

No.9 ダミノジット

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

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目次

ページ

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家を選定等.....	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調査期間	3
4. 調査結果	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）の評価書が我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後、評価を行うべき農薬、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、JMPR、EFSA における評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

No.	物質名	用途
9	ダミノジット	農薬・成長調整剤

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命（土壌中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

分野	氏名	所属※
② 植物代謝及び環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
③ 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)
9	ダミノジット	395. Daminozide (Pesticide residues in food: 1977 evaluations)	ダミノジット _JMPR_01
		621. Daminozide (Pesticide residues in food: 1983 evaluations)	ダミノジット _JMPR_02
		789. Daminozide (Pesticide residues in food: 1989 evaluations Part II Toxicology)	ダミノジット _JMPR_03
		825. Daminozide (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II Toxicology)	ダミノジット _JMPR_04
		Opinion of the Scientific Panel on Plant protection products and their residues (PPR) related to the evaluation of daminozide in the context of Council Directive 91/414/EEC.	ダミノジット _EFSA_01

2. 3 評価書の情報の整理

評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① 評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめ。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 5 報

- ダミノジット _JMPR_01
- ダミノジット _JMPR_02
- ダミノジット _JMPR_03
- ダミノジット _JMPR_04
- ダミノジット _EFSA_01

ダミノジットの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : JMPR, 395. Daminozide (Pesticide residues in food: 1977 evaluations))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (経口)	ラット		LD50 : 6810 mg/kg	3	4
急性毒性 (経口)	ラット		LD50 : 8400 mg/kg	3	4
急性毒性 (吸入)	ラット		LD50 : 147 mg/L	3	4
急性毒性 (経皮)	ウサギ		LD50 : >10,000 mg/kg	3	4
急性毒性 (経皮)	ウサギ		LD50 : 16000 mg/kg	3	4
亜急性毒性 (経口)	ラット	ダミノジット剤 0、26、80、240、 720、2160 mg/kg/ 日 混餌投与 90 日間	投与による影響なし。	4	4
慢性毒性 (経口)	イヌ	ダミノジット剤 0、300、1000、 3000 ppm 混餌投与 2 年間	投与による影響なし。	4	5
慢性毒性 (経口)	ラット	ダミノジット剤 0、300、1000、 3000 ppm 混餌投与 2 年間	<ul style="list-style-type: none"> 投与に関連した血液学的または血液化学的差異なし。 生存率に影響なし。 いくつかの群で肝臓/体重比や平均肝重量が対照群と比較して高い時期があったが、肉眼的検査あるいは顕微鏡検査の成績からこの違いは説明できなかった。 良性腫瘍(主に乳腺腫、線維腫)、悪性腫瘍(主に細網肉腫)が発生したが、発生率は対照群と比較して、3,000ppm 投与群で有意に高くはなかった。 様々な種類の悪性腫瘍が複数認められたが、どの群においても、2種以上の悪性腫瘍を有する個体はなかった。 	4	5
遺伝毒性：優性致死試験	マウス	0、10、300、 10,000ppm 5 日間	<ul style="list-style-type: none"> 交配行動または妊娠率への影響なし。着床率または出生児数への有意な影響なし。 群間における着床後胚損失率に有意差、用量相関性なし。 	1	2

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
生殖毒性：催奇形性(経口)	ラット	コーンオイルに添加したダミノジット (12.5% w/v) 0、250、500 mg/kg/日 強制経口投与 妊娠 6~15 日	<ul style="list-style-type: none"> 平均吸収胚数は、対照群：0.4、250 mg/kg 群：1.1、500 mg/kg 群：0.7。250 mg/kg 群では胚吸収胚 10 を有する雌 2 例あり。 胎児に、化合物に関連する作用なし。 その他の指標にも化合物投与の影響なし。 	2	3
生殖毒性	ラット	0、300ppm 混餌投与 (3 世代)	<ul style="list-style-type: none"> 3 世代の 2 腹に児の出生率または生殖能力への有意な変化なし。 児動物の生存率は良好であり、成長への影響なし。 血液・尿検査、臓器重量、組織病理学的所見に投与の影響なし。 	3	3

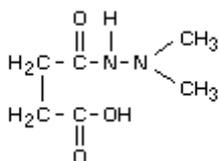
DAMINOZIDE JMPR 1977

物質情報(原文、1 ページ)化学名

1. N-dimethylaminosuccinamic acid.
2. succinic acid 2,2-dimethylhydrazide
3. butanedioic acid mono (2,2-dimethylhydrazide).

別名

Alar[®]; SADH, Kylar, B-Nine[®], B-995, aminocide (obsolete common name).

構造式物質情報と特性に関するその他の情報

ダミノジットは低揮発性で臭いが少ない白色の結晶物質である。ダミノジットは極性溶媒に可溶である (g/100 g a 25°C : 水 10、メタノール 5、アセトン 2.5)。ダミノジットは芳香族および脂肪族炭化水素溶剤にほとんど溶けない。

一次生産者から提供される原体グレード(technical grade)の製品は、通常 >99%ダミノジットである。製造仕様書では、98%以上のダミノジットおよび 154°C~161°Cの融点範囲を必要としている。ダミノジットは白色の粉末で、微量の水分、コハク酸、無水コハク酸、ダミノジット塩、および非対称ジメチルヒドラジン(UDMH)を含んでいることがある。揮発性不純物は、工程の炉乾燥段階(oven drying step)で除去される。ダミノジットは、以前はジメチルニトロソアミンを出発反応物として用いた工程で製造されていた。現在、一次生産者(primary manufacturer)はジメチルニトロソアミンを用いない新しい工程を採用している。現在、ダミノジットは85%活性成分ならびに15%不活性界面活性剤および無機塩を含む水溶性粉末製剤としてのみ市販されている。品質保持試験(Shelf-life studies)によって、製剤は長期にわたり分解しないこと示されている。以前製造されていた液剤はすでに市販されていない。

一日許容摂取量のための評価（原文、2 ページ）

生化学的側面（原文、2 ページ）

吸収、分布および排出（原文、2 ページ）

ダミノジットは、ラットにおいては急速に排出され、生物濃縮しない。

ラット（雄雌各 2 匹）に非標識ダミノジット約 5mg/kg を単回経口投与し、さらに 96 時間後に、¹⁴C 標識ダミノジット（¹⁴C 標識位置不明）5mg/kg を単回経口投与し、ダミノジットの吸収および排出を検討した。2 日後、投与量の 69%が糞便中、24%が尿中、そして 2.4%が ¹⁴C₀₂ として排出された。投与の 2 日後に解剖したラットの脳、肝臓、肺、心臓および脾臓には平均して投与量の 0.35% が含まれており、残留物の大半は肝臓で認められた。投与の 4 日後に解剖したラットのこれらの臓器には、投与量のわずか 0.03 または 0.12%が含まれていた (Ryer, 1966)。

ダミノジット 25ppm を 4 日間、混餌給与した乳牛には、ダミノジットの 81%を糞便中、および 1.2% を尿中に排出した (John, Jr. et al., 1969)。「残留物の運命」の「動物中」も参照のこと。

毒性試験（原文 2 ページ）

変異原性試験（原文、2 ページ）

1 群 20 匹の雄マウスにダミノジットを 5 日間連続で、0、10、300 または 10,000ppm の濃度の混餌を投与し、優性致死作用を判定した。投与後 1 週間に一度、4 週間連続で、雄を非投与の雌と一対一でペアにした。ペアリングの 13 日後に雌を屠殺し、子宮内容物から着床、生存胚、そして早期また後期死亡について検査を行った。

雄の死亡は試験期間中に認められず、また、行動に対する複合作用の徴候も確認されなかった。投与期間中、10,000ppm での体重増加はわずかに遅延した。いずれの群でも交配行動または妊娠率への影響は認められなかった。どの投与量であっても着床率または出生児数への有意な影響は認められなかった。群間における着床後胚損失率に有意差は一切認められず ($P>0.05$)、用量相関性も見られなかった (Palmer and Lovell, 1973)。

催奇形性試験 (原文、3 ページ)

雌ラット (25 匹/対照群、21 匹/試験群) の妊娠 6~15 日にコーンオイルに添加したダミノジット (12.5% w/v) 0、250 または 500mg/kg/日を強制経口投与し、催奇形性作用を調べた。毎日の観察を行い、妊娠 1、9、12 および 15 日に体重を記録した。黄体、吸収胚、生存胎児を数え、胎児の外表面、内部器官およびの骨格の異常を調べた。ほぼ同数の胎児について、Wilson 法による内部器官の観察またはアリザリン染色による骨格観察を行った。

平均吸収胚数は、対照群で 0.4、250 mg/kg 群で 1.1、500 mg/kg 群で 0.7 であった。250 mg/kg 群では胚吸収胚 10 を有する雌 2 例が観察された。胎児検査では、化合物に関連する作用はみられず、その他の指標にも化合物投与の影響は認められなかった (Keplinger et al., 1972)。

生殖毒性試験 (原文、3 ページ)

ラット (1 群雌雄各 20 匹) に、0 または 300ppm のダミノジットを添加した飼料を離乳時から 3 世代にわたって投与した。F0 群は 2 年間の長期毒性試験に供した。児動物の体重、出生生児数、死産数、ならびに通常の生殖成績の指標について調べた。3 世代の 2 腹に児の出生率または生殖能力への有意な変化はみられなかった。対照群および試験群の児動物の生存率は良好であり、成長への影響も認められなかった。試験群の各世代における血液および尿の検査値は対照群と同等であった。臓器重量および組織病理学的所見にも化合物投与による影響は認められなかった (Oser, 1966)。

急性毒性 (原文、4 ページ)

経口投与によって観察された症状は、活動低下、眼瞼下垂、運動失調、下痢、多尿および努力性呼吸であった。皮膚投与によって、軽度の紅斑および浮腫が生じた。

表 1 ダミノジットの急性毒性

動物種	経路	性別	LD50 mg/kg	参考文献
ラット	経口	雄	6810	著者不明, 1966
	経口 I	雄、雌	8400	Carson, 1963
	吸入	雄	147 mg/l	Carson, 1963
ウサギ	経皮	雄、雌	>10,000	著者不明, 1966
	経皮	雄、雌	16000	Carson, 1963

短期試験 (原文、4 ページ)

ラット

ラット（投与群：雌雄各 5 匹、対照群：雌雄各 10 匹）に、ダミノジット剤（0、26、80、240、720、2160mg/kg/日）を 90 日間混餌投与した。試験群と対照群との間に体重増加の差は認められなかった。血液検査、血液化学検査あるいは尿検査の測定値における有意差は認められず、臓器の絶対重量および比重量は対照群と同等であった。ダミノジット投与に起因する肉眼的または顕微鏡的变化は、いずれの群でも生じなかった（Carson, 1964）。

イヌ

イヌ（投与群：雌雄各 4 頭、対照群：雌雄各 6 頭）に、ダミノジット剤（0、300、1000、3000 ppm）を 2 年間混餌投与した。体重増加は正常範囲内であり、対照群と同等であった。また、実験群の外観、行動、血液学的、血液化学的および尿の分析についても対照群と同等であった。剖検、組織の顕微鏡検査および臓器重量データに、化合物または用量による影響は認めなかった（Oser, 1966）。

長期試験（原文、5 ページ）

ラット

ラット（投与群：雌雄各 25 匹、対照群：雌雄各 37 匹）に、ダミノジット剤（0、300、1,000、3,000ppm）を 2 年間混餌投与した。

試験期間中、対照群および試験群において外観および行動の差は認められなかった。試験期間を通じて、300ppm投与群の体重増加は、対照群の体重増加よりもわずかに抑制されたが、1,000 および 3,000ppm投与群の体重増加は対照群と同等であった。試験期間中、化合物摂取に関連した血液学的または血液化学的差異は認められなかった。2 年間にわたる生存率に影響はなく、すべての群において同等であった。104 週において、300 および 3,000ppm投与群における雄雌の肝臓/体重比は、対照群よりも有意に高かった。300ppm投与群の雄では、平均肝重量が対照群と比較して 21%高かった。肉眼的検査あるいは顕微鏡検査の成績からこの違いは説明できなかった。組織の顕微鏡検査では、用量依存的な影響は認められなかった。良性と悪性の両方の腫瘍が発生し、前者は主に乳腺腫（mammary adenomas）または線維腫（fibromas）であった。後者のカテゴリーでは、試験群および対照群の両方で細網肉腫が多く認められ、発生率は対照群と比較して、3,000ppm投与群で有意に高くはなかった。また、様々な種類の悪性腫瘍が複数認められたが、どの群においても、2 種以上の悪性腫瘍を有する個体はいなかった¹（Oser, 1966）。

コメント（原文、5 ページ）

¹ 訳注：原文表記は、”in no cage was there more than one of each type in any group” であるが、”in no case was there...” と解釈した。

ダミノジットの急性毒性は、経口および経皮投与試験のLD50値（g/kg範囲）から判断されるようにそれほど高くなく、眼および皮膚に対する軽度の刺激性がある。ダミノジットは急速に排泄され、哺乳類で蓄積しない。ダミノジットは、雄マウスで1,000ppmの用量では、優性致死作用を示さず、300ppm以下の用量では催奇形や生殖障害は認められなかった。適切な2年間のイヌ試験が実施されている。

長期ラット試験は、報告書に内部矛盾があり、加えてダミノジットの発がん性を評価できていないため、不十分であった。動物におけるダミノジットの生体内変化に関する情報が必要である。

上記の懸念により、ヒトの一日摂取許容量は設定できない。

残留とその評価(原文、5ページ)

使用パターン(原文、5ページ)

ダミノジットは様々な果樹、ブドウ、野菜、メロンおよびピーナツに葉面散布でのみ適用される植物成長調整剤である。ダミノジット散布の目的は作物および投与の時期によって、熟成を早めたり、実止りを良くしたり、果物の色を向上させたり、茎成長を遅らせたり、落果を調節したり、熟成を遅らせたり、ツルの成長を遅らせたり、あるいはその他のある有益な成長調整作用を発揮させたりと様々である。

ダミノジットは1960年代初頭に実験的に導入され、最初は観賞植物での使用を目的に登録された。それ以来、成長調整剤としての本化合物の有効性に関する多くの報告が園芸雑誌に掲載されてきた。用途は拡大し、米国では1968年に食用作物に対して使用されるようになった。表2に現在（1977年）米国で登録されている使用パターンを示す。カナダでの用途は、米国での用途と同様である。本製品がイタリア、南アフリカ、日本、オーストラリア、ドイツ、オランダおよび英国で使用されているというその他の情報が会議で公開された。通常、これらの国で認可された製品ラベルの用法は表2に示す用途パターンに適合している。

農薬の作物試験から得られた残留(原文、6ページ)

合同会議への提出物には、14の作物についての米国での農薬の作物試験ならびに食肉用動物および酪農動物の統制された給餌実験(controlled feeding experiments)によるデータが盛り込まれた(Uniroyal, 1977)。オランダ政府は、リンゴおよび西洋ナシについての農薬の作物残留試験に関する報告を提出した。分析は、「残留分析の方法」に基づいて下記に記載する比色分析法によって行われた。未散布の対照群（作物ブランク(crop blank)）の分析は、ダミノジットを添加した対照群(fortified controls)からの回収率とともに各実験で報告された。試験サンプルは、作物ブランクに対して補正された。回収は適切であった。各作物についての残留調査結果の簡潔な考察を後に

示す。データは表形式にまとめられ、前記のような提示が実行可能である。

リンゴ

圃場試験は、米国の主なリンゴ栽培地域のすべてを代表する10の州内の区域で実施された。約180点の収穫サンプルは、2通りに分析された。種々の圃場試験における広範囲の実験条件および幅広い範囲の残留が検出され、表にしたデータ要約を除外する。残留は、0.1mg/kgから80mg/kgの高い値まで及んでいた。過度の散布に起因している高値が除外されれば、通常用量の散布（表2）と規定の農薬散布の収穫前日数60~70日が認められる時、データは残留が30mg/kgを超える可能性が低いことを示す。

TABLE 2. 米国におけるダミノジットの登録使用パターン（1977）

農作物	目的	噴霧散布濃度 (a.i.)	散布回数	散布時期もしくは収穫前制限
スイートチェリー （sweet cherries）	成熟の促進、成熟を集中(concentrate maturity)	0.1-0.2%	1	満開から2週間後
サワーチェリー （sour cherries）	”	0.40%	1	”
モモ、ネクタリン	成熟の促進、成熟を集中(concentrate maturity)	0.1-0.2%	1	開花後13週間から硬核期
西洋ナシ	落果を防止	0.10%	1	収穫の18から24日前
リンゴ	多様な効果(1)	0.075-0.2%		収穫の160から70日前
プルーン	熟成の促進	0.05-0.1%	1	収穫の1ヶ月前
ブドウ	実止まりの増加、つるの成長の抑制	0.05-0.1% (1.4-2.4 kg/ha)	1	最初の開花から満開まで
芽キャベツ	芽の成長を均一にする	1.9-3.75 kg/ha	1	収穫の30日前
カンタロープ	つるの成長の抑制	1.9 kg/ha	1	2-4 葉期

TABLE 2. (Continued)

農作物	目的	噴霧散布濃度 (a.i.)	散布回数	散布時期もしくは収穫前制限
トマト	多様な効果(1)	0.6-2.4 kg/ha	2	移植前
		4.8 kg/ha	1	移植後-採取から 4 日以内でないこと(not within 7 日 s of picking)
ピーナッツ	多様な効果(1)	1.0 kg/ha	2	子房柄伸長期(at pegging time) 収穫の 30 日前
		0.5 kg/ha		
トウガラシ (peppers) (苗木)		0.5-2.3 kg/ha	2	2-4 葉期と 7-10 日後

(1) リンゴだけに対して訴求される 9 つの異なる薬効がある。他の要求は、同様に複雑である。この製品の使用方法が複雑であるのは、多くの要因（草勢 (plant vigour)、品種、水分ストレスなど）が植物に望ましい影響を加えられないだけでなく、悪影響を与える恐れがあるためである。

オランダでの試験による残留は、一般に 5mg/kg 以下であった。これらの実験での散布量は、諸外国で許可されている量よりやや低かった。

初期の蓄積または残留減少速度（半減期）を測定するように設計されている試験は含まれていなかった。しかし、データは、ダミノジットがリンゴにおいて非常に残留性であることをはっきりと示す。かなりの残留が、噴霧散布後 159 日を超える期間残る。

芽キャベツ

4 つの異なる試験が、カリフォルニア州およびニューヨーク州内の区域で実施された。単回散布が、通常量および過剰量で行われた。作物ブランクは、ゼロであると報告された。回収は、1mg/kg および 10mg/kg で、それぞれ 87% および 83% であった。データを表 3 にまとめた。農業生産工程管理 (good agricultural practice) の下では、残留が 20mg/kg を超える可能性は低いと思われる。

表3 芽キャベツ中の残留、mg/kg (単回散布)

散布量 kg a.i./ha	インターバル、散布からの日数(Interval, 日 s from treatment)		
	30	33	46
1.9	6.3, 5.2, 6.8	7.1, 1.4, 0.0	
3.4			2.8, 1.4
3.8	14.6, 15.5, 13.0	2.3, 2-7, 1.5	
6.8*			4.8, 3.2
7.7*	25.4, 24.8, 24.6	5.6, 6.2, 5.2	

*過剰用量

カンタループ(cantaloupes、メロンの一種)

9回の残留試験が、カリフォルニア州、アリゾナ州、テキサス州およびミシガン州内の区域から報告された。メロンに関する登録使用法は、植物が2~4葉期にあり果実が存在していない時の散布を規定する。実験は過剰散布量を含み、サンプルは早ければ処置後44日に採取された。これらのサンプルが熟したメロンであった場合、果実は処置の時点で存在したに違いない(メロンは定植から熟すまで85~150日かかる)。これらの条件においても、約20点のサンプルの残留値は、未処置対照群の1.1mg/kgに達する明らかなダミノジットと比較して、<0.1~1.6 mg/kg(表4)の範囲であった。農業生産工程管理によるカンタループの予想残留は、樹木の果実に含まれる残留よりも低いようである。3mg/kgを上回る残留が、カンタループで発生する可能性は低い。他の品種のメロンについてのデータは利用可能ではないが、カンタループに関する結論は他メロンに対しての判断の基礎とすることができよう。

表4 カンタループ中の残留、mg/kg

最終散布からの 日数	散布回数	散布量 kg a.i./ha				
		0.47	0.95	1.9	3.8	7.6
44	2*	<0.1	1.6			
50	1			1.0,1.5	1.5,1.6	
57	1			0.6,0.8	1.2,1.6	
68	1			1.2	1.6	
73	2*	<0.1	<0.1			
87	1				<0.1	<0.1
115	2*		<0.1	<0.1		

*2回目の散布の量のみ示す

サワーチェリー

試験は、米国の重要なチェリー生産地を代表している4つの州内の数か所で実施された。合計70点の試験サンプルおよび25点の対照サンプルを分析した。作物ブランクは、0.1mg/kg～0.64mg/kgの範囲であった。

試験に適用された用量は、メーカーの最低推奨用量の25%から最大推奨量の2倍までの範囲であった(表2参照)。サンプルは、処置から56～65日後の範囲の期間に採取された。これは、満開から10～14日後の単回噴霧を求めるラベルの指示にほぼ一致する。米国における開花から収穫までの季節は、80～100日である(Magness, 1971)。

すべての試験におけるサンプリングスケジュールは、通常の収穫での残留を示すように計画されていた。そのため、初期蓄積または残留減少速度の評価は不可能である。全体として、成熟チェリーで検出された残留は、5.3～78mg/kgの範囲であった。散布量と何らかの相関性がある可能性があったが、収穫残留における変動は、ほぼ不規則であるようだった(データが集計に役立たない)。過剰用量または最小用量を用いた試験のデータが除外された場合、残留は10～53mg/kgの範囲に低下する。実際の(市販の)条件に基づく残留は、これまでに60mg/kgを超過していたとは思われない。

スウィートチェリー(原文、11ページ)

5つの州内における圃場試験の176の試験サンプルおよび39の対照サンプルの分析結果が利用可能であった。実験計画は、上記で検討されたサワーチェリーのものとおよそ類似した。すなわち、試験は、ほぼ製品ラベルに規定されるように散布されて(満開から2週間後)収穫したチェリーの残留を示すように計画されていた。検出された残留の全体的な範囲(1～54mg/kg)は、サワーチェリーについて報告された範囲と同様であった。農業生産工程管理(表2参照)に従う試験によるデータだけが使用される場合、ほとんどのサンプルは9～18mg/kgの範囲にあり、30mg/kgに近づく高値はわずかであった。スウィートチェリーとサワーチェリーに予想される残留量の違いは、主に散布量によるものであり、その散布量はスウィートチェリーでは0.2%、サワーチェリーでは0.4%である。スウィートチェリーに対する30mg/kgの最大残留基準値は、従って整合性があるだろう。

ブドウ

残留データを表5にまとめる。4つの州内における圃場試験の約44点のサンプルが報告された。8点の未散布サンプルを含め、分析は2通り行われた。すべての対照試験は、明らかなダミノジットが0.1mg/kgとして報告された。

ブドウの登録使用法(表2)では、開花から満開までの期間の散布が必要とする。ブドウの品種によって開花と収穫の間の期間は、大きく異なる。一部の品種では、5～6ヶ月ほどもある可能性がある(Magness, 1971)。圃場試験において、噴霧と収穫の間の日数が102～111日であり、おそ

らく早生種（おそらくコンコード種）を代表していることは注目すべき点である。したがって、収穫時の残留の観点からすれば、「最悪の状況」に相当する。一部の過剰な用量においても、残留はすべて10mg/kgを下回った。

表5 ブドウ中の残留、単回散布、散布から102~111日

散布量 % a.i.	残留範囲 mg/kg
0.05	0.4 - 2.5
0.1	1.3 - 5.4
0.2	2.6 - 9.5

ネクタリンおよびモモ

これらの2つの果実の使用法は同じである。それらはまた同程度まで残留を受け、一緒に考察できる。

規定された噴霧の中断日は、「硬核期」にある。おそらく、この成長期は、ベテランの果樹栽培者には特定可能である。できるだけ正確に判定されると(As near as can be determined)、硬核は、品種、地理的位置、およびその他の要因に応じて、収穫の40~80日前に起こる。ネクタリンおよびモモについて使用可能なデータには、70の未散布対照群を含む合計500のを超える分析結果が含まれた。散布は、規定量、過剰量、および規定より少量で行われた。散布とサンプリングの間の日数は、「花柱脱離期(style abscission)」、硬核期の処置、一部のケースでは収穫前の日数における散布としてさまざまな形で識別された。圃場試験における変量のせいで、広範囲の残留が報告された(1.0~93.0mg/kg)。

関心は、主に登録使用法(表2)に非常に近い使用パターンによる残留にある。ネクタリンおよびモモでの花柱脱離期(開花後3週間)から硬核期までの期間における0.1~0.2%の噴霧散布による残留の分布は、次のとおりであった。

mg/kg	<1	1~5	5~10	10~15	15~20	20~25	>25
サンプル数	35	140	48	45	3	7	1

この分布は、表2に記載の使用に従う際、残留が30mg/kgを超える可能性が低いことを示す。

ピーナッツ

ジョージア州、ノースカロライナ州、テキサス州、アラバマ州、フロリダ州、およびオクラホマ州内での残留試験の結果は、会議に提出された。果核(Kernels)、乾草(hay)、および外皮(hulls)について個別の分析が行われた。

果核(Kernels)

合計 166 点の試験サンプルと 13 の対照の分析が行われた。2 点で報告された 3.1mg/kg および 2.8mg/kg を除き、対照サンプルはすべてゼロであった（分析者は、コンタミネーションが疑われると指摘した）。

メーカーの推奨では、子房柄伸長期の 1 回の散布で 0.96kg ai/ha、次に収穫の 30 日前に 2 回目の散布で 0.47kg ai/ha を行う。処置が推奨パターンに近い圃場試験においては、以下の残留分布が得られた。

範囲, mg/kg :	<5.0	5~10	10~15	15~20	20~25	25~30
サンプル数 :	31	20	7	4	4	2

この非対称な分布パターンにより、果核の 30mg/kg の最大残留基準値が農業生産工程管理による残留のすべてをカバーするのが適切であろうということは明らかである。

ピーナッツ乾草

62 の分析が提出され、そのうちの 24 は上記の正常分割用量パターンに一致した。推奨使用法を反映している試験における残留は、大半が 1~5mg/kg の範囲にあった。しかし、3 つは 5~10mg/kg の範囲にあり、3 つが 10mg/kg を超えた。20mg/kg の最大残留基準値は、適切であろう。

ピーナッツ殻(hull)

ピーナッツ殻について、非常に限られたデータしか入手できなかった。残留は、2mg/kg 以下であった。ピーナッツ殻は、国際貿易の重要品目ではない。この商品における唯一の関心は、殻がいくつかの混合動物飼料に低濃度で配合されていることである。

ピーナッツ油かす

ダミノジット 12mg/kg を含んでいると特定されている圃場ピーナッツを、市場向け加工プロセス (commercial process) をシミュレートした研究室実験において加工した。ピーナッツ油かすプレスケーキ(The meal presscake)は、30~33mg/kg を含んでいることが判明した。このおよそ 3 倍の濃度係数に基づき、20mg/kg の最大残留を含むピーナッツ果核は約 60mg/kg を含む油かす飼料(meal)が製造されることが予想される。

西洋ナシ

ワシントン州およびオレゴン州からの限られたデータ (14 点の試験サンプル+7 点の対照サンプル) が入手された。7 点のサンプルは、メーカーの推奨量が適用された試験から得られた (0.1%噴

霧)。この用量での残留は、10.8mg/kgの平均で0.8~17.0mg/kgの範囲にあった。農業生産工程管理に従った使用による残留は、おそらく20mg/kgを超えないだろう。

トウガラシ(peppers)

圃場試験は、テキサス州、ジョージア州、コネチカット州、デラウエア州、およびミシガン州で実施された。散布から77~125日後に、サンプルを採取した。規定量および規定の4倍量で、単回散布および2回散布が行われた。試験サンプルおよび対照サンプル間における明らかなダミノジットの違いは、すべてのケースにおいて1mg/kg未満であり、報告された最も高い残留は0.44mg/kgであった。1mg/kgの最大残留基準値は、適切であるだろう。

プラム

カリフォルニア州内にある6つの区域での残留試験が、会議に報告された。プラム(生のプルーン)は、規定量(表2)および規定の4倍までの量で散布された。散布とサンプリングの間の日数は、34~78日の範囲であった(登録されたラベル要件である農薬最終使用時期の収穫前日数30日と比較して)。すべての散布量による残留は、3.0~71.5mg/kgの範囲にあった。通常量による残留は、3.0~43.7mg/kgであった。通常の使用による残留が50mg/kgを超えることはないと思われる。

畑で散布された生のプルーンは、分析され、市場向け加工プロセス(commercial procedure)によってドライプルーンに加工された。これには、5~10分の機械洗浄、および30時間170°Fのトレイ上での乾燥を含む。最大濃度係数は(ドライプルーンにおけるmg/kg:生のプルーンにおけるmg/kg)は2.7であると分かった。これに基づき、50mg/kgの最大残留を含む生のプルーンは、135mg/kgを含むドライプルーンが生産されるだろうという予測を立てることができる。

トマト

トマトに関するダミノジットの登録使用法は、移植前(温室または野外)に2回散布、および遅くとも収穫の7日前までの畑での散布が含まれる(表2参照)。移植する植物への散布は、すべての実質的な目的が「無残留」な使用である(The application on plants to be transplanted is for all practical purposes a "no-residue" use.)。残留のデータは、通常量および過剰量で移植散布および畑散布の両方を受けたトマトについて入手された。グリーントマトについて、すべての残留試験(7)は、フロリダ州で実施された。米国で許可されている唯一のトマトへのダミノジットの野外使用は、緑のまま収穫され、人工的に熟させられるフロリダ州の冬トマトに対してだけである。そのため、この残留試験は非常に特殊で、トマトに対するもっと一般的な使用法に起因する残留を必ずしも反映しない。データを表6に示す。

表6 トマト中の残留、mg/kg

最終散布からの期間 日数	散布量*	
	kg a.i./ha	
	4.76	9.52
11	13	68.5
21	9	35
7	6	8
7	8	12.5
18	12	20.5
14	20	45.5
19	15	28
29	22	8

*移植散布後の野外散布

アルファルファ

アルファルファに関するダミノジット使用の国の許容量や登録は全くない。しかし、この製品にはアルファルファ種子の栽培においていくつかの有用性があり、登録は米国で審理中である。種子用のアルファルファの栽培においては、動物の飼料用としてアルファルファ飼葉、乾草、および種子スクリーニングといういくつかの利用がある。そのため、会議への提出には、アルファルファ乾草、生飼葉、および種子スクリーニングについての残留データが含まれた。生のアルファルファに関する残留は4~12mg/kg、乾草については2~20mg/kgの範囲にあった。種子スクリーニングでは、最大1.4mg/kgを示した。使用の特殊な性質を考慮し、現時点では会議に最大残留基準値を推奨することは必要とは思われない。

肉、牛乳、家きんおよび卵

ダミノジットは、商業的に飼料に使用される副産物を産する多くの作物に使用される。主要なダミノジット源は、ピーナッツ粉餌およびピーナッツ乾草であると思われる。日常の食餌への付加的寄与が、ピーナッツ外皮ならびにリンゴ、ブドウ、およびトマトを処理することによって生じる絞りかすから発生する可能性があった。この認識により、メーカー(basic manufacturer)は、会議にいくつかの動物給餌試験を提出した(Uniroyal, 1977)。

(a)牛に、0ppm、20ppm、60ppm、および200ppmの濃度で6週間、混餌投与した。乳汁は、周期的に採取し、動物は飼養期間の終わりにと殺した。ダミノジットの残留は、0.2mg/kgと推定された検出限界において、いかなる組織(筋肉、脂肪、肝臓、腎臓)でも検出されなかった。60ppm および 200ppm 投与した動物の乳汁において微量の残留が、それぞれ 0.05mg/kg および 0.07mg/kg 水準で検出された。

(b)豚に、0ppm、60ppm、および300ppmの濃度で31日間、混餌投与した(各投与レベルで2頭)。筋肉または脂肪中には、ダミノジット残留は全く検出されなかった(40.2 mg/kg)。明らかなダミノジット残留が、最も高い投与レベルの動物の肝臓および腎臓でそれぞれ0.3mg/kg および0.8mg/kg が検出された。

(c)家きんに、0ppm、20ppm、60ppm、および200ppmの濃度で31日間、混餌投与した(各群雌ニワトリ10羽)。卵は毎週生成(coposited)され、31日目にすべてのニワトリを剖検した。最終サンプリングでは、300ppm および60 ppm 投与レベル卵は、それぞれ0.3~0.5mg/kg および0.25mg/kg を含んだ。20ppm 投与レベルの卵では、検出可能な残留は(< 0.2mg/kg) 見出されなかった。より低い投与レベルのニワトリの筋肉または脂肪では、残留は一切検出されなかった。200ppm レベルでは、0.4mg/kg および0.7mg/kg の残留がそれぞれ筋肉および脂肪で検出された。1mg/kg および1.1mg/kg の残留が、最も高い投与レベルのニワトリの肝臓で検出された。ダミノジットは、家きんの腎臓で濃縮する。腎臓では、1.3mg/kg、1.8mg/kg、および7.4mg/kg の値が、3つの投与レベルで報告された。

試験により残留が高投与レベルで発生することが示され、これはピーナッツ粉飼料(peanut meal) およびピーナッツ乾草による実際の予想摂取量に関係すると思われた。ピーナッツ乾草は、肉牛飼料の25%、乳牛飼料の60%、および豚の10%の程度まで使用されると思われた。ピーナッツ粉飼料は、肉牛の15%、乳牛の25%、家禽の10%、および豚の10%を占め得る(Harris, 1975)。それぞれの種の全飼料におけるピーナッツ粉飼料および乾草の割合を調整した後、牛乳、卵、および組織(家きんの腎臓を除く)中の残留が比色法の検出水準を下回るであろうことは明らかである。

残留物の運命(原文、18 ページ)

一般

ダミノジットは容易に吸収され、葉面散布から移行する。標識されたダミノジットの塗布からの14C02 の取り込みは、一定の条件下で、塗布された農薬の少なくとも一部が完全に分解されていることを示している。他のデータは、ダミノジット(遊離または緩く結合した形の)は、主要残留成分であり、果実中に非常に長期にわたり存在することを示している。最終残留の性質に関する結論の多くは、選択的溶媒抽出、invitro 実験および予想される代謝産物のための湿式化学法での分析による特性分析に基づいたものである。同化合物で仮定された一部の代謝産物、特にニトロソアミン、ヒドラジドおよび他のヒドラジン誘導体の既知の生物学的活性を考慮して、収穫された果実および野菜中の残留のさらなる同定が望ましいと考えられる。

動物中(In animals)

ラットに14C-標識ダミノジットを与え、排泄物を観察した。投与量の大部分は、明らかに未変化のダミノジットとして尿中に存在した。判断できる限りでは、放射標識したダミノジットを用いて肉畜または泌乳動物で代謝経路を研究する試みはこれまでにない。しかし、200 ppm のダミノジ

ットを含む飼料を与えたウシの乳汁中で、ひとつの仮想代謝産物(NDMA)に対して化学的方法(先述の)による分析が行われた。NDMAは、0.03 mg/kgの最小検出レベルでは認められなかった。「生化学的側面」および「管理試験によりもたらされた残留物」のセクションも参照のこと。

植物中

植物中では、ダミノジットは非対称ジメチルヒドラジン(UDMH)に代謝し、UDMHが植物酵素ジアミン酸化酵素に作用する活性成分であることが報告されている(Reed, 1963)。別の研究者(Dahlgren, 1963)は、マレイン酸ジメチルヒドラジド(CO11、類縁成長調節物質)が水溶液中でUDMHに加水分解されることを見出している。Dahlgrenは、ダミノジットはが同じ条件下で安定であったことを示した。メーカーによって報告された実験では、ダミノジットをinvitro系でのトリプシン、プロテナーゼ、パパイン、フィシンおよびウレアーゼによる酵素的に加水分解する試みで、遊離のUDMHあるいはコハク酸は検出されなかった(Uniroyal, 1967)。UDMHの比色試験およびコハク酸のペーパークロマトグラフ試験では、ダミノジット処理した植物葉の浸出液においてUDMHおよびコハク酸に加水分解が起こった結果は見られなかった。UDMHの発生に関する証拠がやや矛盾するが、UDMHが中間代謝産物として生成されるとしても、その存在は反応性が高く一過性であるため、収穫される作物中にそれ自体は存在しない可能性が高い。

後述する(「残留分析の方法」にて)ニトロソジメチルアミン(NDMA)のガスクロマトグラフ分析法が、ダミノジットが処理された作物中にこの想定される酸化生成物がないことを示すために行われた研究において用いられている(Uniroyal, 1967)。NDMAの検出感度が0.002 mg/kgの方法では、処理したリンゴ、トマトまたはピーナッツの茎葉からNDMAは検出されなかった。

放射能トレーサー試験が米国農務省により、畑のリンゴの木および温室の中のリンゴの苗木で実施された(Uniroyal, 1966)。ダミノジットは、コハク酸部分および(別の試験では)UDMH基に標識された。噴霧された苗での放射能は植物全体に拡散し、葉での放射能が最も高かった。散布した放射能量の20%は、散布から最初の7週間で $^{14}\text{C}\text{O}_2$ として放出された。

圃場試験では、散布100日後に総散布放射能の15%がリンゴの木に残っていた。125日後のリンゴ果実の放射能は、75-85%が未代謝のダミノジットと同定された。微量のコハク酸が同定され、植物体にいくらかの $^{14}\text{C}\text{O}_2$ の取り込みがあった。

^{14}C -標識ダミノジットは、ピーナッツの代謝研究にも用いられた(Uniroyal, 1977)。選択的溶媒抽出による放射能活性の特性評価では、活性の大部分が結合型、おそらく糖複合体として存在することが示された。ダミノジット自体は溶媒抽出で回収可能であり、複合体の形でピーナッツに存在する残留は比色分析の方法で検出されるであろうという結論に達した。ピーナッツ油の ^{14}C 放射能の分析では、約2-5 mg/kgの残留がダミノジットとして存在することが示された。油の選択的溶媒抽出では、放射能成分はダミノジットではなく、おそらく脂肪酸グリセリドの形をとることが示された。

土壌中

土壌中における残留試験が、5 および 10 mg/kg の濃度で添加した砂壌土および粘土土壌を用いて実施された。ダミノジット自体は土壌中に長く残留しない。分解は、おそらく微生物作用による。粘土土壌では、処理 2 日後に < 0.1 mg/kg が残留していた。砂壌土土壌では、5、10 mg/kg の添加で、処理 2 週間後と 3 週間後にそれぞれ 0.1 mg/kg 残留していた。本化合物は水溶性であるため土壌中では非常に移動しやすい。

加工中 (In processing)

研究により、ピーナッツの市場向け加工では、精製されたピーナッツ油に感知できる濃度の残留がみられないことが示されている。しかしながら、ピーナッツ油かすには 3 倍の濃度の残留がある (例、20 mg/kg を含むピーナッツ果肉は 60 mg/kg を含むピーナッツ油かすをもたらす)。

約 40 mg/kg を含む生トマトをケチャップやトマトペーストに加工する際のデータでは、処理で消失するダミノジット残留は基本的にないことが示されている。(残留は、固形物が濃度プロセスですると同程度に濃縮する。) トマトペーストで検出される残留は 155 ~ 197 mg/kg であった。トマトペースト中のニトロソジメチルアミン (NDMA) の分析では、報告されていた感度 0.002 mg/kg の化学的手法において陰性であった。

畑で散布したプラムを干しプラムに加工した実験では、残留がドライフルーツ中で 2.7 倍に濃縮されることが示された。この研究の詳細については、「農薬の作物試験で得られた残留」およびピーナッツをピーナッツ油かす (peanut meal) に加工することによる残留への影響を参照のこと。

ブドウについては、国の許容量があるが (10 ppm、米国およびカナダ)、ワインまたはブドウ搾り粕への残留の移行についてのデータは得られなかった。

商業的に流通する食品中あるいは消費時点での残留の証拠 (Evidence of residues in food in commerce or at consumption)

「残留分析の方法」で示すように、ダミノジットはマーケット・バスケット調査や監視、政府の規制プログラムで用いられるどの多成分残留スクリーニング法でも、検出されていない。「特異的な」比色法は、カナダまたは米国 FDA 監視プログラムで採用されておらず、そして、市場の食品中でダミノジットが見つかったという記録はない。食品加工で実証されているダミノジット残留の安定性および、農業生産工程管理による果物で発生した比較的高い濃度を考慮すると、大量に使用されている国では、食物中に残留があるものと結論付けてよいだろう。

残留分析の方法 (原文、21 ページ)

作物中のダミノジット残留は比色法によって測定される(PAM II, 1967)。この方法では、沸騰した 50%水酸化ナトリウム中で加水分解を行い、非対称ジメチルヒドラジン(UDMH)を放出させ、これを蒸留し、pH5.0で trisodium pentacyanoamine ferroate (TPF) と反応させる。発する赤い色を分光光度法により 490 と 600 nm で測定する。2つの読取り値の差を、 μg の化合物に対する正味の吸光度としてプロットして校正曲線とする。この基本的な方法を改良すると、ピーナツや、動物組織、乳汁および卵中のダミノジットが測定できる。

ダミノジットの測定に使われる発色物質 TPF は、ニトロソ化合物や第 1 級芳香族アミンおよび脂肪族または芳香族ヒドラジンとも有色の複合体を形成する(Feigl, 1949)。したがって、ダミノジットで考えられるいくつかの代謝物質は、吸光度に寄与し、それはダミノジット TPF 錯体の吸光度に追加されていると思われる。もし存在する場合、ダミノジット残留として解釈されるだろう(しかし、それは定量的に測定されない)。

この方法は、ブドウおよび動物組織に対して、政府の規制の研究所で試験されている。大きくばらつきのある作物ブランクのため、植物由来のサンプル中のダミノジットについて信頼できる測定下限は、規制の目的では 1 mg/kg に過ぎないと結論された。動物製品に対する推定感度は、乳汁で 0.05 mg/kg、組織および卵で 0.2 mg/kg である。政府の分析専門家は、手順で指示されている 1 時間ではなく、2 時間の発色時間が必要だと述べた。

この方法においては、どの遊離UDMHまたは厳しい苛性加水分解でUDMHをもたらすどの代謝産物も、ダミノジットとして測定されるだろうと想定された。その結論を裏付ける実験データはない。そのような代謝物質が実際に収穫時の農作物に発生するかどうかは不明である(「残留の運命」での議論を参照)。

比色法は、通常特異的ではない。この場合、本法は、対象農作物に使われたほとんどの農薬の存在下で干渉を評価するために試験された(1968年)。干渉することが分かったのは殺菌剤「Botran」だけで、方法を改良すればこの干渉は除去することができる。

植物基質中ダミノジットを分析する 2 つ目の比色法が発表されている(Edgerton, 1967)。この方法も加水分解物で UDMH を測定するが、発色はリンモリブデン酸で行う。感度は、前述の比色法に匹敵する。

前述のように、親化合物に対する比色法は、どんなアルキルニトロソアミンもダミノジットとして測定する。あり得る代謝物質であるニトロソジメチルアミン(NDMA)の潜在的な毒性に対する懸念のため、メーカーが NDMA に「特異的な」方法を開発した(Uniroyal, 1967)。これは GC 法で、NDMA を真空蒸留により農作物基質から分離し、ポリマービーズへ吸着させ、オープンで焼いてビーズから除去し、マイクロ電量分析ガスクロマトグラフィーで測定する(NH_3 の測定)ものである。感度は、0.002 mg/kg と推定された。0.010 mg/kg の添加レベルでの回収試験により適切であると報告されている。この方法は、政府研究所で有効性を検証(validate)されていない。

ダミノジットは、国のマーケット・バスケット調査や監視プログラムで使われる多成分残留スクリーニング手順のいずれにおいても検出されない。ダミノジットに対する比色法による政府の規制の経験の記録はない。現行の基準で規制目的に十分かどうか、特に下限許容量レベル（lower tolerance levels）の適用において十分かどうかは疑問である。判断出来る限りにおいては、確証的な分析方法はない。この方法の信頼性に関する追加情報、特に(a) UDMH 代謝産物を遊離型または結合型で実際に測できるかどうか、(b) 政府研究所でのこの方法の実際の使用経験に関する情報を得るのが望ましいと言えよう。独立した方法、できればより特異的な GC または HPLC 法が望ましい。

評価(APPRaisal) (原文、23 ページ)

ダミノジットは、1967 年以来、多様な果物や野菜で使用されている成長調節剤である。この製品は数多くの有益な成長調節作用をもたらす。数ある訴求の中でも、未成熟の落果をコントロールし、成熟を遅らせ、果実の色を増強し、つるの成長を抑え、茎の伸長を遅らせ、実止まりを増加させると言われている。主要メーカーが合同会議に提出した情報によると、製品は主に米国内で使用されている。会議が入手したその他の情報によると、ダミノジットは、南アフリカ、日本、オーストラリア、カナダ、ドイツ連邦共和国、イギリス、オランダでも使われている。国の許容量は、米国、カナダ、オーストラリアおよびオランダで設定されている。

会議に報告された国の許容量(原文、23 ページ)

Commodity	許容量、mg/kg			
	U.S.	Canada	Australia	Netherlands
果物と野菜				10
サワーチェリー(Sour cherries)	55	55		
プラム	50	20		
トマト	40	0.5		
リンゴ	30	30	30	
ネクタリン	30			
モモ	30	25	30	
ピーナッツ	30	20	30	
スイートチェリー	30	30		
芽キャベツ	20	15		
ピーナッツ乾草(hay)	20			
西洋ナシ	20	15	30	
ブドウ	10	10		
ピーナッツ殻(hulls)	10			
メロン	3			
トウガラシ(Peppers)	1			
肉類、脂肪、ウシ、ヤギ、ウマ、家き ん(腎臓を除く)の肉副産物(meat by-products)、ヒツジ	0.2		0.2	
家きんの腎臓	2			
卵	0.2		0.2	
乳汁	0.02		0.05	

ダミノジットはかつて、ジメチルニトロソアミンが出発反応物であった工程で製造されており、原体グレードの製品の不純物として発生していた。主要メーカーは、ジメチルニトロソアミンを使わない新しい方法が採用されていると会議に報告した。推奨される指針の上限は、ジメチルニトロソアミンが除外される方法によって製造されるダミノジットだけに適用される。

本化合物は容易に吸収され、葉面散布から移行する。分解の証拠もあるが、遊離型または緩い結合型の親化合物は長期にわたり、特に果物中に残る。ダミノジットの化学構造から、ニトロソアミン、ヒドラジドおよび他のヒドラジン誘導体など、考えられる一部の興味深い代謝産物の存在が示唆される。これらの代謝産物が存在する所見は報告されていない。0.002 mg/kg の感度をもつ手法では、想定される代謝物質であるN-ジメチルニトロソアミンは検出されなかった。非対称ジメチルヒドラジン(UDMH)がないことを示す間接的証拠が報告されている。

ラットによる14Cダミノジットの混餌投与試験では、投与量の大半が未変化ダミノジットとして、尿中に排出されたことが示されている。大型動物での代謝パターンあるいは肉または乳汁中の代謝物質についての情報はなかった。一般的に、植物および動物中のダミノジットの運命について得られる情報、特に最終の残留物の性質についての情報はそれほど豊富ではない。

国の定める許容量を適用するために現在使える分析法は、比色分析法で、これは激しい苛性加水分解でダミノジットから放出される非対称ジメチルヒドラジン(UDMH)を測定する。発色剤は、UDMHに特異的ではない。他のクラスの化合物も、脂肪族のヒドラジン、ニトロソ化合物および主な芳香族アミン類などの有色複合体を生成する。理論的には、複合ダミノジット、遊離型UDMHおよびUDMHをもたらすその他のあらゆる代謝産物もダミノジットとして測定されうる。この方法が米国あるいは、カナダ政府の監視プログラムで適用されたことはなく、他の政府研究所でもこの方法の経験に関する情報がないことが分かっている。この方法は、規制目的に対それほど大いに役立つとは思われない。

加工の影響に関する試験では、この化合物が破壊されず、トマトペーストや落花生油かすなどの製品で濃縮される傾向にあることが示されている。市場に出回っている食品で報告されたことはない(分析方法に関する前述のコメントを参照のこと)。本化合物は土壤中に長く残らない。米国で実施された農薬の作物残留試験からの豊富なデータが得られている。オランダ産のリンゴと梨に関する農薬の作物試験についてのデータも報告されている。分析は、すべて前述の比色法によって行われた。データは一般的に、果物で高い残留を示し、収穫時の残留において顕著なばらつきがあった。任意の農産物の残留値は、ほぼランダム分布に従った。受領した報告のいずれの実験も、登録された使用パターンからの収穫時の残留を示すようデザインされていたので、減少速度の推定は出来なかった。

評価(原文、25 ページ)

ADI または暫定 ADI を割り付けることができなかったため、最大残留基準値の勧告は出せなかった。以下に示した産物については指針値が登録されている。この場合、成長や成熟の段階に応じた非常

に特化した使用がなされている、レベルに基づいている農薬散布時期(intervals)に関する通例の記述は省略されている。

商品	ガイドラインレベル, mg/kg
サワーチェリー	60
プラム	50
トマト	40
リンゴ、ネクタリン、 モモ、ピーナッツ(カーネル)、 洋ナシ、スイートチェリー	30
芽キャベツ	20
ブドウ、ピーナッツ乾草	10
メロン	3
ピーマン	1
卵、肉	0.2*
牛乳	0.05*

*定量限界またはほぼ定量限界

追加研究もしくは情報(原文、26 ページ)

必要(ヒトの一日摂取許容量(ADI) および上限(MRL)が確立できる)

1. 適切な長期ラット試験。
2. 動物における生体内変化に関する情報。

望ましい

1. 現在の比色法よりも規制目的にふさわしい分析方法。
2. 市場に出回る食品中の残留発生の情報。
3. 農作物や動物由来の食品中の最終残留のさらなる同定。

以下も参照:

Toxicological Abbreviations

Daminozide (Pesticide residues in food: 1983 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1989 evaluations Part II Toxicology)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II Toxicology)

原文目次

IDENTITY	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE.....	2
BIOCHEMICAL ASPECTS	2
Absorption, distribution and excretion.....	2
TOXICOLOGICAL STUDIES	2
Special study on mutagenicity	2
Special study on teratogenicity	3
Special study on reproduction	3
Acute toxicity	4
Short term studies	4
Long term studies	5
COMMENTS.....	5
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	6
USE PATTERN.....	6
RESIDUES RESULTING FROM SUPERVISED TRIALS.....	7
Apples	7
Brussels sprouts	8
Cantaloupes	9
Sour cherries.....	10
Sweet cherries	11
Grapes	11
Nectarines and peaches	12
Peanuts.....	13
Kernels	13
Peanut hay.....	13
Peanut hulls.....	13
Peanut meal.....	14
Pears	14
Peppers.....	14
Plums.....	14
Tomatoes	15
Alfalfa	16
Meat, milk, poultry and eggs.....	16
FATE OF RESIDUES	18
General.....	18
In animals	18
In plants	18
In soil	20
In processing.....	20

Evidence of residues in food in commerce or at consumption	21
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS	21
APPRAISAL	23
NATIONAL TOLERANCES REPORTED TO THE MEETING	23
EVALUATION	25
FURTHER WORK OR INFORMATION	26
REFERENCES	27

(原文URL) <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v077pr17.htm>

略称等

略称等	正式名称 (英語)	日本語訳
GC	gas chromatography	ガスクロマトグラフ法
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LD50	Lethal Dose 50%	半数致死量
NDMA	Nitrosodimethylamine	N-ニトロジメチルアミン
TPF	trisodium pentacyanoamine ferroate	トリソディウムペンタシアノアミンフェロエート
UDMH	Unsymmetrical Dimethyl Hydrazine	非対称ジメチルヒドラジン

ダミノジットの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : JMPR, 621. Daminozide (Pesticide residues in food: 1983 evaluations))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
生殖毒性：催奇形性(経口)	ラット	0、300、600、1000mg/kg 強制経口投与 妊娠 6～15日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性兆候なし。 ・ 妊娠率、黄体数、着床率、吸収胚率、胎児死亡率、性比、胎児重量および生存胎児数に投与の影響なし。 ・ 投与群に胎児異常および骨格奇形の頻度の増加なし。 	2	2
発がん性(経口)	マウス	ダミノジット 2%水溶液 飲水として 6週齢から 一生涯投与	<ul style="list-style-type: none"> ・ 投与群は対照群と比べて生存期間が有意に短縮。血管腫、肺腫瘍、腎腫瘍の発生率が有意に増加(発症率、雌：対照群 8%、投与群 72%、雄：対照群 5%、投与群 74%)。 ・ 肺の腫瘍も同様に増加(発症率、雌：対照群 15%、投与群 74%、雄：対照群 22%、投与群 72%)。 ・ 投与群雄の 10%で、良性腎腺腫が発生した。 ・ 個体別データが報告されなかったため、この試験の詳細な評価をおこなうことはできない。 	2	2
発がん性(経口)	マウス	5000、10000 ppm 混餌投与 104週間	<ul style="list-style-type: none"> ・ 10000ppm 群：雌マウスの平均体重は、対照群よりも低かった。 ・ 雄で肝細胞がんが用量依存的に増加し、10000ppm 群では対照群と比べて有意に高かった。しかし、背景データでも肝細胞がんの発生率が高いことから、ダミノジット投与と肝細胞がんとの関連は不明。この傾向は雌では認められなかった。 ・ 投与群雄における肺胞もしくは気管支の腺腫およびがんの発生率は、対照群と比べて有意に高くはなかった。 	2	3
発がん性(経口)	ラット	5000、10000 ppm 混餌投与 104週間	<ul style="list-style-type: none"> ・ 全体的にラットの生存率は処理による悪影響を受けなかったが、雄は 66 週以降試験終了時まで高い死亡率を示した。 ・ 投与群の雄ラットは対照群よりも精巣間細胞腫の発生率が高かった。ただし、これらの腫瘍は歴史的対照群においても高率に自然発生する。 ・ 投与群雌ラットの少数例で子宮内膜腺がんと子宮平滑筋肉腫が認められた。※対照群の個体数は相対的に少なく発生率も低いいため、統計的有意とすることはできなかった。 	2	3

食品残留農薬 - 1983

FAO と WHO による共同出資

評価 1983

食品および環境中の残留農薬に関する専門家たちの FAO パネルと WHO の残留農薬に関する専門家グループの合同会議のデータおよび提言

1983 年 12 月 5 日～14 日、ジュネーヴ

国際連合食糧農業機関

1985 年 ローマ

ダミノジット

毒性(原文、1 ページ)

序説

1977 年の JMPR では、適切なラット長期毒性試験と動物における生体内変化に関する情報が欠けていたため、ダミノジットの一日摂取許容量 (acceptable daily intake : ADI) を設定することができなかった。会議で見直された催奇形性試験は、産業生物試験研究所 (Industrial Bio-Test Laboratories, IBT) によって実施され、妥当性が否定されている (FAO/WHO 1978)¹。

¹ FAOとWHOの資料の添付書類 2 を参照

毒性試験(原文、1 ページ)

催奇形性試験(原文、2 ページ)

Wistarラットの妊娠6~15日に0、300、600、1000mg/kgのダミノジット(純度99%)を毎日強制経口投与した。妊娠22日に母動物を屠殺し、胎児を調べた。毒性徴候は何も認められなかった。妊娠率、黄体数、着床率、吸収胚率、胎児死亡率、性比、胎児重量および生存胎児数に投与の影響はみられなかった。被験物質投与群に胎児異常および骨格奇形の頻度の増加は認められなかった。個体別データは得られなかった(Khera *et al.* 1979)。

発がん性試験(原文、2 ページ)

マウス

Swiss系アルビノマウスにダミノジット2%水溶液を飲水として6週齢から一生涯、投与した。一日の平均摂取量は雄が134mg、雌が170mgであり、それぞれ6.7g/kg体重/日、8.5g/kg体重/日に相当する。対照群として雌雄各100匹を供試した。ダミノジット投与群は対照群と比べて生存期間が有意に短縮した。また、血管腫(vascular tumour)、肺腫瘍(pulmonary tumour)および腎腫瘍(renal tumour)の発生率が有意に増加した。血管の腫瘍は主に肝臓の血管肉腫(hepatic angiosarcoma)と肝血管腫(hepatic angioma)であり、その発生率は、雌では対照群8%に対し投与群72%、雄では対照群5%に対し投与群74%と増加した。肺の腫瘍(lung tumour)も同様に増加し、肺腺腫(lung adenoma)と肺腺がん(lung adenosarcoma)合わせた発症率は対照群の雌15%、雄22%と比べて投与群では雌74%、雄72%と増加した。また、対照群では腎腺腫の発生は認められなかったが、投与群雄の10%で良性腎腺腫が発生した。個体別データが報告されなかったため、この試験の詳細な評価をおこなうことはできない(Toth *et al.* 1977)。

Charles River B6C3F1マウス(投与群雌雄各50匹)に、ダミノジット(5000および10000ppm、それぞれ750および1500mg/kg体重/日に相当)を104週間混餌投与した。雌雄各20匹が対照群として供試された。供試動物は、さらに1週間の観察を経てから屠殺された。試験期間中、高用量群雌マウスの平均体重は、対照群よりも低かった。しかし、マウスの死亡率はダミノジット投与による影響を受けなかった。雄マウスでは肝細胞がん(hepatocellular carcinoma)が用量依存的に増加し、10000ppm群では対照群と比べて有意に高かった。しかし、背景データでも肝細胞がんの発生率が高いことから、ダミノジット投与と肝細胞がんとの関連は不明である。また、この傾向は雌マウスには認められなかった。投与群雄における肺胞(alveolar)もしくは気管支(bronchiolar)の腺腫(adenoma)およびがん(carcinoma)の発生率は、対照群と比べて有意に高くはなかった(NCI 1978)。

ラット

Fischer 344ラット(雌雄各50匹)に、ダミノジット(5000および10000ppm:それぞれ250および500mg/kg体重/日に相当)を104週間混餌投与した

雌雄各 20 匹のラットを対照群として供試した。供試動物は、(投与終了後)さらに 1 週間の観察を経てから屠殺された。試験の終りが近づくにつれて、高用量群のラットの平均体重は僅かに減少した。全体的にラットの生存率は処理による悪影響を受けなかったが、雄ラットだけは 66 週以降試験終了時まで高い死亡率を示した。また、投与群の雄ラットは対照群よりも精巣間細胞腫(interstitial testicular cell tumour)の発生率が高かった。ただし、これらの腫瘍は歴史的対照群においても高率に自然発生する。投与群雌ラットの少数例で子宮内膜腺がん(endometrial adenocarcinoma)と子宮平滑筋肉腫(uterine leiomyosarcoma)が認められた。これらの腫瘍は対照群では認められなかったが、対照群の個体数は相対的に少なく発生率も低いため、統計的有意とすることはできなかった。とはいえ、これらの腫瘍の発生率は背景データからの予測より高かった(NCI 1978)。

コメント(原文、3 ページ)

ダミノジットは 1977 年の会議で見直しがおこなわれたが、ADI は設定されなかった。その時に見直されたラットの催奇形性試験は、IBT によって実施され、妥当性が否定されている。その後公表された試験は、催奇形性の評価には不適切であった。したがって、会議ではこの化合物の審議続行を保留した。

今後の課題もしくは情報(原文、4 ページ)

必要なもの (ADIの設定前に)

1. ダミノジットの発癌性の評価に適切なデータ
2. 適切な催奇形性試験
3. 動物における生体内変化に関する情報

以下も参照:

Toxicological Abbreviations

Daminozide (Pesticide residues in food: 1977 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1989 evaluations Part II Toxicology)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II Toxicology)

原文目次

TOXICOLOGY	1
TOXICOLOGICAL STUDIES	1
Special Study on Teratogenicity	2
Special Studies on Carcinogenicity	2
COMMENTS	3
FURTHER WORK OR INFORMATION	4
REFERENCES - TOXICOLOGY	4

略称等

略称等	正式名称（英語）	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関

ダミノジットの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : JMPR, 789. Daminozide (Pesticide residues in food: 1989 evaluations Part II Toxicology))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
慢性毒性 (経口)	イヌ	0、300、 3000、7500 ppm 混餌投与 1年間	<p>NOAEL : 7500ppm (雌 : 193 mg/kg 体重/日、雄 : 209mg/kg 体重/日に相当) (体重への影響は投与と関連しているが腎細胞腺腫は偶発との判断による)</p> <ul style="list-style-type: none"> 7500ppm 群の雌 1 匹が、336 日目に急性出血性腸炎により死亡。 3000 および 7500ppm 群の雄の体重は、試験終了時まで対照群よりもそれぞれ 5 および 5~8% 高かった。 7500ppm 群の雌 1 匹が腎細胞腺腫を発症したが、その他のイヌでは腎臓への影響なし。 	2	3
慢性毒性 ／発がん性(経口)	マウス	0、300、 3000、6000、 10000 ppm 混餌投与 105 週間	<p>非腫瘍性影響に対する NOAEL : 3000ppm (396mg/kg 体重/日に相当)</p> <ul style="list-style-type: none"> 6000 および 10000ppm 群の雄で、肝臓の褐色色素の発生が増加。 10000ppm 群の雄雌で副腎皮質に褐色色素を認め、雄では脾臓の髓外造血が増加。 10000ppm 群の雌雄と 6000ppm 群雄で、リンパ節の鬱血が増加。 全ての群で肺腫瘍の発生率が高かった。 全群の動物に血管腫と血管肉腫が認められた。 血管肉腫の発生増加率は統計的に有意ではないことから、発がん性は無いと判断された。 	3	3
慢性毒性 ／発がん性(経口)	ラット	0、100、500、 5000、10000 ppm 混餌投与 105 週	<p>NOAEL : 5000ppm (243mg/kg 体重/日に相当)</p> <ul style="list-style-type: none"> 生残率への影響なし。 10000ppm 群の雌では、心臓の比重量が対照群よりも高かった。 投与に関連すると考えられる他の非腫瘍性病変は、全投与群に見られた卵巣萎縮発生数の微増のみ。 投与と関連する腫瘍発生増加はなし。 卵巣萎縮は全用量で生じるが、その程度は 5000ppm 以下の用量では僅か。 	4	5

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
生殖毒性 (経口)	ラット	0、100、 1000、10000 ppm 混餌投与 二世代	保守的な NOAEL : 1000ppm <ul style="list-style-type: none"> 10000ppm群 : 対照群よりも交配前期間の飼料摂取量が多かった。F₀雄で飼料摂取量が僅かに増加傾向(F₁雄ではなし)。F₁-F₂の交配では交尾までの日数の延長が見られた。F₁で、離乳時の児体重が僅かに低かった。 受精率には投与の影響なし。 	4	6
生殖毒性 : 催奇形性(経口)	ウサギ	0、100、300、 1000、2000、 3000mg/kg 体重/日 強制経口投与 妊娠 7~29日 ※用量設定試験	<ul style="list-style-type: none"> 1000、2000、3000mg/kg 体重/日群の雌は、全動物がそれぞれ 25、15、9日までに死亡。 100、300mg/kg 体重/日群のそれぞれ 3/5、4/5 のウサギの死亡前に軟便や下痢あり。 300mg/kg 体重/日群の1匹は屠殺前の28日に出産、別の1匹は子宮内に生存胎児と死亡胎児が観察された。 	5	8
生殖毒性 : 催奇形性(経口)	ウサギ	0、50、150、 300mg/kg 体重/日 に強制経口投与 妊娠 7~19日	<ul style="list-style-type: none"> 300mg/kg 体重/日群の1匹は妊娠12日に死亡。 150、300mg/kg 体重/日群の一部の雌に下痢と無排便が認められた。 生殖能力に明らかな影響はなし。 胎児毒性、催奇形性はなし。 	5	8
遺伝毒性 : エームス試験	<i>Salmonella typhimurium</i>	UDMH 25 ~ 5000 µg/plate	陰性	5	7
遺伝毒性 : 染色体異常分析	チャイニーズハムスター卵巣細胞	UDMH 5 ~ 5000 µg/ml	弱陽性	5	7
遺伝毒性 : DNA修復試験	ラット肝細胞	UDMH 8.3 ~ 250 µg/ml	陰性	5	7
遺伝毒性 : 前進突然変異試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞	UDMH 50 ~ 1000 µg/ml	判定不能	5	7
遺伝毒性 : 前進突然変異試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞	UDMH 50 ~ 1000 µg/ml	陰性	5	7

ダミノジット

序説(原文、1 ページ)

1977 および 1983 年の FAO/WHO 合同会議でダミノジットの検討がおこなわれた(Annex 1, FAO/WHO 1978a, 1984)。そして、ADI (一日許容摂取量: acceptable daily intake) を検討するのに必要な情報として、以下の情報が求められた:

1. ダミノジットの発癌性を審査するのに適切なデータ
2. 適切な催奇形性試験
3. 動物における生体内変化に関する情報

本添付書類に追加データの概要を述べる。

一日許容摂取量の評価(原文、1 ページ)

生物学データ(原文、1 ページ)

生化学的観点(原文、1 ページ)

吸収、分布および排泄(原文、1 ページ)

ラット

2 匹/群の雄のSprague-Dawley系ラットに 30、300 もしくは 3000 μ gの 14 C-メチル]ダミノジットが単回経口投与された。対照群として雄ラット1匹が追加された。放射能の主要排泄経路は糞中であり、用量の 63~86% (用量依存性) が 48 時間以内に糞中に回収された。いずれの用量でも、投与された放射能の約 10%が尿中に回収された。CO₂としての排泄は用量の 2~16%を占め、用量に反比例した。48 時間後の組織中濃度は用量の 1.9~8.8%であり、用量に反比例したことから、組織内には蓄積しにくいものと考えられる。排泄は迅速で、用量の 74~87%が 12 時間以内に、91~96%が 24 時間以内に排泄された (Milad *et al.* 1984)。

24~28 匹/群の雄のSprague-Dawley系ラットに 0.05、0.5 もしくは 5mgの 14 C-ダミノジットが経皮投与された他の試験では、用量の 98.6~100%が処理部位から暴露 24 時間後まで回収された。5mgでは、用量の約 0.75%が暴露 24 時間後の屠体から回収された。屠体中の残留物は、このような短い暴露時間および低用量では無視できるものであった (Chadwick & Silveira, 1987)。

モルモット

15 匹/群のHartley系モルモットに濃度 13 もしくは 135ppmの 14 CH₃ - ダミノジット水溶液 2mlが

経口投与された。いずれの用量も、用量の約 10%が尿中に主に投与後 12 時間以内に回収された。糞中排泄は低用量では用量の 13%、高用量では 25%であり、やはり主に投与後 12 時間以内に回収された。CO₂ は 2 匹/群から採集され、低用量では投与された放射能の 46%、高用量では 13%を占めた。消化管とその内容物には、6 時間後の時点では高濃度の放射能が含まれていたが、48 時間後には用量の 1.5%だけになった。肝臓には用量の 4~5%が含まれ、6~48 時間の間に僅かに減少した。血液、肺および腎臓中の濃度は、いずれの時点でも用量の 1%未満であった。本試験での総回収率は低かった (Novak & Ambrose, 1983a)。

15 匹/群の雄のHartley系モルモットに 5 および 150ppm (実際は 5.6 および 186ppm) の¹⁴C-UDMH水溶液 2mlが経口投与された。用量の約 16~19%が尿中に 48 時間以内に回収され、そのほとんどが投与後 4 時間以内に回収された。糞中排泄は、低用量では用量の 6%、高用量では 12%であり、主に投与後 24 時間以内に回収された。CO₂ は 2 匹/群から採集され、いずれの用量においても用量の約 40%を占めた。消化管とその内容物には、2 時間後の時点では約 16%が含まれていたが、48 時間後には用量の 2~4%が含まれていた。肝臓には 2 時間後の時点で用量の 17~19%が含まれ、48 時間後には 10%にまで減少した。血液中の濃度は、2 時間後では約 3%であったのが 48 時間後には 1%となった (Novak *et al.* 1983b)。胃と十二指腸のオートラジオグラフィーでは、胃では上皮細胞に放射能が局在し、十二指腸では粘膜下部に局在することが示された。また、両組織の粘膜筋層にも非常に少量の放射能が含まれていた (Lengen & Frederick, 1984)。

生体内変化(原文、2 ページ)

組織分析により、投与された用量に対して未変化のダミノジットが 0~30%、ジメチルヒドラジンが 0~40%、1,1 - ジメチルヒドラジンが 0~3%、および未同定の代謝物が 1~30%含まれることがわかり、1,1 - ジメチルヒドラジンは過渡的な代謝物であることが示唆された (Frederick *et al.* 1984a, b)。

毒性試験(原文、3 ページ)

短期毒性試験(原文、3 ページ)

イヌ

ビーグル犬 (各群雄雌各 6 匹) に、ダミノジット (純度 99%) 0、300、3000 もしくは 7500ppm を含む飼料を 1 年間与えた。臨床的所見、体重および飼料摂取量が全試験期間中に記録された。また、生理学的検査が 3 ヶ月毎に、検視鏡検査が投与前と投与終了時におこなわれた。さらに、試験 0、6 および 12 ヶ月に血液試料を採集し、血液学および臨床化学的パラメータの分析がおこなわれた。尿試料も同時に採集された。

7500ppm 投与群の雌イヌ 1 匹が、336 日目に急性出血性腸炎により死亡した。3000 および 7500ppm 群雄イヌの体重は、試験終了時まで対照群よりもそれぞれ 5 および 5~8%高かった。これらの結果

の生物学的意義は不明である。この他にはいずれの用量においても、投与に係る影響は認められなかった。7500ppm 群の雌 1 匹が腎細胞腺腫を発症したが、その他のイヌでは腎臓への影響は何も認められなかった。なお、この試験の実施においては、低用量を飼料に混合する際に均一性を得ることが困難であったり、対照群の 1 匹を含めた少数のイヌで痙攣が生じるなど、幾つかの難点があった。しかし、体重への影響は投与と関連しているが腎細胞腺腫は偶発との判断から NOEL は 7500ppm (雌雄それぞれ 193 mg/kg 体重/日、209mg/kg 体重/日に相当) とされた (Johnson *et al.* 1988c)。

長期毒性／発がん性試験 (原文、3 ページ)

マウス¹

Charles River CD-1 マウス (各群雌雄各 50 匹) に、ダミノジット (純度 99.8%) を 105 週間混餌 (0、300、3000、6000 および 10000ppm) 投与した。臨床的所見、体重増加および飼料摂取量が全試験期間中に測定された。試験 12、18 および 24 ヶ月に各群雌雄各 10 匹から血液を採取し、血液学的検査をおこなった。105 週間後まで生存した個体は屠殺された。途中死および屠殺した全個体について詳細に剖検した。また、全個体の腎臓、肝臓および肺の組織病理学検査も実施された。屠殺された対照群および高用量群、全投与群で死亡もしくは切迫屠殺した全個体については、他の約 37 種の組織と臓器も検査した。

高用量群雄の死亡率は他の群よりも僅かに高く、死亡率 50%に達したのは他の投与群の雄では 96～103 週、雌では全投与群で 99～105 週であったのに対して、高用量投与群の雄では 85 週であった。高用量群雌の体重は 1～7 週では対照群よりも僅かに低かったが (約 5%)、残りの試験期間では全群で差異が無かった。高用量群の赤血球数は、雄では 18 ヶ月に、雌では 24 ヶ月に対照群よりも低かった。血小板数は非常に多様で、3000、6000 および 10000ppm 群の雌では平均値が対照群よりも低かったが、雄では明らかなパターンが認められなかった。6000 および 10000ppm 群の雄で肝臓の褐色色素 (恐らくヘモシデリンと胆汁色素) の発生が増加した。10000ppm 群の雄雌いずれにも副腎皮質に褐色色素を認め、雄では脾臓の髄外造血 (extramedullary hematopoiesis) が増加していた。リンパ節の鬱血 (Lymph node congestion) が、10000ppm 群の雌雄と 6000ppm 群雄で増加した。全ての群で肺腫瘍 (lung tumour) の発生率が高かった。腺腫 (adenoma) の発生率は投与群で僅かに高かったが、用量相関は認められなかった。また、全群の動物に血管腫 (hemangioma) と血管肉腫 (hemangiosarcoma) が認められ、雄では主に肝臓に、雌では主に肝臓と子宮に認められた。血管肉腫の発生数は、いずれの部位も雄雌ともに 10000ppm 投与群が対照群よりも僅かに高かった (いずれの場合も対照群 4 に対して 8)。しかし、対照群における発生数は他の投与群 (各群 0～2) よりも高かった。死亡個体に血管肉腫を最初に認めた時期は、対照群雄の 477 日目、10000ppm 群雄の 415 日目、対照群雌の 530 日目、10000ppm 群雌の 585 日目であった。血管肉腫のために死亡した個体の死亡までの平均日数は類似していた。血管肉腫の発生増加率は統計的に有意ではないことから、発がん性は無いと判断された。本試験での非腫瘍性影響に対する NOEL (無毒性量 : no observed adverse effect level) は 3000ppm (396mg/kg 体重/日に相当) であった (Johnson *et al.* 1988a)。

¹ 訳注 : 原文では Rats と記載されているが、以降の記載内容から mice の間違いと考えられる。

ラット

Charles River Fischer 344 ラット（各群雌雄各 60 匹）に、ダミノジット（純度 99.8%、29ppm の UDMH を含む）を 105 週間混餌（0、100、500、5000 もしくは 10000ppm）投与した。臨床的所見、体重および飼料摂取量が全試験期間中に測定された。眼底検査が投与前、投与開始後 12 月および 24 月に実施された。6、12、18 および 24 ヶ月に各群雌雄各 10 匹（可能であれば）から血液を採取し、血液学および臨床化学的分析を実施した。尿は血液採取前の断食中に採集した。試験 12 ヶ月時には各群雌雄各 10 匹を屠殺し、残りの動物のうちの生残個体を 24 ヶ月時に屠殺した。これらの屠殺例の副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣および精巣の各臓器重量を測定した。途中死もしくは切迫屠殺した個体は詳細に剖検し、約 36 種の組織と臓器の試料が採取された。対照群と高用量群の全個体および途中死した全個体の全組織を対象に組織病理学検査を実施した。低用量および中用量群では、肝臓、肺、腎臓、卵巣および肉眼的に異常を認めた組織を組織学的に検索した。

この試験では毎週の飼料中のダミノジット濃度の変動が大きかったが、目標値の± 20%以内には納まっていた。全体の平均濃度は、名目濃度に極めて近かった。

本試験では生残率への影響は認められなかった。105 週間後の生残率は、雄では 46~72%（高用量群で最高）で、雌では 70~78%であった。10000ppm群雄の生残数がやや高いのは、試験後半に精巣を除去した結果と思われた。10000ppm群の雌では、心臓の比重量が対照群よりも高かった。投与に関連すると考えられる他の非腫瘍性病変は、全投与群に見られた卵巣萎縮（ovarian atrophy）発生数の微増だけであった。投与と関連する腫瘍発生増加は認められなかった。

卵巣萎縮は全用量で生じるが、その程度は 5000ppm 以下の用量では僅かであった。したがって、本試験における NOAEL は 5000ppm（243mg/kg 体重/日に相当）であった（Johnson *et al.* 1988b）。

生殖毒性試験（原文、6 ページ）

ラット

CrI:CD (SD) BR ラット（雄雌各 25 匹/群）にダミノジット（純度 99.3%）0、100、1000 または 10000ppm を含む飼料を、交配前、交配・妊娠期・授乳期間中を通じて与えて二世代生殖毒性試験を行った。ラットは交配前 10 週間の投与後、雄雌 1 : 1 の割合で交配し、F₁児を得た。これらの F₁から雄雌各 25 匹/群を F₂児の親として選抜した。

いずれの世代においても 10000ppm 投与群では対照群よりも交配前期間の飼料摂取量が多かった。10000ppm 投与群の F₀雄では飼料摂取量の増加傾向が僅かに見られたが、F₁雄には認められなかった。F₁雄では試験後期に体重増加の抑制が認められた。受精率には投与の影響はみられなかったが、10000ppm 投与群の F₁-F₂の交配では交尾までの日数の延長が見られた。離乳時の児体重は、10000ppm 投与群の F₁で僅かに低かった。病理学的変化は認められなかった。

僅かではあるが、ある程度の一貫性のある影響が示されたことと、さらなる一腹児を欠いていたことから、保守的な NOEL は 1000ppm に設定された (MacKenzie *et al.* 1987)。

変異原性試験

UDMH は *in vitro* での変異原性試験において、4 試験中 3 試験で陰性であった。4 つ目の試験では弱陽性の結果が得られたが、HCl が希釈剤として用いられており試験方法に問題があった。最初の前進突然変異試験の結果は判定不能であったが、再試験では陰性と判定された (表 1)。

表 1. UDMH の変異原性試験の結果

試験方法	試験対象	UDMH 濃度	結果	参考文献
エームス試験 ^a	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538 TA98, TA100 株	25~5000 μg/plate	陰性	Stankowski & Naismith, 1986
染色体異常試験 ^a	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (CHO-K1-BH4, lot #A-12)	5~5000 μg/ml	弱陽性 ^b	San Sebastien & Naismith, 1986
DNA 修復試験	ラット肝細胞	8.3~250 μg/ml	陰性	Barfknecht & Naismith, 1986
前進突然変異試験 ^a	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (CHO-K1-BH4)	50~1000 μg/ml	判定不能	Stankowski & Naismith, 1987
前進突然変異試験 ^{a,c}	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (CHO-K1-BH4)	50~1000 μg/ml	陰性	Stankowski, 1988

^a 代謝活性化存在および非存在下にて。

^b 試験方法の妥当性が疑問。HCl が希釈剤として用いられた。

^c 上記試験の再検証試験。

催奇形性試験 (原文、8 ページ)

ウサギ

予備試験では、5 匹/群の未経産雌 Dutch-Belted ウサギを人工受精させた。妊娠 7~29 日に、0、100、300、1000、2000 または 3000mg/kg 体重/日のダミノジット (純度 99%) を強制経口投与した。受精日を妊娠 0 日とし、妊娠 28 日に母動物を屠殺して胎児を調べた。

1000、2000 および 3000mg/kg 体重/日投与の雌は、全雌ウサギがそれぞれ 25、15 および 9 日までに死亡した。100 および 300mg/kg 体重/日投与群のそれぞれ 3/5 および 4/5 のウサギの死亡前に軟便や下痢が認められた。300mg/kg 体重/日投与の雌の 1 匹は、妊娠 28 日の屠殺前に出産した。また、300mg/kg 体重/日投与の 1 匹のウサギの子宮内に生存胎児と死亡胎児が観察された。(Schardein *et al.* 1985a)。

上記試験の結果に基づいて、ダミノジット 0、50、150 または 300mg/kg 体重/日の投与量を用いて本試験がおこなわれた。16 匹/群の人工受精をおこなった未経産 Dutch Belted 雌ウサギの妊娠 7～19 日に強制経口投与を行った(受精日を妊娠 0 日とした)。全試験期間中を通じて、臨床的所見、体重および飼料摂取量を記録した。妊娠 28 日に母動物を屠殺し、胎児の体重を測定し、外表、内臓および骨格の異常を調べた。

300mg/kg 体重/日投与の 1 例の雌は妊娠 12 日に死亡した。下痢と無排便が 150 および 300mg/kg 体重/日投与の一部の雌に認められた。生殖能力に明らかな影響は認められなかった。胎児毒性または催奇形性は認められなかった。

コメント(原文、9 ページ)

経口投与の場合、ダミノジットはラットとモルモットでは速やかに排泄される。吸収は用量依存性であり、高用量では投与量の大部分が糞中に排泄された。ラットでは、主要排泄経路は糞中であり、尿や呼気CO₂に排泄される量はこれよりも少なかった。組織分析は生体内変化による非対称ジメチルヒドラジン (UDMH、1,1-ジメチルヒドラジン) と、その後1,1-ジメチルヒドラゾンへの変換を示唆した。

モルモットに経口投与した放射性標識化UDMHは、主にCO₂として排泄された。肝臓中の濃度が高い傾向にあり、2 時間後では用量の 10%が肝臓に残っていた。

イヌにおける 1 年間のダミノジット混餌試験における NOAEL は、7500ppm (200mg/kg 体重/日に相当)であった。

マウスにおける 2 年間の混餌試験では、ダミノジット 10000ppm (UDMH 29ppm を含む) の混餌が、肝臓における褐色色素の蓄積を招いた。肺腺腫 (pulmonary adenoma) の発生が全投与群で対照群よりも若干高かったが、いずれも統計的に有意ではなく (6000ppm 投与群の雄を除く)、用量依存性でもなかった。10000ppm 投与群では、雄は肝臓の、雌は子宮の血管肉腫 (hepatic and uterine hemangiosarcomas) の発生が増加したが、これらの増加も統計的有意ではなかった。したがって、会議ではダミノジットはマウスに非発癌性であると結論づけられた。NOAEL は 3000ppm (396mg/kg 体重/日に相当)であった。ラットにおける 2 年間の混餌試験でも、ダミノジット (UDMH29ppm 含有) は非発癌性であった。NOAEL は卵巣萎縮 (ovarian atrophy) に基づき 5000ppm (243mg/kg 体重/日に相当)とされた。

ウサギにおいて、ダミノジットは母体毒性が 150mg/kg 体重/日以上用量で認められたが、300mg/kg 体重/日で胎児毒性でも催奇形性でもなかった。1世代あたりの1産仔でのラット二世世代生殖試験において、NOAELは飼料中1000ppm (59mg/kg 体重/日に相当)であった。

染色体異常試験でUDMHは弱陽性であったが、他の変異原性試験では陰性であった。会議では、UDMHの発癌性に関する生物検定が進行中であることが知らされた。

ダミノジットの不純物および分解産物であるUDMHは、食品中の残留ダミノジットの微量成分として生じる（‘残留物’の項を参照）。発癌性に関する生物検定に用いられているダミノジットはUDMHが混入しており、また、ダミノジットの一部は *in vivo*でUDMHに変換されることから、会議は両化合物とも適切に生物検定が実施されたものと判断し、したがって入手可能データはダミノジットとその残留物の審査に適切なものであると結論づけた。

毒性学的評価(原文、10 ページ)

毒性効果を生じない濃度

- マウス： 飼料中 3000ppm、396mg/kg 体重/日に相当
- ラット： 飼料中 1000ppm、50 mg/kg 体重/日に相当（生殖毒性に基づく）
- イヌ： 飼料中 7500ppm、200 mg/kg 体重/日に相当

ヒトに対する一日摂取許容量の推定

0~0.5mg/kg bw *

本化合物の継続的評価に有用な情報を与える試験

1. 現在進行中であるラットとマウスにおけるUDMHの発癌性に関する生物検定の結果
2. 実験動物におけるダミノジットからUDMHへの変換に関する定量的データ
3. ヒトにおける所見

* 30ppm未満のUDMHを含むダミノジット

以下も参照：

Toxicological Abbreviations

Daminozide (Pesticide residues in food: 1977 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1983 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II Toxicology)

原文目次

EXPLANATION	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE.....	1
BIOLOGICAL DATA.....	1
Biochemical aspects	1
Absorption, distribution and excretion.....	1
Biotransformation.....	2
Toxicological studies.....	3
Short-term study.....	3
Long-term/carcinogenicity studies.....	3
Reproduction study.....	6
Special study on teratogenicity	8
COMMENTS.....	9
TOXICOLOGICAL EVALUATION	10
REFERENCES	11

略称等

略称等	正式名称 (英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
WHO	World Health Organization	世界保健機関
UDMH	Unsymmetrical Dimethyl Hydrazine	非対称ジメチルヒドラジン

ダミノジットの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : JMPR, 825. Daminozide (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II
Toxicology))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
長期毒性/ 発がん性(経口)	マウス	UDMH 脱イオン水溶液 雄 : 0、1、5、10 ppm 雌 : 0、1、5、20 ppm 24 ヶ月	<p>NOAEL : 5ppm (1.41mg/kg 体重/日に相当) (20ppm 群雌の肺腫瘍の発生率増加に基づく)</p> <ul style="list-style-type: none"> 10ppm 群の雄のみで、死亡率が有意に増加。 肉眼的病理所見では、12~24 ヶ月に肺の腫瘍や結節を認めた。発症率は、雄で、対照群 : 21%、5ppm 群 : 47%、(ただし、10ppm 群 : 26%)。雌では対照群 : 12%、20ppm 群 : 43%。 肺の腫瘍発生率が 20ppm 群雌で増加。肺胞気管支腺腫は 20/49 (対照群では 5/49)、肺胞気管支腺がんは 7/49 (対照群では 1/49) であった。発生率の差異は統計的に有意。 	1	1
長期毒性/ 発がん性(経口)	マウス	UDMH 脱イオン水溶液 0、40、80ppm 24 ヶ月	<p>投与群では高い死亡率と強い毒性が認められたことから、高用量・低用量のいずれも MTD (最大耐量 : maximum tolerance dose) 以上であったと考えられる。この試験から NOAEL は導き出せない。</p> <ul style="list-style-type: none"> 試験終了時の死亡率は、0、40、80ppm 群において、雄 : 70%、76%、98%、雌 : 58%、92%、92%。死亡率は雄雌ともに最高用量で有意に増加。 試験終了時における腫瘍の発生率は、0、40、80ppm 群で、雄 : 54%、73%、51%、雌 : 31%、53%、56%。 	2	3

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
長期毒性/ 発がん性	ラット	UDMH 脱イ オン水溶液 0、1、50、 100 ppm	<p>飲水中の UDMH の NOAEL : 1ppm (0.09mg/kg 体重/日に相当)</p> <ul style="list-style-type: none"> 肝細胞腫瘍の発生率は、50ppm および 100ppm 群の雌ラット (いずれも 10%) で対照群 (0%) よりも増加。雄ラットでは増加を認めなかった。 UDMH 0、1、50、100ppm 群雌ラットの肝細胞腺腫の発生率はそれぞれ 0%、2%、4%、2%、肝細胞がんは 0%、0%、6%、8%。 雌の F344 ラットでは極めて発生頻度の低い肝細胞がんが他の毒性影響をほとんど及ぼさない用量で増加したことから、雌ラットに対する UDMH の発がん作用が強く示唆された。 	3	5

ダミノジット

Dr. S. Caroli 作成の原案、
パドヴァ大学、
イタリア、パドヴァ

序説(原文、1 ページ)

ダミノジットはこれまでに 1977、1983 および 1989 年に合同会議で評価がおこなわれた（付則 1、28、40 および 56）。1989 年にはダミノジット（不純物およびダミノジット分解産物である 1,1-ジメチルヒドラジン（UDMH）を 30ppm 未満含有）の ADI が、ラット生殖試験に基づいて 0.5mg/kg bw・day に設定された。この時、会議では UDMH の発がん性に関する生物検定が進行中であることが知らされた。ラット 1 つ、マウス 2 つの計 3 つの長期発がん性試験 が 1991 年の FAO/WHO 合同会議に提出・評価された。

摂取許容量の評価

毒性試験(原文、1 ページ)

長期毒性／発がん性試験(原文、1 ページ)

マウス(原文、1 ページ)

Charles River CD-1 マウス（各群雌雄各 90 匹：試験開始時は約 6 週齢）に、UDMH 脱イオン水溶液（0、1 もしくは 5ppm：それぞれ雄は 0、0.19、0.97 mg/kg 体重/日、雌は 0、0.27、1.4mg/kg 体重/日に相当、酸性 pH を中和するためクエン酸塩緩衝液を 25%混合）を 24 ヶ月与えた。加えて、90 の雄に 10ppm（1.9mg/kg 体重/日に相当）、90 匹の雌に 20ppm（2.7mg/kg 体重/日に相当）を与えた。被験物質（1 N の塩酸中に 100mg/ml）は生産者から 26 ロットが提供され、IRDC の分析によるとそれらは名目濃度の 93～115%の濃度範囲であった。被験物質溶液は週 3 回調製し動物へ与えた（いずれの濃度も 3 日間安定）。実際の飲水中の UDMH 含有量が毎月 2 回検査され、設定濃度 1、5、10、20ppm のそれぞれで 102%、100%、100%および 101%であることが示された（51 回の検査の平均）。飼料と水は自由に（*ad libitum*）摂取できるようにした（Goldenthal, 1989b）。

いずれの投与群も、一日の飼料摂取量および摂水量は同様であり、用量に相関するような体重への影響は認められなかった。試験開始後 6、12、18 および 24 ヶ月に、各群雌雄各 10 匹から採血し、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数および白血球画分を測定した。また、試験開始後 24 ヶ月には各群雌雄各 10 匹に対して生化学検査として、総ビリルビン、アルカリ性ホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）およびソルビトールデヒドロゲナーゼを測定した。試験開始後 18 ヶ月に 5 および 20ppm 群の雌マウスで、いくつかの血液学的パラメータに統計的に有意だが生物学的には重要

ではない変化が認められたが、24ヶ月にはこれらは消失した。また、24ヶ月の生化学検査では毒性を示唆する結果は何も無かった。試験終了時の死亡率は、雄の0、1、5および10ppm群でそれぞれ48%、54%、52%および68%、雌の0、1、5および20ppm群でそれぞれ60%、50%、64%および76%であった。死亡率が有意に増加したのは10ppm群の雄だけであった。途中死個体についてはその都度、8および12ヶ月に各群雌雄各20匹を、24ヶ月に生残個体を病理学的に検索した。肉眼的病理所見では、12~24ヶ月に肺の腫瘍や結節を認めた。雄の発症率は対照群（21%）に対して5ppm群（47%）で増加が認められたが10ppm群（26%）では増加は無かった。雌では対照群（12%）に対して20ppm群（43%）で増加が認められた。

病理組織学検査では、雄雌ともにいずれの用量で様々な非腫瘍性および腫瘍性病変を認めた。雌雄ともに肝臓の褐色色素が用量相関的に増加していた。色素を同定するための特殊染色はおこなわなかったが、色素はセロイド色素もしくはリポフスチン、時にはヘモシデリン色素あるいは胆汁色素のようであった。また、褐色色素は最高用量群の8および12ヶ月に屠殺した雄マウスの数例に認められたが、他の投与群には認められなかった。肺の腫瘍（pulmonary neoplasms）の発生率が20ppm群雌で増加し、肺胞気管支腺腫は20/49（対照群5/49）、肺胞気管支がん腫は7/49（対照群1/49）であった。発生率の差異は統計的に有意であり、肺腫瘍発生統計的陽性傾向が認められた。雌の対照群におけるこれらの腫瘍の発生率は、IRDC社の背景データ（腺腫6/69およびがん腫2/69）の範囲内であった。雄のマウスでは、肺腫瘍の発生はUDMH10ppmまで増加しなかった。また、10ppm群雄の死亡率は統計的に有意に増加していたが、これらの動物には臨床的にも形態的にも毒性徴候が認められなかったことから、偶発的であると考えられる。この死亡率はIRDC社で同系統の動物で実施されたその後の試験の対照群での死亡率と差が無かった。20ppm群雌の肺腫瘍の発生率増加に基づき、この試験におけるNOAELは5ppm（1.41mg/kg体重/日に相当）である（Goldenthal, 1989）。

Charles River CD-1 マウス（各群雌雄各 90 匹、試験開始時は約 6 週齢）に UDMH 脱イオン水溶液（0、40 もしくは 80ppm：一日平均摂取量にすると、雄は 0、7.34、13.0mg/kg 体重/日、雌は 0、11.59、21.77mg/kg 体重/日に相当、酸性 pH を中和するためクエン酸緩衝液を 25%混合）を 24 ヶ月与えた。被験物質は前記試験で供給されたものと同じであった。被験物質溶液は週 3 回調製して動物に与え、いずれの濃度も安定であった。実際の飲水中の UDMH 含有量は毎月 2 回検査され、設定濃度 20 および 40ppm のそれぞれ 103%および 102%であった（54 回の検査の平均）。飼料と水は自由に（*ad libitum*）摂取できるようにした。

最高用量群は生残個体が少なく、週によってデータの変動が大きかったことにより、平均体重、摂水量および飼料摂取量の評価は困難になった。試験期間中、40ppm群の雌雄と80ppm群の雄では用量に相関するような体重の変動は認められなかった。80ppm群雌の体重は、UDMH投与終了前の6ヶ月間は（対照群に比して）約10%減少した。一日飼料摂取量の有意な減少が散見されたことから最高用量群の雌雄ともに試験の最後数ヶ月の平均飼料消費量は減少したと思われる。両UDMH濃度群で摂水量が減少し、雄は全試験期間を通じて、雌は最初の13週間だけに認められた。雄では一部の血液学的パラメータに用量に相関する変動が、80ppm群では試験開始後6ヶ月以降に、40ppm群では12ヶ月後以降に認められたが、雌では認められなかった（なお生残個体が少数の24ヶ月は統計的評価が困難であったので除く）。アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）とソルビトールデヒドロゲナー

ゼが投与後12月に、いずれの投与群の雌雄で有意に増加したが用量相関性はなかった。試験終了時の死亡率は、0、40および80ppm群において、それぞれ雄は70%、76%、および98%、雌は58%、92%および92%であった。死亡率は雄雌ともに最高用量で有意に増加した。剖検時、肝分葉の増加がいずれの用量の雄マウスに認められたが、雌では認められなかった。また、いずれの用量においても肺の結節の増加と肝臓の結節/腫瘍の増加が、雄では8ヶ月以降に、雌では12ヶ月以降に認められた。病理組織学検査では、多発性慢性炎症 (multifocal chronic inflammation: 全投与群の雄で主に12~24ヶ月に)、肝細胞の肥大と壊死 (全投与群の雄で全試験期間を通じて)、褐色色素 (全投与群の雄雌で0~8ヶ月後以降試験終了まで) など幾つかの肝臓毒性徴候が認められた。特殊染色を行って色素を同定した。ヘモシデリン、胆汁色素、セロイド、リポフスチン、コラーゲンおよび細網がいずれも増加した。脾臓の髄外造血 (extramedullary haematopoiesis) が、雄雌ともに12ヶ月後以降に増加した。試験終了時の肝臓における血管の腫瘍 (vascular neoplasm) (血管腫haemangiomaと血管肉腫haemangiosarcoma合わせて) の発生率は、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は9%、67%および81%、雌は4%、26%および82%であった。8~12ヶ月の間に計画屠殺/途中死したマウスの肺胞/気管支腫瘍 (alveolar/bronchiolar neoplasm) の発生率は、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は18%、45%および55%、雌は14%、50%および48%であった。試験終了時におけるこれらの腫瘍の発生率は、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は54%、73%および51%、雌は31%、53%および56%であった。投与群では高い死亡率と強い毒性が認められたことから、高用量・低用量のいずれもMTD (最大耐量: maximum tolerance dose) 以上であったと考えられる。この試験からNOAELは導き出せない (Goldenthal, 1990)。

ラット (原文、5 ページ)

Charles River Fischer 344 ラット (各群雌雄各 70 匹、試験開始時は約 6 週齢) に、UDMH 脱イオン水溶液 (0、1、50 および 100ppm: 試験期間中の一日平均摂取量にすると、雄は 0、0.07、3.2、6.2mg/kg 体重/日、雌は 0、0.1、4.5、7.9mg/kg 体重/日に相当、酸性 pH を中和するためクエン酸緩衝液を 25%混合) を 24 ヶ月与えた。被験物質 (1 N の塩酸中に 100mg/ml) は異なった 26 ロットが生産者から提供され、名目濃度の 93~115%を含有していた。被験物質溶液は週 3 回調製し動物に与えた (いずれの濃度も 3 日間安定)。実際の飲水中の UDMH 含有量が毎月 2 回検査され、設定濃度 1、50 および 100ppm のそれぞれに対して 102%、103%および 103%であった (51 回の検査の平均)。飼料と水は自由に (*ad libitum*) 摂取できるようにした。

100ppm群の雄と50および100ppm群の雌では、統計的有意であるが僅かな体重の減少 (2~5%) が認められた。飼料摂取量は各群間に差異は認められなかった。UDMHを投与したいずれの濃度群のラットで、摂水量の減少が散見された。摂水量の減少は50および100ppm群で継続的に見られ、雄は試験終了前の20週間、雌は全試験期間を通して認められた。血液学パラメータの変化はいずれの時期にも認められなかった。いずれの投与群でも試験期間中にUDMHに起因する毒性徴候は認められなかった。試験終了時の死亡率はUDMH 0、1、50および100ppm群でそれぞれ、雄は36%、36%、28%および18%、雌は32%、24%、28%および10%であった。12ヶ月後の計画屠殺時には、肉眼的にも顕微鏡的にも病変は認めなかった。24ヶ月の屠殺時の肉眼的病理所見はいずれの群も同様であったが、投与群雌の角膜混濁 (cloudy cornea) の発生率 (対照、50および100ppm群でそれぞれ 27%、37%および41%)

が微増した。この肉眼的変化は組織学的に角膜の石灰沈着 (corneal mineralisation) の発生率の高さに対応していた。投与と関連する肝臓の形態的变化は認められなかった。下垂体腺腫 (pituitary adenoma) の発生は、100ppm群雌で56%であり、対照群雌の32%よりも増加した。肝細胞腫瘍 (hepatocellular neoplasm) の発生率は、50ppmおよび100ppm群の雌ラット (いずれも10%) で対照群 (0%) よりも増加したが、雄ラットでは増加を認めなかった。UDMH 0、1、50および100ppm群雌ラットの肝細胞腺腫 (hepatocellular adenoma) の発生率はそれぞれ0%、2%、4%および2%、肝細胞がん (hepatocellular carcinoma) は0%、0%、6%および8%であった。IRDC社での2年間の慢性試験における雌のFischerラットの肝細胞がん発生背景データは0.5% (ラット370匹あたり2例) であり、この試験での低い発生率と一致した。雌のF344ラットでは極めて発生頻度の低い肝細胞がんが他の毒性影響をほとんど及ぼさない用量で増加したことから、雌ラットに対するUDMHの発がん作用が強く示唆された。本試験における飲水中のUDMHのNOAELは1ppmであり、0.09mg/kg 体重/日に相当する (Goldenthal, 1989a)。

コメント(原文、6 ページ)

不純物および分解産物である非対称ジメチルヒドラジン (UDMH) の発がん性に対する懸念から、1989年のJMPR (FAO/WHO合同残留農薬専門家会議: Joint Meeting on Pesticide Residues) は進行中のラットとマウスにおけるUDMHの発がん試験の結果、動物実験によるダミノジットからUDMHへの変換に関する定量的データ、およびヒトの所見の提供を求めた。

UDMH を 0、1、5、10 (雄)、20 (雌)、40 もしくは 80ppm 含有する飲水を 2 年間マウスに投与すると、雌マウスでは 20ppm 群で肺腫瘍の発生を増加させたが、5ppm 群 (1.4mg/kg 体重/日に相当) では増加は認めなかった。また、雄マウスは 10ppm までの投与では増加しなかった。40 および 80ppm の高用量で雌雄ともに肺と肝臓に腫瘍が生じたが、肝毒性と死亡率が高いために評価が困難であった。

UDMH を 0、1、50 もしくは 100 ppm を含有する飲水をラットに投与すると、50ppm および 100ppm 群の雌に肝細胞がんが誘発されたが、雄ではいずれの濃度でも誘発されなかった。下垂体腺腫の発生も雌において 100ppm 群で増加した。しかし、1ppm (0.09mg/kg 体重/日に相当) では UDMH はラットに発がん性を示さなかった。

JMPR は、F344 雄ラットを用いた精度が高く迅速な *in vivo* 生物検定でダミノジットと UDMH に発がん可能性が無いことに注目した (Cabral *et al.*, 1991)。

JMPR は、これらの生物検定の結果は、最高 30mg/kg の UDMH を含むダミノジットのこれまでの発がん性の評価結果と一致すると判断し、ラット多世代試験で認められた影響から得られた最少無毒性量に基づき、100 倍の安全係数を用いて設定されたこれまでの ADI の妥当性を確認した。

実験動物におけるダミノジットから UDMH への変換に関する定量的データを要求していたが、提出されなかった。適切なヒトおよびラットの *in vitro* の系による (ダミノジット/UDM 変換を定量的に示す) 比較試験が特に重要と考える。

以下も参照:

Toxicological Abbreviations

Daminozide (Pesticide residues in food: 1977 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1983 evaluations)

Daminozide (Pesticide residues in food: 1989 evaluations Part II Toxicology)

原文目次

EXPLANATION	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE INTAKE	1
Toxicological studies.....	1
Long-term/carcinogenicity studies.....	1
Mice.....	1
Rats	5
COMMENTS.....	6
REFERENCES	7

略称等

略称等	正式名称 (英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting of Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家 会議
MTD	maximum tolerance dose	最大耐量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
WHO	World Health Organization	世界保健機関
UDMH	Unsymmetrical Dimethyl Hydrazine	非対称ジメチルヒドラジン

ダミノジットの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書：EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Plant protection products and their residues (PPR) related to the evaluation of daminozide in the context of Council Directive 91/414/EEC.)

ダミノジットの毒性データ

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
発がん性	ラット	記載なし	有意な毒性や致死作用から、ダミノジットの最大耐量は20,000ppm以上であった。	11	9
発がん性	ラット	記載なし	<ul style="list-style-type: none"> 雄ラットでは腫瘍の増加はなし。 雌ラットでは子宮腫瘍の微増が認められたが統計的な有意性はない。 	11	9
発がん性	マウス	記載なし	<ul style="list-style-type: none"> 雌マウスでは腫瘍の増加はなし。 雄マウスにおける肝腫瘍の増加は、この腫瘍は自然発生率が高くまた発生頻度は変動的であるため有意ではない。 		
発がん性 (経口)	ラット	最大 10000ppm (約 500mg/kg 体重/日) 混餌投与	有意な催腫瘍性なし。	12	9
発がん性 (経口)	マウス	最大 10000ppm (約 1500mg/kg 体重/日) 混餌投与	有意な催腫瘍性なし。	12	9
発がん性	(結論)		PPR 委員会はこれらの試験結果からダミノジットはラットとマウスに発がん性はないと判断。	12	9

1,1-ジメチルヒドラジン (UDMH) の毒性データ

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
------	-------	-------------	----	-----------	----------

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
発がん性	ラット	UDMH 脱イオン水溶液 0、1、50、 100 ppm	<p>NOAEL : 飲水中の UDMH1ppm (0.09mg/kg 体重/日に相当)</p> <ul style="list-style-type: none"> 肝細胞腫瘍の発生率は、50ppm および 100ppm 群の雌ラット (いずれも 10%) で対照群 (0%) よりも増加。雄ラットでは増加せず。 UDMH 0、1、50、100ppm 群雌ラットでの、肝細胞腺腫の発生率はそれぞれ 0%、2%、4%、2%、肝細胞がんの発生率は 0%、0%、6%、8%。 雌の F344 ラットに毒性影響を及ぼさない用量で、ほとんど自然発生しない肝細胞がんが増加したことから、UDMH は雌ラットに発がん作用があることを示唆。 	13	10
発がん性	ラット	[1]ダミノジット単独 (飼料中 20000ppm) [2]UDMH 単独 (飼料中濃度 75、150、300 ppm) [3]ダミノジットと UDMH の複合混餌	<p>肝臓の GST-P 陽性細胞巢の数や大きさの増加は誘導されなかった。ダミノジット単独、UDMH 単独、両者の組み合わせ、のいずれも発がん性を有しないことを示唆している、との解釈もありうる。</p>	14	11
発がん性	マウス	UDMH 脱イオン水溶液 雄：0、1、5、 10 ppm 雌：0、1、5、 20 ppm 24 ヶ月	<p>NOAEL : 5ppm (1.41mg/kg 体重/日に相当) (20ppm 群雌の肺腫瘍の発生率増加に基づく)</p> <ul style="list-style-type: none"> 10ppm 群の雄のみで、死亡率が有意に増加。 肉眼的病理所見では、12~24 ヶ月に肺の腫瘍や結節を認めた。発症率は、雄で、対照群：21%、5ppm 群：47%、(ただし、10ppm 群：26%)。雌では対照群：12%、20ppm 群：43%。 血管肉腫の発生数は、雌の 0、1、5、20 ppm 群で、3/49、2/48、1/48、5/49。 肺の腫瘍発生率が 20ppm 群雌で増加。肺胞/気管支腺腫は 20/49 (対照群では 5/49)、肺胞/気管支がん腫は 7/49 (対照群では 1/49) であった。発生率の差異は統計的に有意。 	15	12

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
発がん性	マウス	UDMH 脱イオン水溶液 0、40、80ppm 24ヶ月	NOAEL は特定されなかった。 <ul style="list-style-type: none"> 試験終了時の死亡率は、0、40、80ppm 群において、雄：70%、76%、98%、雌：58%、92%、92%。死亡率は雄雌ともに最高用量で有意に増加。 試験終了時における腫瘍(血管腫、血管肉腫、肺胞/気管支腫瘍)の発生率は、0、40、80ppm 群で、雄：54%、73%、51%、雌：31%、53%、56%。 明らかな毒性を惹起する最大耐量を超える用量で発がん作用があった。 	17	13
発がん性	(結論)		総合的にみて、UDMH は数 mg/kg 体重/日の用量で雌ラットおよびマウスに発がん作用があると考えられる。	19	15
遺伝毒性： <i>in vitro</i> 復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i>		TA100、TA1535、TA1537 および TA1538 株を用いた膨大な数の研究があり、大部分は、陰性の結果である。	7	5
遺伝毒性：DNA 鎖切断	ラット肝細胞		逆向きの用量反応が認められ、0.03 mM で++、0.3mM で+、および 3mM で-。	8	6
遺伝毒性： <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫 L5178Y 細胞		<ul style="list-style-type: none"> チミジンキナーゼ遺伝子座 (TK +/-) の遺伝子突然変異試験において、代謝活性化系 (S9 ミックス) 存在および非存在下で陽性。 別の試験では、TK 遺伝子座の突然変異が認められたが、ウアバイン抵抗性遺伝子座やシトシンアラビノシド抵抗性遺伝子座では認められなかった。 UDMH の酸化防止措置の有無については不明。 	8	6
遺伝毒性： <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスター細胞		<ul style="list-style-type: none"> V79 肺細胞の HPRT 遺伝子座については陽性。UDMH の酸化防止措置の有無については不明。 卵巣細胞については、不明瞭な試験結果や結論づけられない試験結果。 	8	6
遺伝毒性： <i>in vitro</i> 染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞		<ul style="list-style-type: none"> 代謝活性化系 (S9 ミックス) 存在および非存在下で陽性。 UDMH の酸化防止の有無について記載なし。 	8	6

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
遺伝毒性： <i>in vitro</i> 不定期 DNA 合成	ラット あるいはマウス初代肝細胞		<ul style="list-style-type: none"> 雄の F344 系ラットと ACI/N 系ラットの 2 つの試験において、外因性代謝活性化系非存在下で陰性。 C3HeN 系マウスの初代肝細胞を用いた外因性代謝活性化系非存在下での試験では、最高供試濃度 (1mM) で陽性。ただし、UDMH の純度および酸化防止の有無について記載なし。 	9	6
遺伝毒性： <i>in vivo</i> 小核試験	マウス 骨髄細胞		<ul style="list-style-type: none"> 複数の試験で、陰性、陽性の結果が得られている。これらの試験結果から、いずれの小核試験も骨髄が標的ではないことが示唆される。 UDMH の純度と酸化防止措置の有無が不明、互いに独立した研究機関による試験結果の立証がなされていないため、明確な評価ができない。 	9	7
遺伝毒性： <i>in vivo</i> DNA 断片化	マウス		単回および反復投与後の肝臓では陰性、肺については反復投与後のみ陽性。 ※この試験の投与量は LD ₅₀ 値に近く、結果の妥当性は疑わしい。	9	7
遺伝毒性： <i>in vivo</i> コメットアッセイ	マウス	50mg/kg 体重 腹腔内投与 50、100 mg/kg 体重 経口投与	<ul style="list-style-type: none"> 腹腔内投与では 3 時間後に肝臓および肺で、24 時間後に肺で陽性。 経口投与では 3 時間後に肝臓、肺、胃および結腸で陽性。腎臓、膀胱、骨髄および脳は常に陰性。 UDMH の酸化防止措置の有無について記載なし。 	10	7
遺伝毒性： <i>in vivo</i> 優性致死試験	マウス		陰性。	10	7
遺伝毒性： <i>in vivo</i> 不定期 DNA 合成試験	ラット (腎細胞)		陰性。	10	7
遺伝毒性	(結論)		<u>酸化防止措置をおこなった UDMH</u> を用いて行われた <i>in vitro</i> 試験において有効な結果に基づいて (<i>in vivo</i> 試験は有効でない)、PPR パネルは、酸化防止措置をおこなった UDMH が遺伝毒性を示す証拠は全くないと結論づけた。	10	8

理事会指令 91/414/EECに即したダミノジッドの評価に関する委員会の要請による植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネルの意見書¹

(質問 N° EFSA-Q-2003-120)

2004年5月11日採択

意見の要約

現在、既存の活性物質ダミノジッドを理事会指令 91/414/EEC の付則 I に盛り込むかどうかの見直しがおこなわれている。ダミノジッドの推奨用途は、温室内での観賞植物の植物成長調節剤としての使用である。代謝物 UDMH と、それらがダミノジッド散布作業者もしくはダミノジッド施用後の観賞植物の温室に再入場した圃場労働者に及ぼす潜在的影響に関する問題が、まだ解決されていない。

RMSは、UDMHが遺伝毒性および発がん性であることは否定できないが、ダミノジッドの使用とそれによるUDMH暴露による作業や圃場労働者へのリスクは極めて低いと判断した。しかし、この主張は全加盟国に認められなかったため、欧州委員会の保健・消費者保護総局は以下の案件について“植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネル” (Scientific Panel on Plant health, Plant protection products and their Residues : PPRパネル) に意見を求めた：「植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネルは、齧歯類のUDMHに対する発がん反応の作用機構に関する意見を述べ、この作用に対する閾値を導き出すことが可能か否かを示すこと。もし、これが可能であれば、PPRパネルはその値を示すこと」。

PPR パネルはこの案件に対して、入手可能なデータに基づき、齧歯類における UDMH の発がん作用の機構を特定することは不可能であると結論づけている。精製もしくは酸化防止措置をおこなった UDMH の遺伝毒性に関する *in vitro* での実験証拠や *in vivo* 実験は入手可能ではない。また、PPR パネルは、ダミノジッドを用いた長期試験の明らかな矛盾として、この長期試験では直接投与の試験で発がん性が認められた用量よりも少なくとも一

¹ 引用する場合 : Opinion of the Scientific Panel on Plant Health, Plant Protection Products and their Residues on a request from the Commission related to the evaluation of daminozide in the context of Council Directive 91/414/EEC, *The EFSA Journal* (2004), 61, 1-27.

桁多い量の UDMH が代謝生成されるはずの用量でもラットとマウスに発がん性を引き起こさなかったことを指摘した。さらに、ある試験ではラットへの UDMH の経口投与後のグアニンN7位のメチル化作用がダミノジッドのデータと比べて50倍も高いことがわかった。したがって、PPR パネルは経口投与した UDMH の発がん性機構に関する結論は全てある程度の不確実性が含まれていると認識しなければならないと考えた。PPR パネルは遺伝毒性機構に関する実験証拠が重要であると結論づけた。

非遺伝毒性機構の中で、細胞増殖の調節変化やホルモンバランスの乱れは遺伝毒性が形を変えて現れたものであるが、これらの機構は特別に調べられたことがないため、現時点ではこれらが関与する機構に関するより明確な結論は得られない。

ラットおよびマウスにおける UDMH の発がん性試験では、それぞれ 0.09mg/kg 体重/日および 1.41mg/kg 体重/日で何も影響は認められなかった。

UDMH に認められた発がん性が非遺伝毒性機構によるものであるならば、上記の用量は毒性的な閾値として考えてよいはずである。しかし、この機構に関する不確実性と UDMH が温室条件下で遺伝毒性を有する酸化誘導体を形成する可能性があることを考え合わせ、PPR パネルはこれらの用量を閾値とした使用には厳重な注意を払わないとならないと結論づけている。

キーワード：ダミノジッド、植物成長調節剤、観賞植物、毒性、遺伝毒性、発がん性

目次

Summary of Opinion	1
Table of contents	2
Background	2
Terms of reference.....	3
Assessment	3
1.1. Introduction.....	3
1.2. Metabolic and kinetics studies on daminozide/UDMH	4
1.3 Mutagenicity studies in vitro and in vivo of UDMH	5
1.3.1 In vitro assays.....	5
· Mutations at the gene level in prokaryotes	5
· DNA fragmentation in vitro	6
· Mutations at the gene level in mammalian cells	6
· Mutations at the chromosomal level	6
· Unscheduled DNA synthesis	6
1.3.2 In vivo assays.....	7
1.3.3 Evaluation of UDMH genotoxicity by PPR Panel	8
1.4 Carcinogenicity studies of daminozide	9
1.5 Carcinogenicity studies on UDMH	10
1.5.1 Rat Study	10
1.5.2 Other studies related to carcinogenicity in rats	11
1.5.3 Mouse Studies.....	12
· Low dose Study	12
· High dose study	13
1.6 Conclusions of the PPR Panel on UDMH carcinogenicity.....	15
Conclusions and Recommendations	16
Documentation provided to EFSA.....	17
References.....	22
Scientific Panel members.....	22
Appendix	23

背景² (原文、2 ページ)

ダミノジッドは、植物成長調節剤として使用され、上市する植物保護製品に関する指令 91/414/EEC 第 8 条 (2)³に記載された最初の活性物質のリストに含まれている。そして、報告担当加盟国 (Rapporteur Member State : RMS) のオランダによって作成された評価報告書に基づき、加盟国の専門家たちによる本物質のピアレビューがおこなわれ、フードチェーンと動物健康に関する常任委員会の作業部会 ‘植物保護製品—評価と法律’ で議論された。

ピアレビューでは幾つかのデータギャップが特定され、申請者がその対処にあたった。提出された全情報の評価がおこなわれ、加盟国間の議論が ‘評価’ と ‘法律’ の作業部会でおこなわれた。ダミノジッドの推奨用途は、温室内での観賞植物の植物成長調節剤としての使用である。製造時のダミノジッドの最低純度は 990 g/kg であり、最大 30mg/kg の 1,1-ジメチルヒドラジン (UDMH) と 2mg/kg の N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) を不純物に含む。

解決すべき残りの問題は、代謝物 NDMA/UDMH と、それらがダミノジッド散布業者もしくはダミノジッド施用後の観賞植物の温室に再入場した圃場労働者に及ぼす潜在的影響に関する問題である。

施用後の大気中および除去可能な葉残渣中の NDMA は検出不可能であった。一方、UDMH は大気中および除去可能な残渣中に低レベルで検出された。

報告担当加盟国のオランダは、提出された情報から、UDMH が *in vivo* での遺伝毒性および発がん効果を有している可能性は排除できないと結論づけた。欧州委員会の保健・消費者保護総局 (Health and Consumer Protection Directorate-General) は 2003 年 12 月 22 日に、以下の案件について “植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネル” (Scientific Panel on Plant health, Plant protection products and their Residues : PPR パネル) に意見を求めた。

² 背景と委託事項は委員会によって送られた。

³ OJ No L 230, 19.08.1991, p.1.

委託事項（原文、3 ページ）

植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネルは、齧歯類のUDMHに対する発がん反応の作用機構に関する意見を述べ、この作用に対する閾値を導き出すことが可能か否かを示すこと。もし、これが可能であれば、PPRパネルはその値を示すこと。

評価（原文、3 ページ）

1.1. 序文（原文、3 ページ）

PPRパネルは広範な文献調査の後、UDMHに関する文献はEFSAから提供された文書だけでなく学術雑誌掲載論文にも大量に存在し、UDMHの毒性に関するレビューが 1991 年に JMPR⁴、1993 年にUS-EPA⁵、1999 年にIARC⁶により実施されたことを指摘した。これらの文献は全て、本意見書作成の参考にした。

PPR パネルから出された質問に対し、本意見書では以下の内容が議論された：

- ・ダミノジッド／UDMH の代謝と挙動に関する試験
- ・UDMH の *in vitro* および *in vivo* での変異原性に関する試験
- ・ダミノジッドの発がん性に関する試験
- ・UDMH の発がん性に関する試験

⁴ Joint Meeting on Pesticide Residues（合同残留農薬専門家会議）

⁵ US-EPA: USA Environmental Protection Agency（米国環境保護庁）, the R.E.D. facts - September 1993

⁶ IARC: International Agency Research Cancer（国際がん研究機関）

1.2. ダミノジッド/UDMHの代謝と反応速度に関する試験（原文、4ページ）

雄ラットにおいて放射性同位体で標識化したダミノジッドの経口代謝試験が、Slauter *et al.* (1993) によって実施された。放射能は尿、糞および呼気CO₂中に検出された。全ソースからの投与量の回収率は89%であった。ダミノジッドは6時間後の尿中に最も多く含まれていた放射標識化合物であったが、24時間後までに、ダミノジッドの代謝産物であるUDMHが、尿中に最も多く含まれる放射標識化合物となった。また、投与後48時間以内に投与量の約29%がUDMHとして、13%がダミノジッドとして尿中に排泄された。排泄データによると、ダミノジッド経口投与量の少なくとも57%が吸収されて全身循環に移行し、少なくとも47%が尿中に、32%が糞中に、そして7%が¹⁴CO₂として排泄された。最終的な体内蓄積量は、平均して投与量の2%であった。96時間後の屠殺時に放射標識化合物が最も高濃度に検出された組織は、肝臓と血液であった。

この試験は低投与量（1mg/kg 体重）のダミノジッドを単回投与して実施されたが、雄ラットにおいてもっと高い投与量（45 mg/kg 体重）で単回投与した他の試験に関する情報が入手可能である（Fathulla, 1999）。後者の試験では、初期に吸収が飽和状態になったため、ダミノジッド経口吸収量の総合的に最も良好な推定値は約35%とRMSによって考察された。この値から、高投与量のダミノジッドが摂取された後に臓器内で生成されるUDMHの推定量が求められる。恐らく雄ラットでは吸収が飽和状態に達すると、投与量に対するUDMHへ転換可能なダミノジッドの割合は29%未満に制限される。

ミニブタでの他の代謝試験においても、UDMHは96時間後の尿中に相当量（しかしダミノジッドよりは少ない）が存在した（Mitros, 1987）。

ダミノジッドの代謝物生成や分布に関する他の試験に関する情報は入手できなかった。特に、発がん性試験の結果から興味を持たれる種や性（雌ラットやマウスなど）の試験に関する情報は入手可能できない。

また、ラットやマウスに投与されたUDMHの代謝試験に関する情報は入手できない。

PPRパネルは、雄ラットで投与されたダミノジッドの相当量（低投与量では約29%、高投与量ではそれ以下）が代謝されてUDMHに転換され、尿中などから回収されたことに注目した。雄ラットにおいて、ダミノジッドの食餌性投与では最大10,000ppmまで発がん作用を生じなかったことから、代謝により生成されるUDMHは、ダミノジッド投与量に対して相当に高い割合で生成されない限り、この種と性において発がん作用を生じるほどの効力を持たないと考えられる。

1.3. UDMHの*in vitro*および*in vivo*での変異原性に関する試験（原文、5ページ）

申請者⁷から提出された研究とは別に、UDMHに関する大量の変異原性研究が公開文献に掲載されている。入手可能な研究の全リストを、付録の表1に示す。

UDMHの遺伝毒性試験の結果を審査する際には、この化学物質が光や空気に暴露されると酸化誘導体を生成する可能性があり、その中には代謝後に遺伝毒性を示すジメチルニトロソアミン（dimethylnitrosamine : NDMA）も存在することに留意しなければならない。そのような代謝物の生成を防ぐため、UDMHを試験研究で扱う際には酸化防止措置を施さなくてはならない。

付録の表1に示した多くの試験結果の解釈は、供試化合物の純度の記載が無く、UDMHが酸化防止に必要な注意を守って扱われたかどうかを示されていないため、不明確なものになっている。表1では、（酸化から）‘守られた’UDMHを用いておこなわれた数少ない試験が特定されてアスタリスクで印を付けられている。UDMHの遺伝毒性が陽性となった試験結果の解釈は、この交絡因子が排除できない時は慎重におこなわなければならない。

1.3.1. *in vitro*分析（原文、5ページ）

有用な研究の評価の要約は以下の通りである：

- ・ 原核生物における遺伝子レベルの突然変異（原文、5ページ）

復帰率に基づく細菌の復帰突然変異試験に関しては、代謝活性化系（S9ミックス）存在および非存在下で*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA1537およびTA1538株を用いた膨大な数の研究がある。これらの研究の大部分は、陰性の結果であった。陽性の結果が報告された研究のうち、TA100株とTA102株を用いた試験（この細菌株を用いた唯一の有用な試験）は、濃度不明であるが、UDMHシュウ酸塩を用いて行われた（Matsushita *et al.*, 1993）。また、Bruce and Heddle（1979）によるTA98株での陽性結果の試験も、異常に高いLD₅₀値を示すような純度が疑わしい被験物質を用いた試験であった。

代謝活性化系（S9ミックス）存在および非存在下の*Salmonella typhimurium* TA98株において、若干の陽性の結果が認められた（De Flora, 1981; Parodi *et al.*, 1981）。しかし、PPR

⁷ Fine Agrochemicals Ltd and Crompton Europe B.V-Uniroyal Chemical

パネルはこの特異な細菌株（通常はフレームシフト突然変異の検出に用いる）においてUDMHのような化合物の暴露により陽性の結果が認められることは驚くべきことであると指摘した（*in vivo*でのDNAメチル化が報告された下記を参照）。

・ *in vitro*でのDNA断片化（原文、6ページ）

*in vitro*でのDNA鎖切断は、Sina ら（1983）によってラット肝細胞で調べられた。被験物質の純度は記載されていなかった。逆向きの用量反応が認められ、0.03 mMで++、0.3mMで+、および3mMで-であった。

・ 哺乳動物細胞における遺伝子レベルの突然変異（原文、6ページ）

マウスリンパ腫L5178Y細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座（TK +/-）の遺伝子突然変異試験において、代謝活性化系（S9ミックス）存在および非存在下で陽性の結果がBrusick and Matheson（1976）によって示された。Rogers and Back（1981）による試験では、TK遺伝子座の突然変異が認められたが、ウアバイン抵抗性遺伝子座やシトシンアラビノシド抵抗性遺伝子座では認められなかった。

他にも、チャイニーズハムスターV79肺細胞のHPRT遺伝子座については陽性の結果であり、（Beije *et al.*, 1984）、チャイニーズハムスターの卵巣細胞に関してはStankowski and Tunman（1987）による不明瞭な試験結果やStankowski（1988）による結論づけられない試験結果がある。

Stankowski and Tunman（1987）とStankowski（1988）の試験は別として、UDMHの酸化防止措置を行ったかどうか他のいずれの試験も不明である。

・ 染色体レベルの突然変異（原文、6ページ）

唯一公表されたチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO細胞）を用いた*in vitro*の染色体異常試験では、代謝活性化系（S9ミックス）存在および非存在下で陽性の結果が示された（JETOC, 1997）。被験物質の純度および酸化防止の有無は不明である。

他のCHO細胞を用いた*in vitro*での染色体異常試験では、精製および酸化防止がおこなわれ

たUDMHを用いているが、陰性の結果が示されている（SanSebastian, 1986）。

・ 不定期DNA合成（原文、6ページ）

雄のF344系ラットの初代肝細胞を用いた試験とACI/N系ラットの初代肝細胞を用いた試験の2つの試験が外因性代謝活性化系非存在下でおこなわれ、いずれも陰性の結果が示された（Barfknecht,1986; Mori *et al.*, 1988）。C3HeN系マウスの初代肝細胞を用いた外因性代謝活性化系非存在下での試験では、最高供試濃度（1mM）で陽性の結果が示されたが、被験物質の純度および酸化防止の有無は記されていない（Mori *et al.*, 1988）。

1.3.2. *in vivo*分析（原文、7ページ）

利用可能な試験には、マウス骨髄細胞、肝細胞、脾細胞および精子細胞を用いる小核試験、マウスDNA断片化試験、ラット腎細胞を用いる不定期DNA合成試験および優性致死試験などがある。

PPRパネルは、全般的に*in vivo*試験の結果には一貫性がないと指摘した。*in vivo*試験の重み付け評価は、毒性指標や供試組織の違い、技術的な制約のため難しい。

3つの互いに独立した研究機関で実施されたマウス骨髄細胞の小核試験の結果は、一貫して陰性であった（Bruce and Heddle, 1979; Cliet *et al.*, 1993; Suzuki *et al.*, 1994）。しかし、ある試験機関では同様に処理したマウスの精子細胞および肝細胞の小核試験で陽性の結果が得られた（Cliet *et al.*, 1989 and 1993; UDMHの酸化防止に関しては不明）。精子の異常を調べた試験では、異常に高いLD₅₀値を示すような純度が疑わしい被験物質を雄マウスに500mg/kg 体重投与した結果は陰性であった（Bruce and Heddle, 1979）。他の研究機関でマウス脾細胞を用いた小核試験において陽性の結果が得られたが、用量依存性はなかった（Benning *et al.*,1994）。

したがって、いずれの小核試験も骨髄が標的ではないことを示唆している。他の組織（脾細胞、肝細胞および精子細胞）が標的であると思われるが、試験物質の純度と酸化防止措置の有無が不明であり、互いに独立した研究機関による試験結果の立証がなされていないため、明確な評価ができない。

DNA断片化に関して刊行された報告（Parodi *et al.*, 1981）では、単回および反復投与後の

マウス肝臓における試験結果を陰性と捉えているが、反復投与だけがマウスの肺において陽性と捉えている。しかし、この試験の投与量はLD₅₀値よりも高い（単回投与）かLD₅₀値とあまり変わらない（反復投与）量であったため、試験結果の妥当性は疑わしい。

なお、上記の試験では全て腹腔に投与されたマウスが用いられた。

Sasaki *et al.*, (1998) によるCOMETアッセイでは、50mg/kg 体重を腹腔内投与、または50もしくは100mg/kg 体重を経口投与された雄マウスが用いられた。腹腔内投与では3時間後に肝臓および肺で、24時間後に肺で陽性の結果が得られ、経口投与では3時間後に肝臓、肺、胃および結腸で陽性の結果が得られた。腎臓、膀胱、骨髄および脳は常に陰性であった。被験物質の酸化防止措置の有無は記されていない。

ICR/Ha Swiss系マウスの*in vivo*試験と他の系統のマウスの*in vivo*試験の2つの優性致死試験がおこなわれたが、いずれも陰性であった (Epstein *et al.*, 1972; Brusick and Matheson, 1976)。

Fischer 344系ラットの腎細胞における*in vivo*での不定期DNA合成試験も、陰性であった (Tyson and Mirsalis, 1985)。

この種の唯一刊行された研究で、ラットへのUDMHの経口投与後にグアニンN7位のメチル化が認められたことも指摘された (Sagelsdorff *et al.*, 1988)。このことは、UDMHが*in vivo*でDNAと共有結合的反応を起こすことができ、そのため、遺伝毒性の可能性を有することを示唆している。ダミノジッドの場合、N7位のアルキル化の程度はUDMHの約50分の1であることがわかった。しかし、変異原性に関して言えば、グアニンのO6位のメチル化が鍵となる事象であり、前変異原性損傷の観点ではそのような付加体が最も重要視されていることに留意すべきである。さらに、N7位とO6位のメチル化の比率は化合物間だけでなく標的組織間でも異なる可能性がある。したがって、これらのデータの意義の解釈は明確ではない。

1.3.3. PPRパネルによるUDMHの遺伝毒性の評価（原文、8ページ）

酸化防止措置をおこなったUDMHを用いて行われた*in vitro*試験において有効な結果に基づいて（*in vivo*試験は有効でない）、PPRパネルは、酸化防止措置をおこなったUDMHが

遺伝毒性を示す証拠は全くないと結論づけた。

PPRパネルは、非酸化防止措置のUDMHもしくは酸化防止措置が不明なUDMHを用いた *in vitro* および *in vivo* 試験の結果を見て、それらは原核生物と真核生物の両方におけるUDMHの遺伝毒性を示す実験証拠としては不完全で限られたものであると結論づけた。その実験証拠とは、弱い変異原性を示した *Salmonella typhimurium* TA98株を用いた試験2つ、マウスリンパ腫L5178Y細胞において陽性だった試験2つ、染色体異常を示したチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO細胞）を用いた試験1つ、マウス肝細胞および精子細胞において小核誘発を示した *in vivo* 試験、および雄マウスの肝臓および肺においてDNA断片化を示した *in vivo* 試験（COMETアッセイ）である。しかし、これらの陽性を示した試験は、他の独立した研究機関によって再試験が行われておらず、各試験に関して上で詳細に議論したように、それらの一部は幾つかの技術的な制約を受けていた。

PPRパネルは、*S. typhimurium* のTA1530株およびTA1535株では溶液中のUDMHは19時間も外気に曝されたままだと代謝活性化系存在および非存在下で陰性から陽性に变化するが、TA100株では陰性のままであったと指摘している（Lunn *et al.*, 1991）。同様の試験において、NDMAは代謝活性化系存在下のTA100株でのみ陽性を示した。これらの結果は、UDMHの外気による酸化によって活性型の変異原性を示す誘導体の生成の可能性の重要性を強めているが、NDMAが生成した単なる活性型の誘導体では無い可能性も示唆している。

1.4. ダミノジットの発がん性試験（原文、9ページ）

ラットおよびマウスにおける幾つかのダミノジットの発がん性試験が入手可能である。

1970年代にラット（NCI, 1978）とマウス（NCI, 1978; Toth *et al.*, 1977）を用いた2つの長期試験がおこなわれた。

1977年にTothによって報告された試験では、有意な毒性や致死作用からダミノジットの最大耐量（maximum tolerated dose : MTD）は20,000ppm以上であった。Tothの試験における対照群の動物は以前に実施された試験のものであり、検体の純度は明示されていなかったとされている。

NCIで実施されたラット（Fischer 344）とマウス（B6C3F1）の試験では、雄ラットおよび雌マウスでは腫瘍の増加は無いと報告された。雌ラットでは子宮腫瘍（uterine tumor）の微増が認められたが統計的な有意性は無く、雄マウスにおける肝腫瘍（liver tumor）の

増加も、この腫瘍は自然発生率が高くまた発生頻度は変動的であるため有意ではないと判断された。

GLPに準拠して実施されたより最近の試験 (Johnson, 1988) では、試験物質 (ダミノジッド) の純度は不明ではあるが、統計的に有意な腫瘍発生増加は無いと報告された。この2つの試験は、不純物として通常混在するUDMH (~30 ppm) を含んでいるダミノジッド製剤を用いていた。

Fischer 344系ラットもしくはCD-1系マウスに最大10,000ppm (それぞれ約500 mg/kg体重/日、約1,500mg/kg体重/日に相当) のダミノジッドを混餌投与しても、有意な催腫瘍性は認められなかった。

PPR委員会はこれらの試験結果からダミノジッドはラットとマウスに発がん性はないと判断した。

先に考察したように、雄ラットでは投与したダミノジッドのかなりの量がUDMHに代謝転換されていると予想される。控えめに見積もっても、代謝生成されるUDMHは投与量の10%以上の高い量と推定される。したがって、これらの試験は代謝生成されたUDMHが雄ラットでは最高約50mg/kg/体重/日までは発がん作用が無いことを間接的に示唆している。雌ラットとマウスでも同様の代謝パターンによりダミノジッドがUDMHに転換されるのであれば、これらのダミノジッドの発がん性試験では、代謝生成されるUDMHが雌ラットでは約50mg/kg /体重/日、マウスでは約150mg/kg /体重/日まで発がん作用が無いということになる。しかしその推論は、雌ラット (投与量4.5mg/kg /体重/日以上) やマウス (投与量2.7mg/kg /体重/日以上) で実施されたUDMHの発がん性試験の結果と相容れない (下記参照)。

この矛盾を説明するのに、代謝パターンはラットの雄と雌では、また、雄ラットとマウスでは著しく異なる、あるいは、代謝により生成されるUDMHと経口投与されるUDMHの毒性学的挙動に差異があるなどの様々な作業仮説が考えられる。この毒性学的な不確実性がUDMHの発がん性の強弱を理解し難しくしている。

1.5. UDMHの発がん性試験 (原文、10ページ)

UDMHの発がん性試験は、ラットで1試験、マウスで2試験の計3試験のデータが得られている。

1.5.1. ラットの試験（原文、10ページ）

雄雌各70匹のFischer 344ラット（Charles River）に、UDMH 脱イオン水溶液（0、1、50および100ppm：試験期間中の一日平均摂取量として、雄は0、0.07、3.2、6.2 mg/kg/体重/日、雌は0、0.1、4.5、7.9 mg/kg/体重/日に相当）を24月間投与した。試験物質（1Nの塩酸中に100mg/ml）は、窒素充填した容器内に室温で貯蔵された。飼料と水は自由に（*ad libitum*）摂取できるようにした（Goldenthal, 1989a）。

100ppm群の雄と50および100ppm群の雌では、統計的有意であるが僅かな体重の減少（2～5%）が認められた。飼料摂取量に差異は認められなかった。いずれの濃度のUDMH投与ラットで摂水量の減少が散見された。摂水量の減少は、50および100ppm群でより明らかであり、雄は試験終了前の20週間、雌は全試験期間中に一貫して認められた。

血液学的変化は試験期間中認められなかった。また、いずれの投与群も試験期間中にUDMHに起因する毒性徴候は認められなかった。試験終了時までの死亡率はUDMH 0、1、50および100ppm群でそれぞれ、雄は36%、36%、28%および18%、雌は32%、24%、28%および10%であった。

12ヶ月後の屠殺時には、投与に起因する肉眼的ないし顕微鏡的病変は認められなかった。24ヶ月後の屠殺時の肉眼的病理所見はいずれの投与群も同様であったが、角膜混濁（cloudy cornea）の発生率が対照群（27%）と比べて50および100ppmの雌（それぞれ37%および41%）で微増した。この肉眼的変化は組織学的には角膜の石灰沈着（corneal mineralisation）であった。投与に起因する形態的肝毒性は認められなかった。

下垂体腺腫（pituitary adenoma）の発生は、100ppmの雌（56%）で対照群（32%）よりも増加した。肝細胞腫瘍（hepatocellular neoplasm）の発生率は、50ppmおよび100ppmの雌ラット（いずれも10%）で対照群（0%）よりも増加したが、雄ラットでは増加しなかった。また、雌ラットではUDMH0、1、50および100ppmで肝細胞腺腫（hepatocellular adenoma）がそれぞれ0%、2%、4%および2%、肝細胞がん（hepatocellular carcinoma）が0%、0%、6%および8%の発生率であった。

IRDC社での2年間の慢性試験における雌Fischerラットの肝細胞腫瘍自然発生背景データは0.5%（ラット370匹あたり肝腺腫発症個体2例）であり、この試験での低い発生率と一致した。

PPR委員会は、雌のF344ラットに毒性影響を及ぼさない用量で、ほとんど自然発生しない肝細胞がんが増加したことから、UDMHは雌ラットに発がん作用があることを示唆していると結論づけた。下垂体腺腫の発生率も100ppm群雌ラットで増加したが、その毒性学的意味は不明である。本試験における最大無作用量は飲水中のUDMH1ppmで、0.09mg/kg/体重/日に相当する。

1.5.2. ラットにおける発がん性に関する他の試験（原文、11ページ）

PPR委員会は、ダミノジッドとUDMHの発がん性に関するラットの比較的短期の*in vivo*試験の陰性結果に注目した（Cabral *et al.*, 1995）。この試験では、ダミノジッド単独およびUDMHとの複合による発がん性が、Fischer 344系ラットのDEN（N-ニトロソジエチルアミン）-PH（肝部分切除）モデルでの中期試験において調べられた。

ダミノジッド単独（飼料中20,000ppm）あるいはダミノジッド（20,000ppm）とUDMH（75、150、300ppm）の複合混餌でも、肝臓のGST-P陽性細胞巢の数や大きさの増加は誘導されなかった。また、UDMH単独（飼料中75、150、300ppm）投与でも試験結果は陰性であった。これらの結果はダミノジッド単独、UDMH単独あるいは両者の組み合わせのいずれも発がん性を有しないことを示唆している、との解釈もありうる。

PPR委員会は、このDEN - PHモデルで陽性結果が得られればラットとマウスにおける肝発がん性が高いことを示すことに異論は無いが、このモデルでの陰性結果から発がん性が無いとするのは不確かであり、更なる試験が必要と考える。また、雄ラットに認められた陰性結果は、この同種と同性を用いて実施した長期発がん性試験で認められた陰性結果と一致したものの、雌ラットやマウスに及ぼす作用に関連する情報を付け加えるものではなかった。

したがって、Cabral *et al.*（1995）の試験はUDMHの慢性試験で雌ラットに認められた肝臓への発がん作用を打ち消すために用いることはできないというのがPPR委員会の見解である。

1.5.3. マウスの試験（原文、12ページ）

・低用量での試験（原文、12ページ）

雄雌各90匹のCharles River CD-1マウス（試験開始時は約6週齢）に、UDMH脱イオン水溶液（含有量 0、1もしくは5ppm：試験期間中の一日平均摂取量にすると、雄は0、0.19、0.97 mg/kg体重/日、雌は0、0.27、1.4mg/kg体重/日に相当、酸性pHを中和するためクエン酸緩衝液を25%添加）を24ヶ月与えた。また、加えて、各群90匹の雄マウスに10ppm（1.9 mg/kg 体重/日に相当）、雌マウスに20ppm（2.7mg/kg 体重/日に相当）のUDMHを与えた。被験物質（1 Nの塩酸中に100mg/ml）はロットの異なる26検体（同一研究機関で分析された濃度範囲は名目値の93～115%）が生産者から提供された。被験物質は窒素を充填した容器内で室温保管された。被験物質を含む飲水は週3回調製して交換した（いずれの濃度も3日間安定）。実際の飲水中UDMH含有量が毎月2回検査され、設定濃度1、5、10、20ppmのそれぞれ102%、100%、100%および101%であることが示された（51回の検査の平均値）。飼料と水は自由に（*ad libitum*）摂取できるようにした（Goldenthal, 1989b）。

試験期間中、いずれの投与群においても、投与に関連した体重への影響は認められなかった。また、いずれの投与群も一日の飼料摂取量と摂水量は同様であった。

試験開始後6、12、18および24ヶ月に、各群雄雌各10匹を対象に血液学的検査を実施し、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数および白血球分画を計測した。また、試験開始後24ヶ月に、各群雄雌各10匹に対して生化学検査を実施し、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）およびソルビトールデヒドロゲナーゼを測定した。

試験開始から18ヶ月後に血液学的パラメータの一部に統計的に有意だが生物学的には重要ではない差異が5および20ppm群の雌ラットに認められたが、これらの差異は、24ヶ月後には認められなかった。

24ヶ月時点の生化学検査で毒作用を示す変化は何も無かった。試験終了時の死亡率は、雄の0、1、5および10ppm群でそれぞれ48%、54%、52%および68%、雌の0、1、5および20ppm群でそれぞれ60%、50%、64%および76%であった。死亡率が有意に増加したのは雄の10ppm群だけであった。

途中死亡例のほか試験開始後8および12ヶ月に各群雄雌各20匹を、また、24ヶ月に残りの個体を病理学的に検索した。肉眼的病理所見では、12～24ヶ月後の肺に腫瘍や結節の発生が、

雄では対照群（21%）に対して5ppm群（47%）で増加が認められたが10ppm群（26%）では増加は認められなかった。雌では対照群（12%）に対して20ppm群（43%）で増加が認められた。

組織病理学検査では、雄雌ともにいずれの用量でも様々な非腫瘍性および腫瘍性病変が認められた。

用量依存的な肝の褐色色素の増加が雄雌ともに認められた。色素の種類を同定するための特殊染色はおこなわれなかったが、これらの色素の多くはセロイド色素もしくはリポフスチン色素であり、他にヘモシデリン色素や胆汁色素もあると思われた。また、最高用量群で8あるいは12ヶ月にと殺した雄の数例に褐色色素を認められたが、他の投与群には認められなかった。

血管肉腫 (haemangiosarcoma) の発生数は、雌の0、1、5および20ppm群でそれぞれ3/49、2/48、1/48および5/49であった。

肺腫瘍 (pulmonary neoplasm) の発生数は、20ppm群の雌で増加した。肺胞／気管支腺腫 (alveolar/bronchiolar adenoma) は、対照群5/49に対して20ppm群では20/49、肺胞／気管支がん腫 (alveolar/bronchiolar carcinoma) は対照群1/49に対して20ppm群では7/49で認められた。これらの差異は統計的に有意であり、肺腫瘍発生の統計的陽性傾向が認められた。

対照群雌におけるこれらの腫瘍の発生率は、これらの試験を実施した研究機関の背景データ（腺腫6/69およびがん腫2/69）の範囲内であった。

雄マウスでは、肺腫瘍の発生はUDMH10ppm群も含めて増加しなかった。また、10ppm群雄では死亡率の統計的有意な増加が認められたが、他には臨床的にも病理組織学的にも毒性的徴候が認められなかったことから、偶発的であると考えられる。また、死亡率は同一試験機関で同系統の動物で実施されたその後の試験の対照群での計算値と差が無かった。

この試験成績は雌のUDMH20ppm群（2.7mg/kg体重/日に相当する）における肺腫瘍の発生率増加を示していると、PPR委員会は結論づけた。この試験におけるUDMHの最大無作用量は5ppm (1.41mg/kg 体重/日に相当)である。

- ・高用量での試験（原文、13ページ）

雄雌各90匹のCharles River CD-1マウス（試験開始時は約6週齢）にUDMH 0、40もしくは80ppmの脱イオン水溶液（一日平均摂取量にすると、雄0、7.34、13.0mg/kg 体重/日、雌0、11.6、21.8mg/kg 体重/日に相当：酸性pHを中和するためクエン酸塩緩衝液を25%混合）を24ヶ月与えられた。被験物質は前記試験で供給されたものと同じであり、同様の条件で貯蔵された。実際の飲水中のUDMH含有量が毎月2回検査され、設定濃度20および40ppmのそれぞれ103%および102%であった（54回の検査の平均）。飼料と水は自由に（*ad libitum*）摂取できるようにした（Goldenthal, 1990）。

最高用量群で生残個体が少なく、各週によってデータの変動が大きかったことから、平均体重、摂水量および飼料摂取量の評価が困難になった。

試験期間を通じて、40ppm群の雌雄および80ppm群の雄に、一貫した用量依存的な体重の変動は認められなかった。80ppm群雌の体重は、UDMH投与の最後6ヶ月間で約10%減少した。

一日飼料摂取量の有意な減少が散見されたことから、最高用量群の雄雌ともに試験の最後数ヶ月における平均飼料摂取量が減少したことが示唆された。摂水量の減少が両UDMH濃度群で認められ、雄は全試験期間を通じて、雌は最初の13週間だけ減少した。

一部の血液学的パラメータに用量と関連した影響が雄でのみ認められた。80ppm群では試験開始後6ヶ月以降に、40ppm群では12ヶ月以降に認められたが、24ヶ月時には生残個体数が少数のため統計的評価が困難であった。

12ヶ月時に、両濃度群の雄雌ともにアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）とソルビトールデヒドロゲナーゼが統計的に有意に増加したが、用量依存的ではなかった。

試験終了時の死亡率は、0、40および80ppm群において、それぞれ雄70%、76%、および98%、雌58%、92%および92%であった。死亡率は雄雌ともに最高用量で有意に増加した。

肉眼的な病理変化として、雄マウスに肝の分葉増加が認められたが、雌ではいずれの用量でも認められなかった。また、両用量群において肺の結節と肝臓の結節／腫瘤の増加が、雄では8ヶ月後以降に、雌では12ヶ月後以降に認められた。

組織病理学検査では、以下のような肝臓毒性所見を認めた：①多発性慢性炎症（両群の雄

の12～24ヶ月検査例)、②肝細胞の肥大と壊死(両群の雄で全試験期間を通じて)、③褐色色素沈着(両群の雄雌で0～8ヶ月後以降)。色素を同定するために特殊染色法がおこなわれた。ヘモシデリン、胆汁色素、セロイド、リポフスチン、コラーゲンおよび細網がいずれも増加した。脾臓では髄外造血(extramedullary haematopoiesis)が、雄雌ともに12ヶ月後以降に増加した。

試験終了時に肝臓に血管の腫瘍(vascular neoplasm)(血管腫haemangiomaと血管肉腫haemangiosarcoma)が認められ、その発生率は、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は9%、67%および81%、雌は4%、26%および82%であった。なお、雄雌ともにこれらの腫瘍の大部分(95%)が血管肉腫であった。試験期間中に死亡した個体の多くにも、肝臓の血管肉腫が認められた。試験8～12ヶ月の間に計画殺/途中死したマウスでは肺胞/気管支腫瘍(alveolar/bronchiolar neoplasm)が、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は18%、45%および55%、雌は14%、50%および48%に発生した。そして、試験終了時におけるこれらの腫瘍の発生率は、0、40および80ppm群でそれぞれ、雄は54%、73%および51%、雌は31%、53%および56%であった。

PPR委員会は、高用量のUDMHにマウスを暴露すると、肺や肝臓血管の腫瘍発生頻度が増加することに注目した。また、PPR委員会はマウスに明らかな毒性を惹起する最大耐量を超える用量で発がん効果が生じたことにも注目した。この試験から無作用量は特定されなかった。

1.6. UDMHの発がん性に関するPPRパネルの結論(原文、15ページ)

PPRパネルはラットの毒性試験から、雄ラットでは少なくとも6.2mg/kg体重/日まで発がん性の証拠が認められないが、雌ラットでは4.5mg/kg体重/日以上で発がん性があると判断した。ラットにおいて飲水中のUDMHの最大無作用量は1ppmで、0.09mg/kg体重/日に相当する。

マウスでは、UDMHを飲水投与すると雌では20ppm(2.7mg/kg体重/日に相当)で肺腫瘍の発生を増加させた。一方雌の5ppm(1.4mg/kg体重/日に相当)あるいは雄マウスの10ppm(1.9mg/kg体重/日に相当)以下の投与では肺腫瘍は増加しなかった。より高用量の40および80ppmでは、肺腫瘍と肝臓血管の腫瘍が雄雌両方で生じたが、これらの高用量で生じた肝毒性が腫瘍発生の評価を混乱させているとPPR委員会は考えた。

総合的にみて、これらの入手可能な試験成績から、UDMHは数mg/kg 体重/日の用量で雌ラットおよびマウスに発がん作用があると考えられる。いずれの場合でも、最大無作用量(1.4~0.09mg/kg体重/日)は設定された。

PPR委員会は、齧歯類を用いたUDMH直接投与による長期毒性試験の試験結果が、ダミノジッドで得られた試験結果と明らかに矛盾していることを指摘した。事実、ダミノジッドの長期試験では、UDMHの直接投与試験で発がん性が認められた用量よりも少なくとも一桁高い量のUDMHが代謝生成されるはずの用量でも、ラットとマウスにおいて陰性の試験結果が得られている。先に指摘したように、そのような矛盾に対する説明として、代謝生成されるUDMHと発がん性試験に用いられたUDMHとの本質的な発がん性の差異や、雌ラットとマウスにおけるUDMHの代謝動態の差異などが考えられる。しかし、UDMHの生物利用性や代謝に関する入手可能な知見は限られているため、PPR委員会はそのような説明の妥当性を判断する立場にない。また、PPR委員会は、経口投与されたUDMHは雄ラットのDNAのグアニン残基のN7位のメチル化作用がダミノジッドよりも約50倍も高いことを指摘したが、このことの有意性は不明である。このように毒性試験の成績が多様であるため、UDMHの発がん性の評価をより困難にしている。

UDMHの遺伝毒性を示す証拠は一貫性がなく遺伝毒性を示す成績も少ないため(第1.3.3項参照)、得られている試験成績を総合的に判断するとUDMHの発がん機序は遺伝毒性に依らないとPPR委員会は考える。

細胞増殖やホルモンバランス異常などのUDMHの非遺伝毒性的機序に特化した検索がなされていないため、現時点では発がん機序に関する明確な結論は得られない。

結論および提言(原文、16ページ)

植物の健康、植物の保護製品およびその残留物に関する科学パネルは、入手可能なデータに基づき、齧歯類におけるUDMHの発がん作用の機構を特定することは不可能であると結論づけている。精製もしくは酸化防止措置をおこなったUDMHの遺伝毒性に関する*in vitro*での実験証拠や*in vivo*実験は入手可能ではない。また、PPRパネルは、ダミノジッドを用いた長期試験の明らかな矛盾として、この長期試験では直接投与の試験で発がん性が認められた用量よりも少なくとも一桁多い量のUDMHが代謝生成されるはずの用量でもラットとマウスに発がん性を引き起こさなかったことを指摘した。さらに、ある試験ではラットへのUDMHの経口投与後のグアニンN7位のメチル化作用がダミノジッドのデータと比べ

て50倍も高いことがわかった。したがって、PPRパネルは経口投与したUDMHの発がん性機構に関する結論は全てある程度の不確実性が含まれていると認識しなければならないと考えた。また、PPRパネルは遺伝毒性機構に関する実験証拠が重要であると結論づけた。

非遺伝毒性機構の中で、細胞増殖の調節変化やホルモンバランスの乱れは遺伝毒性が形を変えて現れたものであるが、これらの機構は特別に調べられたことがないため、現時点ではこれらが関与する機構に関する明確な結論は得られない。

ラットおよびマウスにおけるUDMHの発がん性試験では、それぞれ0.09mg/kg 体重/日および1.41mg/kg 体重/日で何も影響は認められなかった。

UDMHに認められた発がん性が非遺伝毒性機構によるものであるならば、上記の用量は毒性学的な閾値として考えてよいはずである。しかし、この機構に関する不確実性とUDMHが温室条件下で遺伝毒性を有する酸化誘導体を形成する可能性があること（この意見書の背景で言及）を考え合わせ、PPRパネルはこれらの用量を閾値とした使用には厳重な注意を払わないとならないと結論づけている。

科学パネルの構成員（原文、22ページ）

Jos Boesten, Alan Boobis, Anthony Hardy, Andy Hart, Herbert Koepp, Robert Luttik, Kyriaki Machera, Marco Maroni, Douglas McGregor, Otto Meyer, Angelo Moretto, Euphemia Papadopoulou-Mourkidou, Ernst Petzinger, Kai Savolainen, Andreas Schaeffer, Walter Steurbaut, Despina Tsipi-Stefanitsi, Christiane Vleminckx

APPENDIX

表 1. Genetic and related effects of 1,1-dimethylhydrazine (from International Agency for Research on Cancer (IARC), 1999; re-Evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide (Part Three), Monographs, 71,1,1-Dimethylhydrazine. pp1425-1436 and documentation provided to EFSA)

試験系	結果 ^a		投与量 ^b (LED or HID)	参考文献
	外因性代謝活性化 系 なし	外因性代謝活性化 系 あり		
PRB, Prophage induction, SOS repair test, DNA strand breaks, cross-links or related damage	NT	-	17000	Ho & Ho (1981)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	2000	Brusick & Matheson (1976)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	+	250	Bruce & Heddle (1979)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	1500	Von Wright & Tikkanen (1980)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	5000	*Stankovski, 1986
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	4800	De Flora (1981)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	4015	Parodi et al. (1981)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	-	-	NG	De Flora et al. (1984)
SA0, Salmonella typhimurium TA100, reverse mutation	+	-	NG	Matsushita et al. (1993)
SA2, Salmonella typhimurium TA102, reverse mutation	+	-	NG	Matsushita et al. (1993)
SA3, Salmonella typhimurium TA1530, reverse mutation	(+)	NT	5000	Tosk et al. (1979)
SA3, Salmonella typhimurium TA1530, reverse mutation	-	-	15000	Bartsch et al. (1980)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	2000	Brusick & Matheson (1976)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	250	Bruce & Heddle (1979)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	4800	De Flora (1981)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	4015	Parodi et al. (1981)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	500	Rogan et al. (1982)
SA5, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	NG	De Flora et al. (1984)
SA0, Salmonella typhimurium TA1535, reverse mutation	-	-	5000	*Stankovski, 1986
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	-	-	2000	Brusick & Matheson (1976)
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	-	-	250	Bruce & Heddle (1979)
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	-	-	4800	De Flora (1981)

表1 (つづき)

試験系	結果 ^a		投与量 ^b (LED or HID)	参考文献
	外因性代謝活性化 系 なし	外因性代謝活性化 系 あり		
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	•	•	4015	Parodi et al. (1981)
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	•	•	500	Rogan et al. (1982)
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	•	•	NG	De Flora et al. (1984)
SA7, Salmonella typhimurium TA1537, reverse mutation	•	•	5000	*Stankovski, 1986
SA8, Salmonella typhimurium TA1538, reverse mutation	•	•	2000	Brusick & Matheson (1976)
SA8, Salmonella typhimurium TA1538, reverse mutation	•	•	4800	De Flora (1981)
SA8, Salmonella typhimurium TA1538, reverse mutation	•	•	4015	Parodi et al. (1981)
SA8, Salmonella typhimurium TA1538, reverse mutation	•	•	NG	De Flora et al. (1984)
SA8, Salmonella typhimurium TA1538, reverse mutation	•	•	5000	*Stankovski, 1986
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	•	•	4800	Brusick & Matheson (1976)
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	(+)	(+)	NG	De Flora (1981)
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	(+)	(+)	1262	Parodi et al. (1981)
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	(+)	(+)	NG	De Flora et al. (1984)
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	•	+	250	Bruce & Heddle (1979)
SA9, Salmonella typhimurium TA98, reverse mutation	•	•	5000	*Stankovski, 1986
SAS, Salmonella typhimurium TAG46, reverse mutation	•	•	15000	Bartsch et al. (1980)
ECW, Escherichia coli WP2 uvrA, reverse mutation	•	•	2000	Brusick & Matheson (1976)
ECW, Escherichia coli WP2 uvrA, reverse mutation	•	NT	120	Von Wright & Tikkanen (1980)
SCG, Saccharomyces cerevisiae, gene conversion	•	•	2000	Brusick & Matheson (1976)
ANF, Aspergillus nidulans, forward mutation	+	NT	100	Bignami et al. (1981)
DMM, Drosophila melanogaster, somatic mutation (white/white+)	+		150 feed	Vogel & Nivard (1993)

表1 (つづき)

試験系	結果 ^a		投与量 ^b (LED or HID)	参考文献
	外因性代謝活性化 系 なし	外因性代謝活性化 系 あり		
DMX, <i>Drosophila melanogaster</i> , sex-linked recessive lethal mutations	-		1200 inj	Zijlstra & Vogel (1988)
DIA, DNA strand breaks, rat hepatocytes in vitro	+	NT	2	Sina et al. (1983)
URP, Unscheduled DNA synthesis, male F344 rat primary hepatocytes in vitro	-	NT	250	*Barfknecht (1986)
URP, Unscheduled DNA synthesis, ACI/N rat primary hepatocytes in vitro	-	NT	60	Mori et al. (1988)
UIA, Unscheduled DNA synthesis, C3HeN mouse primary hepatocytes in vitro	+	NT	60	Mori et al. (1988)
G5T, Gene mutation, mouse lymphoma L5178Y cells, tk locus in vitro	+	+	80	Brusick & Matheson (1976)
G5T, Gene mutation, mouse lymphoma L5178Y cells, tk locus in vitro	+	NT	6	Rogers & Back (1981)
G51, Gene mutation, mouse lymphoma L5178Y cells, ouabain resistance and cytosine arabinoside resistance in vitro	-	NT	300	Rogers & Back (1981)
G9H Gene mutation, Chinese hamster lung V79 cells, hprt locus (metabolic activation with rat liver perfusate) in vitro	-	+	300	Beije et al. (1984)
Gene mutation, Chinese hamster ovary cells, CHO-k1BH4	EQUI	EQUI	1000	*Stankowski and Tunman (1987)
Gene mutation, Chinese hamster ovary cells, CHO-k1BH4	- / INC	- / INC	5000	*Stankowski (1988)
CIC, Chromosomal aberrations, Chinese hamster ovary CHO-K1 cells in vitro	-	-	5000	*SanSebastian (1986)
CIC, Chromosomal aberrations, Chinese hamster ovary CHO cells in vitro	+	(+)	20	JETOC (1997)
HMM, Host-mediated assay, Salmonella typhimurium TA1950 in NMRI mouse host	-		140 po × 1	Von Wright & Tikkanen (1980)
DVA, DNA fragmentation, Swiss albino mouse lung in vivo	+		42 ip × 5	Parodi et al. (1981)
DVA, DNA fragmentation, Swiss albino mouse liver in vivo	+		42 ip × 5	Parodi et al. (1981)

表 1 (つづき)

試験系	結果 ^a		投与量 ^b (LED or HID)	参考文献
	外因性代謝活性化 系 なし	外因性代謝活性化 系 あり		
, DNA strand breakage, COMET assay, male CD-1 mouse liver and lung in vivo	+		50 ip × 1	**Sasaki et al. (1998)
, DNA strand breakage, COMET assay, male CD-1 mouse stomach, colon, kidney, bladder, brain, bone marrow in vivo	-		50 ip × 1	**Sasaki et al. (1998)
, DNA strand breakage, COMET assay, male CD-1 mouse stomach, colon, liver, lung in vivo	+		50 po × 1	**Sasaki et al. (1998)
UVR, Unscheduled DNA synthesis, Fischer 344 rat kidney cells in vivo	-		50 ip × 1	Tyson & Mirsalis (1985)
MVM, Micronucleus test, CD1 mouse splenocytes in vivo	+		13.8 ip × 1	Benning et al. (1994)

表 1 (つづき)

試験系	結果 ^a		投与量 ^b (LED or HID)	参考文献
	外因性代謝活性化系 なし	外因性代謝活性化系 あり		
MVM, Micronucleus test, CD1/CR mouse bone marrow cells in vivo	-		83 ip × 1	Cliet et al. (1993)
MVM, Micronucleus test, CD1/CR mouse spermatids in vivo	+		83 ip × 1	Cliet et al. (1993)
MVM, Micronucleus test, CD1/CR mouse hepatocytes in vivo	+		14 ip × 2	Cliet et al. (1989)
MVM, Micronucleus test, (C57BL/6 × C3H/He) F1 mouse bone marrow in vivo	-		500 ip × 5	Bruce & Heddle (1979)
MVM, Micronucleus test, mouse bone marrow (BALB/c AnNCrj) in vivo	-		20 ip × 1	Suzuki et al. (1994)
DLM, Dominant lethal test, ICR/Ha Swiss mice in vivo	-		63 ip × 1	Epstein et al. (1972)
DLM, Dominant lethal test, mice in vivo	-		12.5 ip × 5	Brusick & Matheson (1976)
BVD, Binding (covalent) to DNA, formation of N7-methylguanine in Sprague-Dawley rat liver DNA in vivo	+		19 po x 1	Sagelsdorff et al. (1988)
SPM, Sperm abnormality test, (C57BL/6 × C3H/He)F1 mouse in vivo	-		500 ip x 5	Bruce & Heddle (1979)
SPM, Sperm morphology, (C57BL/6 × C3H/He)F1 mice in vivo	-		100 ip x 5	Wyrobek & Bruce (1975)
Colonic nuclear aberration assay in C57BL/6J mice, in vivo	-		100 po x 1	Wargovich et al. (1983)

注:

*: アスタリスクでマークした試験は、UDMH のみを用いて実施された試験であり、酸化に対して保護されていたもの。EFSAに提出された文書による。(Studies marked with the asterisk were carried out with UDMH pure and protected against oxidation, in the documentation provided to EFSA.)

** : EFSAに提出された文書による。

a : +, 陽性; (+), 弱い陽性; -, 陰性; NT, 実施されず

b : LED, 最小作用量(lowest effective dose); HID, 最大無作用量(highest ineffective dose); *in-vitro* 試験ではµg/mL ; *in-vivo* 試験ではmg/kg bw/day;

NG, 提供されず; inj, 注入; ip, 腹腔; po, 経口.; EQUI, 疑わしい, INC, 不確定.