（CMC）	－（化合物群のため、登録番号なし）	 R: アルキル基又はアリール基（アミノ酸との反応の場合）	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 アミノ酸と反応した場合は N-CMC
炭酸エチルメチル	methylethyl-carbonate（MEC）	623-53-0		DMDC と飲料中のエタノールとの反応生成物
カルバミン酸メチル	methylcarbamate（MC）	598-55-0		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
炭酸ジメチル	dimethylcarbonate（DMC）	616-38-6		DMDC 製造時副生成物、DMDC 分解反応生成物（脱炭酸）（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 注1	FDA 注4	EFSA 注9	LANXESS 社内資料（2011）注13	指定等要請者推計注14
DMDC		添加後速やかに分解	検出限界値（0.04 mg/L）未満注5	検出限界値（0.05 mg/L）未満注10	記載なし	検出限界値（0.05 mg/L）未満
DMDC 加水分解生成物	メタノール	119 mg/L	121.8 mg/L 注6	120 mg/L	119 mg/L	120 mg/L
	二酸化炭素	記載なし	炭酸飲料濃度以下	160 mg/L 注11	164 mg/L	164 mg/L
DMDC と飲料中成分との反応生成物	CMC	4 mg/L	記載なし注7	1.7～5 mg/L 注11	4 mg/L	5 mg/L
	MEC	1.5 mg/L 注2	記載なし注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 12）【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 and~~&~~ 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 13、14、15、16）【22 FR（1988）、23FR（1993）、24FR（1994）、25FR（1996）】
注5）DMDC 検出限界値 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 等のワイン類等からの摂取量を 2～5 mg/人/日（ワイン類の摂取量の 90 パーセンタイル値が 232 g/人/日）としている。
注8）MC は DMDC100 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 11、17、18、19）【35 EFSA（2015）、32SCF（1992）、33SCF（1997）、34SCF（2001）】
注10）DMDC 検出限界値 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 20）【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 検出限界値 0.05 mg/L（参照 4、9）【概要書、50 Labor Haase-Aschoff 社内資料（1992）】

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]（エタノール 9.7～13.5%含有）に DMDC（100 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、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。（参照 ２１）【98 Stafford and Ough（1976）】

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「NH_3 濃度」という。）の上昇、若しくは pH の上昇とともに増加する。MC の生成が多くなると考えられるような、通常のぶどう酒の中でも最も極端な条件の状態（NH_3 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。（参照 ２２）【102 Ough and Langbehn（1976）】

DMDC（100 mg/L）を 10%又は 50%果汁飲料に添加した場合、24 時間後、メタノールが 47.645 mg/L 又は 47.437 mg/L、二酸化炭素が 65.511 mg/L 又は 65.227 mg/L、DMC がいずれも 0.2 mg/L、CMC が 0.7292 mg/L 又は 2.0220 mg/L 生成していた。（参照 ２３）【2 Bayer AG 社内資料（1988）】

また、DMDC（濃度：250 ppm）をアスパルテーム（濃度：320 ppm）入りの茶系飲料（pH 5）に用いると、アスパルテームのメトキシカルボニル誘導体（CMC の 1 種）が検出されていたことから、メトキシカルボニル誘導体生成に対する pH の影響を調べるため、クエン酸で pH 3.5 に調整した超純水に DMDC 250 mg/kg 及びアスパルテーム 280 mg/kg を添加した溶液（溶液Ⅰ）並びにクエン酸で pH 5 に調整した超純水に DMDC 250 mg/kg 及びアスパルテーム 280 mg/kg を添加した溶液（溶液Ⅱ）を用いて、各 pH におけるメトキシカルボニル誘導体の生成を HPLC により調べたところ、pH 3.5 の溶液Ⅰでは調製 30 分後にメトキシカルボニル誘導体が 14 mg/kg 検出されたが、24 時間後でも同一量であった。溶液Ⅱでは調製 1 時間後にメトキシカルボニル誘導体が 34 mg/kg 検出されたが、24 時間後には 27 mg/kg に減少した。（参照 ２４）【追加 15_1

[3] 食品衛生法上、使用基準における「果実酒」は、ぶどう酒、りんご酒、なし酒等果実を主原料として発酵させた酒類とされている（昭和 50 年 7 月 25 日付け環食化第 32 号厚生省環境衛生局庁通達）。本評価書で、「（赤、白）ワイン」はぶどう酒と同様の意味で使用し、ぶどう酒以外の果実酒や穀物等を主原料として発酵させた日本酒等を含む場合は「ワイン類」と記載している。~~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、なし酒等果実を主原料として発酵させた酒類）にあたると考えられるものは、「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。~~

Bayer AG 社内資料（Exner（1993））】

事務局より：
補足資料を受け、EFSA（2015）で引用されている Bayer AG 社内資料（Exner（1993））について原著の提出があったため文案を加筆していますので、御確認をお願いします。

佐藤専門委員：
DMDC（濃度：250 ppm）をアスパルテーム（濃度：320 ppm）茶系飲料（pH5）に用いると、アスパルテームのメトキシカルボニル誘導体が検出されていたことから、今回の試験を行ったように思われますので、上記のように修正しました。

伊藤裕才専門委員：
佐藤先生の加筆に賛成ですが、アスパルテーム誘導体が CMC の１つであることをどこかに加えたほうがいいかと思いました。また、佐藤先生がカルボメトキシを文献に合わせてメトキシカルボニルに修正しており私もこれに賛成ですが、一方で CMC は「カルボメトキシ化合物」の訳であり、 評価書ではカルボメトキシ誘導体という表現が頻出するので、読者のことを考えると、あえて変更しなくてもよいのではとも思います。

事務局より：
７ページ冒頭に記載をしておりますが、現時点では「カルボメトキシ化合物（CMC）」「カルボメトキシ○○○」と記載しているところも、最終的には「メトキシカルボニル化合物（MCC）」「メトキシカルボニル○○○」と表記を統一する予定です。
また、「24 時間までほぼ同一量で維持していた」という記載について、30 分後と 24 時間後のデータしかないので、「24 時間後でも同一量であった」と修文しています。

また、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、１８）【概要書、33SCF（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、１８）【概要書、33SCF（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類[4]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 ２５）【17GSFA（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 ２６）【21CCFA（2013）】

（２）米国における使用状況

米国においては、1988 年、DMDC はワイン類[5]の酵母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~~ワイン類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された。（参照１３、１４、１５、１６、２７、２８、２９、３０）【22 Federal Register（FR）（1988）、23FR（1993）、24FR（1994）、25FR（1996）、26FDA（2000）、27FDA（2005）、28FR（2001）29CFR（2013）】

中江専門委員：
アルコール飲料である「ワイン類」の中にノンアルコールワインが含まれるような表現は、違和感があり、また、欧州連合における使用状況においてノンアルコール飲料の中にノンアルコールワインが含まれている表現と一貫性がありません。

事務局より：
「ワイン類及びノンアルコールワイン」と修正しました。（５）諸外国における使用状況のまとめの表中の表現も同様に修正しています。

（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）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、ぶどう酒を除

[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。
[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。

くワイン類[6]果実酒等に 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１１、１７、１８、１９、３１、３２、３３）【35EFSA（2015）、32SCF（1992）、33SCF（1997）、34SCF（2001）、30EU 指令 95/2/EC（1995）、66 EU 指令 2010/69/EU（2010）、67 EU 規則 606/2009（2009）】

（４）オーストラリア・ニュージーランドにおける使用状況

オーストラリア・ニュージーランドにおいて、1996 年、DMDC は保存料としてノンアルコール飲料への使用が認められた。2004 年にはワイン類への使用許可がなされ、ノンアルコール飲料に 250 mg/L、ワイン類[7]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）は指定等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。（参照 ３４、３５）【5 NZ Ggazette（2011）、6 FSANZ（2011）】

（５）諸外国における使用状況のまとめ

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

FDA において、DMDC は、当初ワイン類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、ワイン類では当初の設定のまま最大添加量 200 mg/L での使用が認められている。

EU においても、1995 年に使用が認められたときはノンアルコール飲料に対して最大添加量は 250 mg/L と設定された。その後、ワイン類果実酒等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	ぶどう酒及びハチミツ	ノンアルコール飲料（香料

[6] EU 規則 1333/2008 では、果実酒のほか、アルコール飲料とノンアルコール飲料の混合飲料等を含む（EFSA（2015））。

[7] NZ Ggazette（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。

（GSFA）（参照２５）【17GSFA（2017）】	酒	入り飲料、コーヒー及び茶等）、 ぶどう酒及びハチミツ酒を除くワイン類
米国（参照２７、２８、３０）【26FDA（2000）、27FDA（2005）、29CFR（2013）】	ワイン類~~（低アルコール及びノンアルコールの同等品を含む）~~、ノンアルコールワイン	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）
欧州連合（EU）（参照３２、３３）66 EU 指令 2010/69/ EU（2010）、67 EU 規則 606/ 2009（2009）】	ぶどう酒	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）、ぶどう酒を除くワイン類~~果実酒等（低アルコールの同等品を含む）~~
オーストラリア・ニュージーランド（参照３４、３５）【5 NZ gazette（2011）、6 FSANZ（2011）】	ワイン類	ノンアルコール飲料（香料入り飲料、果汁~~樹~~飲料及び茶系飲料）

１０．国際機関等における評価

（１）JECFA における評価

1990 年、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 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 NO~~A~~EL 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、３６、３７）【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、N-CMC、MEC、MC 及び DMC）の試験成績等を基に、DMDC のワイン類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、成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り、通常の食習慣でのメタノールの摂取量（ワイン類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）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。二酸化炭素も炭酸飲料中の二酸化炭素の量より少なく、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 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 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１３）【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１４）【23FR（1993）】

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１５、１６）【24FR（1994）、25FR（1996）】

（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[8]の高用量投与群で肝細胞腫瘍が認められたが、遺伝毒性は認められないとしている。DMDC に由来する MC の摂取量は最大に見積もっても 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１７）【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、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、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１８）【33 SCF（1997）】

2001 年、SCF は、DMDC のワイン類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類かとノンアルコール飲料かによらず、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類への使用についても同様に適用されるとしている。（参照１９）【34 SCF（2001）

中江専門委員： 「添加対象飲料がアルコール飲料及び*ワイン類とノンアルコール飲料か*に

[8] 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。

よらず」の斜体部は「ワイン類かノンアルコール飲料か」とすることがよいと思います。

事務局より：
修正しました。

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、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、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。

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 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 Structual Activity Relationship (QSAR) Toolbox[9]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、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。

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。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、このような情報が得られなければ、他の食品添加物は DMDC の分解後に添加することを提案している。（参照１１）【35 EFSA（2015）】

（４）オーストラリア・ニュージーランドにおける評価

1996 年、オーストラリア・ニュージーランド食品局（Australia New Zealand Food Authority；ANZFA）[10]は、DMDC 及び DMDC 関連化合物についての安全性評価を実施した結果、公衆衛生及び安全性に係る懸念は認められなかったと評価した。2011 年、DMDC を食品添加物（保存料）から加工助剤として分類

[9] OECD QSAR Toolbox version 3.3.2 (2015) とされている。
[10] FSANZ の前身。

し直すための評価を実施した際にも、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３４、３５）【5New Zealand Gazette (2011)、6FSANZ（2011）】

１１．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ている。

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 時間以内に主に~~その全量が~~二酸化炭素とメタノールに加水分解され、検出限界値（0.05 mg/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、61Genth（1979）、36 LANXESS 社内資料（2011）、62LANXESS（2011b）】

松井専門委員： 「その全量が」とありますが、全量が二酸化炭素とメタノールになるのではなく、微量ですが、他の物質になります。概要書でも、SCF（2001）を引用し「主に」となっています。「主に」が良いのではないでしょうか。 事務局より： 修正しました。

二酸化炭素については、第 8 版食品添加物公定書解説書（2007）によれば、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、また、二酸化炭素の水溶液（炭酸水、ソーダ水）は弱い酸味を呈し、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、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、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。（参照 ３８、３９）【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の量（0.045 L/ 500 mL 飲料 [11]）は十分少ないと考えられることから、二酸化炭素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

[11] 指定等要請者は、DMDC の加水分解により DMDC の重量比 65.7%の二酸化炭素が生成するとして、炭酸飲料 500 mL に DMDC を添加（250 mg/L）した場合、加水分解による二酸化炭素の生成量は 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、１１）。

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。なおただし、CMC については、飲料中の種々の有機化合物の求核基と DMDC が反応して反応生成物が形成する可能性が考えられるが、指定等要請者から提出された知見は一部の化合物の試験成績に限られており、生成しうる全ての CMC を網羅しているものではない。しかしながら、DMDC 添加飲料には、CMC を含め各種 DMDC 関連化合物が含まれることから、DMDC 添加飲料を用いた試験成績も併せることで、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。~~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 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とに留意する。~~

事務局より：

補足資料を受け、修正しておりますので、御確認ください。

CMC に関する DMDC の反応性の考察（「飲料中の種々の有機化合物の求核基と DMDC が反応して反応生成物が形成する可能性が考えられる」）、また、要請者から提出された知見は一部の化合物の試験成績に限られている旨、たたき台として記載していますが、よろしいでしょうか。

品目の概要ではない箇所ですが、品目の概要の担当の先生方にも、化学的な観点から、反応性の考察についてどのようなことを記載できるか、記載の要否も含め御確認いただければと存じます。

伊藤裕才専門委員：

反応性については、そのとおりだと思いますので、このままでいいと思います。

【第 167 回と同様です】

事務局より：（CO_2 について）

DMDC に由来する CO_2 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 CO_2 の量と比べて少量であり、また、JECFA では、CO_2 について、CO_2 は天然代謝産物であり、かつ、ヒトは大気中から日常的に CO_2 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 CO_2 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。

CO_2 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、CO_2 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。

1

【第 167 回と同様です】
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りません。JECFA（1991）や EFSA（2015）は DMDC に由来するメタノールの量や、通常の食習慣におけるメタノールの摂取量、ヒトの代謝能力等を考慮して安全性を評価していますが、本専門調査会ではどのように評価すべきでしょうか。

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

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

2

（カルボメトキシ化合物（CMC）について）
宇佐見専門委員：

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

事務局より；
飲料中成分と反応して生じる種々の CMC について、個々の化合物の検出値は提出されておりませんが、飲料中で生成し、ヒトに吸収され、ヒトに対し安全性の懸念が示唆される物質は想定されるでしょうか。
JECFA（1991）【31】は、DMDC はポリフェノール、タンニン、アミノ酸等と反応し反応生成物を生成する可能性があるとしていますが、特定の化合物に言及しているわけではありません。
EFSA（2015）【35】は、アルコールや他の飲料中成分（アミン、糖、有機酸）との反応による主要な反応生成物は、MEC、MC 及び DMC であるとしています。

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

前述（p.15）のとおり、EFSA（2015）の評価では、上記の状況を踏まえ以下の Recommendations を付しています。本提案に対する指定等要請者の見解を確認する必要があるでしょうか。
提案（recommendations）：
- 不確実性を減らすために、DMDC とその使用が認められている飲料（例えば、赤ワイン、茶、リンゴ酒およびペリー酒）の成分及び同一飲料水で併用される可能性のある食品添加物との相互作用から生じる反応生成物の性状と量について、更なる情報を得る必要がある。
- これらの情報が得られなければ，また反応物質の生成を制限するために，他の食品添加物は DMDC が完全に分解した後に添加するべきである。

事務局より：
第 164 回専門調査会での御議論を受け、飲料中成分等との反応生成物の安全性に関する補足資料の提出を厚生労働省に依頼し、回答がありました。

１．体内動態

石井専門委員：
以下のとおり修正するとよいと思います。

事務局より：
修正を反映しています。

（１）二炭酸ジメチル（DMDC）

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った。

（２）メタノール

~~① 内因性のメタノール~~

~~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/m^3 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）【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/m^3）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）【追加 4 NTP（2003）】~~

事務局より：
「① 内因性のメタノール」については、項目名を「ヒトにおけるメタノールとギ酸の血液中濃度」と改め、文章を 34 ページに移動させています。

① 吸収

ａ．吸収（ヒト）レビュー（WHO（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、吸収のピークは摂取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1.3~~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時間であり~~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４０、４１）【68 WHO EHC196（1997）、追加11 Leaf and Zatman（1952）】

松井専門委員：
「比較的一定で 0.30」は「1.3」ではないでしょうか。

事務局より：
原著である【追加 11 Leaf and Zatman（1952）】の記載どおり、「1.3」に修正しました。

② 分布

ａ．分布（ヒト）レビュー（WHO（1997））

メタノール中毒で死亡した患者の剖検例において、脳脊髄液中、硝子体液中及び胆汁中に~~で~~、血液中より~~高い~~高濃度のメタノールが検出された（Bennettら（1953））。メタノール濃度の血液中/硝子体液中比は0.82であり、各液中~~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たが、骨格筋、膵臓、肝臓及び心臓のメタノール濃度は低かった~~では低濃度のメタノールが検出された~~（Wu Chenら（1985））。（参照４０）【68 WHO EHC196（1997）】

ｂ．参考資料

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

（ａ）分布（ラット）（特殊法人 新エネルギー総合開発機構（NEDO）[12]（1983））

Fischer344ラット（雄、各群5匹）に[^{14}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尾静脈より血液を採取して、血液中の [^{14}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。

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、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投与群では投与6時間後に得られ、[^{14}C]メタノールの投与量の増加に伴う血液中への~~[^{14}C]メタノールの~~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

[12] 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）

して、投与48時間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%に減少した。（参照４２）【69 NEDO（1983）】

③ 代謝

ａ．代謝（ヒト、ウサギ、イヌ及びサル）レビュー（Röe（1982））[13]

メタノール摂取後24時間以内に死亡した2名の患者の剖検例において、血液中のギ酸濃度は、14.8 mmol/L及び約23 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（Lund（1948c））。一般病院から透析の診療所への転院後まもなく、昏睡を伴う重篤なアシドーシスになり、その後、呼吸障害に陥った2名の患者において、血液中のメタノール濃度は0.275 g/L及び0.277 g/L[14]、ギ酸濃度は14.8 mmol/L及び22.8 mmol/Lであった（Erianson ら（1965））。

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））。

イヌにメタノールを経口投与（1.7 g/kg体重又は1.9 g/kg体重）した場合、血液中のギ酸濃度は8.7 mmol/L又は11 mmol/Lとなった（Lund（1948b））。

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（1975））。

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最高で2.6 mmol/L又は3.2 mmol/Lとなったり（Maloray and Stieren（1967）、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、血液中のギ酸濃度は8.7 mmol/L又は11 mmol/Lとなった（Lund（1948b））。~~

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37 mg/kg体重/時の速度で代謝された（Makar ら（1968））。

Röeはこのアカゲザルの試験の結果からまた、ヒトで重篤なアシドーシスが生じる平均的な時間である、投与18時間後までのメタノールの代謝量は0.666 g/kg体重となり、アカゲザルにおいてもヒトと同様の代謝量となったとしている。

~~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（1975））。~~（参照４３、４４、４５）【72 Roe（1982）、追加9 Lund（1948a）、追加10 Makar ら（1968）】

事務局より：
ヒトの知見 → 動物（ウサギ→イヌ→サル）の経口投与による知見
→ 動物（イヌ→サル）の経口投与以外の投与経路による知見

[13] 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

[14] メタノールの分子量（32）から、モル濃度で表すと、それぞれ 8.6 mmol/L 及び 8.7 mmol/L である。

の順に記載を並び替えています。

b．代謝（ほ乳類）レビュー（WHO（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左右する~~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、霊長類では主として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主として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度~~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による反応には、飽和性があり~~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。ヒト並びに多くの動物種~~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に依存性である~~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~~はの消失は~~、~~半減期~~約1分という非常に短い半減期で体内から消失する~~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））。

ラットにおけるギ酸の代謝速度は霊長類におけるより2倍速く~~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。~~、この代謝速度~~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~~に対する~~~~の蓄積による~~霊長類の高い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、代謝による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ことが示されている（Tephly and McMartin（1984）、Tephly（1991））。（参照４０）【68 WHO EHC196（1997）】

松井専門委員：
「霊長類ではラットより約2倍遅い」とありますが、「ラットにおけるギ酸の代謝は霊長類における代謝より2倍速く」が解りやすいと思います。
「ギ酸の蓄積による霊長類の感受性」は Susceptibility ですから「高い感受性」がよいでしょう。

頭金専門委員：
松井専門委員に同意します。

石井専門委員：
結構です。上記のとおり、修正しました。

ｃ．代謝（ほ乳類）レビュー（Skrzydlewska（2003））

ラットにおいて、~~おける~~メタノール~~の酸化~~は、主として~~に~~カタラーゼによって酸化される~~行われる~~。一方、アカゲザル及びヒトにおいては、~~おける~~メタノールはADHによって酸化され~~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））。

ギ酸の酸化速度は、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しやすい~~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少なく~~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~~より~~遅く（40 mg/kg/h）、ブタ~~が~~で最も遅かった（20 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%であると~~なる~~が（Johlinら（1987））、これはヒトの肝臓における本酵素の量が少ない~~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いため~~く~~、メタノール中毒に~~の影響を受け~~なりやすい動物種であると考えられている。

（参照４６）【追加１　Skrzydlewska（2003）】

松井専門委員：

「サル及びヒトにおいては蓄積することになる。」について、これですと常に蓄積しているように読めます。「蓄積しやすい」とした方が良いかもしれません。要旨では以下の表現「中毒時」になっていると思います。

whereas nonprimates oxidize formate efficiently. Humans and monkeys possess low hepatic H_4 folate and 10-formyl H_4 folate dehydrogenase levels and are characterized by the accumulation of formate after methanol intoxication.

頭金専門委員：

松井先生の案でよいと思います。

石井専門委員：

同意します。上記のとおり、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４７）【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）値の著明な増加が認められ、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４７）【70 NEDO（1984）】

（ｃ）代謝（ヒト）（JECFA（1991）、FDA（1998）及びSCF（2001））

JECFA（1991）は、通常の食習慣を通じて、ヒトは1日あたり1,000～2,000 mgのメタノールを代謝しているとしている。

FDA（1998）は、成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としている

SCF（2001）は、健常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としている。（参照１３、１９）【22FDA（1998）,34SCF（2001）】

【第167回と同様です】
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。

④ 排泄

ａ．排泄（霊長類及びラット）レビュー（WHO（1997））[15]

[15] 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

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/m^3）（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、排泄は飽和し~~するようになり~~、その結果、非線形的な排泄の動態を示すことになる。治療を受けていないメタノール中毒症例において、メタノールの排泄速度は85 mg/L/時の~~となり明らかに~~零次反応を示し~~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}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放射活性率は89%であり~~となり~~、そのうち呼気中に二酸化炭素として65%が、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}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}C]二酸化炭素として、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排泄量の割合は、ラットの方が~~で~~サルよりも多かった（Katoh（1989））。（参照４０、４１）【68 WHO EHC196（1997）、追加11 Leaf and Zatman（1952）】

ｂ．参考資料

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

（ａ）排泄（ラット）（NEDO（1983））

Fischer344ラット（雄、各群5匹）に[^{14}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}C]二酸化炭素及び[^{14}C]メタノールの放射活性と、尿中及び糞便中の放射活性を調べる試験が実施されている。

その結果、呼気中への[^{14}C]二酸化炭素の排泄率は、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時間後をピーク（平均43.96%）にして減少し、600 mg/kg体重投与群では12－24時間後をピーク（平均22.98%）にして減少した。投与後0－48時間後の累積排泄率は、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匹においてついて、呼気中への[^{14}C]二酸化炭素の排泄量は投与後6－12時間後から直線的に増加し、投与後0－48時間後の累積排泄率は平均21.91%であった。また、呼気中の[^{14}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時間後の累積排泄率は、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時間後から増加し、投与後0－48時間後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}C]二酸化炭素及び[^{14}C]メタノールの放射活性を合計すると、投与後0－48時間後の累積排泄率は、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大きく著しく低下した。

一方、各投与群の尿中の投与後0－48時間後の尿中への累積排泄率は、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時間後の糞便中への累積排泄率は、それぞれ平均2.68%、2.06%、2.44%及び0.57%でありとなり、尿及び糞便中へ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は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時間後の呼気中、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４２）【69 NEDO（1983）】

⑤　ヒトにおける内在性のメタノールとギ酸の血液中濃度

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/m^3 以下の濃度~~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、内在性の量を超える~~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 and~~&~~ Dorman（1994））（参照４０）【68 WHO EHC196（1997）】

事務局より： 第 167 回専門調査会において、前後の文脈から定常状態の情報と分かる場合には「内在性の」と記載する必要はないとの御意見があり、修正しています。 中江専門委員： 「内在性のギ酸の量以上の」との記述は、「内在性の量を超える」と記述する方がよいと思います。 事務局より： 修正しました。

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、メタノールの許容ばく露限界（200 ppm）下でのばく露量を 25 mg/kg 体重/日未満と推定している [16]。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（200 ppm~~260 mg/m^3）~~）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 ４８）【追加 4 NTP（2003）】

[16] NTP（2003）において、メタノールの米国労働安全衛生庁（OSHA）の許容ばく露限界（permissible exposure limit（PEL））は 200 ppm（260 mg/m^3）とされており、PEL ~~職業的ばく露限界~~の下、inhalation rate 20 m^3/日、70kg 体重のヒトが 8 時間/日吸入と仮定し、~~8 時間~~ 260 mg/m^3 x 20 m^3/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）

事務局より：
第167回専門調査会において、N-カルボメトキシアミノ酸の略称について評価書案中で統一感のある略称とするのがよいのではないかとの御意見がありました。
「N-カルボメトキシアミノ酸」を「N-CM-AA」、
「N-カルボメトキシアラニン」を「N-CM-Ala」など
と整理しています。

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-CM-Pro）溶液又はN-カルボメトキシアラニン（N-CM-Ala）溶液（各100 µg/ 0.1mL）0.1 mLを添加し、37℃~~の温浴中~~で24時間まで反応させ、N-CM-Pro又はN-CM-Ala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-CM-Pro溶液（100 µg/0.1mL）を添加し、37℃~~の温浴中~~で48時間まで反応させ、N-CM-Pro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-CM-Pro、N-CM-Alaともに明らかな分解は認められず、~~温浴~~4時間後もN-CM-Proの分解はほとんど認められなかったが、N-CM-Alaの残存率は40%であった。~~温浴~~24時間後のN-CM-Pro及びN-CM-Ala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を用いた場合~~において~~、~~温浴~~24時間後及び48時間後のN-CM-Proの残存率はそれぞれ31%及び15%であった。また、腎臓ホモジネートを用いた場合は~~において~~、~~温浴~~24~~～時間後及び~~48時間後のN-CM-Proの残存率は~~、それぞれ~~11~~～%及び~~25%であった。（参照４９）【73 Schmidt（1978）】

松井専門委員：
「温浴24時間後及び48時間後のN-CM-Proの残存率は、それぞれ11%及び25%で

あった」と、資料では記述されています。
しかし、長期間培養のほうが残存率が高いことは考え難く、グラフを読むと24時間と48時間培養では有意差はないと思います。

頭金専門委員：
「24～48時間後の残存率は11～25%であった」ではいかがでしょうか。いずれにしても、この実験に関しては細かな数字は意味がないです。

石井専門委員：
頭金専門委員に同意します。

事務局より：
修正しました。

石塚専門委員：
「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」とありますが、肝臓ホモジネートも酵素混液ではあるので、透析後の…や遠心後の…のような記載はできないでしょうか。

事務局より：
どのような記載をすることがよろしいでしょうか。

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 mol/L~~M~~のN-カルボメトキシ化された各アミノ酸（N-CM~~C~~-AA[17] ）溶液0.5 mLを添加し、37℃~~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、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、概して脂肪族のN-CM~~C~~-AA[18]は、ヒト及びブタの肝臓及び腎臓由

[17] なお、実験に用いた N-CM~~C~~-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

[18] 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

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は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５０）【74 Rauenbusch（1974））】

ｃ．代謝（ラット）（Schmidt（2000）（EFSA（2015）で引用））

Wistar ラット（雄）の肝臓ホモジネートに、メトキシカルボニルアスパルテーム水溶液（0、50、100 及び 500 µmol/L）を添加し、37℃で反応させ、経時的にメトキシカルボニルアスパルテームの残存量を調べる試験が実施されている。

その結果、各添加濃度とも、メトキシカルボニルアスパルテームは 15 分後に添加濃度の約 30%[19]まで分解された。更に 50 µmol/L 添加では 30 分後に検出限界値未満となり、100 及び 500 µmol/L 添加では 30～60 分後に添加濃度の平均 13%まで分解された。（参照 ５１）【補足 2 追加 2 （追加 15_2）Bayer AG 社内資料（Schmidt（2000））】

事務局より：
補足資料を受け、EFSA（2015）で引用されている Bayer AG 社内資料（Schmidt（2000））について原著の提出があったため文案を加筆していますので、御確認をお願いします。

④ 排泄

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

Wistarラット（雌）にN-CM-Pro又はN-CM-Alaを経口投与（それぞれ0.5、1、2、4 mg/動物[20]）し、投与~~後~~48時間後まで採取した尿中のN-CM-Pro及びN-CM-Ala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-CM-Ala~~について、~~の4 mg/動物投与群では、投与~~後~~0～22時間後で55%、22～48時間後で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-CM-Pro~~について、~~4 mg/動物投与群では、投与~~後~~0～22時間後で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時間後で、2 mg/

ン、カルボメトキシメチオニン

19 不活化されたホモジネートに、各添加濃度と同一濃度のメトキシカルボニルアスパルテーム水溶液を添加し、同じ条件下で 1 時間後に回収された未変化体の濃度を 100%とした。

20 原著によると、0.5 mg/動物 ≒ 3.3 mg/kg 体重

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-CM-ProまたはN-CM-Ala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４９）【73 Schmidt（1978）】）

（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℃に設定された滴定装置を用いて 0.1 mol/L~~N~~ 水酸化ナトリウム溶液で pH 8.0 に調整後、0.01 mol/L~~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５０）【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））[21]

B6C3F$_1$マウス（雄、各群 3 匹）及び Fischer344 ラット（雄、各群 3 匹）に、[^{14}C]MC 含有 MC（約 20 μCi/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~~経口投与後の 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 時間後の分布率は 1.3%であった。一方、ラットの筋肉においては、投与~~後~~72 時間後の分布率は 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組織における総量~~の合計量~~は投与~~後~~72 時間後には 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。

[21] 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。

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：静脈内投与後の 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、繰り返し投与したにもかかわらず、組織内へのでの蓄積ははほとんど認められなかったものの、ラットにおいてでは、9 回反復投与後 1 日後の組織中の MC 量は、単回投与後 1 日後の量の 2~8 倍であった。（参照 5 2）【79 Ioannou ら（1988）】

事務局より：
第 167 回専門調査会において、表 4 のタイトルは、表 5 に併せて簡素な表現とすることとされました。

石井専門委員：
修正しました。

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 時間後まで血液、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 はいずれの~~両~~投与量~~の個体~~においても、投与~~後~~1 時間後には血液、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 時間後まで残存~~残留~~し、消失半減期は 24 時間であった。（参照 12、53）【31JECFA（1991）、75 Boyland and Papadopoulos（1952）】

【第 167 回と同様です】
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、投与経路が不明であることから、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}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}H] MC 含有 MC を投与（投与経路不明、375 mg/kg 体重）し、投与~~後~~24 時間後までの各時点に肝臓を摘出~~採取~~して RNA を抽出し、放射活性から[^{3}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}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}H] MC の RNA への取り込みは遅延した。（参照 12、54）【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 日間連続強制経口投与（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、単回投与群において~~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 日間連続投与群において~~ついて~~は、両系統とも日数の経

過と共に尿中排泄率は漸増し、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考察解釈している。（参照１２、５５）【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））[21]

B6C3F$_1$ マウス（雄、各群 3 匹）及び Fischer344 ラット（雄、各群 3 匹）に、[^{14}C]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 時間後の尿及び糞便中の放射活性並びに呼気中の二酸化炭素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 時間後の二酸化炭素としての排泄率は、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、呼気中への で両物質の排泄率はが 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%、糞便中への排泄率は、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 時間後の尿中及び糞便中への累積排泄率は、マウス及び ラットともにそれぞれ尿中で 20%未満及び 、糞便中で 4%未満であり、これらの排泄物中では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、マウス及び 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 MC の代謝率を比較すると、マウスの方がラットより ~~マウスで~~ 6 倍速く MC から二酸化炭素に代謝されており、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（p41）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 が二酸化炭素として多く排泄され、組織等へ ~~中~~ の分布 ~~分布率~~ にも種差 ~~違い~~ が見られていることから、JECFA は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、５２）【79 Ioannou ら（1988）、31 JECFA（1991）】

松井専門委員：
「組織中の分布率にも違いが見られていることから」とありますが、a．分布（マウス及びラット）（Ioannou ら（1988））「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。」となっています。
分布率の差は、MC クリアランスの差によるものだと思います。
Ioannou ら（1988）は分布率と毒性の関連を記述していないように思えます。
御確認ください。
もし、分布率を記述するなら、「多く排泄され、その結果、組織中の分布率にも違いが見られて」なのではないでしょうか？

頭金専門委員：
修正しました。「組織中の蓄積の程度にも種差が見られて」でよいと思います。

石井専門委員：
「組織中の蓄積の程度」を「組織等への分布」に修正しました。

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 時間後までの尿中排泄率は 4.9～9.8%であった。

Boyland and Papadopoulos は、この排泄率は、体内の水分が~~投与後~~24 時間で尿中に排泄される割合と同等であるあった~~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５３）【75 Boyland and Papadopoulos（1952）】

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

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

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

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

JECFA（1991）は、これらの結果から、体内で MC の N-ヒドロキシル化が生じるとともに、脱ヒドロキシル化も生じることを示しているとしている。（参照１２、５６）【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 ℃に設定された滴定装置を用いて 0.1 mol/L~~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５０）【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

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、分解産物である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 並びに副生成物等の DMC についても評価を行ったが、参照できた知見は一部の情報に限られていた。

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、さらに二酸化炭素へと連続的に酸化される。ヒトを含む霊長類では、メタノール代謝における最初の反応は、ADH ~~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。第 2 段階で、FDH ~~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二酸化炭素へ代謝される。このギ酸の代謝反応速度については、げっ歯類と霊長類との間で大きな差が認められ、メタノールの毒性においては~~げっ歯類と~~霊長類がげっ歯類と比較して著しく高い感受性を示す~~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、代謝によるメタノールの~~代謝による~~消失は、エタノールと比較すると遅いとされている。なお、WHO（1997）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、通常体内に存在する以上のギ酸の濃度上昇は起こらないとしている。

~~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がある。例えば、ヒト又はブタの肝臓又は腎臓の酵素混液添加の条件下で、脂肪族アミノ酸由来の CMC は比較的加水分解されやすいが、それ以外の芳香族アミノ酸由来の CMC は加水分解されにくい。また、メトキシカルボニルアスパルテームはラット肝臓ホモジネート中で速やかに加水分解された。~~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、DMC はブタの肝臓酵素混液又は肝臓ホモジネート添加の条件下で加水分解されるが、MEC は DMC よりも速やかに加水分解される。

MC については、マウス及びラットを用いた試験（Ioannou ら（1988））において、経口投与された MC は吸収された後、未変化体として、または代謝されて二酸化炭素として排泄された。MC については、ラットでの二酸化炭素として排泄される量はマウスと比較して少なく、組織等への分布~~筋肉中の分布率~~がラットでは多い~~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。

事務局より：
　まとめの文章の記載について御検討をお願いいたします。

頭金専門委員：
　上記のとおり、修正しました。

石井専門委員：
　修正しました。「組織中の蓄積の程度」を「組織等への分布」にするなどの修正をしました。

事務局より：
「なお、WHO（1997）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、通常体内に存在する以上のギ酸の濃度上昇は起こらないとしている。」
「MEC、DMC はブタの肝臓酵素混液又は肝臓ホモジネート添加の条件下で加水分解されるが、」
「MC については、マウス及びラットを用いた試験（Ioannou ら（1988））において、経口投与された MC は吸収された後、未変化体として、または代謝されて二酸化炭素として排泄された。」
を補足しています。

頭金専門委員：
「なお、WHO（1997）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、通常体内に存在する以上のギ酸の濃度上昇は起こらないとしている。」
と加筆して結構です。

松井専門委員：
　メタノールについて、「このギ酸の代謝反応速度については、げっ歯類と霊長類との間で大きな差が認められ、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比較して著しく高い感受性を示す原因になっているとされている。」
の箇所の「大きな差」は意味不明です。「メタノールに対する感受性を決定するギ酸の酸化速度は、げっ歯類と比べ霊長類で（著しく）遅く、」
が良いのではと思います。
　CMC について、「例えば、ヒト又はブタの肝臓又は腎臓の酵素混液添加の条件下で、脂肪族アミノ酸由来の CMC は比較的加水分解されやすいが、それ以外の芳香族アミノ酸由来の CMC は加水分解されにくい。」となっていますが、トリプトファン、ヒスチジン、チロシンは芳香族アミノ酸ですが、ヒドロキシプロリン、アルギニン、リシン、システイン、トレオニンは芳香族ではないでしょう。

「それ以外の芳香族アミノ酸」を「それ以外のアミノ酸」とした方が良いかもしれません。(【参考】（３）カルボメトキシ化合物（CMC）　③　代謝)

事務局より：
　まとめの文章の記載について御検討をお願いいたします。

1
2

２．毒性

（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が生じてのため、数時間以内に検出限界値未満となる。~~DMDC 又は~~ DMDC 添加飲料を被験物質とする試験において、被験物質の調製から投与~~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 の量は不明である。~~について、~~したがって、投与時に被験物質に DMDC 本体が検出限界値以上に残留していた可能性が残る。~~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の試験成績から、DMDC 添加飲料~~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の試験成績から、DMDC の 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上で有益な情報が得られる~~ことが可能~~と考え、DMDC 添加飲料を被験物質とする各種試験の試験成績を評価することとした。

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。

髙橋専門委員：

異論はございません。

石塚専門委員：

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

最後の「しかしながら、～（略）」の一文が前文の NOAEL の話とつながっていない気がして、少し戸惑いました。前文と順序を入れ替えても良いかもしれません。もしくは NOAEL の部分は、「まとめ」に記載するとして、序文からは削

除しても良いかもしれません。その場合は各試験に NOAEL に関する記述を記載する必要はありますが。もちろんこのままでも結構です

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

事務局より：
第 167 回専門調査会において、内容はこれでよいが、表現ぶりについては上記の記載をたたき台として、御意見を踏まえて改めて検討することとされました（冗長ではないかという意見、本案でよいという意見がありました）。修文しましたので御確認ください。

中江専門委員：
修正案に同意します。

髙橋専門委員：
前回の調査会でそのようにする旨が話し合われているのであればこのままでも結構ですが、個別試験の前に「DMDC の NOAEL を求めることは適切でないと考えた。」と結論がくるのは、やはり少し違和感があります。

事務局より：
前回までの調査会において、DMDC のばく露量が不明であるため、反復投与試験、発がん性試験、生殖発生毒性試験の個々の試験について NOAEL を求めることが適切でないと考えることを冒頭に記載することがよいとされました。

髙橋専門委員：
現在の記載のままで結構です。

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、57）【31、35、93】
	復帰突然変異試験（*in vitro*、GLP）	細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537）	DMDC（4,000 ppm）を添加したオレンジジュース	最高用量 4,040 μg/plate[22]	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 58）【95】
染色体異常	小核試験（*in vivo*、GLP）	マウス（NMRI、雌雄、各群 5 匹、大腿骨骨髄）	DMDC（4,000 ppm）を添加したオレンジジュース	202 mg/kg 体重[23] 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、59）【31、35、96】

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* 小核試験においては、前述（p51）のとおり、実際のDMDCのばく露量は、表 6に記載のDMDCの用量よりも少ないと考えられるものの、陰性の結果である。さらに、DMDCを用いた復帰突然変異試験は、DMDCの分解性を考慮して被験物質を用時調製した上で実施され、陰性の結果である。したがって、本専門調査会として、DMDC添加飲料に、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えた。~~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。~~

事務局より：
第167回専門調査会の会議後に山田専門委員、戸塚専門委員と御相談し、修正案を記載しています。

[22] 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」と記述されているため~~おり~~、4,040 mg/L を用いて、~~に~~1,000 μL/plate を乗じて算出。

[23] 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」と記述だが、~~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~~の~~も記述があるため、4,040 mg/mL でなく、4,040 mg/L を用いて、4,040 mg/L に 50 mL/kg 体重を乗じて算出。

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

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１２、６０）【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 4 週間経口投与試験（Bayer HealthCare 社（Popp（2013）、GLP）（EFSA（2015）で引用））

Wistar ラット（雌雄、各群 5 匹）に DMDC 添加飲料（4,000 mg/L[24]）を、表 8 のような試験群を設定して、4 週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

	投与飲料
1	水道水
2	調製試験飲料 A
3	DMDC 添加 調製試験飲料 A（4,000 mg/L）
4	調製試験飲料 B
5	DMDC 添加 調製試験飲料 B（4,000 mg/L）

注）調製試験飲料 A（pH 2.4）：ビタミン C、L-(-)-カルニチン、クエン酸、リン酸、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、アセスルファムカリウム、サイクラミン酸ナトリウム、緑茶抽出物（没食子酸エピガロカテキン）、紅茶抽出物（L-テアニン）、カフェイン、コリン、GABA、ビタミン B_1、ビタミン B_2、ニコチン酸、パントテン酸、ビタミン B_6、ビオチン、葉酸、ビタミン B_{12}、アラビアガム、朝鮮人参抽出物、ビタミン D_2、ビタミン D_3 が含まれている。
調製試験飲料 B（pH 3.6）：リゾチーム、タウリン、クエン酸、リン酸、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、サッカリン、カフェイン、グルコサミン、アントラニル酸メチル、ペクチン、アロエ抽出物が含まれている。

事務局より：
本文には記載していませんが、各成分の量の情報は次のとおりです。

（原著 513 ページ）
飲料 A（pH 2.4）：
ビタミン C 500 mg/kg、L-(-)-カルニチン 1,000 mg/kg、クエン酸 13,000 mg/kg、リン酸 500 mg/kg、ソルビン酸カリウム 350 mg/kg、安息香酸ナトリウム 250

[24] 原著では、4,000 ppm と記述されている。

mg/kg、アセスルファムカリウム 500 mg/kg、サイクラミン酸ナトリウム 250 mg/kg、茶抽出物（没食子酸エピガロカテキン（30%））600 mg/kg、茶抽出物（L-テアニン）600 mg/kg、カフェイン 300 mg/kg、コリン 250 mg/kg、GABA 200 mg/kg、ビタミン B_1 8 mg/kg、ビタミン B_2 8 mg/kg、ニコチン酸 30 mg/kg、パントテン酸 10 mg/kg、ビタミン B_6 1.3 mg/kg、ビオチン 1.5 mg/kg、葉酸 3.5 mg/kg、ビタミン B_{12} 0.02 mg/kg、アラビアガム 200 mg/kg、朝鮮人参抽出物（20% Vol）20 mg/kg、ビタミン D_2 0.05 mg/kg、ビタミン D_3 0.05 mg/kg

飲料 B（pH3.6）：リゾチーム 500 mg/kg、タウリン 4000 mg/kg、クエン酸 500 mg/kg、リン酸 500 mg/kg、ソルビン酸カリウム 500 mg/kg、安息香酸ナトリウム 250 mg/kg、サッカリン 100 mg/kg、カフェイン 600 mg/kg、グルコサミン 2,000 mg/kg、アントラニル酸メチル 10 mg/kg、ペクチン 20 mg/kg、アロエ抽出物（60% Vol） 20 mg/kg

その結果、各調製飲料を対照とした比較において、各 DMDC 添加調製試験飲料について、以下の所見が認められた。

・DMDC 添加調製試験飲料 A 投与群（雄）：体重増加量の一過性の増加（投与 1～15 日）、肝臓の絶対及び相対重量の増加、脾臓の絶対及び相対重量の増加、血漿アルカリフォスファターゼ（ALP）活性の増加、血清カルシウム濃度の増加
・DMDC 添加調製試験飲料 A 投与群（雌）：赤血球数の減少、血糖値の増加、血漿クレアチニン濃度の減少、脳の相対重量の減少、肝臓の絶対及び相対重量の増加、卵巣の絶対及び相対重量の減少
・DMDC 添加調製試験飲料 B 投与群（雄）：MCHC 値及び血小板数の減少、血漿尿素濃度の有意な減少、血漿 ALP 活性の増加、脳の絶対重量の増加、胸腺の絶対重量の増加
・DMDC 添加調製試験飲料 B 投与群（雌）：体重増加量の一過性の減少（投与 1～15 日）、赤血球数の増加、血漿 AST 活性の減少、血漿 ALP 活性の増加

なお、各 DMDC 添加調製試験飲料とも、死亡数、臨床所見、神経行動学的変化の評価結果、自発運動活性の評価結果、眼科的検査の結果及び病理組織学的所見について、DMDC の添加に由来する影響は認められなかった。

高橋専門委員、高須専門委員：
DMDC 添加群と DMDC 非添加群との間に統計学的有意差があっても

・ 一過性の変化
・ 背景データ（原著 60～70 ページ）の範囲内の変化（血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査）
・ 水道水投与群の値を考慮すると、毒性所見と考えられない変化（血糖値、肝臓重量、脾臓重量）
・ 臓器重量については、相対重量、絶対重量のいずれか一方のみの変化

については、その他の所見として記載することで結構です。

事務局より：

血漿 ALP 活性の増加、卵巣の絶対及び相対重量の減少については、どのように考えればよいでしょうか。

【参考】原著 p36、p40 から抜粋

・血漿中アルカリフォスファターゼ（原著では APh）活性（U/L）

	雄	雌
水道水	347.6　S. D. 56.07	259.2　S. D. 44.74
調製試験飲料 A	332.8　S.D. 32.40	279.6　S. D. 50.87
DMDC4,000 mg/L 添加調製試験飲料 A	399.8**　S. D. 13.08	254.4　S. D. 22.21
調製試験飲料 B	355.6　S.D. 24.46	226.2　S.D. 27.47
DMDC4,000 mg/L 添加調製試験飲料 B	581.4*　S. D. 144.13	543.2**　S. D. 115.01

* = p ≦ 0.05、 ** = p ≦ 0.01　S.D.：標準偏差

※原著 p36 で背景値 historical control values (Males 338.0, Females 228.0）と比較し、水道水投与群でも背景値よりも高値と記述されている。

・卵巣（Ovaries/Oviducts）重量

	絶対重量（mg）	相対重量
水道水	151.6	0.0751
調製試験飲料 A	133.8	0.0691
DMDC4,000 mg/L 添加調製試験飲料 A	123.2*	0.0586**
調製試験飲料 B	138.0	0.0662
DMDC4,000 mg/L 添加調製試験飲料 B	141.2	0.0668

* = p ≦ 0.05、 ** = p ≦ 0.01

梅村専門委員：
血漿 ALP 活性の増加は DMDC 投与による影響の可能性は高いと思います。ただ、毒性学的意義は不明ですが、肝臓・骨に病理所見はなく、変動の幅も考えると問題ではない変化と思います。
卵巣の絶対及び相対重量の減少は軽微であり、その他の所見でよいと思います。

中江専門委員：
卵巣重量については、生物学的にも毒性学的にも有意な影響と考えなくていいと思います。
飲料 B 群の活性上昇に関してが「投与に関係する有意な影響」ととらえざるを得ません。ただし、この変化の生物学的・毒性学的意義については、考慮する余地があります。ALP の主対象である肝・骨等に異常がありませんし、なにより飲料 B 群のみにみられた影響であって飲料 A 群においては無影響です。後者の事実は DMDC の分解物・不純物等のプロファイルが飲料中で共存する化学物質の組成によって異なることを示唆し、飲料 B との共存下では ALP 活性を上昇させた「なにか」が、飲料 A との共存下では生成されなかったか、されたとしても量的に ALP 活性を上昇させ得るレヴェルに達しなかったと推察されます。これらのことを勘案すると、飲料 B における ALP 活性上昇については、「DMDC 投与に関係する影響であるものの、その生物学的・毒性学的意義が不明確である」というのが、私の見解です。

頭金専門委員：
血漿 ALP 活性の増加の毒性学的意義は分かりませんが、肝臓や骨に毒性所見がないこと、他の生化学的パラメーターが動いていないことから、積極的に毒性所見と考えるべき所見ではないと思います。

塚本専門委員：
Charles River 社 SD ラット長期モニタリングデータ[追加 13_1] p. 10: (5) 血液生化学的検査では、30 週齢雄の ALP=508.9±215.0 (平均±標準偏差、n=10)と非常にばらつきが大きいです。主だった ALP isozyme の由来である肝、骨に組織学的な異常は認められていませんし、今回のデータでは有意差がついていますが、背景データ範囲内と判断したいと思います。
卵巣重量について、「Popp_2013_VEL_TOX_subchrOral_rat_drinkA_B.pdf」の p. 382 で 29 日時点での体重は 200g 前後です。
添付文献 [追加 13_2]田所ら（1962）「ラット体重と臓器重量について」の p. 257 では、体重 200g の時の卵巣重量は、62 mg (range 約 48-76 mg)です。

以上のことから、本試験の水道水群の卵巣重量が高すぎると思います。組織学的に異常がないなら、敢えて異常所見と取る意義は少ないと思います。

石塚専門委員：
飲料 B の変化について、所見について、二炭酸ジメチルに起因すると考えますが、毒性所見としては考えにくいと判断いたしました。他のマーカーおよび組織に変化がないこと、ALP については比較的変動しやすいパラメーターであるためです。

髙橋専門委員、髙須専門委員
血漿 ALP 活性の増加、卵巣の絶対及び相対重量の減少についても、その他の所見として記載することで結構です。DMDC 添加調製試験飲料 B 投与群で認められた血漿 ALP 活性の増加については、DMDC 投与による影響と思われますので、毒性所見でないとしても、調査会としての考察を記入したほうがよいと思います。

塚本専門委員：
文献[追加 13_3]UNAKAMI ら（1989）Separation and Quantification of Serum Alkaline Phosphatase Isozymes in the Rat by Affinity Electrophoresis では、ALP 値は成長と共に bone ALP が低下していきますが、食事摂取によって intestinal ALP の上昇があるようです。組織学的には、いずれの臓器にも特段の異常は無いようなので、DMDC4,000 mg/L 添加　調製試験飲料 B」による反応性の intestinal ALP の上昇の可能性も考えられるかと思います（推測ですが）。
ヒトで intestinal ALP 高値の家系があるようですが、特に症状を引き起こすわけではないようです。
胎盤由来の ALP はこの場合考慮する必用はないと思います。

中江専門委員：
本試験では Wistar 系の 4-5 週齢から 8-9 週齢までが用いられているのに対し、Charles River 社 SD ラット長期モニタリングデータは SD 系のデータであり、かつ、雄 30 週齢では塚本専門委員の御指摘のとおり標準偏差が大きいものの、雄のその他の週齢や雌の標準偏差は通常みるレベルであって、それほど大きなものでなく、また、仮に系統・週齢を無視して本試験の結果をこのデータの雄 30 週齢以外のものと強引に比較したとしても、本試験の飲料 B+DMDC 群の ALP 活性は高値と言わざるを得ません。したがって、「背景データ範囲内」という塚本専門委員の御意見には、残念ながら同意できかねます。
また、食事による腸管 ALP 過剰発現についても、その情報そのものは重要です

が、評価書に記載するべきかどうか判断するためには、評価書の該当試験とどう関係するか、そもそもその試験の結果を解釈するために用いることが妥当かどうかを専門調査会で検討が必要と思います。

事務局より：
　下記のようなたたき台を記載しておりますので、御確認ください。

髙橋専門委員：
　個体差、腸管 ALP の情報について、本試験とどう関係するか判断できるだけの情報もないため、本試験に係る考察には記載しないほうがよいと思います。

　Popp（2013）は、各 DMDC 添加調製試験飲料における変化について以下のように考察している。
・血液学的検査の変化については、対象群の背景値の範囲内であり生理学的な変動範囲内である。
・血液生理学的検査で認められた ALP 活性の変化については、水道水投与群においても背景値（雄 338.0 U/L、雌 228,0 U/L）より高値であり、また、肝臓及び骨における病理組織学的影響が認められていない。AST 活性及びクレアチニン濃度の減少については、これらの検査値が増加する場合に安全性上の懸念があるため、懸念する被験物質による毒性学的関連性はない。血清電解質の変化については対照群からの変化量が少なく、毒性学的な意義はない。
・臓器重量の変化について、各 DMDC 添加調製試験飲料群間で病理組織学的な差異が認められず、毒性学的な意味はない
　よって、本試験における DMDC 4,000 mg/L を添加した飲料 A 及び飲料 B の摂取によるラットへの毒性影響は認められなかったとしている。
　EFSA（2015）は、Popp の本試験における結論に同意するとしている。（参照１２、６１）【35EFSA（2015）、補足 2 文献 3（追加 15_3） Popp（2013）】

　本専門調査会としては、DMDC 添加調製試験飲料 B 投与群で認められた血漿 ALP 活性の増加について、DMDC 添加調製試験飲料 B の投与に関連すると考えられる。一方で、DMDC 添加飲料 B で見られたような変化が DMDC 添加飲料 A で見られなかった。これらのことから、DMDC の分解物・不純物等のプロファイルが飲料中で共存する化学物質の組成によって異なることが示唆された。
　当該所見について、他の肝臓関係の生化学的マーカーには変化がなく、肝臓及び骨に病理組織学的な異常が認められなかったことから、毒性学的意義は少ないと考えた。

本専門調査会としては、本試験においてラットへの毒性影響が認められなかったとする Popp（2013）の結論を是認できると考えた。

ｂ ~~a~~. **ラット 3 か月間経口投与試験（Bayer AG 社内資料（Löser（1974））（JECFA（1991）[25]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 9 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 9　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/kg 体重/日）
1	オレンジジュース	雄	242.05
		雌	329.28
2	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	260.83
		雌	350.44
3	カシスジュース	雄	214.98
		雌	305.31
4	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加カシスジュース（4,000 mg/L）	雄	225.67
		雌	327.01
5	ビール	雄	159.62
		雌	215.02
6	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加ビール（4,000 mg/L）	雄	157.47
		雌	203.38
7	白ワイン~~ぶどう酒~~	雄	122.12
		雌	149.84
8	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加白ワイン~~ぶどう酒~~（4,000 mg/L）	雄	141.27
		雌	172.18

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、飲料摂取量~~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の所見において、DMDC 添加~~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、６２）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、86 Löser（1974）】

[25] JECFA（1991）では Löser（1978）とされている。

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。

事務局より：
補足資料として、赤ワインを用いた試験成績が新たに提出されたため、これまでに提出されていた試験との差異がわかりやすくなるよう、「ぶどう酒」を「白ワイン」と記載整理しました。

ｃ．ラット 13 週間経口投与試験（Triskelion 社（Wolterbeek（2018））、GLP）

Wistar（Han）ラット（雌雄、各群 10 匹、IGS）に DMDC 添加飲料（4,000 mg/L）を、表 10 のような試験群を設定して、13 週間飲水投与する試験が実施されている。

表 10　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料
1	水道水
2	りんご酒（シードル）
3	DMDC 添加りんご酒（シードル）（4,000 mg/L）
4	ビタミン類添加混合果実系飲料
5	DMDC 添加ビタミン類添加混合果実系飲料（4000 mg/L）
6	紅茶飲料
7	DMDC 添加紅茶飲料（4,000 mg/L）
8	赤ワイン
9	DMDC 添加赤ワイン（4,000 mg/L）

その結果、各飲料を対照とした比較において各 DMDC 添加飲料について以下の所見が認められた。

DMDC 添加りんご酒投与群（雄）：血漿 ALT 濃度及びカリウム濃度の減少、精巣上体の絶対重量の増加

DMDC 添加りんご酒投与群（雌）：血漿 A/G 比及び血糖濃度の増加、血漿カルシウム濃度の減少、尿中結晶のスコア値の増加

DMDC 添加ビタミン類添加混合果実系飲料投与群（雄）：体重増加の一過性の減少（投与 0～7、35～42、56～63 日）、血漿 ALT 濃度の増加、精巣上体の相対重量の増加、前立腺の絶対重量の減少

DMDC 添加ビタミン類添加混合果実系飲料投与群（雌）：脳の絶対重量の減少

DMDC 添加紅茶飲料投与群（雌）：体重の一過性の変化（投与 28～35 日（減少）、投与 63～70 日（増加））、血小板数の増加、血漿ナトリウム濃度、カリウム濃度及び塩素濃度の増加、血漿中尿素の減少

DMDC 添加赤ワイン投与群（雄）：血漿ナトリウム濃度の増加

DMDC 添加赤ワイン投与群（雌）：体重増加の一過性の減少（投与 7～14 日、35～42、63～70 日）、血漿 AST 濃度の減少

なお、各 DMDC 添加飲料とも、臨床所見、神経行動学的試験の結果、眼科的検査の結果及び病理組織学的所見について、DMDC の添加に由来する影響は認められなかった。

高橋専門委員、髙須専門委員：
DMDC 添加群と DMDC 非添加群との間に統計学的有意差があっても
・一過性の変化
・背景データ（Clinical Laboratory Parameters for Crl：Wl（Han）（2008））（参照 6 3）【[追加 14]Giknis and Clifford（2008）】の範囲内の変化（血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査）
・水道水投与群の値を考慮すると、毒性所見と考えられない変化（血糖値、肝臓重量、脾臓重量）
・臓器重量については、相対重量、絶対重量のいずれか一方のみの変化
については、その他の所見として記載することで結構です。

Wolterbeek は、死亡数、臨床所見、神経行動学の所見、眼科検査の所見、成長状態の所見、血液学的検査の所見、血液生化学的検査の所見、尿検査の所見、器官重量の所見及び病理組織学的検査の所見について、DMDC の添加に由来する影響は認められなかったとしている。（参照 6 4）【追加 2 文献 4 （追加 15_3）Triskelion 社（Wolterbeek（2018））】

本専門調査会としては、本試験においてラットへの毒性影響が認められなかったとする Wolterbeek（2018）の結論を是認できると考えた。

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

Wistarラット（雌雄、各群50匹）にDMDC添加飲料（4,000 mg/L[24][~~26~~]）を表11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。

~~[26] Bayer AG 社内資料（Löser（1974））では 4,000 ppm と記述されている。~~

表 11　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/動物/日）
1	水道水	雄	28
		雌	27
2	オレンジジュース	雄	51
		雌	49
3	DMDC~~4,000 mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	49
		雌	47

その結果、一般状態、体重、死亡率、摂餌量、飲料摂取量~~飲水量~~、血液学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査の所見において、~~被験物質の投与~~DMDC添加に関連した影響は認められなかった。

Löserらは、本試験におけるDMDC~~4,000 mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）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、６５）【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。

e ~~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/L[24][~~27~~]）を表 12 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 12　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/動物/日）
1	水道水	雄	27
		雌	25
2	白ワイン~~ぶどう酒~~	雄	29
		雌	26
3	DMDC~~4,000 mg/L~~添加白ワイン~~ぶどう酒~~	雄	38
		雌	34

~~[27] BayerAG 社内資料（Eiben ら（1984）では 4,000 ppm と記述されている。~~

	（4,000 mg/L）		

その結果、摂餌量については、水道水摂取群と比較して白ワインぶどう酒及び DMDC 添加白ワインぶどう酒摂取群で平均 29%及び 23%の減少が認められ、飲料摂取量飲水量については、水道水摂取群及び白ワインぶどう酒摂取群と比較して DMDC 添加白ワインぶどう酒摂取群で平均 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の所見において DMDC 添加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 添加白ワインぶどう酒摂取群における飲料摂取量の変化について、白ワインぶどう酒中で DMDC から分解した二酸化炭素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 添加白ワインぶどう酒（4,000 mg/L）の摂取によるラットへの影響は認められなかったとしている。

EFSA（2015）は、JECFA（1991）も Eiben らと同様の結論であるとして、JECFA（1991）の本試験における結論に同意するとしている。（参照１１、１２、６６）【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。

f 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/L[24][28]）を表 13 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 13　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/動物/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	DMDC 4,000 mg/L 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	880
		雌	700

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

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料摂取量~~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の所見において、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（4,000 mg/L）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１１、１２、６７）【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。

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/L[24]）を表14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 14　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/動物/日）
1	水道水	雄	28
		雌	27
2	オレンジジュース	雄	51
		雌	49
3	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	49
		雌	47

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（4,000 mg/L）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。

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/L[24~~24~~]）を表 15 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 15　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量(mL/動物/日)
1	水道水	雄	27
		雌	25
2	白ワイン~~ぶどう酒~~	雄	29
		雌	26
3	DMDC~~4,000 mg/L~~添加白ワイン~~ぶどう酒~~（4,000 mg/L）	雄	38
		雌	34

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~~添加白ワイン~~ぶどう酒~~（4,000 mg/L）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、６６）【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。

c．イヌ 1 年間経口投与・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/L[24~~25~~]）を表 16 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 16　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量（mL/動物/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	DMDC~~4,000 mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	880
		雌	700

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（4,000 mg/L）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、６７）【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。

⑤　生殖発生毒性

ａ．ラット二世代生殖毒性試験（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/L[24~~29~~）を表 17 のような試験群を設定して、二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 17　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料	性別	飲料摂取量(mL/動物/日)
1	水道水（対照群）	F_0 雄	26
		F_{1b} 雄	26
		F_0 雌	21
		F_{1b} 雌	20
2	オレンジジュース	F_0 雄	77
		F_{1b} 雄	79
		F_0 雌	78
		F_{1b} 雌	79
3	DMDC~~4,000~~	F_0 雄	77

~~[29] BayerAG 社内資料（Eiben ら（1983））では 4,000 ppm~~

	~~mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	F_{1b} 雄	79
		F_0 雌	78
		F_{1b} 雌	79

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~~所見において、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（4,000 mg/L）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するとしている。（参照１１、１２、６８）【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。

ｂ．ラット発生毒性試験（BayerAG 社内資料（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/L~~30~~[24]）を表 18 のような試験群を設定して、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 18　DMDC　試験群の設定

群	投与飲料
1	オレンジジュース
2	DMDC~~4,000 mg/L~~ 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）

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

~~30 Schlüter（1980）では 4,000 ppm と記載されている。~~

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DMDC~~4,000 mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）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、DMDC~~4,000 mg/L~~添加オレンジジュース（4,000 mg/L）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、６９）【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。

⑥　ヒトにおける知見

DMDC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

DMDC 添加飲料に、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

DMDC 添加飲料を被験物質とする試験では投与時の実際の DMDC のばく露量は不明であるため、それらの成績から、DMDC の NOAEL を求めることは適切でないと考えた。このため、DMDC の NOAEL を得ることはできなかったが、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において、毒性所見は認められなかった。DMDC 添加飲料には DMDC 関連化合物が含まれることから、被験動物に毒性所見が認められなかったことは、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上で有益な情報であると考えた。

事務局より：
毒性のまとめのたたき台を記載していますので、御確認ください。

（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 19 のとおりである。

表 19　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（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*Escherichia coli* WP2-*uvrA*）	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 42）【69】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*E. coli* WP2*uvrA*）	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 70）【162】
染色体異常	染色体異常試験（*in vitro*）	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 42）【69】
	姉妹染色分体交換（SCE）試験~~（SCE 試験）~~（*in vitro*）	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）[31] 陰性（代謝活性化系存在下）	
	小核試験（*in vivo*）	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。

[31] 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 20 のとおりである。

表 20 メタノールに関する急性毒性の試験成績

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 71）【141】
ラット（雄）	9,100	Welch ら（1943）（参照 72）【145】
ラット	12,000（Behrens 法による）[32] 11,000（Bliss 法による）	Deichmann and Mergard（1948）（参照 73）【147】
ラット（23 系統）	約 9,500	Gilger and Potts(1955)（参照 74）【146】
ラット	5,800（14 日齢）[33] 10,000（若齢） 7.000 （老齢）	Kimura ら(1971)（参照 75）【144】
ラット	12,880	Smyth ら(1972)（参照 76）【140】
サル	7,000～9,000	Cooper and Felig（1961）（参照 77）【148】

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

以降の知見については、吸入試験であるため、評価対象とせず参考資料として記載する。~~（吸入試験について、文案調整中）~~

（a）**マウス 12 か月間吸入毒性試験（NEDO（1986））**

B6C3F1マウス（雌雄、各群30匹）にメタノールを表 21のような試験群を設定して、1日当たり約20時間で12か月間吸入させ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	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

[32] Deichmann and Mergard （1948）において、LD_{50}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/cm^3（4℃）として算出。

[33] Kimura ら(1971）において、LD_{50}は、7.4 mL/kg（14 日齢）、13.0 mL/kg（若齢）、8.8 mL/kg（老齢）と記述記述されている。メタノールの比重 0.7915（20℃/4℃）（WHO（1997））、水の密度 1.000 g/cm^3（4℃）として算出。

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
・1,000 ppmばく露群（雌雄）：体重の一時的な高値（試験終了時は有意差なし）
・1,000 ppmばく露群（雌）：摂餌量の低下（ばく露初期2か月間及び7ヶ月以降試験終了時まで）
・1,000 ppmばく露群（雄）：肝臓の脂肪変性の発生頻度及び変性の程度の増加
・100 ppmばく露群（雌）：死亡（１匹）、切迫屠殺（１匹）
・10 ppm以上のばく露群（雌雄）：体重の高値傾向
・10 ppm以上のばく露群（雄）：肝臓の脂肪変性の発生頻度及び変性の程度の用量依存的な増加傾向

なお、一般状態、臨床検査及び腫瘍性の変化について、被検物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO（1986）では、以下のように考察している。
・摂餌量の変化と体重の変化との間に相関性はなかった
・肝臓の脂肪変性については、体重の重い個体で変性の程度が高い例が多いことや対照群でも高頻度に発生していることから、被検物質のばく露に起因した影響であるか不明である

NEDO（1986）では、以上の結果から1,000 ppmばく露でも被験物質のばく露に起因した影響は認められなかったとしている。（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｂ）マウス 18 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））

B6C3F1マウス（雄：各群52匹、雌：各群53匹）にメタノールを表 22のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、18か月間吸入させる試験が実施されている。

表 22　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
・1,000 ppmばく露群（雌雄）：体重の高値（ばく露12か月以降は有意差なし）
・10 ppm以上のばく露群（雌雄）：体重の高値傾向

NEDO（1986）では、一般症状、摂餌量、臨床検査値及び臓器重量において

被検物質のばく露に起因した影響は認められず、病理組織学的検査においても腫瘍性変化は認められなかったとしている。（参照７８）【153NEDO（1986）】

（ｃ）ラット 4 週間吸入毒性試験（Andrew ら（1987））

SDラット（雌雄、各群5匹）に、メタノールを表 23のような試験群を設定して、1日6時間、週5日で4週間吸入させる試験が実施されている。

表 23　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、500、2,000、5,000 ppm（v/v 空気中）

その結果、Andrewらは各吸入ばく露群において以下の所見が認められたとしている。

・500 ppm以上のばく露群（雌雄）：涙、粘液性鼻汁、血性鼻汁及び血性鼻垢といった分泌物が認められた個体の増加、粘液性鼻汁が認められた個体の用量相関的な増加

・2,000 ppmばく露群（雌）：脾臓相対重量の増加

なお、体重増加及び病理組織学的検査において被検物質の投与に関連した影響は認められず、5,000 ppmばく露群における検眼検査で異常は認められなかった。

Andrews らは、粘液性鼻汁の増加を上部気道への刺激により生じたものとし、脾臓相対重量の増加について生物学的意義はないとしている。これらの結果から、5,000 ppm までメタノールを反復でばく露しても、毒性をもたらすまでギ酸が生成することはなく、健康に影響を及ぼすことがないことが示唆されているとしている。（参照 ７９）【149 Andrew ら（1987）】

（ｄ）ラット 6 週間吸入毒性試験（White ら（1983））

SDラット（雄、各群4匹）に、メタノールを表 24のような試験群を設定して、1日6時間、週5日で6週間吸入させる試験が実施されている。

表 24　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、200、2,000、10,000 ppm

その結果、各ばく露群において、ばく露1、2、4及び6週間後に肺表面及び肺組織で測定した各因子（タンパク質他）に意義ある変化は認められなかった。（参照８０）【150 Whiteら（1983）】

高須専門委員：

本試験は肺における核酸やタンパクなどを測定した試験で、一般的な毒性試験の検査項目を検討する目的で実施された試験でないことから、削除してもよろしいかと考えますが、いかがでしょうか。

事務局より：
削除することでよろしいでしょうか。

（ｅ）ラット 4 及び 13 週間吸入毒性試験（Lee ら（1990））

Fischer344ラット（雄）を標準餌摂餌群（A群：各群5～7匹）、葉酸充足調整餌摂餌群（B群：各群7～10匹）及び葉酸欠乏調整餌摂餌群（C群：各群7～9匹）に分けて13週間それぞれの餌を摂餌させ、その後、各群に同様に摂餌させながら、メタノールを表 25のような試験群を設定して、1日8時間，週7日で4及び13週間、吸入させる試験（試験Ⅰ）が実施されている。

なお、摂餌内容による影響を調べるために、Fischer344ラット（雄、各群26～27匹）及びLong-Evansラット（雄、各群24～27匹）について、A群、B群及び別の葉酸添加調整餌摂餌群（D群）を設定し、41～64週間摂餌させる追跡試験（試験Ⅱ）も実施している。

表 25　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、800 ppm

その結果、試験Ⅰにおいて、各群の摂餌26週間後に以下の所見が認められた。
・B群（葉酸充足調整餌摂餌群）：視神経障害（6匹（対照群5匹、投与群1匹））
・C群（葉酸欠乏調整餌摂餌群）：視神経障害（7匹（対照群4匹、投与群3匹））
なお、A群（標準餌摂餌群）では摂餌26週間後まで視神経障害は認められず、B群では摂餌17週間後まで視神経障害は認められなかった。

また、試験Ⅱにおいて、各群に以下の所見が認められた。
・A群（標準餌摂餌群）：視神経障害（4匹：53～60週間後）
・B群（葉酸充足調整餌摂餌群）：視神経障害（5匹：53～60週間後）
・D群（別の葉酸添加調整餌摂餌群）：視神経障害（4匹：59～60週間後）
なお、Long-Evansラットでは、いずれの群においても視神経に障害が認められなかった。

Leeらは、以上の結果から、視神経の障害は葉酸の欠乏及びメタノール投与の影響によるものではないとしている。（参照８１）【151　Leeら（1990）】

（ｆ）ラット 12 か月間吸入毒性試験（NEDO（1986））

Fischer344ラット（雌雄、各群20匹）にメタノールを表 26のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、12か月間吸入させる試験が実施されている。

表 26　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
・1,000 ppmばく露群（雌雄）：軽度の体重増加の抑制
・10 ppm以上のばく露群（雌）：肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的なわずかな増加

なお、一般状態、臨床検査及び病理組織学的検査について、被検物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO（1986）では、以下のように考察している。
・肝臓及び脾臓の相対重量の増加について、5%以下であることから被検物質のばく露に起因した影響とは考えられない。
NEDO（1986）では、以上の結果から1,000 ppmばく露群における変化を全く影響がなかったと断定できないとして、100 ppm以下のばく露量では、被験物質のばく露に起因した影響は認められなかったとしている。（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｇ）ラット 24 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））

Fischer344ラット（雄雌：各群52匹）にメタノールを表 27のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、24か月間吸入させる試験が実施されている。

表 27　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
・1,000 ppmばく露群（雄）：肺の乳頭腺腫の発現頻度の増加
・1,000 ppmばく露群（雌）：副腎の好クロム性細胞腫の発現頻度の増加傾向

なお、一般症状、摂餌量、臨床検査値（尿検査、血球数等）及び臓器重量において被検物質のばく露に起因した影響は認められなかった。
NEDO（1986）では、以下のように考察している。
・肺の乳頭腺腫への変化の移行が疑われる腺腫症の発現頻度を合わせて考えると、被検物質のばく露に起因した影響とは認められない

・副腎の好クロム性細胞腫については、文献的知見が少ないことや本試験での例数が少ないことから、明確な結論を得ることができない
・各群とも種々の非腫瘍性変化が認められたが、大部分がFischer344ラットで認められる自然発生的な変化であることから、被検物質のばく露に起因した影響とは認められない
（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｈ）サル４週間吸入毒性試験（Andrews ら（1987））

カニクイザル（雌雄、各群3頭）に、メタノールを表 28のような試験群を設定して、1日6時間、週5日で4週間吸入させる試験が実施されている。

表 28　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、500、2,000、5,000 ppm（v/v 空気中）

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
・5,000 ppmばく露群（雌）：副腎絶対重量の低下

なお、肉眼所見、体重増加及び病理組織学的検査において被検物質の投与に関連した影響は認められず、5,000 ppmばく露群における検眼検査で異常は認められなかった。

Andrewsらは、副腎絶対重量の低下について生物学的意義はないとしている。これらの結果から、5,000 ppmまでメタノールを反復でばく露しても、毒性をもたらすまでギ酸が生成することはなく、健康に影響を及ぼすことがないことが示唆されているとしている。（参照７９）【149 Andrewsら（1987）】

（ｉ）サル２年５か月間吸入毒性試験（NEDO（1986））

カニクイザル（雌、各群8匹）にメタノールを表 29のような試験群を設定して、1日当たり22時間、2年5か月間吸入させる試験が実施されている。

表 29　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が最終的に認められた。
・1,000 ppmばく露群：心電図T波の平坦化及び陰性化並びにQ波の陽性化（3匹）、肝臓のグリソン鞘及び肝細胞索内への円形細胞の浸潤の出現と限局的線維化、腎臓糸球体の硝子化と尿細管間質への細胞浸潤、心臓でのズダン陽性顆粒含有細胞の出現頻度の増加
・100 ppm以上のばく露群：中脳中心灰白質（中脳水道周囲灰白質）並びに橋

及び延髄の被蓋部の反応性星状膠細胞の増生、末梢神経の有髄線維の軽度の減少及び線維化、腎臓でのズダン陽性顆粒含有細胞の出現頻度の用量依存的な増加、肺細気管支周囲及び中隔の限局的な軽度のリンパ球浸潤（各1匹）

・100 ppmばく露群：心電図T波の陰性化（1匹）、急性肝障害の発症に伴う血清中の総タンパク質濃度、遊離コレステロール濃度、GOT活性値、GPT活性値及び血漿中のグルコース濃度の増加並びにチモール混濁反応の陽性化（1匹、投与約2年以降）

・10 ppm以上のばく露群：大脳白質及び視床下部の反応性星状膠細胞の増生、肝臓の中心静脈周囲でのズダン陽性顆粒含有細胞の出現頻度の用量依存的な増加、限局的な気管粘膜上皮の萎縮と杯細胞の減少（各1又は2匹）

NEDO（1986）では、以下のように考察している。

・心電図の波形の変化から、軽度の心筋障害が発生した可能性が考えられる

・急性肝障害については、γ-GTP活性、白血球数及び好酸球の増加が認められず、アルコール性肝炎の病状と異なることから、被験物質のばく露に起因した影響ではない

・反応性星状膠細胞は、ばく露用量が高く、ばく露期間が長いほど恒常的に出現する傾向があるものの、ばく露用量またはばく露期間との明らかな相関性は認められなかったこと、1,000 ppmで7ヶ月間ばく露後にばく露を5ヵ月20日間停止した回復試験において、大脳白質において形態学的変化が認められなかったことから、被験物質のばく露に伴う一過性の可逆的な組織反応である

・糸球体及び尿細管の変化は、用量依存性が考えられる

・心臓でのズダン陽性顆粒含有細胞の発現は、被験物質のばく露に起因した影響の可能性はあるが、その発現が心筋細胞壊死を招来する組織学的根拠は認められない

・肺でのリンパ球浸潤と被験物質のばく露との関連性は認められない

・気管での変化は限局性であり、回復試験でも認められていることから、被験物質のばく露との関連性について言及できない

（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｊ）イヌ 100 日間吸入毒性試験（Sayers ら（1944））

イヌ（雄、2匹）にメタノールを表 30のような試験群を設定して、1日当たり1回3分間、1時間ごとに8回で100日間吸入させる試験が実施されている。

表 30　メタノール　用量設定

用量	1%

その結果、一般所見、体重増加、血球数及び検眼検査において、被検物質の投与に関連した影響は認められなかった。（参照 82）【152 Sayers ら（1944）】

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。~~

ａ．参考資料

~~（吸入試験について、文案調整中）~~ 以降の知見については、吸入試験であるため、評価対象とせず参考資料として記載する。

（ａ）**マウス 18 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））**

B6C3F1マウス（雄：各群52匹、雌：各群53匹）にメタノールを表 31のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、18か月間吸入させる試験が実施されている。

表 31 メタノール 試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

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。

NEDO（1986）では、一般症状、摂餌量、臨床検査値及び臓器重量において被検物質のばく露に起因した影響は認められず、病理組織学的検査においても腫瘍性変化は認められなかったとしている。（参照 78）【153NEDO（1986）】

（ｂ）**ラット 24 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））**

Fischer344ラット（雄雌：各群52匹）にメタノールを表 32のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、24か月間吸入させる試験が実施されている。

表 32 メタノール 試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

その結果、各吸入ばく露群において以下の所見が認められた。

・1,000 ppmばく露群（雄）：肺の乳頭腺腫の発現頻度の増加

・1,000 ppmばく露群（雌）：副腎の好クロム性細胞腫の発現頻度の増加傾向

なお、一般症状、摂餌量、臨床検査値（尿検査、血球数等）及び臓器重量において被検物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO（1986）では、以下のように考察している。

・肺の乳頭腺腫への変化の移行が疑われる腺腫症の発現頻度を合わせて考えると、被検物質のばく露に起因した影響とは認められない
・副腎の好クロム性細胞腫については、文献的知見が少ないことや本試験での例数が少ないことから、明確な結論を得ることができない
・各群とも種々の非腫瘍性変化が認められたが、大部分がFischer344ラットで認められる自然発生的な変化であることから、被検物質のばく露に起因した影響とは認められない
（参照７８）【153 NEDO（1986）】

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 33-1のような試験群を設定して、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 33-1　メタノール　試験群の設定

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 33-2のとおりである。（参照８３）【157 Rogersら（1993）】

表 33-2　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、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。また、認められた胎児奇形は口蓋裂および外脳症であったが、これらはマウスにおいて母動物へのストレスにより誘発されることがあることが知られており、本試験では動物数も少なく、単用量であり用量依存性についての情報が得られないことから、認められた所見からは催奇形性を評価することはできないと判断した。

事務局より：
第165回専門調査会にて本知見を参考資料にすることとされましたが、第167回専門調査会における御議論において、本知見は参考資料とはせずに、評価対象とする知見に戻すこととされました。また、NOAELが得られない理由として単用量試験であることを記載し、加えて試験の質に関する判断等があれば記載することとされました。御確認をお願いするとともに、試験の質に関する判断について必要でしたら加筆をお願いします。

宇佐見専門委員、北條専門委員：
催奇形性については、本試験で認められた胎児奇形がマウスにおいて母動物へのストレスにより誘発される口蓋裂および外脳症のみであること、動物数が少ないこと、並びに単用量であること等から、評価することはできないと判断した、と記載することでよいと考えます。

事務局より：
上記のとおり語句を補足しています。御確認をお願いします。

中江専門委員：
修正案に同意します。

宇佐見専門委員：
事務局の補足のとおり記載を変更していただくことは構いませんが、「また、～」の一文に「本試験」が３回も出てくるなど、少々くどい感じがしますので、表現を御検討ください。

事務局より：
「本試験で」を２箇所消すなど、修正しました。御確認ください。

石塚専門委員：
「本試験における NOAELは得られないと判断した」の「本試験における」は削除してもよいのではないでしょうか。

事務局より：
削除しました。他の試験でも同様に修正しています。

ｂ．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 34-1のような試験群を設定して、妊娠10日に単回経口投与する試験が実施さ

れている。

表 34-1　メタノール　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、1.3、2.6、5.2 mL/kg 体重
mg/kg 体重[32]	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 34-2のとおりである。（参照８４）【160 Youssefら（1991）】

表 34-2　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。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。

中江専門委員：
「変異を持つ胎児の発生率の用量依存的な増加」と
「変異又は異常を持つ胎児の発生率の用量依存的な増加」の違いは何でしょうか。

宇佐見専門委員：
前者は、変異のみを有する胎児に関する記述であり、後者は、変異又は異常、あるいは両方を有する胎児の発生率に関する記述です。
前者では影響が認められない場合でも、後者では影響が認められる場合があるので、毒性指標として両方を計算します。
また、後者は、一匹の胎児で変異と異常の両方を有する場合や、同腹児にそれらの胎児が偏っている場合などがあるため、単純に表中のTotal fetuses with anomaliesとTotal fetuses with variationsの合計にはならず、個体別データから計算しなければならないので、一つの表中に別の値として記載されます。

事務局より：

上記の内容について、本文中に補足説明を加えたほうがよろしいでしょうか。

1

中江専門委員：
1000 mg/kg以上で，変異・異常のある胎児の発生率が用量依存的に増えているのに、催奇形性を有すると判断された用量が4,100 mg/kg体重以上であるのは何故でしょうか。

宇佐見専門委員：
低用量でも異常胎児の発生率に有意差がついていますが、内訳を見ると、用量依存性のない自然発生奇形と判断されるものが、散発的に認められるだけなので、メタノールの催奇形性によるものとは判断していません。
催奇形性に関しては、発生毒性とは別のものとしてのNOAELを出さないのが普通ですが、この試験の場合、用量段階の妥当性および現実的な暴露量としては評価の必要のない高用量で奇形胎児の発生率が増加しているので、「極めて高い用量では」という記載で言及しています。
今回は、自然発生奇形としては発生率が高くない、眼の奇形の用量依存的な発生率増加をメタノールによる影響として判断しています。

事務局より：
上記の内容について、本文中に補足説明を加えたほうがよろしいでしょうか。

2

3 **c．ラット生殖発生毒性試験（Cummings（1993））**

4 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
5 ールを表 35-1のような試験群を設定して、妊娠1～8日に強制経口投与した後に
6 妊娠9日、妊娠11日又は妊娠20日に子宮・胎児を検査する3試験（試験I、II及び
7 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
8 ールを表 35のような試験群を設定して、偽妊娠1～8日に強制経口投与した後
9 に偽妊娠9日に子宮を検査する試験（試験IV）が実施されている。

10

11 **表 35-1 メタノール 試験群の設定**

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

12

13 各投与群で認められた毒性所見は、表 35-2のとおりである。

14

15 **表 35 -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）
2,400 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（偽妊娠雌、試験IV） 着床部位重量の減少（母動物、試験I）
1,600 mg/kg体重/日以上	子宮重量の減少（母動物、試験I）

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８５）【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。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。

ｄ．参考資料

以降の知見については、吸入試験であるため、評価対象とせず参考資料として記載する。

（ａ）マウス吸入発生毒性試験（Rogers ら（1993））

妊娠CD-1マウス（雌、各群20～44匹）にメタノールを表 36のような試験群~~投与群~~を設定して、妊娠6日から15日（精子確認日＝妊娠0日）まで、1日あたり7時間吸入させ、妊娠17日に検査する試験が実施されている。

表 36　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、1,000、2,000、5,000、7,500、10,000、15,000 ppm

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。

＜母動物＞

・7,500 ppm以上のばく露群：死亡（各群１匹）

・1,000 ppm以上のばく露群：血漿中メタノール濃度の用量依存的増加（妊娠6、10及び15日）

＜胎児＞

・10,000 ppm以上のばく露群：胎児体重の低下

・7,500 ppm以上のばく露群：胚・胎児死亡率の用量依存的な増加
・5,000 ppm以上のばく露群：口蓋裂および外脳症の発現頻度の増加、胸骨分節欠損の増加、化骨の遅延
・2,000 ppm以上のばく露群：頸肋の発生頻度の用量依存的な増加
（参照８３）【157　Rogers ら（1993）】

（ｂ）マウス吸入発生毒性試験（Bolon ら（1994））

妊娠CD-1マウス（雌、対照群25匹、ばく露群20匹）にメタノールを表 37のような試験群~~投与群~~を設定して、妊娠7日から9日（膣栓確認日＝妊娠0日）まで、1日あたり6時間吸入させて分娩予定前日の妊娠17日に胎児を検査する試験（Ⅰ）、また、妊娠CD-1マウス（雌、ばく露群4～9匹、対照群3~5匹）にメタノールを同様に吸入させ、吸入期間中（妊娠8.5日及び9日）及び直後（妊娠9.5日、10.5日）の胚を検査する試験（Ⅱ）が実施されている。

表 37　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、15,000 ppm

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
試験Ⅰ　＜母動物＞
・体重の低下（妊娠17日）
＜胎児＞
・体重の低値
・主に外脳症からなる頭部神経管異常の発生頻度の増加

試験Ⅱ　＜胚＞
・前神経孔開存の発生頻度の増加（妊娠9.5日）
（参照８６）【158 Bolonら（1994）】

（ｃ）ラット吸入発生毒性試験（NEDO（1986））

SDラット（雌、各群36匹：24匹は帝王切開・胎児検査（妊娠20日）、12匹は自然分娩させて出生F1児を8週齢時に剖検）にメタノールを表 38のような試験群~~投与群~~を設定して、妊娠7日から17日（膣内精子確認日＝妊娠0日）まで、1日あたり平均22.7時間吸入させる試験が実施されている。

表 38　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、200、1,000、5,000 ppm

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。

＜雌親動物＞
・5,000 ppmばく露群：体重増加の顕著な抑制、摂餌量及び摂水量の減少（妊娠7～14日、分娩後1週間）、死亡（1例；妊娠19日）、安楽死（1例；妊娠18日）、妊娠期間の延長
＜胎児＞
・5,000 ppmばく露群（雌雄）：後期死亡胚数の増加による胚死亡率の増加、体重の低下、心室中隔欠損の発現（約50%）、頸椎肋横突孔閉鎖・頸肋骨・過剰舌下神経孔の発現（約50%）、内臓・骨格変異の発現頻度の増加、化骨の遅延
＜F1児動物＞
・5,000 ppmばく露群（雌雄）：死亡率の増加（生後4日まで）、体重増加の抑制
・5,000 ppmばく露群（雄）：脳、甲状腺、胸腺及び精巣の重量低下、片側性甲状腺欠損（8週齢の剖検時）
・5,000 ppmばく露群（雌）：脳及び胸腺の重量低下、片側性甲状腺欠損（8週齢の剖検時）

NEDO（1986）では、以下のように考察している。
・F1児動物の片側性甲状腺欠損をメタノールのばく露に起因する影響と考えるものの、残存する対側甲状腺の病理組織学的検査で異常が認められなかったことから、メタノールのばく露に起因する影響は、甲状腺の発生時期のみに影響を与えたものと考えられる。
・その他の臓器重量の変化については、病理組織学的検査で異常が認められなかった。
（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｄ）ラット吸入生殖発生毒性試験（NEDO（1986））

SDラット（雌雄、各群30匹）にメタノールを表 39-1、表 39-2のような試験群投与群を設定して、各世代の吸入ばく露期間をのようにして二世代にわたり吸入させる試験が実施されている。

表 39-1　メタノール　試験群の設定

用量	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

表 39-2　各世代の吸入ばく露期間

F_0 世代	雄：生後 8 週齢から 16 週齢以降の交配期間終了まで 雌：生後 8 週齢から 16 週齢以降の交配を経て、F_1 世代の離乳ま

	で（分娩後 21 日まで）
F_1 世代	雄：出生時より生後 14 週齢以降の交配期間終了まで 雌：出生時より生後 14 週齢以降の交配を経て、F_2 世代の離乳まで（分娩後 21 日まで）
F_2 世代	雌雄：出生時より生後 21 日齢まで（1 腹中雌雄各 1 例については 8 週齢まで）

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。
＜1,000 ppmばく露群＞
F_0（雄）：体重増加の抑制（ばく露7週以降）
F_0（雌雄）：摂餌量の低下
F_1（雄）：精巣下降の早期化、脳の絶対重量の低値（8及び16週齢時）、血液中のメタノール濃度の増加（9週齢時）
F_1（雌）：脳及び胸腺の絶対及び相対重量の低値、心臓の絶対重量の増加、心臓の相対重量の高値傾向（8週齢時）、脳重量の低値、胸腺と心臓の重量の高値傾向、肝臓重量の増加（24週齢（離乳時））、血液中のメタノール濃度の増加（9週齢時）
F_2（雄）：下垂体の絶対及び相対重量の低値、脳及び胸腺の絶対重量の低値、心臓、肝臓及び腎臓の相対重量の高値（8週齢時）
F_2（雌）：胸腺の絶対及び相対重量の低値、脳及び下垂体の絶対重量の低値、肝臓の相対重量の高値（8週齢時）

＜100ppm以上のばく露群＞
F_2（雄）：精巣下降の早期化（用量依存的な早期化）

NEDO（1986）では、以下のように考察している。
・血液中のメタノール濃度は、Fischer344ラット（ラット24か月間吸入毒性・発がん性併合試験（p75））での血中濃度とほぼ一致している
・F_0（雄）の体重増加の抑制は、ばく露前の馴化期間（9日間）中の体重増加の伸びを考慮せず群分けしたことにより、増加の伸びの少ない個体が1,000 ppmばく露群に多く振り分けられた可能性が強いため、毒性影響ではない。
・摂餌量の減少は、体重増加の抑制に伴う現象である。
・精巣下降は体重の重い個体ほど早く認められ、群平均体重が同じ場合には高用量ばく露群で対照群より早く発現しており、早期化傾向はF_2児の方が明瞭である。
（参照７８）【153 NEDO（1986）】

（ｅ）ラット吸入発生毒性試験（Nelson ら（1985））

妊娠SDラット（雌、各群13～15匹；膣栓または膣垢中精子の確認日＝妊娠0日）にメタノールを表 40のような試験群を設定して、妊娠1日から19日又は妊娠7日から15日まで、1日あたり7時間吸入させ、妊娠20日に検査する試験が実施されている。

表 40 メタノール 試験群の設定

用量	0（対照群）、5,000、10,000 ppm（吸入ばく露期間：妊娠 1 日から 19 日） 20,000 ppm（吸入ばく露期間：妊娠 7 日から 15 日）

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。

＜胎児＞

・20,000 ppmばく露群：用量依存的な体重の低値、骨格奇形を持つ胎児及び内臓奇形を持つ胎児の発生頻度の増加、異常胎児を認めた腹の出現率の増加、頸肋の発生頻度の増加傾向、尿路系あるいは心臓血管系の異常の発生頻度の増加傾向

・10,000 ppmばく露群：用量依存的な体重の低値、骨格奇形を持つ胎児及び内臓奇形を持つ胎児の発生頻度の増加傾向

（参照８７）【159 Nelsonら（1985）】

~~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~~	~~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所見は、次のとおりである。~~

~~・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）【157 Rogersら（1993）】~~

⑦　ヒトにおける知見

ａ．中毒影響のレビュー（Skrzydlewska（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、食事中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４６）【追加１】

ｂ．中毒影響のレビュー（WHO（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/m^3 （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/m^3（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/m^3（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４０）【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１４）【23】

⑧ 毒性のまとめ

メタノールに、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

メタノールの急性毒性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット発生毒性試験（Youssef ら（1997））については、母動物に対する一般毒性に係る NOAEL は 2,100 mg/kg 体重であるが、最低用量（1,000 mg/kg 体重）でも胎児に毒性所見が認められたことから、発生毒性に係る NOAEL は得ることができないと判断した。また、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。ラット生殖発生毒性試験（Cummings（1993））については、最低用量（1,600 mg/kg 体重/日）でも子宮重量の減少が認められたことから、生殖毒性に係る NOAEL は得ることができないと判断した。

発がん性に関する知見は認められなかった。

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り、メタノール中毒では、一般的に摂取量に伴い、代謝性アシドーシス、中枢神経系の機能障害という症状を経て、更に増加すると失明に至る視覚障害、死亡も認められるようになる。ヒトにおける毒性量及び致死量は明らかではないが、Röe（1982）は、ヒトにおいて、メタノールの最小致死量は 1 g/kg 体重と推測されるとしている。

なお、FDA（1993）では、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。~~・・・（文案調整中）~~

事務局より：
毒性のまとめのたたき台を記載していますので、御確認ください。
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とされているため、ヒトにおける知見としてレビューや評価書等の情報を幅広く記載しています。

髙橋専門委員：
記載内容に異論はございません。

（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 41 のとおりである。

表 41　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

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（Steinhoff（1973）（JECFA（1991）で引用））（参照 12、88）【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_2O	>15,000	
ラット（雌）	N-カルボメトキシアラニン	6,000～6,500	
	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_2O	>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。

⑥　ヒトにおける知見

~~N-~~CMC 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

CMC の毒性について、提出されている知見は、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みである。この試験結果からは安全性に係る懸念は示唆されなかった。

関連物質として、種々の 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が実施されており（p54～69）、いずれも毒性所見が認められなかった。反復投与毒性試験では、市販されている多様な成分を含有する飲料及び多種類の添加物で構成された調製試験飲料を対象にして実施していることから、飲料中成分と反応し生成される可能性のある CMC の生体への影響を調べたものと考えられる。

以上の提出されている試験成績からは、CMC の安全性に係る懸念は示唆されなかった。

事務局より：

毒性のまとめのたたき台を記載していますので、御確認ください。

DMDC 添加飲料を用いた試験成績を踏まえた考察についても案文を作成していますが、記載の要否、本項目に書くのが適切か、どのような記載をするのがよいか、御意見いただければと思います。

中江専門委員：

「*飲料中に含有されうる多くの成分を対象にすることで、生成する可能性がある CMC による生体への影響を調べたものと考える。*」は「飲料中に含有されうる多くの成分の生体への影響を調べたことになり、CMC によるそれもその中に含まれるものと考える」としてはいかがでしょうか。

髙橋専門委員：

「*飲料中に含有されうる多くの成分を対象にすることで、生成する可能性がある CMC による生体への影響を調べたものと考える。*」は「飲料中成分と反応し生成される可能性のある CMC の生体への影響を調べたものと想定される」とすることでいかがでしょうか。

佐藤専門委員：

DMDC 添加飲料については、DMDC の毒性のまとめに記載されているので、DMDC 添加飲料の DMDC と飲料成分との反応で、CMC がどのくらい生成するのか明らかではないのであれば、CMC の毒性のまとめに改めて記載する必要はないように思われますが、特に強い意見ではございません。

山田専門委員：
急性毒性の判定については記載漏れでしょうか。知見があるとしか書いてません。
CMC のところに DMDC の遺伝毒性の結果が何の説明もなく再掲されていることは奇異に感じます。「DMDC 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）を被験物質とする復帰突然変異試験及び in vivo 小核試験（p59）では陰性の結果であった。」は削除で良いと思います。
反復投与毒性試験については，この記述を読めば、本項に DMDC の記載があることがなんとなくわかります。たとえば前の文章を「関連物質として」で始めておけば，つながるのではないでしょうか。
DMDC 添加飲料を用いた試験成績を踏まえた考察については、書くとすればDMDC のところではないでしょうか。毒性のまとめの項目数も既に多く、わざわざ増やす必要はないと思います。

事務局より：
御意見を踏まえ、修正しています。

1
2
3 ~~・・・（文案調整中）~~
4

（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 42 のとおりである。

表 42　MEC に関する急性毒性の試験成績

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１２、８９）【31、99】
ラット（雌）	＞15,000	

③　反復投与毒性

ａ．ラット 3 か月間経口反復投与毒性試験（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 43 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 43　MEC 試験群の設定

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 [34]	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の所見において、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１１、１２、９０）【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。

[34] EFSA(2015)が、密度 1.013 g/cm^3（Bayer（2006））に基づき換算。

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 44 のような試験群を設定して、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 44　MEC　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、0.01、0.1、1%
mg/kg 体重/日 [35]	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~~所見について、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

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、９１）【31 JECFA（1991）、35 EFSA（2015）、101 Machemer（1976）】

[35] 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。

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。

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 添加ぶどう酒を用いた反復投与毒性・発がん性併合試験（p66）、DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性（p52）及び反復投与毒性・発がん性併合試験（p66）の試験成績、並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（p96 で~~、~~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。

MEC の急性毒性、反復投与毒性及び発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット 3 か月間反復投与試験（BayerAG 社内資料（Löser（1973））及びラット発生毒性試験（BayerAG 社内資料（Machemer（1976））において最高用量でも毒性所見が認められなかったことから、最も低い NOAEL が得られるラット 3 か月間反復投与試験の成績に基づき、MEC の NOAEL を 1.0%（雄：1,094 mg/kg 体重/日）と判断した。

発がん性に関する知見は認められなかった。~~・・・（文案調整中）~~

事務局より：
第 167 回専門調査会での御議論を受け、
ラット 3 か月間反復投与試験 NOAEL 1.0%
（雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日）
ラット発生毒性 NOAEL 1%（1,250 mg/kg 体重/日）
を基に記載しております。御確認ください。

中江専門委員：
たたき台に同意します。

髙橋専門委員：
記載内容に異論はございません。

石塚専門委員：
異論ありません。

（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 45 のとおりである。

表 45　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（*in vitro*）	酵母（*Saccharomyces cerevisiae* D3）	5%	陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず）	Simmon（1979）（参照 92）【132】
	DNA 修復試験（*in vitro*）	細菌（*E. coli pol A*$^+$、*polA*$^-$）	250 µg/mL	陰性（代謝活性化系有り）	Rosenkranz and Poirier（1979）（参照 93）【127】
	DNA 修復試験（*in vitro*）	細菌（*E. coli* WP2、WP2 *uvrA*、CM611 *uvrAlexA*、WP67 *uvrApolA*、WP100 *recAuvrA*、W3110 *polA*$^+$、p3478 *pol A*$^-$）	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 94）【133】
	DNA 修復試験 ~~（Rec - assay）~~（*in vitro*）	細菌（*Bacillus subtilis* H17 *rec*$^+$、M45 *rec*$^-$）	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 95）【134】
	不定期 DNA 合成試験（*in vitro*）	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、９６）【105、31、35】
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*B. subtilis* 168i$^-$）	最高用量 6.0%	陰性	De Giovanni-Donnelly ら（1967）（参照 97）【123】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. t~~T~~yphimurium* 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、９８）【31、128】

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（*in vitro*）	細菌（*S. tTyphimurium* 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１２、９９）【31、124】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. tTyphimurium* 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１００）【127】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. tTyphimurium* 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１１、１２、９１）【31、35、105】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*E. cColi* B/Sd-4	最高用量 8%（24 時間処理）	陰性	Demerec ら（1951）（参照１００）【125】
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*E. cColi* Sd-4）	最高用量 80 mg/mL（3 時間処理）	陰性	Hemmerly and Demerec（1955）（参照１０１）【126】
染色体異常	マウスリンフォーマ試験（*in vitro*）	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１１、１２、１０２）【31、35、130】
	マウスリンフォーマ試験（*in vitro*）	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１１、１２、９１）【31、35、105】
	染色体異常試験（*in vitro*）	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１１、１２、９１）【31、35、105】
	染色体異常試験（*in vitro*）	糸状菌（*Aspergillus nidulans* P）	最高用量 0.4 mg/mL	陰性	Morpurgo ら（1979）（JECFA（1991）で引用）（参照１２、１０３）【31、129】

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（*in vitro*）	CHO 細胞	最高用量 5mg/mL	陰性	NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）（参照１１、１２、９５）【31、35、105】
	姉妹染色分体交換試験（*in vivo*）	マウス（BDF_1）骨髄細胞、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１０４）【135】
	姉妹染色分体交換試験（*in vivo*）	マウス（$BD2F_1$、各群 4 匹）骨髄細胞、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、１０５）【31、35、136】
	優性致死試験（*in vivo*）	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１２、１０６）【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。

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 46 のとおりである。

表 46　MC に関する急性毒性の試験成績

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１０７）【103】
マウス（NMRI、雌）	6,310	Bayer 社内資料（Steinhoff（1978））（参照１０８）【104】
マウス（$B6C3F_1$、雄）	4,925	NTP（1987）（参照９６）【105】
マウス（$B6C3F_1$、雌）	4,925	
ラット（Fischer344、雄）	4,287	
ラット（Fischer344、雌）	2,462	
ラット（Wistar、雌）	4,935	Bayer 社内資料（Steinhoff（1977））（参照１０９）【107】
ラット（Wistar、雌）	3,900	German Cancer Research Centre 社内資料（Rüdiger（1979））（参照１１０）【108】

③ 反復投与毒性

a．マウス 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）、及び（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））[36]

B6C3F1マウス（雌雄、各群10匹）にMCを表 47-1のような試験群投与群を設定して、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 47-1 MC 試験群の設定用量設定

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 47-2 のとおりである。~~

~~表 47-2 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~~

その結果~~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）：

体重増加の抑制傾向（Questら、NTP）[37]

嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸（投与3週間後まで）（Quest、なおNTPでは「投与2週間後まで」）

肝細胞腺腫（1匹）（Questら、NTP）、

急性多巣性肝細胞壊死の増加傾向（Quest、なおNTPでは「軽度の急性多巣性肝細胞壊死及び有糸分裂指数の増加の合計の増加」）[38]

[36] Quest ら（1987 年 3 月）及び NTP（1987 年 11 月）の記載をまとめた。

[37] Quest ら（1987）において、投与 13 週間の各投与群の平均体重の変化量（投与終了後と投与前との差）ΔA と対照群の平均体重の変化量ΔB から、＜（ΔA－ΔB）／ΔB×100＞を算出し、1,500 mg/kg 体重/日投与群（雄）及び 250 mg/kg 体重/日投与群を除く雌の投与群において、負の有意差があったことから、体重増加の抑制が認められたとしている。一方、NTP（1987）は、試験終了時の平均体重について、1,500 mg/kg 体重/日投与群（雄）の体重は対照群の体重に比べ 6%低かったとしている（統計学的検定についての情報なし）。また、投与群の雌の体重は対照群の体重と比べ 5~10%低かったとしている（統計学的検定についての情報なし）。剖検時体重では 125 mg/kg 体重/日のみ対照群に対して有意差が認められたとしている。

[38] Quest らによると、軽度の急性多巣性肝細胞壊死並びに有糸分裂指数の増加の合計が、187.5、375、750 及び 1,500 mg/kg 体重/日において、0/10、3/10、3/10 及び 7/10 認められた。NTP によると、急性多巣性肝細胞壊死が、0、93.75、187.5、375、750 及び 1,500 mg/kg 体重/日において、1/10、1/10、0/10、2/10、2/10 及

・2,000 mg/kg体重投与群（雌）：死亡（1匹）（Questら、NTP）
・1,000 mg/kg体重/日以上の投与群（雌）：嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸（投与投与3週間後まで）（Questら、なおNTPでは2,000 mg/kg体重/日投与群でのみ認められた所見）
・500 mg/kg体重以上の投与群（雌）：肝臓相対重量の増加（NTP）
・125 mg/kg体重以上の投与群（雌）：体重増加の抑制傾向（Questら、NTP）[37]
~~・250 mg/kg体重/日投与群（雌）：体重増加の抑制傾向~~

高橋専門委員、髙須専門委員
第167回専門調査会での議論の際には、統計学的に有意なものなどを毒性所見の表に記載していましたが、毒性所見とその他の所見について、上記のように判断しました。
- 体重増加の抑制傾向について、Questらによる解析の手法は一般的でない一方でNTPでは統計学的検定について情報がないこと、抑制の程度も軽度であり、明瞭な用量依存性も見られないことから、その他の所見と考えます。
- 嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸について、投与３週までの変化のため、その他の所見と考えます。
- 1,500 mg/kg体重/日投与群の雄で認められた肝細胞腺腫について、その他の所見と考えます。
- 雄の投与群で認められている急性多巣性肝細胞壊死について、最高用量でやや高頻度に見られているものの、NTP（1987）において病変は軽度であると記載され、さらに壊死の程度、数量が不明瞭であることからその他の所見と考えます。
- 2,000 mg/kg体重/日投与群の雌で認められた死亡について、その他の所見と考えます。

Quest（1987）は、肝細胞腺腫及び急性多巣性肝細胞壊死が認められたことから、MCはマウスに対する肝毒性を有するとしている。
EFSA（2015）は、血液生化学的検査がなされていないことに言及しつつも、本試験の結果から、NOAELを250 mg/kg体重/日としている。

~~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/日以上の投与群（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~~

び 5/10

~~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１１、１２、９５、１１１）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）、110 Questら（1987）】

本専門調査会としては、急性多巣性肝細胞壊死の程度等、本試験で認められた所見を毒性影響と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167回専門調査会における、急性多巣性肝細胞壊死はコントロールでも認められており、増加の程度も強くなく、所見の程度もminimal to mildという記述のみで毒性学的な重要性は不明という御議論を基に、本専門調査会としての結論について、たたき台を記載していますので、御確認をお願いいたします。

中江専門委員：
毒性所見から外した項目については、修正案に同意します。しかし、「嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸」については、表に残すのであれば、調査会が毒性所見と判断したことになるので、NOAELを得られないという結論と矛盾します。QuestとNTPの評価が一致していない点から、これらも毒性所見とせず、表から外せばいかがでしょうか？

髙橋専門委員、髙須専門委員：
「嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸」について、投与３週までの変化ですので毒性初見とはせず、その他の所見として記載しました。

b．マウス 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））[39]

B6C3F$_1$マウス（雌雄、各10匹）にMCを表 48~~-1~~のような試験群~~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（後述。〇ページ）の経時的な観察を目的に~~実施されている。

[39] 103 週間発がん性試験の経時的観察を目的に実施された試験

表 48-~~1~~ MC 試験群の設定設定

用量設定	0（対照群）、1,000 mg/kg 体重/日

その結果、各投与期間の試験とも、~~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。

また、投与群において、以下の所見が認められた。（参考１１、１２、９５）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）】

＜6か月後＞
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雌雄）：体重増加の抑制、肝臓の相対重量の増加
＜12か月後＞
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雌雄）：体重増加の抑制傾向
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雄）：死亡（1匹）
＜18か月後＞
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雌雄）：死亡（雄3匹、雌3匹）[40]、体重増加の抑制傾向

本専門調査会としては、本試験は単用量での試験であることから、NOAELは得られないと判断した。

事務局より：
第166回専門調査会での御議論を受けて、6か月間、12か月間及び18か月間反復投与試験の内容は反復投与毒性試験の項に記載し、腫瘍性病変を表中に、非腫瘍性性病変を表外に記載しています。記載場所の適切性を含め、御確認をお願いします。

中江専門委員：
修正案に同意します。

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

Fischer344ラット（雌雄、各群10匹）にMCを表 49-1のような試験群~~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。

[40] 18 か月後、対照群（雌）で死亡が 5 匹認められている。

表 49-1　MC　試験群の設定~~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 49-2 のとおりである。

表 49-2　MC　毒性所見

投与群（雄）	毒性所見
800 mg/kg 体重/日	死亡（5匹）（Questら、NTP） 骨髄低形成（Quest ら、NTP） 精巣の萎縮（Quest ら、NTP） 嗜眠、憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動障害（Questら、なおNTPでは400 mg/kg体重/日以上の投与群において「嗜眠」とされている） ~~変異肝細胞巣（好塩基性）の増加~~
400 mg/kg 体重/日以上	体重増加の抑制（Quest ら、NTP）[注1] 肝臓の絶対及び相対重量の減少（NTP） 肝炎（NTP）[注2] 嗜眠（投与12週間後）（Questら、NTP） ~~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~~

注 1）NTP（1987）において、試験終了時の平均体重について、400、800mg/kg 体重/日投与群（雄）の体重は対照群に比べ 14、31%低かった（統計学的検定についての情報なし）。また、剖検時体重では 400、800mg/kg 体重/日投与群（雄）で有意差が認められた。

注 2）NTP（1987）は、肝炎（Toxic hepatitis）について、主に小葉辺縁部で出現したが 、肝小葉全体に病変が見られた場合もあり、病変部では壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂が見られたとしている。

投与群（雌）	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	死亡（4 匹）（Quest ら、NTP） 体重増加の抑制（Quest ら、NTP）[注1] 嗜眠、憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動障害（Questら、なお、NTPでは500 mg/kg体重/日以上で「嗜眠」） ~~変異肝細胞巣（好塩基性）の増加~~
500 mg/kg 体重/日以上	肝臓の絶対重量の減少（NTP） 肝炎（NTP）[注2] 骨髄低形成（Quest ら、NTP） ~~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~~
~~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~~

注 1）NTP（1987）において、試験終了時の平均体重について、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌の体重は対照群と比べ 22%低かった（統計学的検定についての情報なし）。また、剖検時体重では 1000 mg/kg 体重/日投与群（雌）で有意差が認められた。
注 2）NTP（1987）は、肝炎（Toxic hepatitis）について、主に小葉辺縁部で出現したが 、肝小葉全体に病変が見られた場合もあり、病変部では壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂が見られたとしている。

その他、以下の所見が認められた。

・800 mg/kg体重/日投与群（雄）：変異肝細胞巣（好塩基性）の増加（Questら）、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（Questら）
・400 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）：変異肝細胞巣（好酸性／明細胞性）の増加（Questら）、脾臓の色素沈着の増加（Questら、NTP）
・200 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）：肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加（Questら）
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雌）：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（Questら）
・500 mg/kg体重/日以上の投与群（雌）：脾臓の色素沈着の増加（Questら、NTP）
・250 mg/kg体重/日以上の投与群（雌）：肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加（Questら）

~~・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）~~

高橋専門委員、高須専門委員
第167回専門調査会での議論の際には、統計学的に有意なものなどを毒性所見の表に記載していましたが、毒性所見とその他の所見について、上記のように判断しました。
・ 変異肝細胞巣の増加については、数、大きさなどの詳細が不明であることから、その他の所見と考えます。
・ 肝炎像（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）については、詳細は

確認できないが、肝臓の絶対重量が有意に減少していることを考慮し、毒性所見と考えます。（※）
・ 肝臓の絶対重量の減少について、相対重量に有意差はないもののの、肝炎像（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）に関連した所見と考えられることから、その他の所見と考えます。（※）
・ 脾臓の色素沈着とはヘモジデリンのことだと思いますが、excessive pigmentation の「Excessive」がどの程度のものを指しているのか明確ではないため、その他の所見と考えます。
（※）106 ページ「本専門調査会としては・・・」以降に説明を追記。

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、B6C3F$_1$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察している。

事務局より：
NTPの肝炎像について、本文中にどのような所見か記載する案文を
Toxic hepatitis occurred predominantly in periportal areas but sometimes extended to encompass the entire liver lobules, and it was characterized by necrosis, hyperchromasia, atypical nuclei, and abnormal mitoses.
から作成していますので、御確認をお願いします。
肝炎像についても「肝炎像（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）」と記載していますが、このような表現でよろしいでしょうか。

中江専門委員：
毒性所見の「肝炎像」は「肝炎」とするべきです。
「肝炎像について」は「本試験で言う肝炎について」でいかがでしょうか。「肝炎像」という用語は使うべきでありません。「主に辺縁部で出現したが」は「主として胆管周囲に発生したが」であり、肝小葉という表現に合わせるのであれば「主として肝小葉辺縁部に発生したが」でしょうか。

髙橋専門委員、髙須専門委員：
NTPで“Toxic hepatitis”と記載されていますので、「肝炎」を使用することに問題はないと考えます。また、病理学的には壊死があれば炎症として認識されますので、問題はありません。「肝炎像」ではなく「肝炎」を使用してください。
この「肝炎」がどのようなものを指しているのか、Toxic hepatitisの言葉を入れ

て、注釈で説明することがよいと思います。

事務局より：
「肝炎像」を「肝炎」に修正し、表に注釈をつけました。

EFSA(2015)は、本試験の結果から、NOAELを125 mg/kg体重/日としている。

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

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

~~EFSA（2015）は、400 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）及び1,000 mg/kg体重/日投与群（雌）において体重増加の抑制傾向、400 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）において肝臓相対重量の減少が認められたとしている。また、本試験の結果から、NOAELを125 mg/kg体重/日としている。~~（参照、９５、１１１）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）、110 Questら（1987）】

本専門調査会としては、肝炎（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）について、その詳細を確認できないものの、肝臓の絶対重量が有意に減少していることを考慮し、毒性所見と判断した。また、500 mg/kg体重/日以上の投与群の雌で認められている肝臓の絶対重量の減少について、相対重量に有意差はないもののの、肝炎（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）に関連した所見と考えられることから、毒性所見と判断した。また、肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加については、その毒性学的な意義が不明であることから、毒性所見としなかった。

本専門調査会としては、本試験におけるNOAELは雄で200 mg/kg 体重/日、雌で250 mg/kg 体重/日と判断した。

事務局より：
第166回専門調査会において、雄で200 mg/kg 体重/日以上、雌で250 mg/kg 体重/日以上の投与群で認められた肝細胞内の好塩基性封入体の用量依存的な増加は所見の意義がわからず、毒性所見としないことが確認されたことを受けて、たたき台を加筆していますので、御確認ください。

中江専門委員：

「肝炎像（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）については、詳細は確認できないが、」は「肝炎について、その詳細を確認できないものの、」とすべきです。

事務局より：
「肝炎像」を「肝炎」に修正し、表に注釈をつけました。

~~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。~~

d ~~c~~. **ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験**（BayerAG **社内資料**（Bomhard and Karbe（1985）（JECFA（1991）**及び** EFSA（2015）**で引用**））[41]

Wistar ラット（雌雄、各群 5 匹）に MC を表 50-1 のような試験群~~投与群~~を設定し、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。

表 50-1 MC 試験群の設定~~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

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 50-2 のとおりである。

[41] Bomhard and Karbe（1985）では The study was carried out in Bayer AG's Institute fü~~r~~ 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。

表 50-2　MC　毒性所見

強制経口投与	毒性所見	
	雄	雌
800 mg/kg 体重/日	~~＜投与4週間後のみ＞~~ ~~血漿中トリグリセリド濃度の増加、血漿中アルカリホスファターゼ（ALP）活性の低下、血漿中AST[42]活性の増加、血漿中ALT[43]活性の増加、~~ ~~＜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 ~~＜投与13週間後＞~~ 精巣の絶対及び相対重量の減少	~~＜投与4週間後のみ＞~~ ~~死亡（投与4週間目）、~~ ~~血漿中コレステロール濃度の増加、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＞~~ 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、血漿中トリグリセリド濃度の増加、血漿中総タンパク質濃度の低下、血漿中AST[44]活性の増加、 血漿中ALT[45]活性の増加、
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＞~~ ~~血漿中トリグリセリド濃度の増加、血漿中ビリルビン濃度の低下、血漿中ALP活性の低下、血漿中ALT活性の増加~~ ~~＜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

~~[42] 原著では GOT とされている。~~
~~[43] 原著では GPT とされている。~~
[44] 原著では GOT とされている。
[45] 原著では GPT とされている。

飲水投与	毒性所見	
	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少、血漿中コレステロール濃度の増加、血漿中AST活性の増加、血漿中ALT活性の増加	~~＜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＞~~ 体重増加の抑制、血漿中コレステロール濃度の増加、血漿中総タンパク質濃度の低下、血漿中ALT活性の増加 ~~＜投与13週間後＞~~ 血漿中トリグリセリド濃度の増加、血漿中AST活性の増加、

その他、以下の所見が認められた。

＜~~経口~~強制経口投与＞

・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、肝臓のKupffer細胞の鉄含有顆粒色素の増加

・800 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）：血漿中トリグリセリド濃度の増加（投与4週間後）、血漿中ALP活性の低下（投与4週間後）、血漿中AST活性の増加（投与4週間後）、血漿中ALT活性の増加（投与4週間後）

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

・200 mg/kg体重/日投与群（雄）：脾臓の相対重量の減少

・800 mg/kg体重/日投与群（雌）：死亡（1匹、投与4週間目）、血漿中コレステロール濃度の増加（投与4週間後）

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

・400 mg/kg体重/日投与群（雌）：血漿中トリグリセリド濃度の増加（投与4週間後）、血漿中ALP活性の増加（投与4週間後）、血漿中ALT活性の増加（投与4週間後）

・200 mg/kg体重/日以上の投与群（雌）：摂水量の減少傾向、血漿中ビリルビン濃度の低下（投与4週間後）

＜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、肝臓のKupffer細胞の鉄含有顆粒色素の増加、摂餌量の減少傾向、摂水量の減少傾向
・800mg/kg 体重/日投与群（雌）：血漿中ビリルビン濃度の低下（投与 4 週間後）

事務局より：
現在の案では毒性所見としての候補知見について、有意差検定が実施され有意差があるとする知見を表中に入れています。第166回調査会での議論を踏まえ、毒性所見とその他の所見についてどのように記載すればよろしいでしょうか。

中江専門委員：
肝に関連する血漿生化学的変化については、軽微であれば必ずしも肝の病理組織学的所見を伴いませんが、軽微であることのみをもって自動的に毒性学的意義をもたないと判断するのも正しくありません。また、血漿脂質濃度の増加について、試験実施者の見解の４つ目の・の「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。」という記載内容は基本的に正しいですが、だから毒性学的意義がないというのは論理的におかしいです。血漿脂質濃度の変化が脂質代謝を機能的に障害した結果であるのなら、それは立派な毒性所見です。

髙橋専門委員、髙須専門委員：
毒性所見とその他の所見について、上記のように判断しました。
・ 4週間後のみ認められた所見は一過性であり、その他の所見と考えます。
・ 臓器重量においては絶対あるいは相対の一方のみの変化の場合はその他の所見と考えます。

Bomhard 及び Karbe は、以下のように考察して~~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。

・肝臓の 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るべきではない。

・~~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~~明確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、肝臓に対するMCの影響には、Wistarラット~~の肝臓と は、~~Fischer344ラットで~~とは~~明確な差異が生じている~~基本的に明らかに異なる挙動をする~~としている。（参考１１、１２、１１２）【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、強制経口投与群の雌の最低用量（200 mg/kg 体重/日）で毒性所見が認められたこと、また、雄の 200 mg/kg 体重/日投与群で脾臓の相対重量の減少が認められているが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。血漿中 ALT 活性の増加から本試験における LOAEL を 200 mg/kg 体重/日（雌）と考えた。

中江専門委員：

肝臓以外の病理組織学的所見がないことは肝臓以外の変化の毒性学的意義を云々できないことの理由になる場合がありますが、本試験での肝臓以外の変化は脾臓と精巣の絶対・相対重量の低下のみです。本専門調査会では、これまで絶対・相対重量が同方向かつ有意に変化した場合、特に理由がなければ、これを毒性所見としてきました。臓器重量の変化は必ずしも病理組織学的変化を伴いませんし、病理組織学的解析をしていないことと病理組織学的所見がないことはまったく異なる事象です。したがって，肝臓以外の病理組織学的所見がないことは、本試験で NOAEL を得られない理由になりません。

事務局より：

最低用量（200 mg/kg 体重/日）で毒性所見（血漿中 ALT 活性の増加）が認められたことから、上記のように修正しています。他に NOAEL を得られないとする理由について加筆する必要はありますでしょうか。

本試験の結果から LOAEL をとることは可能でしょうか。

ALT（GPT）活性（U/L）（原著 p17）

	雄（4 週）	雄（13 週）	雌（4 週）	雌（13 週）
強制経口　0	63.4	58.8	59.4	58.7
200	62.0	60.4	62.7	69.2**
400	70.4	61.5	70.9*	65.7
800	93.0**	73.9	95.3**	70.5*
飲水　800	82.1**	89.0**	72.4**	96.4**

石塚専門委員：

臓器重量が絶対と相対で変化がある場合に毒性所見ととることに異論ございません。病理組織学的検査がない場合に NOAEL を取ることにやはり違和感を覚えますので、「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」旨のこの記載はあった方が良いかと思います。病理組織学的検査が肝臓のみで NOAEL が取れない、というストレートな記載に問題がありましたら、後述のラット 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））の「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」といった記載が適切かと思いました。

一方、脾臓の変化は絶対重量と相対重量の変化が 400 mg/kg 体重/日投与群で起こっており、200 mg/kg 体重/日投与群では相対変化のみです。継続する変化と考えられるため、200 mg/kg 体重/日投与群での変化についても注意を払う必要があると考えます。

ALT の 200 mg/kg 体重/日投与群での変化は 400 mg/kg 体重/日投与群に出ていないのですが、その他の所見や濃度依存性を考えると毒性を否定する根拠がないと考えました。

髙橋専門委員、髙須専門委員：

ALT 活性増加について、400 mg/kg 体重/日投与群では有意でなく、明確な用量依存性はないことから、200 mg/kg 体重/日投与群の ALT の変化は毒性所見とはせずに表中から外し、その他の所見にすることでよいです。400 mg/kg 体重/日投与群で認められた変化に関する詳細な情報がないことから、LOAEL を判断することは難しいと考えます。同じ理由で NOAEL の判断もできないと考えます。

事務局より：

調査会としての評価について、御検討をお願いします。

1

【第167回と同様です】
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 50-2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ないか
（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。

2

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/日以上の投与群で絶対重量の減少、雄で200 mg/kg体重/日以上の投与群及び雌で400 mg/kg体重/日以上の投与群で相対重量の減少が認められております。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。

髙橋専門委員：
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。

髙須専門委員：
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。

中江専門委員：
「血液学的な詳細等も不明」というのはどういう意味でしょうか。また、化学物質の毒性に系統差があることは珍しいことではないと思います。

高須専門委員：
コメント中の系統差については、試験の目的についてコメントしたもので、この理由をもって試験採用の是非をするという意図ではございません。
また、「血液学的」に関してはクッパー細胞に鉄を含む色素の沈着があったことから、血液への影響を考察する必要性を考えました。ビリルビン濃度は上昇していないですが、脾臓重量が変化していることなどから、脾臓の病理組織学的検査結果や血液学的な検査結果の必要性を考え、コメントしたものです。

1
2 ｅ．ラット 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987）（JECFA

（1991）及び EFSA（2015）で引用））[39]

Fischer344ラット（雌雄、各10匹）にMCを表 51-1のような試験群を設定して、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が~~、103週間発がん性試験（後述。○ページ）の継時的な観察を目的に~~実施されている。

表 51-1　MC　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、400 mg/kg 体重/日

その結果、各試験期間の投与群で認められた毒性所見は表 51-2 のとおりである。

表 51-2　**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（10匹）及び腫瘍性結節（6匹）の出現個体の増加	肝細胞変異巣（10匹）及び腫瘍性結節（5匹）の出現個体の増加
	12か月	死亡（1匹） 肝細胞変異巣（10匹）、腫瘍性結節（7匹）及び肝細胞癌（8匹）の出現個体の増加	肝細胞変異巣（10匹）、腫瘍性結節（9匹）及び肝細胞癌（6匹）の出現個体の増加
	18か月	死亡（9匹） 肝細胞癌（9匹）の出現個体の増加 転移（7匹）	死亡（2匹） 腫瘍性結節（5匹）及び肝細胞癌（8匹）の出現個体の増加

なお、その他、~~各~~投与群において、以下の所見が認められた。

・6か月間試験（雌雄）：体重増加の抑制、副腎の絶対及び相対重量の減少、肝臓の絶対重量の減少
（雌）：肝臓の相対重量の減少

・12か月間試験（雄）　：体重増加の抑制傾向、精巣萎縮（10匹）の出現個体の増加傾向

・18か月間試験（雌雄）：体重増加の抑制傾向、網膜萎縮（雄10匹、雌6匹）の出現個体の増加傾向
（雄）　：骨髄低形成（5匹）及び白内障（6匹）の出現個体の増加傾向

NTPは、18か月間反復投与試験の投与群で認められた網膜萎縮及び白内障の原因はMCの投与ではなく、試験環境の蛍光灯の影響の可能性があるとしている。（参考１１、１２、９５）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）】

本専門調査会としては、各投与期間の反復投与試験とも単用量での試験であることから、各試験ともに NOAEL は得られないと判断した。

事務局より：
第 166 回専門調査会での御議論を受けて、6 か月間、12 か月間及び 18 か月間反復投与試験の内容は反復投与毒性試験の項に記載し、腫瘍性病変を表中に、非腫瘍性性病変を表外に記載しています。記載場所の適切性を含め、御確認をお願いします。
NOAEL の判断とは別に発がん性に係る考察（※）のたたき台を作成していますので、御確認をお願いします。

（※）400 mg/kg 体重/日投与群（雄）において、18 か月反復投与試験では死亡匹数が多く認められ、肝細胞癌を有する個体の有意な増加とともに癌の転移が認められる個体も増加しているが、12 か月反復投与試験で肝細胞癌を有する個体の有意な増加が認められていることから、Fischer344 ラットに対して 400 mg/kg 体重/日で MC を投与することにより、肝臓に発がん性をもたらすと考えた。

中江専門委員：
網膜萎縮・白内障に関して、NTP の見解を記載していますが、これらの所見を毒性所見とするかについて本専門調査会としての評価で採用しないのであれば、記載するべきではありません。
発がん性に係る考察は 103 週間発がん性試験の項に移すことでよいと思います。

髙橋専門委員：
発がん性に係る考察を発がん性試験の項に移すことに賛成します。

石塚専門委員：
考察を発がん性試験の項に移すことに賛成です。

事務局より：
発がん性に係る考察を発がん性試験の項に移しました。

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[46]**（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））**

B6C3F$_1$マウス（雌雄、各5匹）にMCを表 52のような試験群を設定して、16日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 52　MC　試験群の設定

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１１、１２、９５）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）】

（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 53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 53　MC　試験群の設定

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：一般状態の悪化（1 匹）、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）~~

[46] 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。

・500 mg/kg 体重/日以上の投与群：肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的な減少、肝臓及び脾臓の絶対重量の用量依存的な減少傾向
・500 mg/kg 体重/日投与群：体重増加のわずかな抑制

Bomhard及びKalinerは、1,000 mg/kg体重/日投与群で認められた血漿中トリ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））[47]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１１、１２、１１３）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、109 Bomhard and Kaliner（1984）】

（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 54 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 54　MC　試験群の設定

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。

＜Fischer344 ラット＞

・500 mg/kg 体重/日以上の投与群：血漿中 AST[48]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含有細胞の~~存在の~~特徴的な発現~~（Fischer344 ラット）~~

~~[47] 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。~~

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

・250 mg/kg 体重/日以上の投与群：血漿中 ALT[49]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~~また、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。

なお、~~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たが、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 １１４）【78 Bomhard ら（1989）】

（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 55 のような試験群を設定して、16 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 55　MC　試験群の設定

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

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

EFSA（2015）は、500 mg/kg体重/日投与群において、病理組織学的所見で被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。また、本試験の結論について、試験方法の詳細が不明であることから、リスク評価には限定的にしか使用できないとしている。（参照１１、１２、９５、１１１）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）、110 Questら（1987）】

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

④　発がん性

~~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/日以上の投与群（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、）【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。~~

ａ．マウス 103 週間発がん性試験（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））

B6C3F$_1$マウス（雌雄、各群50匹）にMCを表 56のような試験群を設定して、週に5日、103週間強制経口投与する試験が実施されている。

表 56　MC　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、500、1,000 mg/kg 体重/日

その結果、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、体重増加の抑制傾向
・500 mg/kg体重/日以上の投与群（雄）：肝臓における多核巨細胞の出現頻度の増加傾向
・500 mg/kg体重/日以上の投与群（雌）：体重増加の抑制傾向

事務局より：
体重増加の抑制傾向（統計学的検定の情報なし）について加筆していますが、記載する必要があるか御確認をお願いします。

【NTP49ページ】
1,000 mg/kg体重/日投与群の雄では、体重が20週以降、対照群より8～18%低く、同投与群の雌では、体重は16週以降、対照群より13%以上低い（64週後は30%以上低い）。
500 mg/kg体重/日投与群の雌では、体重は28週以降、対照群より9%以上低い（68週後は12%以上低い）。

中江専門委員：
記載するならNTPが記載しているような詳細も必要ですが、本専門調査会がそれを毒性所見としないのなら、記載しなくてもいいと思います。

石塚専門委員：
統計情報がないため、毒性所見とするのは難しいと思われます。そのため、詳細の記載は不要かと思います。

事務局より：
詳細情報については記載していません。

NTPは、6カ月、12カ月及び18カ月反復投与試験も含めて、多核巨細胞の増加以外の腫瘍性及び非腫瘍性の肝障害の出現頻度の増加は認められず、MCについて、B6C3F1マウスに対して発がん性の証拠はないと判断している。多核巨細胞の増加の意義は不明であるとしている。

~~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。~~

JECFA（1991）は、6カ月、12カ月及び18カ月反復投与試験も含めて、B6C3F$_1$マウスでの発がん性はないとしている。

EFSA（2015）は、MCの発がん性について、1,000 mg/kg体重/日の用量までの投与において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１１、１２、９５）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）】

本専門調査会としては、6カ月、12カ月及び18カ月反復投与試験も含めて肝細胞癌発現に至る多段階の変化に係る所見が認められないこと、1,000 mg/kg体重/日投与群の雄で肝細胞癌の発生頻度の有意な増加が認められたものの、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発現頻度の合計では有意差が認められなかったこと及び肝細胞癌の発生頻度[50]は背景データ[51]の範囲内であったことから、MCについては発がん性の懸念はないものと判断した。また、多核巨細胞の増加は加齢マウスで比較的認められる所見であり、発がん性を示唆するものではないと考えた。

事務局より：
本専門調査会としての結論について、下記のような御議論を基に、たたき台を加筆していますので御確認ください。NTPにおいて、肝細胞癌の発生頻度（20%）は、背景データ（17.8%±4.07%）の範囲内とされていますが、具体的な数字を併記する必要はありますでしょうか。

【第166回専門調査会】
髙橋専門委員：
6カ月、12カ月、18カ月試験で有意な病理学的所見が出てきていないこと、103週間試験で肝細胞がんの有意な増加が出てきているがhistorical dataの中におさまる範囲内であることから発がん性の懸念なしと判断した。

[50] 0, 500及び1,000 mg/kg体重/日投与群（雄）でそれぞれ5/50（10%）、6/50（12%）及び10/50（20%）に肝臓癌が認められた。
[51] 1985年8月30日時点。B6C3F1マウスについて、経口投与対照群の雄で35/197（17.8%±4.07%）、無処置群の雄で424/2,084（20.3%±6.85%）に肝臓癌が認められた。

高須専門委員：
髙橋専門委員の説明に加えて、発がんの前がん病変といった、関連するような病変が所見としてとられていないということからも懸念なしと判断した。

事務局より：
なお、第166回調査会において、非腫瘍病変に関する情報が十分でないこと、非腫瘍病変からNOAELを設定することは適切でないことが確認されました。

中江専門委員：
修正案に同意しますが、肝細胞癌についての記載に説得力を与えるためには、当該実験群の発生頻度と背景データの具体的な数字を記載すべきであり、さらに、対照群の発生頻度も記載すべきです。

事務局より：
具体的な数字を加筆しました。

髙橋専門委員：
注釈で記載することで結構です。

石塚専門委員：
結論および脚注とすることに異論ありません。発がん性は示唆されないとの判断でよいかと思います。

1

【第 167 回と同様です】
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

髙橋専門委員：
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。

髙須専門委員：
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（変異肝細胞巣の発生）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的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 57のような試験群を設定して、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 57　MC　試験群の設定

用量設定 [52]	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１１、１２、１０８）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、104 Steinhoff（1978）】

[52] 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

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。

~~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~~

c．ラット 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、各群50匹）にMCを表 58-1のような試験群を設定して、週に5日、103週間強制経口投与する試験が実施されている。

表 58-1　MC　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、100、200 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 58-2 のとおりである。

~~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 58-2　MC~~ 103 週間試験（試験 II）~~ 毒性所見

投与群	毒性所見
200 mg/kg 体重/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（6匹）（雌）[53]

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[54]の出現個体の増加傾向

（雌）：乳腺線維腺腫の出現個体の~~有意な~~減少、肝細胞の過形成の出現個体の増加傾向、心臓の慢性炎症及び多巣性線維化の出現個体の増加傾向

（雌雄）：肝細胞癌[55]、肝臓の慢性炎症巣の出現個体の増加傾向、脾臓の色素沈着の出現個体の増加傾向、白内障の出現個体の増加傾向、体重増加の抑制傾向

・100 mg/kg/日以上の投与群

（雄）：下垂体前葉腺腫又は垂体前葉癌の出現個体の合計及び副腎の褐

[53] 肝臓の腫瘍性結節又は肝細胞癌の出現個体の合計は、雌の対照群、100 mg/kg 体重/日投与群、200 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 0 匹、0 匹、6 匹であった。

[54] 腫瘍性結節は、雄の対照群、100 mg/kg 体重/日投与群、200 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 3 匹、0 匹 、3 匹に認められた。

[55] 肝細胞癌は、雄の対照群、100 mg/kg 体重/日投与群、200 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 1 匹、0 匹 、4 匹に、雌の対照群、100 mg/kg 体重/日投与群、200 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 0 匹、0 匹 、2 匹に認められた。

色細胞腫の出現個体の用量依存的な~~有意な~~減少、肝細胞の過形成の出現個体の増加傾向
（雌）：肝細胞変異巣~~の変性~~の出現個体の増加傾向、眼の強膜の骨化生の出現個体の増加傾向
（雌雄）：ハーダー腺の炎症巣の出現個体の増加傾向、網膜萎縮の出現個体の増加傾向

事務局より：
所見として記載する内容について御確認をお願いします。

ラット6か月、12か月及び18か月間反復投与試験（p114）の結果と本試験の結果から、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関係性が立証されたとし、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いうように順次誘導されるとしている。なお、100 mg/kg体重/日の投与量では発がん性は認められなかったとしている。

さらに、NTP（1987）は、~~マウスとラットの間の~~反復投与毒性及び発がん性の所見についてのマウスとラットの間の相違から、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るが、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察している。

また、NTP（1987）は、投与群で認められた網膜萎縮、白内障及び眼の強膜の骨化生の原因はMCの投与ではなく、試験環境の蛍光灯の影響の可能性があるとしている。

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。また、肝臓癌についての無毒性量（NOEL）を100 mg/kg体重/日としている。

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~~有意差はないが~~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は~~ついて~~有意差があるとしている。（参考１１、１２、９５）【31JECFA（1991）、35EFSA（2015）、105 NTP（1987）】

本専門調査会としては、これら反復投与試験と発がん性~~の~~試験の結果から、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/日投与群において、~~より~~雌の肝臓に対して~~する~~発がん性を有する~~がある~~ものと判断した。

また、前掲のラット6か月間、12か月間及び18か月間経口投与試験（NTP（1987））では、400 mg/kg体重/日投与群（雄）において、18か月反復投与試験では死亡匹数が多く認められ、肝細胞癌を有する個体の有意な増加とともに癌の転移が認められる個体も増加しているが、12か月反復投与試験で肝細胞癌を有する個体の有意な増加が認められていることから、Fischer344ラットに対して400 mg/kg体重/日でMCを投与することにより、肝臓に発がん性をもたらすと考えられた。このこと及び本試験では200 mg/kg体重/日投与群（雄）において、腫瘍性結節及び肝細胞癌の増加傾向が認められていることから、MCは、雄に対しても200 mg/kg体重/日で発がん性を示すことが示唆されていると判断した。

事務局より：
ラット6か月間、12か月間及び18か月間経口投与試験（NTP（1987））に記載していた発がん性に係る考察と併せて、MCの発がん性について考察をまとめています。

石塚専門委員：
異論ありません。

【第 167 回と同様です】
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

髙橋専門委員：
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。

髙須専門委員：
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：
髙橋先生、髙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 59のような試験群~~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 59　MC　試験群の設定

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。（参照１１、１２、１０９）【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。

髙橋専門委員：
「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。

髙須専門委員：

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

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

事務局より：
調査会としての判断に係る記載について、御検討をお願いします。

石塚専門委員：
異論ありません。

【第167回と同様です】
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（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（ECOD[56]）及びアルドリンエポキシダーゼ（ALD））及びエポキシドヒドロラーゼ（EH）の活性並びに細胞質中の GST[57] の活性を測定する試験が実施されている。

[56] BayerAG 社内資料（Schmidt and Schmidt（1987）では EOD と略されている。
[57] BayerAG 社内資料（Schmidt and Schmidt（1987）では GSH-transferase（glutation transferase）とされている。

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

（参照１２、５５）【31 JECFA（1991）、77 Schmidt and Schmidt（1987）】

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 60 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 60　MC　試験群の設定

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 GST[58]）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 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 の活性に僅かな増加が認められたが、Fischer344 ラットの投与群では対照群と比較して ALD の活性の 50%以上の低下が認められた。

Bomhard らは、両系統間で、MC の動態及び肝臓薬物代謝酵素への影響に明らかな差異が認められており、形態学的に異なる変化をもたらす可能性があるとしている。（参照 １１５）【78 Bomhard ら（1989）】

⑦　その他の試験（参考資料）

以下の知見については、試験方法としての評価が定まっていない試験法であるため、参考資料として記載する。

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

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

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、形質転換試験は、SHEM 細胞では陰性であったが、R-MuLV-RE 細胞では 120 μg/mL 以上のばく露量で陽性であった。（参照 １１６）【137】

ｂ．形質転換試験（Sakai ら（2010））~~）~~

MC について、Bhas42 細胞[59]（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、形質転換試験は~~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 １１７、１１８）【追加 12-1 Sakai ら（2010）,追加 12-2 Sakai ら（2010）】

中江専門委員：
陽性所見があるので、試験の意義も含め、本専門調査会としての評価が必要です。

山田専門委員：
「試験方法としての評価が定まっていない試験法であるため、参考資料とした。」と脚注をつけてはどうでしょうか。

戸塚専門委員、杉山専門委員：
山田専門委員に同意します。

事務局より：
参考資料としました。

石塚専門委員：
参考資料とすることに同意します。

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。

[59] BALB/c 3T3 細胞に v-Ha-*ras* を導入して得られる細胞で、正常形態を示すが、12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート ~~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。発がんイニシエーション活性及びプロモーター活性を検出可能。

⑨　毒性のまとめ

MC に、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

急性毒性試験及び反復投与毒性試験の成績を検討した結果、ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））において、Fischer344 ラットの雌雄に体重増加の抑制、肝炎（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）等が認められたことから、本試験における NOAEL を雄で 200 mg/kg 体重/日、雌で 250 mg/kg 体重/日と判断した。一方、ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG 社内資料（Bomhard and Karbe（1985））において、Wistar ラットの雌に最低用量（200 mg/kg 体重/日）でも血漿中 ALT 活性の増加が認められており、NOAEL は得られなかった。LOAEL は 200 mg/kg 体重/日と考えた。

ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））において、Fischer344 ラットの雌で腫瘍性結節又は肝細胞癌の出現個体の合計の増加が認められたことから、MC は Fischer344 ラットの雌に対して、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。また、100 mg/kg 体重/日投与群では発がん性はないと判断した。ただし、MC に遺伝毒性がないことから、がんの発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものではなく、MC の発がん性について閾値を設定できると判断した。マウスにおいて発がん性は認められなかった。

事務局より：

これまでの御議論を受け、たたき台を作成していますので、御確認ください。

ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG 社内資料（Bomhard and Karbe（1985））の雌の 200 mg/kg 体重/日で認められた血漿中 ALT 活性の増加について、「LOAEL は 200 mg/kg 体重/日と考えた」と記述する案としていますが、いかがでしょうか。

試験	NOAEL 等
a. マウス 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））	NOAEL を得ることができない（情報不足）
b. マウス 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987））	NOAEL を得ることができない（単用量試験）
c. ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））	NOAEL　雄：200 mg/kg 体重/日 雌：250 mg/kg 体重/日
d. ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG 社内資料（Bomhard and Karbe（1985））	NOAEL を得ることができない（最低用量（雌：200 mg）で毒性用量、情報不足）
e. ラット 6 か月間、12 か月間及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987））	NOAEL を得ることができない（単用量試験）

a . マウス 103 週間発がん性試験（NTP（1987））	発がん性なし （最高用量：1,000 mg/kg 体重/日）
c . ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））	発がん性あり 雌：200 mg/kg 体重/日

石塚専門委員：

他の所見も併せて ALT を毒性としてとるとの判断と思っております。400 mg/kg 体重/日での変化も少し記載の上で書くとわかりやすいかと思いました（該当ページを読めばわかるのでなくてもかまいません）。

~~（文案調整中）・・・~~

（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 61 のとおりである。

表 61　DMC に関する急性毒性の試験成績

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１１９）【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 62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 62　DMC　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、1,000、3,000、10,000 ppm
mg/kg 体重/日 [60]	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、病理組織学的検査の所見において、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 １２０）【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。

[60] EFSA(2015)で換算

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

ａ．参考資料

以降の知見については、吸入試験であるため、評価対象とせず参考資料として記載する。

（ａ）マウス吸入発生毒性試験レビュー（van de Water（2013）で引用（Exxon（1992）及び Bevan and Beyer（1995））

妊娠CD-1マウス（雌、各群96匹、胎児検査の実施は各群30～32匹）にDMCを表 63のような試験群を設定して、妊娠6日から15日まで、1日あたり6時間吸入させ、妊娠18日に検査する試験が実施されている。

表 63　DMC　試験群の設定

用量	0（対照群）、300、1,000、3,000 ppm

その結果、吸入ばく露群において以下の所見が認められた。

＜母動物＞

・3,000 ppmばく露群：体重の低値（妊娠15日、妊娠18日）

・1,000 ppm以上のばく露群：摂餌量の低下

＜胎児＞

・3,000 ppmばく露群：着床後胚死亡の増加、生存雄胎児数の低下に伴う性比の変化、体重の低値、生育不良胎児数の増加、外表奇形の発生頻度の増加、頭蓋骨の複合奇形の発生頻度の増加、椎弓融合（奇形）の発生頻度の増加、骨格変異の増加

（参照１２１）【van de Water（2013）】

~~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（p52）及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績（p65）並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（p96）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。

DMC の急性毒性及び反復投与毒性の試験成績を検討した結果、ラット 3 か月間経口投与試験（BayerAG 社内資料（Eiben ら（1982））において、最高用量でも毒性所見が認められないことから、DMC の NOAEL を 10,000 ppm（雄で 890 mg/kg 体重/日）と判断した。

発がん性に関する知見は認められなかった。~~・・・（文案調整中）~~

事務局より：
第 167 回専門調査会での御議論を受け、
ラット 3 か月間反復投与試験 NOAEL 10,000 ppm
（雄で 890 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日）
を基に記載しております。御確認ください。

中江専門委員：
たたき台に同意します。

髙橋専門委員：
記載内容に異論はございません。

石塚専門委員：
異論ありません。

Ⅲ．一日摂取量の推計等

事務局より：
　第 167 回専門調査会において、
・食品由来の DMDC 関連化合物の摂取量について、情報が得られている範囲内で摂取量を求め、評価書に記述すること
・一部の食品におけるメタノール、MC の濃度の情報に基づき推計した情報であるため、記述にあたっては、特に表にまとめず、本文に記載することでよいこととされたことを受けて、たたき台を作成しています。
また、食品中の最大値を用いて推計していますが、平均値を用いた推計についても記載が必要でしょうか。

西専門委員：
　下記のような記載で、第 167 回専門調査会の議論にもとづいて修正されており、問題ないと思います。また、摂取量の最大を推計している部分では、平均値を新たに記載する必要はないと思います。

森田専門委員：
　下記で結構かと存じます。

　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 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[61]。

　我が国における知見ではないが、飲食物~~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 and~~&~~ 1918)はカブ（Palatinate turnips）に 2,050 mg/kg、カリフラワーに 650 mg/kg、リン

[61]「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）において~~（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。」とされている。

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 １２２）【163 Bayer AG（社内資料)】

Françot and& Geoffroy（1956）は、メタノールが果実ジュースに 12～680 mg/L(平均 141 mg/L)、各種果実酒に平均 32～452 mg/L 含まれるとしている。（参照 １２３）【71 Françot P and& 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 含まれるとしている。（参照 １２４）【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 １２５）【3 LANXESS社内資料（Koch（2008））】

平成28年国民健康・栄養調査（平成29年12月）によれば、食品群別摂取量は、「果汁・果汁飲料」が国民平均（1歳以上、平均体重55.1 kg）で10.7 g/日、小児（1～6歳、平均体重16.5 kg）で25.6 g/日、「アルコール飲料」（日本酒、ビール、洋酒・その他）が国民平均で99.1 g/日、小児で1.4 g/日である。Françot and Geoffroy （1956）から「果汁・果汁飲料」中のメタノールの濃度は最大で680 mg/L、食品衛生法下での基準から「アルコール飲料」のメタノールの濃度は最大で1.0 mg/mLとして算出すると、果実ジュース及びアルコール飲料からのメタノールの摂取量の最大は、国民平均で1.93 mg/kg体重/日、小児で1.14 mg/kg体重/日と推計された。（参照１２６）【追加8　国民健康・栄養調査（2017）】

また、Ough and Langbehn（1976）では、ぶどう酒にDMDCを添加する前のMCの量を2.0～5.5 µg/Lとして（検出限界値約2 µg/L）、MCの正味の生成量を推計している。平成28年国民健康・栄養調査（平成29年12月）における「洋酒・その他」の摂取量が国民平均で28.6 g/日、MCの濃度の最大が5.5 µg/Lとして算出すると、ぶどう酒からのMCの摂取量の最大は、国民平均で0.003 µg/Lと推計された。（参照２２、１２６）【Ough and Langbehn（1976）】

（２）使用基準策定後の摂取量の推計

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）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（参照 １２７）【厚生労働省（2018）補足資料】。

厚生労働省が実施した平成 28 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は表 64 のとおりである。（参照１２６）

表 64　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

食品群			平均摂取量	
			国民平均（1 歳以上）	小児（1～6 歳）
野菜類	野菜ジュース		12.2	10.0
果物類	果汁・果汁飲料		10.7	25.6
嗜好飲料	アルコール飲料	洋酒・その他	28.6	0.2
	その他の嗜好飲料	茶	237.9	38.9
		コーヒー・ココア	133.3	1.7
		その他の嗜好飲料	134.7	169.1
合計			557.5	245.5

注）平成 28 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 65 のとおりである。(参照 １２８、１２９)【8 一般社団法人全国清涼飲料工業会(2016)、168 国税庁（2015)】

表 65　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

清涼飲料水等の分類	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	1,912／34	20,506	56
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

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】

事務局より：

第 167 回専門調査会の議論を受け、「残留しない」という表現を「検出限界値未満」という表現に統一し、それに伴い、「残留量」という表現も言い換えています。

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 66 に記載の DMDC 250 mg/L 添加時の最終製品中の最大含有量~~残留量等~~（DMDC の検出限界値~~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 [62]。

なお、DMDC については、最終製品において検出限界値未満とされており、「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 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定一日摂取量を推計している。なお、指定等要請者は、検出限界値を用いて算出していることから、~~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。

表 66　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

[62] すべての飲料の比重を 1 として計算。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。

取量

	添加対象飲料の推定一日摂取量（g/人/日）		DMDC 250 mg/L 添加時の最終製品の最大含有量~~最大残留量等~~（mg/L）	推定一日摂取量（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	245.5	120	66.9	29.5	1.21	1.79
CMC	557.5	245.5	5	2.79	1.23	0.051	0.074
MEC[注4]	28.6	0.2	10	0.29	0.002	0.0052	0.00012
MC	557.5	245.5	0.025	0.014	0.006	0.00025	0.00037
DMC	557.5	245.5	0.5	0.28	0.12	0.0051	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 は検出限界値未満~~残留しない~~として、検出限界値（0.05 mg/L）を最大含有量~~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。

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 以下の濃度で生成すると推定している。加えて、11%（v/v）アルコール飲料においては、MEC が約 1.5 mg/L 生成するとしている。これらの数値を用いた摂取量評価はされていないが、MC の生成量について、Fischer 344 ラットの肝腫瘍形成に対する NO~~A~~EL 100 mg/kg 体重/日と比較して、大きな安全マージンが存在するとしている。また、Stafford and~~&~~ 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類[5]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/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類（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１３、１５、１６）【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（検出限界値 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 67）。

また、EFSA（2015）は、EFSA ANS パネル（2013）を引用し、メタノールの摂取量を、通常の食生活から摂取されるメタノール及び内在性メタノールの合計として、平均で 8.4～18.9 mg/kg 体重/日、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、１８、１９）【35EFSA（2015）、33 SCF（1997）、34 SCF（2001）】

表 67　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 か~~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
	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
	95 パーセンタイル値の範囲	<0.00001～<0.00001	<0.00001～0.00011	<0.00001～0.00515	<0.00001～0.00977	<0.00001～0.0543	0.0132～0.0588
MC	平均値の範囲	<0.00001～	<0.00001～	0.00003～	0.00004～	0.00002～	0.00001～

		0.00007	0.00041	0.00034	0.00025	0.00013	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
	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１１）。メタノール、MC、DMC：DMDC の添加量上限~~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：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：推定摂取量の 95 パーセンタイル値の下限-上限~~

３．摂取量の推計等のまとめ

本専門調査会としては、指定等要請者の推計を是認し、DMDC 及び DMDC の使用により生じる可能性がある ~~DMDC 及び~~ DMDC 関連化合物の一日摂取量について、表 68 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値未満~~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、検出限界値を最終食品中の含有量とし、~~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 68　DMDC 及びその分解物等の推定一日摂取量

	DMDC 250 mg/L 添加時の最大含有量~~残留量等~~（mg/L）	推定一日摂取量（mg/kg 体重/日）	
		国民平均[注１]	小児[注２]
DMDC	0.05 [注３]	0.00051	0.00074
メタノール	120	1.21	1.79
CMC	5	0.051	0.074
MEC	10	0.0052	0.00012
MC	0.025	0.00025	0.00037
DMC	0.5	0.0051	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 は検出限界値未満~~残留しない~~として、検出限界値（0.05 mg/L）を最大含有量~~残留量~~とした。

なお、食品中での濃度が報告されている化合物について、代表的な食物での濃度及び食品摂取量[63]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は、果実ジュース及びアルコール飲料から最大で国民平均で 1.93 mg/kg 体重/日、小児で 1.14 mg/kg 体重/日となった[64]。また、MC については、ぶどう酒から国民平均で 0.003 µg/L となり、DMDC 由来の摂取量の 100 分の 1 程度であった[65]。

[63] 平成 28 年国民健康・栄養調査（平成 29 年 12 月）の食品群別摂取量に基づき、食品摂取量を「果汁・果汁飲料」国民平均 10.7 g/日、小児 25.6 g/日、「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。ぶどう酒については「洋酒・その他」国民平均 28.6 g/日として算出した。

[64] Françot & Geoffroy （1956）では、果実ジュース中のメタノールが最大 680 mg/L、平均 140 mg/L としており、最大の 680 mg/L で算出した。また、アルコール飲料中のメタノールは食品衛生法下での基準（厚生省通知）に基づき、最大の 1.0 mg/mL で算出した。

[65] 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）としており、最大の 5.5 µg/L で算出した。

Ⅳ. 食品健康影響評価

事務局より：

食品健康影響評価においては、体内動態・毒性・摂取量のまとめからの転記でない箇所が含まれています。

また、ADI を指標とする評価ではなく、通常の食習慣での摂取量等を考慮した評価（メタノール）やマージン評価（CMC、MEC、MC 及び DMC）としてたたき台を準備いたしましたので、特にご議論頂きたいと考えており、担当分野に限らず全体的に御確認いただき、事前に御意見をいただけますと幸いです。

（参考）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（抄）
食品健康影響評価
原則として、第１章 第７「リスク判定」１「ADI の設定の考え方」を適用せず、以下のようにばく露マージンの評価を行う。
（１）毒性試験を総合的に評価した結果、複数の NOAEL が得られた場合は、動物種、毒性試験ごとに比較した上で、原則として最小の NOAEL を評価に用いる。
（２）NOAEL と一日摂取量とを比較してばく露マージンの評価を行う。ただし、殺菌料及び抽出溶媒が食品の製造過程において除去・分解される場合は、一日摂取量の推計は過剰な見積もりになることがある。

中江専門委員：

現時点では、修正案に異論がありません。

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も限られている。

添加物「二炭酸ジメチル」が使用基準案に基づき適切に使用される場合、飲料中で DMDC が二酸化炭素及びメタノールに加水分解されるとともに、DMDC と飲料中成分が反応して種々の CMC、MEC、MC 及び DMC が生じるため、最終製品中の DMDC は検出限界値（0.05mg/L）未満となる。なお、DMC は DMDC の製造工程中の副生成物としても生成し、最終製品中に残存する。

二酸化炭素については、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の量と比べ、DMDC 添加により飲料中に生じる二酸化炭素の量は十分少ないと考えられることから、二酸化炭素の安全性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、メタノール、CMC、MEC、MC 及び DMC に関する試験成績等を併せ、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。また、DMDC 添加飲料には、CMC を含め各種 DMDC 関連化合物が含まれることから、DMDC 添加飲料を用いた試験成績も併せて検討することにより、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：

安全性に係る知見の概要の頭書き（p21）を基にたたき台を記載しています。

１．二炭酸ジメチル（DMDC）

DMDC の安定性に係る知見を検討した結果、DMDC は数時間以内に全量が加水分解され、最終製品では検出限界値未満となると考えた。

DMDC 添加飲料に生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

DMDC 添加飲料を被験物質とする試験では投与時の実際の DMDC のばく露量は不明であるため、それらの成績から、DMDC の NOAEL を求めることは適切でないと考えた。このため、DMDC の NOAEL を得ることはできなかったが、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において、毒性所見は認められなかった。

「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後の DMDC の一日推定摂取量は、「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、検出限界値を最終食品中の含有量と仮定し、国民平均（1 歳以上）及び小児（1～6 歳）について、それぞれ 0.00051 mg/kg 体重/日及び 0.00074 mg/kg 体重/日と判断した。

本専門調査会としては、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、DMDC の安全性に懸念がないと考えた。

２．メタノール

メタノールの体内動態に係る知見を検討した結果、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、さらに二酸化炭素へと連続的に酸化され、排泄されると考えた。また、メタノールに対する感受性を決定するギ酸の酸化速度にはげっ歯類と霊長類との間で大きな差が認められ、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比較して著しく高い感受性を示す原因になっているとされている。

WHO（1997）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、通常体内に存在するギ酸の量以上のギ酸の蓄積は起こらないとしている。JECFA（1991）は、通常の食習慣のヒトは 1 日あたり 1,000～2,000 mg のメタノールを代謝しているとしている。また、FDA（1998）及び SCF（2001）は、健康なヒトは 1,500 mg/時で、メタノールを問題なく代謝可能としている。

メタノールに、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

メタノールについて、急性毒性及び生殖発生毒性の試験成績を検討したが、ラット発生毒性試験（Youssef ら（1997））の最低用量（1,000 mg/kg 体重）でも毒性所見が認められたことから、NOAEL を得ることはできなかった。

発がん性に関する知見は認められなかった。

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り、メタノール中毒では、一般的に摂取量に伴い、代謝性アシドーシス、中枢神経系の機能障害という症状を経て、更に増加すると失明に至る視覚障害、死亡も認められるようになる。ヒトにおける毒性量及び致死量は明らかではないが、Röe（1982）はヒトにおいて、メタノールの最小致死量は 1 g/kg 体重と推測されるとしている。

なお、FDA（1993）はヒトにおける知見から得られた NOAEL71～84 mg/kg 体重/日を根拠として、安全係数 10 で除した 7.1~8.4 mg/kg 体重/日を ADI と設定している。

メタノールは果物、野菜、果実ジュース、発酵飲料等の飲食物にも含まれている。このうち、推計が可能な果実ジュース、アルコール飲料について、果実ジュース中のメタノール濃度の報告値及び食品衛生法下におけるアルコール飲料中のメタノールの上限値を用いると、果実ジュース及びアルコールからの推定一日摂取量は、国民平均及び小児について、1.93 mg/kg 体重/日及び 1.14 mg/kg 体重/日と推計されるが、果物、野菜等から摂取するメタノールを考慮すると、実際の食品由来摂取量はこれよりも多い可能性がある。

なお、FDA は、果実ジュース及びワイン類に元々含まれるメタノール及び DMDC に由来する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/日と推計している。また、EFSA（2015）は通常の食生活から摂取されるメタノール及び内在するメタノールの合計として、平均で 8.4～18.9 mg/kg 体重/日と推計している。

DMDC に由来するメタノールの推定一日摂取量は国民平均及び小児について、1.21 mg/kg 体重/日及び 1.79 mg/kg 体重/日と判断した。

本専門調査会としては、DMDC 由来メタノールは、通常の食事由来のメタノールと同様に吸収され、体内で代謝、排泄されると考え、ヒトにおける知見、通常の食習慣でのメタノールの摂取量、FDA により設定された ADI も考慮して、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、メタノールの安全性に懸念がないと考えた。

事務局より：

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という方針のため、体内動態・毒性・摂取量のまとめの項に記載しているたたき台以外にも、国際機関等から引用した案文を幅広に記載するなどして、たたき台を作成しました。

西専門委員：
　上記の摂取量推計の項目の記載の２文目の末尾は「果物、野菜等から摂取するメタノールを考慮すると、実際の食品由来摂取量はこれよりも多い可能性がある。」でよいと思います。

松井専門委員：（体内動態のまとめの項へのコメントの再掲です）
　メタノールについて、「このギ酸の代謝反応速度については、げっ歯類と霊長類との間で大きな差が認められ、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比較して著しく高い感受性を示す原因になっているとされている。」
の箇所の「大きな差」は意味不明です。「メタノールに対する感受性を決定するギ酸の酸化速度は、げっ歯類と比べ霊長類で（著しく）遅く、」
が良いのではと思います。

事務局より：
　体内動態のまとめの項で変更があれば、それに伴い本項の記載も修正します。

３．カルボメトキシ化合物（CMC）

　CMC の体内動態に係る知見を検討した結果、N-カルボメトキシアミノ酸の代謝については、付加されるアミノ酸による違いがある。例えば、ヒト又はブタの肝臓又は腎臓の酵素混液添加の条件下で、脂肪族アミノ酸由来の CMC は比較的加水分解されやすいが、それ以外の芳香族アミノ酸由来の CMC は加水分解されにくい。また、メトキシカルボニルアスパルテームはラット肝臓ホモジネート中で速やかに加水分解された。

　CMC について、N-カルボメトキシアミノ酸の急性毒性試験しか参照できず、NOAEL を得ることはできなかった。種々の DMDC 添加飲料を被験物質とする反復投与試験、反復投与毒性・発がん性併合試験及び生殖発生毒性試験において、毒性所見は認められなかった。

　DMDC に由来する CMC の一日推定摂取量は、国民平均及び小児について、0.051 mg/kg 体重/日及び 0.074 mg/kg 体重/日と判断した。

　本専門調査会としては、DMDC 添加飲料を用いた試験で毒性所見が認められていないことも踏まえ、使用基準案の対象飲料に対して、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、生成する CMC による安全性への懸念はないと判断した。

松井専門委員：（体内動態のまとめの項へのコメントの再掲です）

CMC について、「例えば、ヒト又はブタの肝臓又は腎臓の酵素混液添加の条件下で、脂肪族アミノ酸由来の CMC は比較的加水分解されやすいが、それ以外の芳香族アミノ酸由来の CMC は加水分解されにくい。」となっていますが、トリプトファン、ヒスチジン、チロシンは芳香族アミノ酸ですが、ヒドロキシプロリン、アルギニン、リシン、システイン、トレオニンは芳香族ではないでしょう。「それ以外の芳香族アミノ酸」を「それ以外のアミノ酸」とした方が良いかもしれません。(【参考】（３）カルボメトキシ化合物（CMC）　③　代謝)

事務局より：
体内動態のまとめの項で変更があれば、それに伴い本項の記載も修正します。

４．炭酸エチルメチル（MEC）

MEC の体内動態に係る知見を検討した結果、ブタ肝臓由来酵素混液中での加水分解が認められた。

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 添加ぶどう酒を用いた反復投与毒性・発がん性併合試験、DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績、並びに構造が類似する MC の遺伝毒性の知見を検討した結果、MEC に生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

MEC の急性毒性、反復投与毒性及び発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット 3 か月間反復投与試験（BayerAG 社内資料（Löser（1973））及びラット発生毒性試験（BayerAG 社内資料（Machemer（1976））において最高用量でも毒性所見が認められなかったことから、最も低い NOAEL が得られるラット 3 か月間反復投与試験の成績に基づき、MEC の NOAEL を 1.0%（雄で 1,094 mg/kg 体重/日）と判断した。

発がん性に関する知見は認められなかった。

DMDC に由来する MEC の一日推定摂取量は、国民平均及び小児について、0.0052 mg/kg 体重/日及び 0.00012 mg/kg 体重/日と判断した。

MEC の NOAEL 1,094 mg/kg 体重/日と推定一日摂取量との間のマージンは、国民平均及び小児について、それぞれ約 210,000 及び約 9,100,000 であった。本専門調査会としては、十分なマージンが存在し、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、生成する MEC の安全性に懸念はないと判断した。

５．カルバミン酸メチル（MC）

MC の体内動態に係る知見を検討した結果、マウス及びラットを用いた試験

（Ioannou ら（1988））において、経口投与された MC は吸収された後、未変化体として、または代謝され二酸化炭素として排泄された。ラットでの二酸化炭素として排泄される量はマウスと比較して少なく、組織等への分布がラットでは多いことが、マウスと比較して Fischer344 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る。

MC に、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

急性毒性試験、反復投与毒性試験の成績を検討した結果、非発がん性の影響に関する NOAEL について、ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））において、Fischer344 ラットの雌雄に体重増加の抑制、肝炎（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）等が認められたことから、本試験における NOAEL を雄で 200 mg/kg 体重/日、雌で 250 mg/kg 体重/日と判断した。一方、ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG **社内資料**（Bomhard and Karbe（1985））において、Wistar ラットの雌に最低用量（200 mg/kg 体重）でも血漿中 ALT 活性の増加が認められており、NOAEL は得られなかった。LOAEL は 200 mg/kg 体重/日と考えた。

発がん性については、Fisher344 ラットを用いた 103 週間発がん性試験（NTP（1987））の雌で腫瘍性結節又は肝細胞癌の出現個体の合計の増加が認められたことから、MC は Fischer344 ラットの雌に対して、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。また、100 mg/kg 体重/日投与群では発がん性はないと判断した。ただし、MC に遺伝毒性がないことから、がんの発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものではなく、MC について閾値を設定できると判断した。マウスにおいて発がん性は認められなかった。

DMDC に由来する MC の一日推定摂取量は、国民平均及び小児について、0.00025 mg/kg 体重/日及び 0.00037 mg/kg 体重/日と判断した。

また、ぶどう酒に含まれる MC の一日推定摂取量の最大値は、ぶどう酒から国民平均で 0.003 μg/L と算出され、DMDC 由来の摂取量の 100 分の 1 程度であった。

非発がん毒性について、200 mg/kg 体重/日は、ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））の NOAEL の最小値 200 mg/kg 体重/日であり、かつ、ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG 社内資料（Bomhard and Karbe（1985））の LOAEL である。200 mg/kg 体重/日と推定一日摂取量との間のマージンは、国民平均及び小児について、それぞれ約 800,000 及び約 540,000 であった。

また、ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））における発がん性を示す用量（200 mg/kg 体重/日）の下の用量である 100 mg/kg 体重/日と推定一日摂取

量との間とのマージンは、国民平均及び小児について、それぞれ約 400,000 及び約 270,000 であった。

以上より、本専門調査会としては、非発がん毒性についての LOAEL を考慮したとしても、十分なマージンが存在し、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、生成する MC の安全性に懸念はないと判断した。

事務局より：

下記の試験結果を基に、ラット 13 週間反復投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））の NOAEL である 200 mg/kg 体重/日及びラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））の発がん用量の一つ下の用量である 100 mg/kg 体重/日を用いてマージンを算出しておりますが、よろしいでしょうか。「非発がん性の影響に関する NOAEL」といった表現も含め、御確認をお願いいたします。

	用量設定	NOAEL
ラット 13 週間反復投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））	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	【非発がん性の影響に関する NOAEL】 雄：200 mg/kg 体重/日 雌：250 mg/kg 体重/日 ※雄：400 mg/kg 体重/日 体重増加抑制、肝炎（壊死、核の過染及び異型並びに異常な有糸分裂）、肝臓の絶対及び相対重量の減少、嗜眠が認められた。
ラット 13 週間経口投与・飲水投与試験（BayerAG 社内資料（Bomhard and Karbe（1985））	＜経口投与＞ 雌雄：0（対照群）、200、400、600、800 ＜飲水投与＞ 雌雄：0（対照群）、800	【非発がん性の影響に関する NOAEL】 － ※雌：200 mg/kg 体重/日 血漿中 ALT 活性の増加
ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））	雌雄：0（対照群）、100、200 mg/kg 体重/日	【発がん性に関する NOAEL】 雌：100 mg/kg 体重/日 ※雌：200 mg/kg 体重/日 腫瘍性結節又は肝細胞癌の出現個体の合計の増加が認められた。

		※雄の 200 mg/kg 体重/日は発がん用量と認められなかったが、他の試験の成績も併せると、発がん用量と示唆された。

梅村専門委員、頭金専門委員：
「非発がん性の影響に関する NOAEL」という表現には違和感があります。

事務局より：
「非発がん毒性についての NOAEL」等と修正しましたがいかがでしょうか。
（参考）
・清涼飲料水評価書「クロロホルム」（2009 年 8 月）
P30「非発がん毒性について…」、
p4 要約「非発がん毒性に関する TDI については…」

６．炭酸ジメチル（DMC）

DMC の体内動態に係る知見を検討した結果、ブタ肝臓ホモジネート中の酵素存在下での加水分解が認められた。

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及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績並びに構造が類似する MC の遺伝毒性の知見を検討した結果、DMC に、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

DMC の急性毒性及び反復投与毒性の試験成績を検討した結果、ラット 3 か月間経口投与試験（BayerAG 社内資料（Eiben ら（1982））において、最高用量でも毒性所見が認められないことから、DMC の NOAEL を 10,000 ppm（雄で 890 mg/kg 体重/日）と判断した。

発がん性に関する知見は認められなかった。

DMDC に由来する DMC の一日推定摂取量は、国民平均及び小児について、0.0051 mg/kg 体重/日及び 0.0074 mg/kg 体重/日と判断した。

DMC の NOAEL 890 mg/kg 体重/日と推定一日摂取量との間のマージンは、国民平均及び小児について、それぞれ約 170,000 及び約 120,000 であった。本専門調査会としては、十分なマージンが存在し、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、生成する DMC の安全性に懸念はないと判断した。

７．添加物「二炭酸ジメチル」

本専門調査会としては、上述の DMDC 及び DMDC 関連化合物に対する評価を踏まえ、添加物「二炭酸ジメチル」が添加物として適切に使用される場合、安全

性に懸念はないと判断した。

~~（文案作成中）~~

＜別紙１：略称＞

略称	名称等

事務局より：
追って作成いたします。

＜**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] [37] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Dimethyl Dicarbonate. Prepared at the 37th JECFA, published in FNP 52, 1990

[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

[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】

[6] [61] Genth H~~Krefeld-Uerdingen GH~~: Dimethyl dicarbonate – a new disappearing substance for alcohol-free soft drinks containing fruit juice. Mineralwasser-Zeitung 1979; 13: 1-15

[7] [36] LANXESS Deutschland GmbH: Dimethyl Dicarbonate (DMDC) - Chemical and Physical Properties -（LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月）

[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）

[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）

[10] [51] Labor Dr. Haase-Aschoff: Sample preparation and determination of DMDC（Labor Dr. Haase-Aschoff 社内資料、1998 年 9 月）

[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

[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

[13] [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

[14] [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

[15] [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

[16] [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

[17] [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

[18] [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

[19] [34] Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the use of dimethyl dicarbonate (DMDC) in wines, 12 July 2001

[20] [63] LANXESS Deutschland GmbH: List of related substances（LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 8 月）

[21] [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

[22] [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

[23] [2] Bayer AG: Dimethyl dicarbonate (DMDC), Technical effect（Bayer AG 社内資料、1988 年 3 月）

[24] [補足 2 文献 1] Bayer AG: Investigation of the products of the reaction of Velcorin with aspartame in water（Bayer AG 社内資料、1993 年 4 月）【Exner（1993）】

[25] [17] Codex Alimentarius Commission: General Standard for Food Additives, CODEX STAN 192-1995, Revision 2017

[26] [21] Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Committee on Food Additives, Forty Fifth session, 18-22 March 2013

[27] [26] Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.35 2000

[28] [27] Food and Drug Administration: Food Contact Substance: Dimethyl dicarbonate (DMDC). FCN No.483 2005

[29] [28] Food and Drug Administration: 21 CFR Part 172. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Dimethyl Dicarbonate. Federal Register 2001; 66(45): 13652-3

[30] [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 https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2016-title21-vol3/pdf/CFR-2016-title21-vol3-sec172-133.pdf

[31] [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

[32] [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

[33] [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

[34] [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

[35] [6] Food Standards Australia New Zealand: Application A1025: Classification of DMDC explanatory statement. Food Standards Australia New Zealand - Amendment No. 121 - 2011

[36] [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

[37] [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）

[38] [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

[39] [追加 3] 第 8 版食品添加物公定書解説書, 2007 年

[40] [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

[41] [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

[42] [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

[43] [72] Röe O: Species differences in methanol poisoning. Crit. Rev. Toxicol. 1982; 10: 275-86

[44] [追加 9] Lund A: Metabolism of methanol and formic acid in rabbits. Acta pharmacol. 1948; 4; 99-107

[45] [追加 10] Makar AB, Tephly TR and Mannering GJ: Methanol metabolism in the monkey. Mol. Pharmacol. 1963; 4; 471-483

[46] [追加 1] Skrzydlewska E: Toxicological and Metabolic Consequences of Methanol Poisoning. Toxicology Mechanisums and Methods. 2003; 11: 277-293

[47] [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

[48] [追加 4] NTP: NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Methanol、2003

[49] [73] Bayer AG: Investigations of the enzymolysis of N-carbomethoxy proline（Bayer AG 社内資料、1978 年 1 月）【Schmidt U (1978)】

[50] [74] Bayer AG: Enzymatic hydrolysis of carbomethoxy compounds（Bayer AG 社内資料、1974 年 12 月）【Rauenhusch (1974)】

[51] [補足 2 文献 2] Bayer AG: Enzymaticdegradation of methoxycarbonyl-aspertame in rat liver momoginate（Bayer 社内資料、2000 年 10 月）【Schmidt（2000）】

[52] [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

[53] [75] Boyland E and Papadopoulos D: The metabolism of methyl carbamate. Biochem. J. 1952; 52; 267-9

[54] [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

[55] [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)】

[56] [76] Boyland E and Nery R: The metabolism of urethane and related compounds. Biochem. J. 1965; 94; 198-208

[57] [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)】

[58] [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)】

[59] [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)】

[60] [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)】

[61] [追加 2 文献 3] Bayer HealthCare: Repeated Dose Toxicity Study in Wistar Rats(Administartoinof DrinkingFluid Aand B, Sterilized with Velcorin over 4 weeks)【Popp（2013）】

[62] [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)】

[63] Giknis MLA and Clifford CB: Clinical Laboratory Parameters for Crl: Wl (Han), charles river. 2008

[64] [追加 2 文献 4] Triskelion: Comparative toxicity testing of hydrolysed dimethyl dicarbonate (DMDC)-A subchronic (13-week) toxicity study in rats 【Wolterbeek（2018）】

[65] [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 (Regensburs) B (1983)】

[66] [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)】

[67] [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)】

[68] [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)】

[69] [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)】

[70] [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

[71] [141] Smith EN and Taylor RT: Acute toxicity of methanol in the folate-deficient acatalasemic mouse. Toxicology 1982; 25: 271-87

[72] [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

[73] [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

[74] [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

[75] [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

[76] [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

[77] [148] Cooper JR and Felig P: The biochemistry of methanol poisoning: II. Metabolic acidosis in the monkey. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1961; 3: 202-9

[78] [153] 新エネルギー開発機構：昭和 60 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，1986 年

[79] [149] Andrews LS, Clary JJ, Terrill JB and Bolte HF: Subchronic inhalation toxicity of methanol. J. Toxicol. Environ. Health 1987; 20: 117-24

[80] [150] White LR, Marthinsen AB L, Richards RJ, Eik-Nes KB and Nilsen OG: Biochemical and cytological studies of rat lung after inhalation of methanol vapour. Toxicol. Lett. 1983; 17: 1-5

[81] [151] Lee EW, Render JA, Garner CD, Brady AN and Li LC: Unilateral Degeneration of Retina and Optic Nerve in Fischer-344 Rats. Vet. Pathol. 1990; 27: 439-444

[82] [152] Sayers RR, Yant WP, Schrenk HH, Chornyak J, Pearce SJ, Patty FA et al.: Methanol poisoning II. Exposure of dogs for brief periods eight times daily to high concentrations of methanol vapor in air. J Ind Hyg Toxicol 1944; 26(8): 255-9

[83] [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

[84] [160] Youssef A F, Baggs RB, Weiss B and Miller RK: Tetratogenicity of methanol following a single oral dose in Long-Evans rats. Reprod. Toxicol., Vol. II, 4, 503-510.

[85] [161] Cummings AM: Evaluation of the effects of methanol during early pregnancy in the rat. Toxicology 1993; 79: 205-14

[86] [158] Bolon B, Welsch F and Morgan KT: Methanol induced neural tube defects in mice: pathogenesis during neurulation. Teratology 1994; 49: 497-517

[87] [159] Nelson BK, Brightwell WS, MacKenzie DR, Khan A, Burg JR, Weigel WW et al.: Teratological assessment of methanol and ethanol at high inhalation levels in rats. Fundam. Appl. Toxicol. 1985; 5: 727-36

[88] [97] Bayer AG: N-Carbomethoxy compounds. （Bayer AG 社内資料、1973 年）【Steinhoff D (1973)】

[89] [99] Bayer AG: Methyl ethyl carbonate: Acute toxicity in mice and rats.（Bayer AG 社内資料、1973 年）【Steinhoff D (1973)】

[90] [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)】

[91] [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)】

[92] [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

[93] [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.

[94] [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

[95] [134] McCarroll NE, Keech BH and Piper CE: A microsuspension adaption of the Bacillus subtilis "rec" assay. Environ. Mutagen. 1981; 3: 607-16

[96] [105] National Institutes of Health: Toxicology and carcinogenesis studies of methyl carbamate in F344/N rats and B6C3Fl mice. NTP TR 328. NIH Publication 1987; No. 88-2584

[97] [123] de Giovanni-Donnelly R, Kolbye SM and Dipaolo JA: The effect of carbamates on Bacillus subtilis. Mutat. Res. 1967; 4: 543-51.

[98] [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.

[99] [124] Simmon VF: In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with Salmonella typhimurium. J. Natl. Cancer Inst. 1979; 62: 893-9

[100] [125] Demerec M, Bertani G and Flint J: A survey of chemicals for mutagenic action on E. coli. Am. Nat. 1951; 85: 119-36.

[101] [126] Hemmerly J and Demerec M: XIII. Tests of chemicals for mutagenicity. Cancer Res. 1955; 15: 69-75.

[102] [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

[103] [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

[104] [135] Cheng M, Conner MK and Alarie Y: Multicellular SCE study of some carbamates esters. Environ Mutagen 3: 385 (Abstract).

[105] [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.

[106] [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

[107] [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

[108] [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)】

[109] [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)】

[110] [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)】

[111] [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

[112] [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)】

[113] [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)】

114 [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

116 [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

117 [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

118 [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

119 [138] Bayer AG: Dimethyl carbonate, Acute toxicity（Bayer AG 社内資料、1974 年）【Steinhoff D (1974)】

120 [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)】

121 [追加 6]　Van de Water L: San Joaquin Valley Unified Air Pollution Control District - Final Draft Staff Report Proposed Amendments to Rule 1020 (Definitions), 2013

122 [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）

123 [71] Françot P and Geoffroy P: Methanol in fruit juices, fermented beverages, alcohols and spirits. Rev. Ferment. Ind. Aliment. 1956; 11: 279-87

124 [65] Wucherpfenning H, Dietrich H and Bechtel J: Alcohol: Free, total and potential methanol content of fruit juices. Flüssiges Obst 1983; 8: 348-54

125 [3] LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® - natural methanol contents in soft drinks（LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2008 年 10 月）

126 [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）

127 厚生労働省：食品健康影響評価に係る補足資料の提出について，薬生食基発0530第4号平成30年5月30日付け厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長通知

128 [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

129 [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