府　食　第　３　６　号
平成３１年１月２９日

厚生労働大臣
　根本　匠　殿

食品安全委員会
委員長　　佐藤　洋

食品健康影響評価の結果の通知について

平成30年１月11日付け厚生労働省発生食0111第１号をもって貴省から当委員会に意見を求められた二炭酸ジメチルに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第２項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

二炭酸ジメチル、メタノール、メトキシカルボニル化合物、炭酸エチルメチル、カルバミン酸メチル、炭酸ジメチル：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限りにおいては、安全性に懸念はない

添加物「二炭酸ジメチル」：添加物として適切に使用される限りにおいては、安全性に懸念はない

別添

添加物評価書

二炭酸ジメチル

２０１９年１月

食品安全委員会

目次

頁
＜審議の経緯＞ 3
＜食品安全委員会委員名簿＞ 3
＜食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿＞ 3
要　約 5
Ⅰ．評価対象品目の概要 11
　１．用途 11
　２．主成分の名称 11
　３．分子式及び構造式 11
　４．分子量 11
　５．性状等 11
　６．製造方法 11
　７．安定性 12
　８．起源又は発見の経緯 16
　９．諸外国における使用状況 16
　１０．国際機関等における評価 18
　１１．評価要請の経緯及び添加物指定の概要 21
Ⅱ．安全性に係る知見の概要 22
　１．体内動態 23
　（１）二炭酸ジメチル（DMDC） 23
　（２）メタノール 23
　（３）メトキシカルボニル化合物（MCC） 30
　（４）炭酸エチルメチル（MEC） 32
　（５）カルバミン酸メチル（MC） 33
　（６）炭酸ジメチル（DMC） 38
　（７）体内動態のまとめ 38
　２．毒性 39
　（１）DMDC 39
　（２）メタノール 52
　（３）メトキシカルボニル化合物（MCC） 69
　（４）炭酸エチルメチル（MEC） 70
　（５）カルバミン酸メチル（MC） 73
　（６）炭酸ジメチル（DMC） 93
Ⅲ．一日摂取量の推計等 95
　１．我が国における摂取量 95
　２．国際機関等における推計 98

３．摂取量の推計等のまとめ..... 100
Ⅳ．食品健康影響評価.....101
＜別紙１：略称＞.....107
＜別紙２：DMDC 及び DMDC 関連化合物の評価の概要＞.....108
＜参照＞参考資料一覧.....110

＜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
2018年11月6日　第719回食品安全委員会（報告）
2018年11月7日から12月6日まで　国民からの意見・情報の募集
2019年1月23日　添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2019年1月29日　第728回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2017年6月30日まで）	（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月31日まで）
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（北海道大学大学院獣医学研究院教授）
杉山　圭一（かび毒・自然毒等専門調査会専門委員）
中江　大（東京農業大学応用生物科学部教授）

（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

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。

評価に用いた試験成績は、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メトキシカルボニル化合物（MCC）、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）を被験物質とした体内動態、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。

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 MCC、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、MCC、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、MCC 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。

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 の推定一日摂取量は、「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、検出限界値を最終製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。

本委員会としては、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限りにおいては、DMDC の安全性に懸念がないと判断した。

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から速やかに吸収され、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は、げっ歯類と比べ霊長類で著しく遅く、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比べ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 日当たり 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（1988）及び SCF（2001）は、健康なヒトは 1 時間当たり 1,500 mg の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について検討したが、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から生じるギ酸によるものであり、メタノール中毒では、一般的に摂取量の増加に伴い、代謝性アシドーシス、中枢神経系の機能障害といった症状を経て、失明に至る視覚障害及び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 NOAEL 71～84 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我が国におけるアルコール飲料中のメタノールの基準値 [1]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。

本委員会としては、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、体内で代謝及び排泄されると考え、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及び 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限りにおいては、メタノールの安全性に懸念がないと判断した。

３．メトキシカルボニル化合物（MCC）

MCC の体内動態に係る知見を検討した結果、N-メトキシカルボニル化されたアミノ酸（N-MCC-AA）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 N-MCC-AA は比較的加水分解されやすいが、それ以外のアミノ酸由来の N-MCC-AA は加水分解されにくい。また、N-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。

MCC については、N-MCC-AA 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、

[1] 「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「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。

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 MCC の推定一日摂取量は、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。

本委員会としては、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限りにおいては、生成する MCC の安全性に懸念はないと判断した。

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 の遺伝毒性の試験成績を検討した結果、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 の推定一日摂取量は、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、約 210,000 及び約 9,100,000 であった。本委員会としては、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限りにおいては、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、又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速度はマウスと比べ遅く、組織等への分布がラットでは多いことが、マウスと比べ 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。

発がん性については、ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））において、Fisher344 ラットの雌に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。

DMDC に由来する MC の推定一日摂取量は、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 の推定一日摂取量の最大値は、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。

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、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））において発がん性はないと判断された用量である 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、約 400,000 及び約 270,000 であった。

以上から、本委員会としては、ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））の NOAEL（200 mg/kg 体重/日）及び発がん性はないと判断された用量（100 mg/kg 体重/日）と推定一日摂取量との間には十分なマージン

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限りにおいては、生成する MC の安全性に懸念はないと判断した。

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 の遺伝毒性の試験成績を検討した結果、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 の推定一日摂取量は、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、約 170,000 及び約 120,000 であった。本委員会としては、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限りにおいては、生成する DMC の安全性に懸念はないと判断した。

本委員会としては、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限りにおいては、安全性に懸念はないと判断した。

Ⅰ．評価対象品目の概要

１．用途

殺菌料（参照 1）

２．主成分の名称

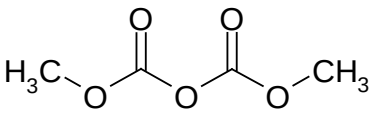
和名：二炭酸ジメチル（DMDC[2]）

英名：Dimethyl dicarbonate

CAS 登録番号：4525-33-1（参照 1）

３．分子式及び構造式

$C_4H_6O_5$



（参照 1、2、3）

４．分子量

134.09　（参照 1、3）

５．性状等

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

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）

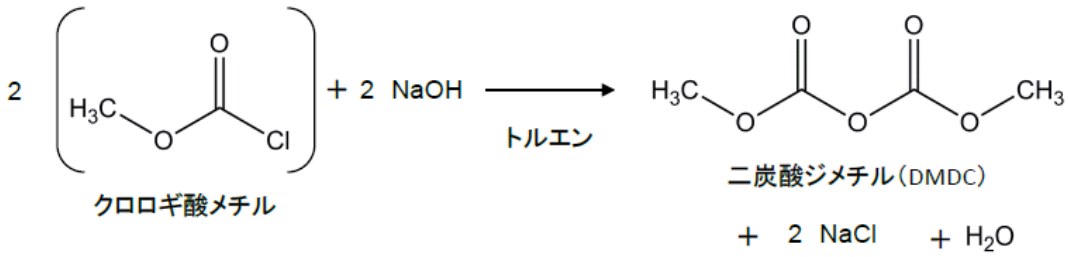


図１　DMDC の製造方法

[2] 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。

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）

DMDC は、飲料（清涼飲料水及びアルコール飲料）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 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では検出限界値未満であると説明している（図２）。（参照 4、6、7、8）

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）

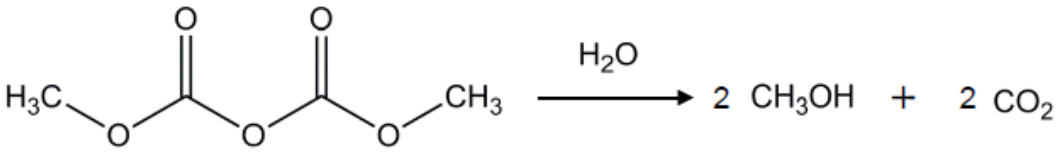


図２　DMDC の加水分解（参照 6）

（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る。具体的には、①DMDC の脱炭酸反応により炭酸ジメチル（DMC）、②DMDC と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、クエン酸及び酒石酸）が反応して種々のメトキシカルボニル化合物(MCC)[3]、③DMDC とエタノールが反応して炭酸エチルメチル(MEC)、又は④DMDC とアンモニア又はアンモニウムイオン（以下「アンモニア等」という。）が反応してカルバミン酸メチル（MC）が生成する（図３）。また、DMC は、DMDC の製造工程中の副生成物としても生成する。

[3] 原著において「カルボメトキシ化合物」及び「カルボメトキシ XX」とされている場合も、IUPAC 命名法に従い、本評価書中では「メトキシカルボニル化合物」及び「メトキシカルボニル XX」と記述した。

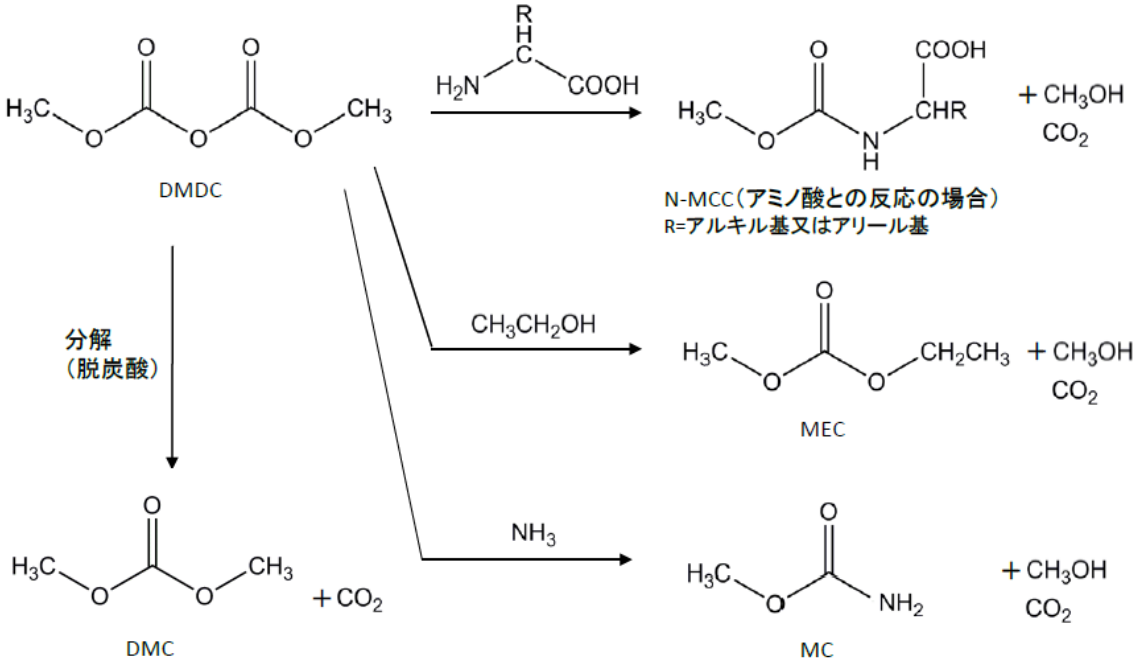
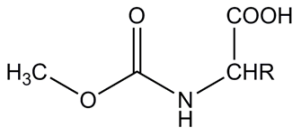
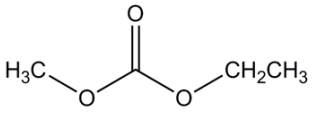
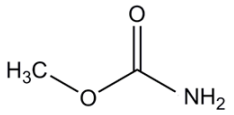
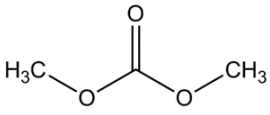


図３　DMDC 関連化合物の生成（参照 6）

表 1 に DMDC 関連化合物（メタノール、二酸化炭素、MCC、MEC、MC 及び DMC）の一般名等についてまとめた。（参照 11）

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
メトキシカルボニル化合物	methoxycarbonyl compounds（MCC）	－（化合物群のため、登録番号なし）	N-MCC の例(アミノ酸のメトキシカルボニル誘導体)  R: アルキル基又はアリール基	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。「化学式」に記載の構造はアミノ酸と反応した場合（N-MCC-AA）。
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等との反応生成物
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」）

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）、米国食品医薬品局（FDA）及び欧州食品安全機関（EFSA）が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	MCC	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（1991）において参照した検出量及び生成量の最大値。（参照 12）
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（1988、1993、1994、1996）において参照した検出量及び生成量。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）
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 MCC 等のワイン類からの摂取量を 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 DMDC 100 mg/L 添加時の値（10 µg/L。FDA（1993））を 2.5 倍した換算値。
注 9）二酸化炭素及び MCC 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）を、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）
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）MCC として、N-メトキシカルボニル化合物類（N-MCC アラニン [4]、N-MCC アルギニン、N-MCC アスパラギン、N-MCC ジシステイン、N-MCC グルタミン酸、N-MCC グリシン、N-MCC ヒドロキシプロリン、N-MCC ロイシン、N-MCC システイン、N-MCC フェニルアラニン、N-MCC プロリン）が挙げられている。（参照 20）
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及び生成量。DMDC 検出限界値 0.05 mg/L（参照 4、9）

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 [5]（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）

MC の生成は、飲料中のアンモニア等濃度の上昇又は 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状態（アンモニア等濃度 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）

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、MCC が 0.7292 mg/L 又は 2.0220 mg/L 生成していた。（参照 23）

また、DMDC（250 ppm）をアスパルテーム（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（MCC 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

[4] 本評価書において、メトキシカルボニル化されたアミノ酸のことを「N-MCC（アミノ酸名）」と表記する。
[5] 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。

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）

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）

８．起源又は発見の経緯

指定等要請者は、1978 年にバイエル社が 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）

９．諸外国における使用状況

（１）コーデックス委員会

DMDC 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[6]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 が検出されないとされている。（参照 25）

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）

（２）米国における使用状況

米国においては、DMDC は、1988 年、ワイン類[7]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）

---

[6] 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。

[7] 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。

（３）欧州連合（EU）における使用状況

EU においては、DMDC は、1995 年、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及びぶどう酒を除くワイン類[8]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）

（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は、DMDC は、1996 年、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[9]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 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）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）に沿って使用される限り、微生物数が 500 個/mL 以下に減少するため、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、認可は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。

---

[8] 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））。

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

表 3　諸外国における使用状況

	諸外国における DMDC 使用上限濃度	
	200 mg/L	250 mg/L
GSFA （参照 25）	・ぶどう酒 ・ハチミツ酒	・ノンアルコール飲料（香料入り飲料、コーヒー及び茶等） ・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）	・ワイン類 ・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）	・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
オーストラリア･ニュージーランド （参照 34、35）	・ワイン類	・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）

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、MCC、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。

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、MCC 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癌の所見から、NOEL 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 に沿って使用される限り、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 に沿って使用される限り、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）

（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-MCC、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､成人は有害事象が発現することなく 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癌が認められており、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付けているが、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）

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

なお、当該評価において、原著が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 ADI を 7.1～8.4 mg/kg 体重/日としている。（参照 14）

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）

（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（ソフトドリンク及び果実ジュース）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[10]の高用量投与群で肝細胞癌が認められたが、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べ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）

1996 年、SCF は、上述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 添加時に生成す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、適切な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、発がん性の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、発がん性の所見について、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）

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）

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（Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food ; ANS パネル）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

[10] 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。

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[11]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 の推定一日摂取量の 95 パーセンタイル値は、一部の年齢層（18 歳以上）において 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、及び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）

（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）[12]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）

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

[11] 原著では、OECD QSAR Toolbox version 3.3.2 (2015) とされている。
[12] ANZFA は FSANZ の前身の機関であり、2002 年に移行した。

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）

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ており、pH 2～6 においては pH の影響はなく、7～8 時間以内に主に二酸化炭素及び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 MCC、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）

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（炭酸水及びソーダ水）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）

以上から、本委員会としては、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 [13]）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 MCC、MEC 及び MC 並びに副生成物等である DMC に関する知見を併せ、総合的に添加物「二炭酸ジメチル」の安全性に関する評価を行うこととした（DMDC 及び DMDC 関連化合物の評価の概要を別紙 2 にまとめた）。なお、MCC 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 MCC を網羅しているものではない（参照 40）。しかしながら、DMDC 添加飲料には、MCC を

[13] 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, 23）。

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。

１．体内動態

（１）二炭酸ジメチル（DMDC）

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

（２）メタノール

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、消化管から急速に吸収され、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1.3で、比較的一定であった。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、反応速度論的に１次反応により代謝され、血液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、多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41、42）

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、硝子体液及び胆汁中に、血液中より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、各液中で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、肺及び脾臓では高濃度のメタノールが検出されたが、骨格筋、膵臓、肝臓及び心臓でのメタノール濃度は低かった（Wu Chenら（1985））。

（参照41）

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）[14]（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又は3,000 mg/kg体重）し、投与48時間後まで継時的に尾静脈から血液を採取して、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体重投与群では投与1時間後に、125 mg/kg体重投与群及び600 mg/kg体重投与群では投与2時間後に、3,000 mg/kg体重投与群では投与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移行の遅延が認められた。また、投与48時間後の各群の放射活性は、各ピーク時の放射活性と比較して、それぞれ平均19.6%、12.4%、8.53%及び52.2%に減少した。（参照43）

③ 代謝

ａ．代謝（ヒト、ウサギ、イヌ及びサル）レビュー（Röe（1982））[15]

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[16]、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（Maloray and Stieren（1967）、

[14] 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）

[15] 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。

[16] 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。

Rietbrockら（1966））。

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、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。（参照44、45、46）

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、少量が未変化体として腎臓から尿中（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2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異なるにもかかわらず、メタノールからギ酸への代謝の速度は、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、メタノールの代謝反応の律速段階となる。

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。ヒト及び多くの動物種において、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。

霊長類を含む多くの動物種において、ホルムアルデヒドは、約1分という非常に短い半減期で体内から消失する（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、毒性を示す濃度である7～8 mmol/Lのギ酸が摂取後30分以内に検出され、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となるメタノールを摂取した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するものであり、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より2倍速く、この代謝速度の違いが、メタノールを0.5 g/kg以上摂取した時に認められたギ酸に対す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、全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 41）

c．代謝（ほ乳類）レビュー（Skrzydlewska（2003））

ラットにおいて、メタノールは、主としてカタラーゼにより酸化される。一方、アカゲザル及びヒトにおいては、メタノールはADHにより酸化され、このサルにおける酸化は著しく遅い（McMartinら（1980））。また、メタノールの酸化速度は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、メタノール濃度及び動物種により決定され、ラットではサルより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。

テトラヒドロ葉酸依存性の代謝経路によるギ酸の酸化速度は、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体重/時）であり、ラットではテトラヒドロ葉酸の量はマウスより有意に少なく、最高酸化速度は78 mg/kg体重/時であった（Johlinら（1987））。また、サルでは酸化速度はより遅く（40 mg/kg体重/時）、ブタが最も遅かった（20 mg/kg体重/時）（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、メタノール中毒になりやすい動物種であると考えられている。（参照47）

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又は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化物イオンの濃度）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上昇傾向が認められた。（参照48）

（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又は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化物イオンの濃度）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及びギ酸の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48）

（ｃ）代謝（ヒト）（JECFA（1991）、FDA（1988）及びSCF（2001））

JECFA（1991）は、通常の食習慣を通じて、ヒトは1日当たり1,000～2,000

mgのメタノールを代謝しているとしている。（参照12）

FDA（1988）は、成人は健康への有害な影響が生じることなく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）

SCF（2001）は、健康なヒトは健康への有害な影響が生じることなく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19）

④ 排泄

ａ．排泄（霊長類及びラット）レビュー（WHO（1997））[17]

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））。

メタノールを低濃度で経口摂取（< 0.1 g/kg）（Leaf and Zatman（1952））又は吸入ばく露（102～300 mg/m^3）（Sedivecら（1981））した後のヒト体内からの排泄の報告では、血液及び尿中のメタノール濃度から算出され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。

メタノールを高用量で摂取した場合、排泄は飽和し、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/時の零次反応を示し、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、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%が残留していた。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、600又は3,000 mg/kg体重）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

[17] 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。

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の排泄量の割合は、サルよりもラットで多かった(Katoh（1989）)。（参照41、42）

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又は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並びに尿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、呼気中への[^{14}C]二酸化炭素の排泄量は投与6～12時間後から直線的に増加し、投与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%）にして、それ以後は減少に転じ、投与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低下した。

一方、各投与群の投与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%であり、投与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、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ほぼ完了していた。

以上から、NEDOは、各投与群の投与0～48時間後の呼気、尿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

謝に飽和及び遅延が生じると考察している。（参照43）

⑤ ヒトにおける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 である。

健康なヒトにおけるメタノールの血液中濃度は 0.5 mg/L（0.02 mmol/L）であり、果物、野菜又は発酵飲料等の食品からの摂取により濃度が上昇する場合がある。

健康なヒト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 41）

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によれば、ヒトの血液中のメタノール濃度は、3 mg/L 未満である。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 [18]。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）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 49）

（３）メトキシカルボニル化合物（MCC）

① 吸収

MCC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

MCC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））

ラット（系統不明、雄）から得られた新鮮な肝臓ホモジネート（5 mL/g肝臓）

[18] 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 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、260 mg/m^3 x 20 m^3/day x 8 hour/24 hours x 1/70 kg で算出。

5 mLに、N-MCCプロリン（N-MCC-Pro）[4]溶液又はN-MCCアラニン（N-MCC-Ala）溶液（各100 μg/ 0.1mL）0.1 mLを添加し、37℃で24時間まで反応させ、N-MCC-Pro又はN-MCC-Alaの残存量をGCにより分析する試験（Ⅰ）、及び同肝臓ホモジネート（5 mL/g肝臓）又は上記ラットから得られた新鮮な腎臓ホモジネート（5 mL/ 0.5 g腎臓）に、N-MCC-Pro溶液（100 μg/0.1mL）を添加し、37℃で48時間まで反応させ、N-MCC-Proの残存量をGCにより分析する試験（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、30分後ではN-MCC-Pro、N-MCC-Alaともに明らかな分解は認められず、4時間後もN-MCC-Proの分解はほとんど認められなかったが、N-MCC-Alaの残存率は40%であった。24時間後のN-MCC-Pro及びN-MCC-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、24及び48時間後のN-MCC-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、24～48時間後のN-MCC-Proの残存率は11～25%であった。（参照50）

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のN-メトキシカルボニル化された各アミノ酸（N-MCC-AA[19]）溶液0.5 mLを添加し、37℃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-MCC-AA[20]は、ヒト及びブタの肝臓及び腎臓由来酵素混液において速やかに加水分解されたが、N-MCCトリプトファン及びN-MCCヒドロキシプロリンは加水分解されなかった。

N-MCCアルギニンはヒト肝臓及び腎臓由来酵素混液で、N-MCCヒスチジン及びN-MCCチロシンはヒト肝臓由来酵素混液で、N-ジメトキシカルボニルリジン、N-ジメトキシカルボニルシステイン及びN-MCCプロリンはヒト腎臓由来酵素混液で、N-MCCトレオニンはブタ肝臓由来酵素混液で、並びにN-ジメトキシカルボニルシスチンはブタ及びヒトの腎臓由来酵素混液で、それぞれ加水分解

[19] なお、本実験に用いた N-MCC-AA は次のとおり；N-MCC グルタミン、N-MCC グルタミン酸、N-ジメトキシカルボニルリジン、N-MCC アルギニン、N-ジメトキシカルボニルオルニチン、N-MCC ヒスチジン、N-MCC グリシン、N-MCC アラニン、N-MCC バリン、N-MCC ロイシン、N-MCC イソロイシン、N-MCC セリン、N-MCC トレオニン、N-MCC システイン、N-ジメトキシカルボニルシステイン、N-ジメトキシカルボニルシスチン、N-MCC メチオニン、N-MCC チロシン、αN-MCC トリプトファン、MCC フェニルアラニン、N-MCC プロリン、N-MCC ヒドロキシプロリン

[20] N-MCC グルタミン、N-MCC グルタミン酸、N-MCC グリシン、N-MCC アラニン、N-MCC バリン、N-MCC ロイシン、N-MCC イソロイシン、N-MCC セリン、N-MCC メチオニン

されなかった。（参照51）

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、N-メトキシカルボニルアスパルテーム水溶液（0、50、100 又は 500 µmol/L）を添加し、37℃で反応させ、経時的に N-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、N-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%[21]まで分解された。さらに 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 52）

④ 排泄

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

Wistarラット（雌）にN-MCC-Pro又はN-MCC-Alaを経口投与（それぞれ0.5、1、2又は4 mg/動物[22]）し、投与48時間後まで採取した尿中のN-MCC-Pro及びN-MCC-Alaをメチルエステル化してGCにより分析する試験が実施されている。

その結果、N-MCC-Alaの4 mg/動物投与群では、投与0～22時間後で55%が、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-MCC-Proの4 mg/動物投与群では、投与0～22時間後で49%が、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0～22時間後で、2 mg/動物投与群では63%及び53%が、1 mg/動物投与群では45%及び47%が、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-MCC-Pro又はN-MCC-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から排泄されたとしている。（参照50）

（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。

[21] 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。

[22] 原著によると、0.5 mg/動物 ≒ 3.3 mg/kg 体重

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）又はブタ腎臓由来酵素混液（窒素換算 5.05 mg/mL）を、37℃に設定された滴定装置を用いて 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 8.0 に調整後、0.01 mol/L の MEC 溶液を添加して、水酸化ナトリウムの消費から MEC 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 の加水分解が認められた。（参照 51）

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））[23]

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、脂肪組織及び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、並びに経口投与（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、マウスとラットと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

[23] 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。

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: 経口投与 24 時間後の MC の組織中分布率及び組織中 MC 量/血液中 MC 量の比（組織/血液比）

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

＜静脈内投与試験（Ⅱ）＞

表 5 に示されているとおり、マウスの筋肉においては、投与 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 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は投与 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。

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、マウス及び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、組織内への蓄積はほとんど認められなかったものの、ラットでは、9 回反復投与 1 日後の組織中の MC 量

は、単回投与 1 日後の量の 2～8 倍であった。（参照 53）

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 又は 1,000 mg/kg 体重）し、投与 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 はいずれの投与量においても、投与 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 120 時間後まで残存し、消失半減期は 24 時間であった。（参照 12、54）

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 24 時間後までの各時点に肝臓を摘出して RNA を抽出し、放射活性から[^{3}H] MC の RNA への取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 への取込みは遅延した。（参照 12、55）

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 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 により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は、両系統とも日数の経過とともに尿中排泄率は漸増し、7日後の24時間尿では、Wistarラットで平均30.0%に、Fischer344ラットで平均32.0%に達した。なお、MCの1日尿中排泄率は、Fischer344ラットと比べWistarラットで、投与開始5日後まで各採取日とも僅かに高かった。

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している。（参照12、56）

b．排泄（マウス及びラット（Ioannouら（1988）（JECFA（1991）で引用））[23]

$B6C3F_1$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又は1,000 mg/kg体重）し、投与後24時間の尿及び糞便中の放射活性並びに呼気中の二酸化炭素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又は400 mg/kg体重）し、投与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又は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体重投与群）（Ⅰ）＞

投与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%、ラットで平均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、呼気中への両物質の排泄率はラットよりマウスで高かった。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0.4%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%は代謝物であり、2%程度の二次代謝物もあり、糞便中では未変化体のみが認められ、揮発性物質中では主に未変化体が認められた。

＜経口投与試験（40又は1,000 mg/kg体重投与群）（Ⅰ）及び静脈内投与試験（Ⅱ）＞

投与0～72時間後の尿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20%未満及び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%は代謝物であり、2%程度の二次代謝物もあり、糞便中では未変化体のみが認められ、揮発性物質中では主に未変化体が認められた。

＜静脈内投与試験（Ⅲ）＞

投与量に 1,000 倍の違いがあるにもかかわらず、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 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（ II.2.（5）②a.）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、組織等への分布にも種差が見られていることから、この違いによりラットが MC の毒性に対してより感受性が高いことの大部分を説明できるとしている。（参照 12、53）

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 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 24 時間で尿中に排泄される割合と同等であることから、MC は腎臓において濃縮されないとしている。（参照 54）

（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、初日及び 2 日目に、MC として、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、57）

（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[24]を、37 ℃に設定された滴定装置を用いて 0.1 mol/L 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 51）

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

本委員会としては、DMDC は飲料に添加後、速やかに二酸化炭素及び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 DMDC が飲料中成分と反応して生成する MCC、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から速やかに吸収され、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

[24] 「ブタ肝臓由来酵素混液」は、肝臓のホモジネートを遠心分離（39,000 ×g、10 分間）して得られた上清を透析し、さらに遠心分離（39,000 ×g、20 分間）して得られた上清より調製された各種酵素が混在する水溶液である。「ブタ肝臓ホモジネート」は希釈された液状の組織破砕物である。

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 によるホルムアルデヒドへの酸化であり、また、用量飽和性があり、メタノール代謝反応の律速段階となる。第 2 段階で FDH によりギ酸に酸化され、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、げっ歯類と比べ霊長類で著しく遅く、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比べ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。また、代謝によるメタノールの消失は、エタノールと比べ遅いとされている。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。

MCC のうち、N-MCC-AA 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由来酵素混液添加の条件下で、脂肪族アミノ酸由来の N-MCC-AA は比較的加水分解されやすいが、それ以外のアミノ酸由来の N-MCC-AA は加水分解されにくい。また、N-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。

MEC はブタの肝臓由来酵素混液を、DMC はブタの肝臓ホモジネートを添加すると加水分解された。

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、又は代謝され二酸化炭素として排泄された。また、ラットでの二酸化炭素として排泄される速度はマウスと比べ遅く、組織等への分布がラットでは多いことが、マウスと比べ 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た。

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、数時間以内に検出限界値未満となる。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。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。

以上を考慮し、本委員会としては、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 添加飲料の遺伝毒性の一定の評価を行うことは可能と考えた。一方、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。

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	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	最高用量 1,000 μg/plate（細胞毒性のため、200 μg/plate まで観察）	陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず）	Bayer AG 社内資料（Herbold（1978））（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）（参照 11、12、58）
	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[25]	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 59）
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[26] 単回強制経口投与、24、48 及び 72 時間後	陰性	Bayer AG 社内資料（Herbold（1989））（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）（参照 11、12、60）

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（II.２．（１））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ており、陰性の結果である。したがって、本委員

[25] 原著では「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、4,040 mg/L を用いて、1,000 μL/plate を乗じて算出。

[26] 原著では「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、「1.6 L の飲料に 5.12 mL の DMDC を混合し調製した（参照 59 と同じ調整法）」との記述があるため、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。

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。

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、61）
（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[27]）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

群	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 及びビタミン 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、ペクチン及びアロエ抽出物が含まれている。

その結果、各調製試験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。

[27] 原著では、4,000 ppm と記述されている。

・3 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 ALP 活性の上昇、血清カルシウム濃度の上昇
・3 群（雌）：赤血球数の減少、血糖濃度の増加、血漿クレアチニン濃度の低下、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
・5 群（雄）：平均ヘモグロビン濃度（MCHC）値及び血小板数の減少、血漿尿素濃度の有意な低下、血漿 ALP 活性の上昇、脳の絶対重量の増加、胸腺の絶対重量の増加
・5 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、血漿アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）活性の低下、血漿 ALP 活性の上昇

なお、各 DMDC 添加調製試験飲料とも、死亡数、臨床所見、神経行動学的検査、自発運動活性の測定、眼科的検査及び病理組織学的検査において、DMDC の添加に由来する影響は認められなかった。

Popp（2013）は、3 群及び 5 群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。
・血液生化学的検査で認められた血漿 ALP 活性の変化については、1 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。血漿 AST 活性及びクレアチニン濃度については、上昇する場合には安全性上の懸念があるが、ここでは低下しているため、被験物質による毒性学的関連性は懸念されない。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、各調製試験飲料群との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

以上から、本試験における DMDC 添加調製飲料 A 又は B（4, 000 mg/L）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している。（参照 12、62）

本委員会としては、5 群で認められた血漿 ALP 活性の上昇について、DMDC 添加調製試験飲料 B の投与に関連すると考えられた。一方で、DMDC 添加調製試験飲料 B で認められたような変化が DMDC 添加飲料 A で認められなかった。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、他の肝臓関係の血液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も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。

b．ラット 3 か月間経口投与試験（Bayer AG 社内資料（Löser（1974））（JECFA（1991）[28]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 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 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 添加ビール（4,000 mg/L）	雄	157.47
		雌	203.38
7	白ワイン	雄	122.12
		雌	149.84
8	DMDC 添加白ワイン（4,000 mg/L）	雄	141.27
		雌	172.18

その結果、各 DMDC 添加飲料とも対照群と比べ投与群では一般状態、致死

[28] JECFA（1991）では Löser（1978）とされている。

率、体重、摂餌量、飲料摂取量、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、DMDC 添加に関連した変化は認められなかった。

Löser は、本試験では DMDC 添加果実ジュース及びアルコール飲料（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している。（参照 11、12、63）

本委員会としては、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。

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。

- 3 群（雄）：血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性及びカリウム濃度の低下、精巣上体の絶対重量の増加
- 3 群（雌）：血漿アルブミン／グロブリン（A/G）比及び血糖濃度の上昇、血漿カルシウム濃度の低下、尿中結晶のスコア値の増加
- 5 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 活性の上昇、精巣上体の相対重量の増加、前立腺の絶対重量の減少
- 5 群（雌）：脳の絶対重量の減少

・7 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上昇、血漿中尿素の低下
・9 群（雄）：血漿ナトリウム濃度の上昇
・9 群（雌）：体重増加の一過性の減少（投与 7～14、35～42、63～70 日）、血漿 AST 活性の低下

なお、各 DMDC 添加飲料とも、臨床所見、神経行動学的検査、眼科的検査及び病理組織学的検査において、DMDC の添加に由来する影響は認められなかった。

Wolterbeek は、死亡数、臨床所見、神経行動学的検査、眼科的検査、成長状態、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び病理組織学的検査において、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 64）

本委員会としては、チャールズリバー社資料（Giknis and Clifford（2008））で報告されている Wistar（Han）ラットにおける血液学的検査及び血液生化学検査についての背景データも踏まえ、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。（参照 65）

d．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[27]）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。

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 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、血液学的検査、尿

検査、剖検及び病理組織学的検査において、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している。（参照11、12、66）

本委員会としては、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．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[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	雄	29
		雌	26
3	DMDC 添加白ワイン（4,000 mg/L）	雄	38
		雌	34

その結果、摂餌量については、1 群と比べ 2 群及び 3 群で平均 29%及び 23%の減少が認められ、飲料摂取量については、1 群及び 2 群と比べ 3 群で平均 39%及び 31%の増加が認められた。一方、一般状態、体重、死亡率、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において DMDC 添加に関連した影響は認められなかった。

Eiben らは、3 群における飲料摂取量の変化について、白ワイン中で 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。以上から、本試験において DMDC 添加白ワイン（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している。（参照 11、12、67）

本委員会としては、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．イヌ1年間経口投与毒性・発がん性併合試験（CIVOInstitutes TNO社（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[27]）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 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	雄	880
		雌	700

その結果、雌では2群と比べ3群における飲料摂取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、剖検及び病理組織学的検査において、被験物質の投与に関連した変化は認められなかった。

Linaは、本試験におけるDMDC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4,000 mg DMDC/Lオレンジジュースとしている。（参照11、12、68）

本委員会としては、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））（II. ２．（１）③ｄ．の再掲）

Wistarラット（雌雄、各群50匹）にDMDC添加飲料（4,000 mg/L[27]）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 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している。（参照11、12、66）

本委員会としては、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））（II. ２．（１）③ｅ．の再掲）

Wistar ラット（雌雄、各群 50 匹）に DMDC 添加飲料（4,000 mg/L[27]）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	雄	29
		雌	26
3	DMDC 添加白ワイン（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 添加白ワイン（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している。（参照 11、12、67）

本委員会としては、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）（II．２．（１）③ｆ．の再掲）

ビーグル犬（雌雄、各群 6 匹）に DMDC 添加飲料（4,000 mg/L[27]）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 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 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、68）

本委員会としては、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[27]）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	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 添加オレンジジュース（4,000 mg/L）	F_0 雄	77
		F_{1b} 雄	79
		F_0 雌	78
		F_{1b} 雌	79

注）各世代とも 2 回ずつ交配、出産させ、2 回目の産児（F_{1b}）を次世代の親動物とした。

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、以上から、本試験において DMDC 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している。（参照 11、12、69）

本委員会としては、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[27]）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 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及び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 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 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している。（参照 11、12、70）

本委員会としては、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。

（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	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 43）
	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 71）
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 43）
	姉妹染色分体交換（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）[29] 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、本委員会としては支持できると考えた。

[29] 原著によると、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、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。

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。

以上から、本委員会としては、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 72）
ラット（雄）	9,100	Welch ら（1943）（参照 73）
ラット	12,000（Behrens 法による）[30、31] 11,000（Bliss 法による）	Deichmann and Mergard（1948）（参照 74）
ラット（23 系統）	約 9,500	Gilger and Potts(1955)（参照 75）
ラット	5,800（14 日齢）[30、32] 10,000（若齢） 7,000 （老齢）	Kimura ら(1971）（参照 76）
ラット	12,880	Smyth ら(1972)（参照 77）
サル	7,000～9,000	Cooper and Felig（1961）（参照 78）

③ 反復投与毒性

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 12 か月間吸入毒性試験（NEDO（1986））

$B6C3F_1$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

用量設定	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か月以

[30] 原著では、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。
[31] 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。
[32] 原著では、LD_{50}は、7.4 mL/kg（14 日齢）、13.0 mL/kg（若齢）、8.8 mL/kg（老齢）と記述されている。

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以上ばく露群（雌雄）：体重の高値傾向
・10 ppm以上ばく露群（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、被験物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO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、被験物質のばく露に起因した影響であるか不明である

NEDOは、以上から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79）

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

B6C3F$_1$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

用量設定	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以上ばく露群（雌雄）：体重の高値傾向

NEDOは、一般症状、摂餌量、臨床検査値及び臓器重量において被験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79）

（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日間、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

用量設定	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験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 80）

（ｄ）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 24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 24　メタノール　試験群の設定

用量設定	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：視神経障害（6匹（対照群5匹、投与群1匹））

・C群：視神経障害（7匹（対照群4匹、投与群3匹））

なお、A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：視神経障害（4匹：53～60週間後）

・B群：視神経障害（5匹：53～60週間後）

・D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）

（ｅ）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 25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 25　メタノール　試験群の設定

用量設定	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以上ばく露群（雌）：肝臓及び脾臓の相対重量の用量依存的な僅かな増加

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

NEDOは、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験物質のばく露に起因した影響とは考えられないと考察している。

NEDOは、以上から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79）

（ｆ）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 26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 26　メタノール　試験群の設定

用量設定	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験物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO は、以下のように考察している。（参照 79）

・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併せて考えると、被験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及び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、被験物質のばく露に起因した影響とは認められない

（ｇ）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 27のような試験群を設定して、1日当たり6時間、週5日間、4週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

用量設定	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験物質のばく露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、毒性をもたらすほど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80）

（ｈ）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 28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 28　メタノール　試験群の設定

用量設定	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：
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（TP）濃度、遊離コレステロール濃度、AST活性、ALT活性及び血漿中のグルコース濃度の上昇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（各群1又は2匹）

NEDO は、以下のように考察している。（参照 79）
・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活性の上昇並びに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、かつ、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、ばく露用量又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か月間ばく露後にばく露を5か月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

（ｉ）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 29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 29　メタノール　用量設定

用量設定	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、被験物質の投与に関連した影響は認められなかった。（参照 82）

④　発がん性

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 18 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））（II. ２．（２）③ａ．（ｂ）の再掲）

B6C3F$_1$マウス（雄：各群52匹、雌：各群53匹）にメタノールを表 30のような試験群を設定して、1日当たり約20時間、18か月間吸入させる試験が実施されている。

表 30　メタノール　試験群の設定

用量設定	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は、一般症状、摂餌量、臨床検査値及び臓器重量において被験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79)

（ｂ）ラット 24 か月間吸入毒性・発がん性併合試験（NEDO（1986））（II. ２.（２）③ａ.（ｆ）の再掲）

Fischer344ラット（雄雌：各群52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、24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

用量設定	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験物質のばく露に起因した影響は認められなかった。

NEDO は、以下のように考察している。(参照 79)

・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併せて考えると、被験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及び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、被験物質のばく露に起因した影響とは認められない

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 32-1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 32-1　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 32-2のとおりである。

表 32-2　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

その他、以下の所見が認められた。（参照83）

＜胎児＞

・4,000 mg/kg体重/日投与群：口蓋裂及び外脳症の発生率の増加

本委員会としては、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。また、認められた胎児奇形は口蓋裂及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と知られている。本試験では動物数が少なく、単用量での試験であり用量依存性についての情報も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。

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 33-1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 33-1　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[31]	0（対照群）、1,000、2,100、4,100 mg/kg 体重

その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表 33-2のとおりである。

表 33-2　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：異常（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：変異（主に皮下出血）を持つ胎児の発生率の用量依存的な増加

その他、以下の所見が認められた。（参照84）

＜胎児＞

・1,000 mg/kg体重/日以上投与群：体重の非用量依存的な減少、変異又は異常を持つ胎児の発生率の用量依存的な増加

本委員会としては、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。1,000 mg/kg体重以上投与群では、変異又は異常を持つ胎児の発生率に有意差があった。しかしながら、これは、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であり、メタノールの催奇形性によるものとは判断しなかった。また、体重の減少も認められたが、用量依存性がないことからメタノールの毒性所見とは判断しなかった。

c．ラット生殖発生毒性試験（Cummings（1993））

妊娠Holtzmanラット（雌、各群8匹／試験；交尾確認日＝妊娠0日）にメタノールを表 34-1のような試験群を設定して、妊娠1日から8日まで強制経口投与した後に妊娠9、11又は20日に子宮・胎児を検査する3試験（それぞれ試験I、II及びIII）が実施されている。また、偽妊娠ラット（雌、各群8匹）についてもメタノールを表 34のような試験群を設定して、偽妊娠1日から8日までに強制経口投与した後に偽妊娠9日に子宮を検査する試験（試験IV）が実施されている。

表 34-1　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

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。

表 34 -2　メタノール　毒性所見

投与群	毒性所見
3,200 mg /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）

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、試験IIIでも、母動物の体重及び卵巣・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）

本委員会としては、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 35のような試験群を設定して、妊娠6日から15日（精子確認日＝妊娠0日）まで、1日当たり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 35　メタノール　試験群の設定

用量設定	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。（参照 83）

＜母動物＞

・7,500 ppm以上ばく露群：死亡（各群 1 匹）

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

＜胎児＞

・10,000 ppm以上ばく露群：胎児体重の低下

・7,500 ppm以上ばく露群：胚・胎児死亡率の用量依存的な増加

・5,000 ppm以上ばく露群：口蓋裂及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以上ばく露群：頸肋の発生頻度の用量依存的な増加

（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 36のような試験群を設定して、妊娠7日から9日（膣栓確認日＝妊娠0日）まで、1日当たり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（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及び9日）及び直後（妊娠9.5及び10.5日）の胚を検査する試験（試験Ⅱ）が実施されている。

表 36　メタノール　試験群の設定

用量設定	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。（参照86）

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）

（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F_1児を8週齢時に剖検）にメタノールを表 37のような試験群を設定して、妊娠7日から17日（膣内精子確認日＝妊娠0日）まで、1日当たり平均22.7時間吸入させる試験が実施されている。

表 37　メタノール　試験群の設定

用量設定	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匹；妊娠19日）、安楽死（1匹；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

＜F_1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は、以下のように考察している。（参照79）

・F_1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。

（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 38-1のような試験群を設定し、各世代の吸入ばく露期間を表 38-2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 38-1　メタノール　試験群の設定

用量設定	0（対照群）、10、100、1,000 ppm

表 38-2　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 匹については 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上昇（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、胸腺及び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上昇（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）

・100 ppm以上ばく露群

F_2（雄）：精巣下降の早期化（用量依存的な早期化）

NEDOは、以下のように考察している。（参照79）

・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（II.２．（２）③ａ．（ｆ））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。

（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；膣栓又は膣垢中精子の確認日＝妊娠0日）にメタノールを表 39のような試験群を設定して、妊娠1日から19日まで又は妊娠7日から15日まで、1日当たり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 39　メタノール　試験群の設定

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

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。（参照87）

＜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、尿路系又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

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ほかの代謝産物等によっても引き起こされる。（参照 47）

ｂ．中毒影響のレビュー（WHO（1997））

血液中のメタノールの濃度が 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、慢性ばく露ではなく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り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）が広く用いられており、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並びに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こと以外は、ヒトにおけるメタノールのそのほかの有害な影響は報告されていない。（参照 41）

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）

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、一般的に摂取量の増加に伴い、代謝性アシドーシス、中枢神経系の機能障害といった症状を経て、失明に至る視覚障害及び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 NOAEL 71～84 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。

（３）メトキシカルボニル化合物（MCC）

①　遺伝毒性

MCC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

MCC のうち、N-MCC-AA を被験物質とした急性毒性試験の成績は、表 40 のとおりである。

表 40　N-メトキシカルボニル化されたアミノ酸（N-MCC-AA）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-MCC アラニン	5,534	LANXESS 社内資料（Steinhoff（1973）（JECFA（1991）で引用））（参照 12、88）
	N-MCC グリシン	6,275	
	N-MCC ロイシン	4,633	
	N-MCC アスパラギン	>15,000	
	N-MCC モノシステイン	4,733	
	N-MCC ジシステイン	6,397	
	N-MCC プロリン	5,403	
	N-MCC ヒドロキシプロリン	9,115	
	N-MCC フェニルアラニン	6,926	
	N-MCC グルタミン酸	5,435、6,390	
	N-MCC アルギニン・1/2 H_2O	>15,000	
ラット（雌）	N-MCC アラニン	6,000～6,500	
	N-MCC グリシン	6,000～7,000	
	N-MCC ロイシン	>5,000	
	N-MCC アスパラギン	約 15,000	
	N-MCC モノシステイン	>4,000	
	N-MCC ジシステイン	>10,000	
	N-MCC プロリン	6,000～10,000	
	N-MCC ヒドロキシプロリン	約 12,000	
	N-MCC グルタミン酸	>8,000、>15,000	
	N-MCC アルギニン・1/2 H_2O	>15,000	

③　反復投与毒性

MCC 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

MCC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

MCC 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

MCC 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

MCC の毒性について、提出されている知見は、N-MCC-AA 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（II. 2．（1）③、④及び⑤）、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 MCC 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、MCC の安全性に係る懸念は示唆されなかった。

（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 41 のとおりである。

表 41　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）
ラット（雌）	＞15,000	

③ 反復投与毒性

ａ．ラット 3 か月間経口投与試験（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 42 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 42　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 [33]	雄：0、111、344、1,094 mg/kg 体重/日 雌：0、131、405、1,316 mg/kg 体重/日

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

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

EFSA（2015）は、本試験における NOAEL を雄で 1,094 mg/kg 体重/日、雌で 1,316 mg/kg 体重/日としている。（参照 11、12、90）

本委員会としては、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。

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、各群 20 匹；膣垢中精子確認日＝妊娠 0 日）に MEC を表 43 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 43　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 [34]	0、12.5、125、1,250 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた所見は、以下のとおりである。

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

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

＜母動物＞
・1%投与群：摂水量の減少
・0.1%投与群：妊娠期間中の体重増加の抑制
・0.01%以上投与群：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の所見について、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、骨格所見並びに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、被験物質投与に関連した影響とは考えられなかったと考察している。本試験において MEC1%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%（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している。（参照 11、12、91）

本委員会としては、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（II.２．（１）③ｅ．）、DMDC 添加オレンジジュースを用いた遺伝毒性（II.２．（１）①）及び反復投与毒性・発がん性併合試験（II.２．（１）③ｄ．及びｆ．）の試験成績並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（II.２．（５）①で後述）の試験成績を検討した結果、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。

（５）カルバミン酸メチル（MC）

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 44 のとおりである。

表 44　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	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）
	DNA 修復試験（*in vitro*）	細菌（*E. coli* *pol* A^+、*pol*A^-）	250 μg/mL	陰性（代謝活性化系存在下）	Rosenkranz and Poirier（1979）（参照 93）
	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）
	DNA 修復試験（*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）
	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）
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（代謝活性化系非存在下）	De Giovanni-Donnelly ら（1967）（参照 97）
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537）	最高用量 1,000 μg/plate	陰性（代謝活性化系存在下）	McCann ら（1975）で引用（JECFA（1991）で引用）（参照 12、98）

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果	参照
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* 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）
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* 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 93）
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* 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、96）
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*E. coli* B/Sd-4）	最高用量 8%（24 時間処理）	陰性（代謝活性化系非存在下）	Demerec ら（1951）（参照 100）
	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*E. coli* Sd-4）	最高用量 80 mg/mL（3 時間処理）	陰性（代謝活性化系非存在下）	Hemmerly and Demerec（1955）（参照 101）
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）
	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、96）
	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（代謝活性化の有無にかかわらず）	NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）（参照 11、12、96）
	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（代謝活性化系非存在下）	Morpurgo ら（1979）（JECFA（1991）で引用）（参照 12、103）
	姉妹染色分体交換試験（*in vitro*）	CHO 細胞	最高用量 5 mg/mL	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）（参照 11、12、96）
	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）

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果	参照
	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（495 mg/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）
	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）

本委員会としては、MCについて*in vitro*及び*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 45のとおりである。

表 45　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）
マウス（NMRI、雌）	6,310	Bayer社内資料（Steinhoff（1978））（参照108）
マウス（$B6C3F_1$、雄）	4,925	NTP（1987）（参照96）
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）
ラット（Wistar、雌）	3,900	German Cancer Research Centre社内資料（Rüdiger（1979））（参照110）

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））[35]

$B6C3F_1$マウス（雌雄、各群10匹）にMCを表 46のような試験群を設定して、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。

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

表 46　MC　試験群の設定

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、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）[36]、嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸（投与3週間後まで）（Questら、なおNTPでは「投与2週間後まで」としている）、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ら、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」としている）[37]

・2,000 mg/kg体重投与群（雌）：死亡（1匹）（Questら、NTP）
・1,000 mg/kg体重/日以上投与群（雌）：嗜眠、協調運動障害及び頻呼吸（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体重以上投与群（雌）：肝臓相対重量の増加（NTP）
・125 mg/kg体重以上投与群（雌）：体重増加の抑制傾向（Questら、NTP）[36]

Questらは、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。(参考11、12、95、111)

本委員会としては、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。

---

[36] Quest らにおいて、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 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。

[37] 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、各群 10 匹中 0、3、3/及び 7 匹認められた。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、各群 10 匹中 1、1、0、2、2 及び 5 匹認められた。

b．マウス 6、12 及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））[38]

B6C3F$_1$マウス（雌雄、各群10匹）にMCを表 47のような試験群を設定して、6、12及び18か月間、週に5日間、それぞれ強制経口投与する試験が実施されている。

表 47　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、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）

＜6か月後＞

（雌雄）：体重増加の抑制、肝臓の相対重量の増加

＜12か月後＞

（雌雄）：体重増加の抑制傾向

（雄）：死亡（1匹）

＜18か月後＞

（雌雄）：死亡（雄3匹、雌3匹）[39]、体重増加の抑制傾向

本委員会としては、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。

c．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 48-1のような試験群を設定して、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 48-1　MC　試験群の設定

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 48-2 のとおりである。

[38] 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

[39] 18 か月後、対照群（雌）で死亡が 5 匹認められている。

表 48-2　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） 憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動障害（Questら）
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（Quest ら、NTP。なお、Quest らでは 400 mg/kg 体重/日投与群では「投与 12 週間後」とされている）

注 1）NTP において、試験終了時の平均体重について、400 及び 800mg/kg 体重/日投与群（雄）の体重は対照群に比べ 14 及び 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 及び 800mg/kg 体重/日投与群（雄）で有意差が認められた。

注 2）NTP 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認められた場合もあり、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認められたとしている。

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] 憔悴、頻呼吸、立毛、協調運動障害（Questら。）
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） 嗜眠（Quest ら、NTP。なお、Quest らでは 500 mg/kg 体重/日投与群では「投与 12 週間後」とされている）

注 1）NTP 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 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認められた場合もあり、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認められたとしている。

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）

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。

EFSA（2015）は、本試験の結果から、NOAELを125 mg/kg体重/日としている。（参照11、12、95、111）

本委員会としては、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、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、変異肝細胞巣の増加については、Questらのみに所見として記載があり、数、大きさ等の詳細が不明であることから、毒性所見としなかった。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。

本委員会としては、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。

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））（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用）[40]

Wistar ラット（雌雄、各群 5 匹）に MC を表 49-1 のような試験群を設定し、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。

[40] Bomhard and Karbe（1985）では The study was carried out in Bayer AG's Institute für 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 49-1　MC　試験群の設定

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 49-2 のとおりである。

表 49-2　MC　毒性所見

強制経口投与	毒性所見	
	雄	雌
800　mg/kg 体重/日	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上昇	血漿中トリグリセリド(TG)濃度及びTP濃度の低下、血漿中AST活性及びALT活性の上昇
400　mg/kg 体重/日以上	体重増加の抑制、脾臓の絶対及び相対重量の減少	体重増加の抑制、脾臓の絶対及び相対重量の減少
200　mg/kg 体重/日		血漿中ALT活性の上昇

飲水投与	毒性所見	
	雄	雌
800　mg/kg 体重/日	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上昇、血漿中AST活性及びALT活性の上昇	体重増加の抑制、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及びTG濃度の上昇、血漿中TP濃度の低下、血漿中AST活性及びALT活性の上昇

その他、以下の所見が認められた。

＜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/日投与群（雄）：血漿中TG濃度の上昇（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活性及びALT活性の上昇（投与4週間後）

・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上昇（投与4週間後）

・400 mg/kg体重/日以上投与群（雌雄）：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/日以上投与群（雄）：摂水量の減少傾向
・400 mg/kg体重/日投与群（雌）：血漿中TG濃度の上昇（投与4週間後）、血漿中ALP活性及びALT活性の上昇（投与4週間後）
・200 mg/kg体重/日投与群（雄）：脾臓の相対重量の減少
・200 mg/kg体重/日以上投与群（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＞
・800 mg/kg体重/日投与群（雌雄）：感情鈍麻、立毛、わき腹の陥凹、肝臓の絶対重量の減少、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
・800 mg/kg体重/日投与群（雄）：脾臓の絶対重量の減少
・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）

Bomhard 及び Karbe は、以下のように考察している。
・血漿中の AST 活性及び ALT 活性の上昇については、僅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 TG 濃度の上昇について、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付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 TG 濃度の上昇について、投与 4 週間後のみで認められ、対照群との差も僅かであり、正常範囲内の変動に入ることから、明らかな肝毒性とは考えられない。
・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は考えられない。
・脾臓への影響については、被験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、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、遺伝的要因及び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ラットとFischer344ラットで明確な差異が生じているとしている。（参考11、12、112）

本委員会としては、肝臓以外の病理組織学的所見は不明であることから、本試験における NOAEL 及び LOAEL を得ることはできないと考えた。なお、強制経口投与群の雌の最低用量（200 mg/kg 体重/日）で血漿中 ALT 活性の軽微な上昇が認められたが、明確な用量依存性はなく、肝臓に病理組織学的な異常は認められなかった。

e．ラット 6、12 及び 18 か月間経口投与試験（NTP（1987）（JECFA（1991）及び EFSA（2015）で引用））[38]

Fischer344ラット（雌雄、各群10匹）にMCを表 50-1のような試験群を設定して、6、12及び18か月間、週に5日間、それぞれ強制経口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	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 50-2 のとおりである。

表 50-2　MC　**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 癌の転移（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、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）

本委員会としては、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。

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

B6C3F$_1$マウス（雌雄、各群5匹）にMCを表 51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 51　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）

[41] 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。

NTP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、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）

（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 52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 52　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 TG 濃度の低下、血漿中コレステロール濃度の上昇
- 500 mg/kg 体重/日以上投与群：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：体重増加の僅かな抑制

Bomhard及びKalinerは、1,000 mg/kg体重/日投与群で認められた血漿中TG濃度の低下及びコレステロール濃度の上昇について、脂質代謝への影響と考えられるとしている。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））と異なることから、肝毒性に関してWistarラットとFischer344ラットと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/日としているが、病理組織学的に検査された組織数が少ないこと及び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）

（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 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。

＜Fischer344 ラット＞

・500 mg/kg 体重/日以上投与群：血漿中 AST 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特徴的な発現

・250 mg/kg 体重/日以上投与群：血漿中 ALT 活性の用量依存的な上昇、用量依存的な肝障害

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、Wistar ラットでは僅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）

（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、各群 5 匹）に MC を表 54 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 54　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/日以上投与群（雌雄）：死亡（雄 5 匹、雌 5 匹）

・1,000 mg/kg 体重/日以上投与群（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/日以上投与群（雄）：体重増加の用量依存的抑制傾向

NTPは、1,000 mg/kg体重/日以上投与群（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）

④ 発がん性

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 55のような試験群を設定して、週に5日間、103週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）、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発生頻度の増加傾向
・1,000 mg/kg体重/日投与群（雄）：肝細胞癌の発生頻度の増加、体重増加の抑制傾向
・500 mg/kg体重/日以上投与群（雄）：肝臓における多核巨細胞の発生頻度の増加傾向
・500 mg/kg体重/日以上投与群（雌）：体重増加の抑制傾向

NTPは、6、12及び18か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発生頻度の増加は認められず、MCについて、B6C3F$_1$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。

JECFA（1991）は、6、12及び18か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の結論に同意している。（参考11、12、95）

本委員会としては、6、12及び18か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、肝細胞腺腫又は肝細胞癌の発生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[42]は背景データ[43]の範囲内であったことから、MCについて、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。

b．マウス二世代発がん性試験（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 56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（F_1：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 56　MC　試験群の設定

用量設定[44]	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発生範囲内であり、認められた腫瘍の種類も対照群と同様であったと判断し、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の結論に同意している。（参考11、12、108）

本委員会としては、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 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 57-1のような試験群を設定して、週に5日間、103週間強制経口投与する試験が実施されている。

---

[42] 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%）に肝細胞癌が認められた。

[43] 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%）に肝細胞癌が認められた。

[44] 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。

表 57-1　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 57-2 のとおりである。

表 57-2　　MC 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）[45]

その他、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

（雌雄）：肝細胞癌[46]、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

（雄）：単核細胞性白血病の出現個体の減少、肝細胞変異巣、腫瘍性結節[47]の出現個体の増加傾向

（雌）：乳腺線維腺腫の出現個体の減少、肝細胞の過形成及び腫瘍性結節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

・100 mg/kg/日以上投与群

（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

（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色細胞腫の出現個体の用量依存的な減少、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

前掲のラット6、12及び18か月間経口投与試験（NTP（1987）：II.２．（５）

[45] 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/50 匹、0 匹/50 匹、6 匹/49 匹であった。

[46] 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/50 匹、0 匹/50 匹 、4 匹/49 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/50 匹、0 匹/50 匹、2 匹/49 匹に認められた。

[47] 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/50 匹、0 匹/50 匹 、3 匹/49 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/50 匹、0 匹/50 匹 、5 匹/49 匹に認められた。

③ｅ.）の結果と本試験の結果から、NTP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、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は、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、200 mg/kg/日投与群（雄）における肝細胞癌の増加に有意差はないが、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有意差があるとしている。（参考11、12、95）

本委員会としては、これら反復投与試験と発がん性試験の結果から、MCはFischer344ラットにおいて200 mg/kg体重/日投与群において、雌の肝臓に対して発がん性を有するものと判断した。

また、前掲のラット6、12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。このこと並びに本試験では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。

ｄ.ラット二世代発がん性試験（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 58のような試験群を設定して、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、F_1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 58　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付けているとしている。

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）

本委員会としては、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。

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）（対照群のみ）、7-エトキシクマリン-*O*-デエチラーゼ（ECOD）[48]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グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ（GST）[49]の活性を測定する試験が実施されている。

その結果、Wistar ラットの対照群に対して Fischer344 ラットの対照群において、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

[48] 原著では EOD と略されている。
[49] 原著では GSH-transferase（glutation transferase）とされている。

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。対照群と 7 日間投与群との比較においては、Wistar ラットでは、ECOD、EH 及び GST の活性が、対照群に対して 7 日間投与群においてそれぞれ約 70%、約 50%及び約 20%高かった。一方、Fischer344 ラットでは、対照群に対して 7 日間投与群において、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、56）

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 59 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 59　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 により分析するとともに、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[50]）の活性を測定する試験が実施されている。

その結果、Wistar ラットと比べ Fischer344 ラットでは、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、対照群と比べ 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べ 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）

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））

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

[50] 原著では GSH-T（gultathion-S-transferase）と記述されている。

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）

b．形質転換試験（Sakai ら（2010））

MC について、Bhas42 細胞[51]（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、形質転換試験は陰性であった。（参照 117、118）

⑧ ヒトにおける知見

MC のヒトにおける知見は認められなかった。

⑨ 毒性のまとめ

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））では肝臓以外の病理組織学的所見が不明であり NOAEL を得ることはできなかったが、Wistar ラットの雌に最低用量（200 mg/kg 体重/日）で血漿中 ALT 活性の軽微な上昇が認められた。

ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））において、Fischer344 ラットの雌の肝臓に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。

[51] 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-アセートにより形質転換する細胞。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。

（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 60 のとおりである。

表 60　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）
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 61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 61　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 [52]	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、肉眼所見及び病理組織学的検査において、被験物質の投与による影響は認められなかった。

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

EFSA（2015）は、Eiben らの本試験における DMC の NOAEL を雄で 890 mg/kg 体重/日、雌で 1,110 mg/kg 体重/日と結論付けているとし、これらの NOAEL に同意している。（参照 11、120）

本委員会としては、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。

[52] 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 62のような試験群を設定して、妊娠6日から15日まで、1日当たり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 62　DMC　試験群の設定

用量設定	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。（参照121）

＜母動物＞

・3,000 ppmばく露群：体重の低値（妊娠15及び18日）

・1,000 ppm以上ばく露群：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

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（II.２．（１）①）及び反復投与毒性・発がん性併合試験の試験成績（II.２．（１）③ｄ．及びｆ．）並びに構造が類似する MC の遺伝毒性（II.２．（５）①）の試験成績を検討した結果、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。

Ⅲ．一日摂取量の推計等

添加物「二炭酸ジメチル」の一日摂取量の推計等を検討するに当たっては、DMDC のほか、添加飲料中で生成する 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、果実ジュース及び発酵飲料等の飲食物にも含まれている。

なお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[53]。

我が国における知見ではないが、飲食物におけるメタノールの濃度について、次のような報告がある。

Bayer AG 社内資料（1987）によると、v. Fellenberg (1913、1918）はカブ（Palatinate turnips）に 2,050 mg/kg、カリフラワーに 650 mg/kg、リンゴに 680 mg/kg、ケールに 1,910 mg/kg のメタノールが含まれていたと報告し、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）

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)

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、果実ジュース（果肉入り）に 64～326 mg/L 含まれるとしている。（参照 124)

また、LANXESS社内資料（Kock（2008））では、メタノールが欧州で市販されている一般的な果汁飲料には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)

食品群別摂取量は、「平成28年国民健康・栄養調査」によれば、「果汁・果汁

[53]「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「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。

飲料」が国民平均（1歳以上。以下同じ。）で10.7 g/日、小児（1～6歳。以下同じ。）で25.6 g/日、「アルコール飲料」（日本酒、ビール及び洋酒・その他）が国民平均で99.1 g/日、小児で1.4 g/日である。また、Françot and Geoffroy（1956）によれば「果汁・果汁飲料」中のメタノールの濃度は最大で680 mg/Lとされている。我が国では、「アルコール飲料」のメタノールの濃度は最大で1.0 mg/mLと定められており、平均体重は国民平均55.1 kg、小児16.5 kgとすると、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）

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」における「洋酒・その他」の摂取量が国民平均で28.6 g/日であり、MCの濃度の最大が5.5 µg/Lとすると、ぶどう酒からのMCの摂取量の最大は、国民平均で0.003 µg/kg体重/日と推計された。（参照22、126）

（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、「平成28年国民健康・栄養調査」及び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。

「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。）が全て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及び小児における平均摂取量は表 63のとおりである。（参照126、127）

表 63　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）

食品群			平均摂取量	
			国民平均	小児
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）国民平均は 1 歳以上、小児は 1～6 歳

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 64 のとおりである。（参照 128、129）

表 64　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

飲料の分類	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））及び「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が推定。）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。

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た「平成 28 年国民健康・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 DMDC 250 mg/L 添加時の最終製品中の最大含有量（DMDC の検出限界値及び DMDC 関連化合物の生成量の最大値）を乗じて、

表 65 のとおり DMDC 関連化合物の推定一日摂取量を推計している[54]。

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 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、この数値は過大な推計と考えられるとしている。

表 65　国民・健康栄養調査に基づく DMDC 及び DMDC 関連化合物の推定一日摂取量注1

	添加対象飲料の推定一日摂取量（g/人/日）		DMDC 250 mg/L 添加時の最終製品中の最大含有量（mg/L）	推定一日摂取量			
				（mg/人/日）		（mg/kg 体重/日）	
	国民平均	小児		国民平均	小児	国民平均	小児
DMDC	557.5	245.5	0.05 注2	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
MCC	557.5	245.5	5	2.79	1.23	0.051	0.074
MEC 注3	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）国民平均（1 歳以上）及び小児（1～6 歳）の体重は 55.1 kg 及び 16.5 kg として算出。（「食品健康影響評価に用いる平均体重の変更について」（平成 26 年 3 月 31 日食品安全委員会決定））
注２）消費される段階では DMDC は検出限界値未満として、検出限界値（0.05 mg/L）を最大含有量とした。
注３）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、MCC 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 NOEL 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

[54] 全ての飲料の比重を 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、「平成 28 年国民健康・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。

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）

（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[7]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 MCC の摂取量は総計 2～5 mg/人/日と推計している。（参照 13、15、16）

（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、MCC 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計している。

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計している。

EFSA（2015）は上述（III.２.（１））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℃）で分解されて最終製品中では検出されない（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 66）。

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）

表 66　DMDC 関連化合物の推定一日摂取量（mg/kg 体重/日）[注]

	範囲	4～11 か月児	12～35 か月児	3～9 歳	10～17 歳	18～64 歳	65 歳以上
メタノール	平均値	<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	< 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	<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	<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	<0.00001～0.00007	<0.00001～0.00041	0.00003～0.00034	0.00004～0.00025	0.00002～0.00013	0.00001～0.00006
	95パーセンタイル値	<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	<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	<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）メタノール、MC、DMC：DMDC の添加量上限を用いた推計、MEC：報告された DMDC の使用量を用いた推計

３．摂取量の推計等のまとめ

本委員会としては、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 関連化合物の一日摂取量について、表 67 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、検出限界値を最終製品中の最大含有量とし、推計した。

表 67　DMDC 及びその分解物等の推定一日摂取量

	DMDC 250 mg/L 添加時の最終製品中の最大含有量（mg/L）	推定一日摂取量（mg/kg 体重/日）[注1]	
		国民平均	小児
DMDC	0.05[注2]	0.00051	0.00074
メタノール	120	1.21	1.79
MCC	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）国民平均（1 歳以上）及び小児（1～6 歳）の体重は 55.1 kg 及び 16.5 kg として算出。（「食品健康影響評価に用いる平均体重の変更について」（平成 26 年 3 月 31 日食品安全委員会決定））

注 2）消費される段階では DMDC は検出限界値未満として、検出限界値（0.05 mg/L）を最大含有量とした。

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[55]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[56]。また、MC については、ぶどう酒から国民平均で 0.003 µg/kg 体重/日となり、DMDC 由来の摂取量の 100 分の 1 程度であった[57]。

Ⅳ. 食品健康影響評価

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 MCC、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、MCC、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、MCC 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。

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

---

[55] 「平成 28 年国民健康・栄養調査」（2017 年）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。

[56] 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「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）に基づき、最大の 1.0 mg/mL で算出した。

[57] 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。

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 の推定一日摂取量は、「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、検出限界値を最終製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。

本委員会としては、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限りにおいては、DMDC の安全性に懸念がないと判断した。

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から速やかに吸収され、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は、げっ歯類と比べ霊長類で著しく遅く、メタノールの毒性において霊長類がげっ歯類と比べ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 日当たり 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（1988）及び SCF（2001）は、健康なヒトは 1 時間当たり 1,500 mg の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について検討したが、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から生じるギ酸によるものであり、メタノール中毒では、一般的に摂取量の増加に伴い、代謝性アシドーシス、中枢神経系の機能障害といった症状を経て、失明に至る視覚障害及び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 NOAEL 71～84 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我が国におけるアルコール飲料中のメタノールの基準値[53]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。

本委員会としては、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、体内で代謝及び排泄されると考え、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及び 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限りにおいては、メタノールの安全性に懸念がないと判断した。

３．メトキシカルボニル化合物（MCC）

MCC の体内動態に係る知見を検討した結果、N-MCC-AA 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 N-MCC-AA は比較的加水分解されやすいが、それ以外のアミノ酸由来の N-MCC-AA は加水分解されにくい。また、N-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。

MCC については、N-MCC-AA 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 MCC の推定一日摂取量は、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。

本委員会としては、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限りにおいては、生成する MCC の安全性に懸念はないと判断した。

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 の遺伝毒性の試験成績を検討した結果、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 の推定一日摂取量は、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、約 210,000 及び約 9,100,000 であった。本委員会としては、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限りにおいては、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、又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速度はマウスと比べ遅く、組織等への分布がラットでは多いことが、マウスと比べ 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。

発がん性については、ラット 103 週間発がん性試験（NTP（1987））において、Fisher344 ラットの雌の肝臓に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。

DMDC に由来する MC の推定一日摂取量は、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 の推定一日摂取量の最大値は、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。

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、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））において発がん性はないと判断された用量である 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、約 400,000 及び約 270,000 であった。

以上から、本委員会としては、ラット 13 週間経口投与試験（Quest ら（1987）及び NTP（1987））の NOAEL（200 mg/kg 体重/日）及び発がん性はないと判断された用量（100 mg/kg 体重/日）と推定一日摂取量との間に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限りにおいては、生成する MC の安全性に懸念はないと判断した。

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 の遺伝毒性の試験成績を検討した結果、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 の推定一日摂取量は、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、約 170,000 及び約 120,000 であった。本委員会としては、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限りにおいては、生成する DMC の安全性に懸念はないと判断した。

本委員会としては、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限りにおいては、安全性に懸念はないと判断した。

＜別紙１：略称＞

略称	名称等
ADH	Alcohol dehydrogenase：アルコールデヒドロゲナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANS Panel	Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food：食品に添加される食品添加物と栄養源に関する科学委員会
ANZFA	Australia New Zealand Food Authority：オーストラリア・ニュージーランド食品局
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
DMC	Dimethylcarbonate：炭酸ジメチル
DMDC	Dimethyl dicarbonate：二炭酸ジメチル
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EHC	Environmental Health Criteria：環境保健クライテリア
EU	European Union：欧州連合
FAO	Food and Agriculture Organization：国際連合食糧農業機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FDH	Formaldehyde dehydrogenase：ホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
GC/MS	Gas chromatography Mass spectrometry：ガスクロマトグラフィー／質量分析法
GMP	Good Manufacturing Practice：適正製造規範
GSFA	Codex General Standard for Food Additives：食品添加物に関するコーデックス一般規格
GST	Glutathione *S*-transferase：グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
MC	Methylcarbamate：カルバミン酸メチル
MEC	Methylethylcarbonate：炭酸エチルメチル
MCC	Methoxycarbonyl compound：メトキシカルボニル化合物
NTP	National Toxicology Program：米国国家毒性プログラム
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
QSAR	Quantitative Structual Activity Relationship：定量的構造活性相関
SCF	Scientific Committee for Food：欧州食品科学委員会
TG	Triglyceride：トリグリセリド
TP	Total protein：総タンパク質
WHO	World Health Organization：世界保健機関

＜別紙２：DMDC 及び DMDC 関連化合物の評価の概要＞

（○：知見あり（遺伝毒性以外は経口投与による知見）、△：経口投与以外の投与経路による知見のみ　×：知見なし）

被験物質	体内動態	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	NOAEL 毒：最小毒性量で認められた所見	推定一日摂取量（成人）（mg/kg 体重/日）	備考
DMDC	×	○	○	△	×	×	×	・DMDC の NOAEL：設定できず（DMDC 添加飲料を用いた試験においては、DMDC 本体のばく露量が不明であるため）	0.00051	・「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（0.05 mg/L）を最終製品中の最大含有量として推定一日摂取量を算出
DMDC 添加飲料	×	○	×	○	○	○	×		－	・DMDC 4,000 mg/L（単用量）添加に関連する毒性所見は認められない
メタノール	○	○	○	△	△	○	○	・NOAEL：設定できず（最低用量（1,000 mg/kg 体重/日）で毒性所見あり）	1.21	（体内動態について） ・WHO（1997）：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量以上のギ酸の蓄積は起こらない ・JECFA（1991）：通常の食習慣で 1,000～2,000 mg/日のメタノールを代謝 ・FDA（1988）及び SCF（2001）：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 （毒性について） ・Röe（1982）：最小致死量 1 g/kg 体重と推測される ・FDA（1993）：ADI 7.1～8.4 mg/kg 体重/日

被験物質	体内動態	遺伝毒性	急性毒性	反復投与毒性	発がん性	生殖発生毒性	その他の所見	NOAEL 毒：最小毒性量で認められた所見	推定一日摂取量（成人）（mg/kg 体重/日）	備考
メトキシカルボニル化合物（MCC）	○	×	○	×	×	×	×	・NOAEL：設定できず（設定に適した試験成績がないため）	0.051（種々の化合物の総計）	・DMDC 添加飲料（DMDC 4,000 mg/L）を用いた試験成績を参照。
炭酸エチルメチル（MEC）	○	×	○	○	×	○	×	・NOAEL：1,094 mg/kg 体重/日 （ラット 3 か月間試験、雄、最高用量で毒性所見なし）	0.0052	・遺伝毒性の検討において、DMDC 添加飲料を用いた試験成績及び構造が類似する MC の遺伝毒性試験の試験成績を参照。
カルバミン酸メチル（MC）	○	○	○	○	○	×	×	・NOAEL：200 mg/kg 体重/日 （ラット 13 週間試験、雄、毒：体重増加抑制、肝炎等）	0.00025	・Fischer344 ラットの肝臓に対して、発がん性あり。遺伝毒性は陰性であり、閾値は設定可能。 発がん性を示した用量：200 mg/kg 体重/日（雌、ラット 103 週間発がん性試験） 200 mg/kg 体重/日投与群で認められた発がん性の所見：肝臓の腫瘍性結節及び肝細胞癌の出現個体の合計の増加
炭酸ジメチル（DMC）	○	×	○	○	×	△	×	・NOAEL：890 mg/kg 体重/日 （ラット 3 か月間試験、雄、最高用量で毒性所見なし）	0.0051	・遺伝毒性の検討において、DMDC 添加飲料を用いた試験成績及び構造が類似する MC の遺伝毒性試験の試験成績を参照。

注）二酸化炭素の安全性に関する検討は行わなかった。

＜**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）

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

[3] Laying down specification for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council (Text with EEA relevance). Commission Regulation (EU) No 232/2012 of 9 March 2012. Official Journal of the European Union: 83 1-287

[4] ランクセス会社：二炭酸ジメチル　概要書，平成 30 年 1 月

[5] LANXESS Deutschland GmbH: Velcorin® (DMDC) stability test 2008（LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月）

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

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

[8] LANXESS Deutschland GmbH: Hydrolysis of DMDC in alcoholic beverages (Test report Nr.: AX9010147-0148/0) (LANXESS Deutschland GmbH 社内資料、2011 年 5 月）

[9] Labor Haase-Aschoff: Standard operation procedure- SOP0012E, Dimethyl dicarbonate (DMDC), determined by GC/MS（Labor Haase-Aschoff 社内資料、1992 年 2 月）

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

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

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

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

[24] 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）

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

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

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

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

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

[30] U.S. Government Publishing Office: Code of Federal Regulations, 21 CFR Part 172 Ch.1 (4-1-16 Edition) §172.133 Dimethyl dicarbonate 2016 https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2016-title21-vol3/pdf/CFR-2016-title21-vol3-sec172-133.pdf

[31] European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. 1995. Official Journal of the European Union: 61 1-53

[32] Commission Directive 2010/69/EU of 22 October 2010 amending the Annexes to European Parliament and Council Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners (Text with EEA relevance). Official Journal of the European Union: 279: 22-31

[33] Commission Regulation (EC) No 606/2009 of 10 July 2009 laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards the categories of grapevine products, oenological practices and the applicable restrictions. Official Journal of the European Union: 193: 1-59

[34] Government of New Zealand: Food Standards Australia New Zealand Act 1991: Australia New Zealand Food Standards Code - Amendment No. 121 - 2011. New Zealand Gazette 2011; 14: 318-9

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

[36] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Dimethyl Dicarbonate. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1990

[37] Bayer AG: Toxicological assessment of the small amounts of methanol anticipated in the sterilization of drinks with dimethyl dicarbonate.（Bayer AG 社内資料、1987 年）

[38] 第 594 回食品安全委員会資料１－２（厚生労働省提出資料），生食用鮮魚介類、

生食用かき及び冷凍食品の加工基準に係る食品安全基本法第 24 条第 1 項第 1 号に基づく食品健康影響評価について，2016

[39] 第 8 版食品添加物公定書解説書, 2007 年

[40] 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 0827 第 2 号平成 30 年 8 月 27 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

[41] 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

[42] LEAF G and Zatman LJ: A study of the conditions under which methanol may exert a toxic hazard in industry. Brit. J.industr. Med. 1952; 9: 19-31

[43] 財団法人エネルギー総合工学研究所，財団法人工業開発研究所及び株式会社 三菱化成安全科学研究所:昭和 58 年度石油火力発電所メタノール転換等実証試験（環境安全性実証試験）委託業務報告書，1983 年

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

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

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

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

[48] 新エネルギー開発機構：昭和 58 年度石油火力発電所メタノール転換等実証試験（環境安全性実証試験）委託業務報告書，1984 年

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

[50] Bayer AG: Investigations of the enzymolysis of N-carbomethoxy proline（Bayer AG 社内資料、1978 年 1 月）

[51] Bayer AG: Enzymatic hydrolysis of carbomethoxy compounds（Bayer AG 社内資料、1974 年 12 月）

[52] Bayer AG: Enzymaticdegradation of methoxycarbonyl-aspertame in rat liver momoginate（Bayer 社内資料、2000 年 10 月）

[53] 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

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

[55] 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

[56] 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）

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

[58] Bayer AG: DMDC (Dimethyldicarbonate), Salmonella/microsome Test for the investigation of point mutagenic effects.（Bayer AG 社内資料、1978 年 12 月）

[59] Bayer AG: Orange juice treated with 4000 ppm Velcorin. almonella/ microsome test. （Bayer AG 社内資料、1989 年 8 月）

[60] Bayer AG: Velcorin treated orange juice. Micronucleus test on the mouse.（Bayer AG 社内資料、1989 年 10 月）

[61] Bayer AG: Dimethyl dicarbonate: Acute Toxicity Male Mice (single administration with stomach tube).（Bayer AG 社内資料、1974 年）

[62] Bayer HealthCare: Repeated Dose Toxicity Study in Wistar Rats(Administartoinof DrinkingFluid Aand B, Sterilized with Velcorin over 4 weeks)

[63] 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）

[64] Triskelion: Comparative toxicity testing of hydrolysed dimethyl dicarbonate (DMDC)-A subchronic (13-week) toxicity study in rats

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

[66] 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）

[67] 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）

[68] 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）

[69] 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）

[70] 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）

[71] 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

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

[73] 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

[74] 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

[75] 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

[76] 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

[77] Smyth HFJ, Seaton J and Fischer L: The single dose toxicity of some glycols and derivatives. J. Ind. Hyg. Toxicol. 1941; 23: 259-68

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

[79] 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

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

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

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

[87] 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] Bayer AG: N-Carbomethoxy compounds. （Bayer AG 社内資料、1973 年）

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

[90] Bayer AG: Methyl ethyl carbonate (MEC): Subchronic toxicity study in rats. (3- month experiment)（Bayer AG 社内資料、1973 年 12 月）

[91] 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）

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

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

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

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

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

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

[105] 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] 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] 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] Bayer AG: Carcinogenesis study with methyl carbamate on oral administration to mice.（Bayer AG 社内資料、1978 年 1 月）

[109] Bayer AG: Carcinogenesis study with methyl carbamate on oral administration to rats.（Bayer AG 社内資料、1977 年 10 月）

[110] 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）

[111] 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] 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）

[113] 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）

[114] 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] 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] 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] 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] Bayer AG: Dimethyl carbonate, Acute toxicity（Bayer AG 社内資料、1974 年）

[120] Bayer AG: Dimethyl carbonate (DMC). Subchronic toxicology study in rats. 3-month drinking experiment.（Bayer AG 社内資料、1982 年 8 月）

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

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

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

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

[126] 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] 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] 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