

資料 2

(案)

## 飼料添加物評価書

エトキシキン

2012年11月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

## 目次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	5
I. 評価対象飼料添加物の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験（マウス、ラット）	7
(2) 薬物動態試験（ラット）	9
(3) 薬物動態試験（鶏）	10
(4) 代謝試験（ラット）	10
(5) 代謝試験（イヌ）	11
2. 残留試験	12
(1) 残留試験（牛、乳汁）	12
(2) 残留試験（牛）	12
(3) 残留試験（豚①）	12
(4) 残留試験（豚②）	13
(5) 残留試験（鶏）	14
(6) 残留試験（鶏卵）	15
(7) 残留試験（子牛、豚、子羊）	16
(8) 残留試験（魚介類）	16
3. 遺伝毒性試験	20
4. 急性毒性試験	22
(1) 急性毒性試験（マウス、ラット）	22
(2) 急性毒性試験（イヌ）	23
(3) 急性毒性試験（イヌ、代謝物）〈参考データ〉	24
5. 亜急性毒性試験	26
(1) 28日間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）	26

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、強制経口投与)	27
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)	28
(4) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)	29
(5) 28 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)	29
(6) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)	30
(7) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与①)	31
(8) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与②)	31
6. 慢性毒性及び発がん性試験	32
(1) 53 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス、皮下投与)〈参考データ〉	32
(2) 18 か月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)	33
(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)	33
(4) 5 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (イヌ、混餌投与)	34
(5) 33 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	35
(6) 24 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	35
7. 生殖発生毒性試験	35
(1) 多世代生殖毒性試験 (ラット①、混餌投与)	35
(2) 多世代生殖毒性試験 (ラット②、混餌投与)	36
(3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット、経口投与)	36
(4) 2 世代生殖毒性試験 (イヌ、混餌投与)	37
(5) 発生毒性試験 (ラット①、強制経口投与)	39
(6) 発生毒性試験 (ラット②、強制経口投与)	40
(7) 発生毒性試験 (ラット③、強制経口投与)	40
(8) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与)	41
8. 対象動物を用いた安全性試験	42
(1) 鶏	42
(2) 豚	42
(3) 牛	42
(4) 魚類	42
9. 一般薬理試験	43
(1) 体温	43
(2) 脳波及び瞳孔	43
(3) 血圧、心拍及び呼吸	44
10. その他の試験	44
(1) 腎毒性 (ラット)	44
(2) 神経毒性	44
(3) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	45
(4) 皮膚刺激性試験 (ウサギ、モルモット)	45
(5) 眼刺激性試験 (ウサギ)	45
(6) 皮膚感作性試験 (モルモット)	45
11. ヒトに関する知見	45

Ⅲ. 食品健康影響評価 .....	46
1. 国際機関等における評価について .....	46
(1) JMPR における評価 .....	46
(2) EPA における評価 .....	46
(3) EFSA における評価 .....	47
2. 本調査会における食品健康影響評価	
▪ JMPR における各種試験の無毒性量等 .....	49
▪ 別紙：検査値等略称 .....	51
▪ 参照 .....	53

1 <審議の経緯>

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）

2012年 9月 12日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について  
要請（厚生労働省発食安0905第1号）、関係資料の接受

2012年 9月 24日 第447回食品安全委員会（要請事項説明）

2012年 10月 9日 第60回肥料・飼料等専門調査会

2012年 11月 6日 第62回肥料・飼料等専門調査会

2

3 <食品安全委員会委員名簿>

（2012年7月1日から）

熊谷 進（委員長）

佐藤 洋（委員長代理）

山添 康（委員長代理）

三森 国敏（委員長代理）

石井 克枝

上安平 洌子

村田 容常

4

5 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

（2011年10月1日から）

唐木 英明（座長）

津田 修治（座長代理）

青木 宙 舘田 一博

秋葉 征夫 戸塚 恭一

池 康嘉 細川 正清

今井 俊夫 宮島 敦子

江馬 眞 山中 典子

桑形 麻樹子 吉田 敏則

下位 香代子

高橋 和彦

6

7

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

## 要 約

抗酸化剤である「エトキシキン」(CAS No. 91-53-2) について、各種評価書等 (JMPR の評価書等) を用いて食品健康影響評価を実施した。

[以下、調査会終了後作成。]

1 I. 評価対象飼料添加物の概要

2 1. 用途

3 抗酸化剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：エトキシキン

7 英名：Ethoxyquin

8

9 3. 化学名

10 IUPAC

11 英名：6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1*H*-quinoline

12 CAS (No. 91-53-2)

13 英名：6-Ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline

14

15 4. 分子式

16  $C_{14}H_{19}NO$

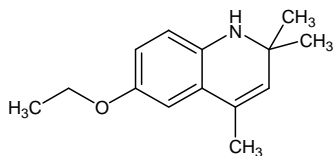
17

18 5. 分子量

19 217.31

20

21 6. 構造式



22

(参照 2) [The Merck Index]

23

24 7. 使用目的及び使用状況

25 エトキシキンは、抗酸化剤（酸化防止剤）で、飼料の品質維持を目的に、油脂や脂溶  
26 性ビタミン（ビタミン A 及び E 等）等の有効成分の酸化を防止し安定化するために使用  
27 される。

28 エトキシキンは、海外で抗酸化剤（酸化防止剤）として広く使用されている。

29 香辛料、魚粉、家きん飼料及びその他の動物用飼料等に用いられ、アルファルファや  
30 クローバー等の飼料作物においてはカロテンやビタミン E の酸化防止に、チリパウダー  
31 やパプリカ等の製造に際しては色の保持のための酸化防止及びゴムの安定剤や抗劣化  
32 剤として使用される。

33 また、りんごやなしの焼け病防止のために農薬として使用されている。

1 (参照 3、4) [JMPR 1969、p1、EPA 2004、p17]  
2 日本では、抗酸化剤の飼料添加物として指定されている。  
3 なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>1</sup>が設定されている (参照 1)  
4 今回、甲殻類への基準値設定のため評価要請されている。

## 6 II. 安全性に係る知見の概要

7 本評価書では、JMPR の評価書等をもとに、エトキシキンの毒性に関する主な知見を  
8 整理した。

9 検査値等略称は別紙に記載した。

### 11 1. 薬物動態試験

#### 12 (1) 薬物動態試験 (マウス、ラット)

13 ラット (Fischer 344、約 8 週齢、雄 3 匹/群) 及びマウス (B6C3F<sub>1</sub>、約 8 週齢、雄 3  
14 匹/群) に、[3-<sup>14</sup>C]エトキシキンを単回強制経口投与 (2.5 (ラットのみ)、25 及び 250 mg/kg  
15 体重) 又は単回静脈内投与 (25 mg/kg 体重) し、エトキシキンの薬物動態試験が実施さ  
16 れた。放射標識は LSC で測定し、サンプル中の未変化体エトキシキン濃度は HPLC で  
17 測定した。

18 エトキシキンの動態は、経口投与と静脈内投与で類似していた。吸収は速やかで、1  
19 時間以内に血中及び組織中 C<sub>max</sub> に達した。2.5 及び 25 mg/kg 体重で経口投与した際  
20 には (24 時間以内に 85 %以上) が排泄され、尿中への排泄は糞便への約 1.5 倍であつた。  
21 投与 24 時間後の組織中濃度は、投与量の 2 %以下であつた (表 1)。~~ラットでは、高用~~  
22 ~~量の方排泄が低用量よりも排泄が遅かつ遅延したが、投与量によるその差違いはわずか~~  
23 ~~であつたほとんどみられなかつた。著者はこれを胃内容物排出速度の排出遅延によるも~~  
24 ~~のと考察した。また有意な脂肪への分布沈着が認められた。~~

25  
26 ラットでは、僅かな差ではあるが、高用量投与の排泄が低用量投与の場合よりも遅延  
27 した。これは、胃内容物排出速度の遅延に伴い (結果的に消化管からの吸収が増加し)  
28 脂肪組織への分布が有意に増加したことが原因となっているものと考えられた。

#### 31 専門委員コメント 1

32 これが修文の限界です。高用量投与が 25mg/kg なのか 250mg/kg なのかによって解釈が  
33 違ってきます。例えば 25mg/kg と 2.5mg/kg を比べると高用量では糞中排泄が減少し、  
34 尿中排泄が増えているので吸収が増加している可能性があります。排泄率はほとんど  
35 変わらず、脂肪組織への分布が増えています。250mg/kg では、排泄率は減少しているの

1 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値



1 ですが（これを僅かと考えるのか？）、尿中排泄の割合が糞中排泄より増加しており、  
2 脂肪組織への分布は 2.5mg/kg の 10 倍以上に増加しています。

3  
4 ~~250 mg/kg 体重/日での 3～4 回反復投与後の結果は、25 mg/kg 体重/日での反復又は~~  
5 ~~単回投与後の結果と同様であったと報告され、これは代謝酵素の誘導及び/又は通常の胃~~  
6 ~~内容物排出速度が通常の状態への回復したためを示すものと考察されている（データ~~  
7 ~~未公表）。~~

### 9 専門委員コメント 2

10 この文章は、排泄の結果なのか分布の結果なのか不明なうえ、未発表データなので削  
11 除した方が良いと思います。

12  
13 マウスにおける排泄速度は、ラットよりわずかに速かった。未変化体のエトキシキン  
14 は、ほとんどの時点で血漿中から検出されなかったため、全体的な生物学的利用率は  
15 計算されていないなかった。血液中の放射性標識の約 60 %は血漿中に存在し、8 %は沈  
16 殿した血漿タンパク質に関わるものであった。ラットにおいて、25 mg/kg 体重/日反復  
17 投与時及びより少ない程度ではあるが 250 mg/kg 体重/日投与時で、生体内蓄積がある  
18 とのいくつかの結果（データ未公表）がいくつか示されたが、筋肉には蓄積は認められ  
19 なかった。

20 静脈内投与後、最初に組織中  $C_{max}$  に達したのは肝臓及び腎臓であったが、マウスの脂  
21 肪組織では投与 2 時間後に  $C_{max}$  となった（表 2）。静脈内投与では 23 %（ラット）及び  
22 33%（マウス）が糞中に排泄され（表 1）、また投与量の 40 %が胆管カニューレ装着ラ  
23 ットの胆汁中に認められた。これは、胆汁排泄及び腸肝循環がエトキシキンの薬物動態  
24 に重要な役割を果たしていることを示している。未変化体のエトキシキンは、尿中から  
25 は検出されず、糞便、肝臓、腎臓及び脂肪組織中にわずかに存在するのみであった。未  
26 変化体エトキシキンの血漿における消失半減期は 23 分と算出された。（参照 5）[JMPR  
27 1998、p31～32]

28  
29 表 1 [3-<sup>14</sup>C]エトキシキンの経口及び静脈内投与 24 時間後における組織分布及び  
30 0～24 時間の排泄の割合 (%)

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

(各 3~6 匹の平均値)

表 2 [3-<sup>14</sup>C]エトキシキンの静脈内投与 (25 mg/kg 体重) 後における各時点の組織中濃度 (μg eq/g)

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

(各 3 匹の平均値)

## (2) 薬物動態試験 (ラット)

ラットにエトキシキンを 10 日間混餌投与 (50 ppm) した。肝臓及び腎臓で蓄積が認められ、それぞれの濃度は 2.1~4.8 及び 2.1~2.7 ppm であった。脂肪及び骨格筋では 1 ppm 未満であった。(参照 3) [JMPR 1969, Absorption, distribution and excretion 1969, p2]

非標識エトキシキンを数週間混餌投与 (50 ppm) して前処理したラットを用い、複素環の 2 及び 4 の位置に <sup>14</sup>C 標識したエトキシキンを単回経口投与 (1.5 mg) した。2 日間で放射活性の 30 %が尿中に、34 %が糞便中に排泄された。4 日間及び 7 日間では、それぞれ 40~60 %及び 58 %が尿中に、30~40 %及び 36 %が糞便中に排泄された。呼気中の <sup>14</sup>C 標識 CO<sub>2</sub> は、投与 1 日後のみに検出され、投与量の 0.7 %であった。(参照 3) [JMPR 1969, Absorption, distribution and excretion 1969, p2]

ラットへのエトキシキンの反復投与では、脂肪及び肝臓と同様に腎臓への残留が認められた。ラットでは、投与された <sup>14</sup>C の約 1 %が <sup>14</sup>C 標識 CO<sub>2</sub> として呼気中に排出されるのに対し、鶏では 0.2%であるため、代謝分解度はラットの方が鶏よりも大きいと考えられた。(参照 3) [JMPR 1969, Absorption, distribution and excretion 1969, p2]

非標識エトキシキンを数週間混餌投与 (50 ppm) し前処理した妊娠ラットに、標識エトキシキンを分娩前 9 日間投与した。新生児の組織中に 0.12~0.21 ppm のエトキシキンが含まれていたことから、エトキシキンの胎盤移行が示された。エトキシキンを 10 日間混餌投与 (50 ppm) した雌ラット 2 例の乳汁サンプルでは、0.12 及び 0.19 ppm の残留が認められた。(参照 3) [JMPR 1969, Absorption, distribution and excretion 1969, p2]

## —(3) 薬物動態試験 (イヌ)—

1 犬を用いた代謝試験において、エトキシキン~~は、それ自体は尿中に排泄されず~~ (定量  
2 限界以下)、4種類の未同定代謝物 (おそらくグルクロニド) として排泄されることが示  
3 された。代謝過程でエトキシ基が分子から分かれたという証拠は認められなかった。排  
4 泄は主に腎臓経由で行われ、糞便からはわずかであることが示された。(参照 3) [JM  
5 1969, Absorption, distribution and excretion, p2]

#### 6 7 (4.3) 薬物動態試験 (鶏)

8 鶏への<sup>14</sup>C標識エトキシキンの単回投与試験では、48時間以内に99%が回収された。  
9 エトキシキンの連続混餌投与 (125~137 ppm) 試験では、最初の12週間に、肝臓及び  
10 脂肪に約0.1 ppm/週のエトキシキン及びその代謝物の蓄積がみられた。筋肉及び他の食  
11 用組織では、蓄積はほとんど検出されなかった。投与終了6~18時間後で、組織中残留  
12 の79~90%が減少した。排泄された物質は、15%が未変化体のエトキシキンで、残り  
13 は*N*-グルクロニドと*N*-アセチル誘導体と考えられた。(参照 3) [JM  
14 1969, Absorption, distribution and excretion 1969, p1~2]

#### 15 16 (5.4) 代謝試験 (ラット)

17 上記(1)薬物動態試験において[3-<sup>14</sup>C]エトキシキンを投与(経口;25及び250 mg/kg  
18 体重、静脈内;25 mg/kg 体重)したラット及びマウスから得られた尿、糞便及び各組織  
19 のサンプルを用いてエトキシキンの代謝試験が実施され、代謝物をHPLC、<sup>1</sup>H-核磁気  
20 共鳴分光法及び質量分析法を用いて検討した。

21 8種類の代謝物が尿中から検出され、4種類のみが同定された(表3, 図1)。未変化体  
22 エトキシキンは検出されなかった。ラット及びマウスにおける主要代謝経路は、C-6位  
23 での*O*-脱エチル化に続いて硫酸(代謝物G)又はグルクロン酸(代謝物F)との抱合を  
24 含むと考えられた。副次経路として、C-8位での水酸化及びグルクロン酸抱合(代謝物  
25 H)、あるいはC-6位での*O*-脱エチル化及び硫酸化を伴うC-3,4間のエポキシ化も示さ  
26 された。ラットとマウスの主な違いは、マウスの方がグルクロン酸抱合の割合が高かつ  
27 たことである。25 mg/kg 体重で投与したラットにおける代謝物プロフィールは、経口投与  
28 と静脈内投与で有意な差がみられなかった。

29 エトキシキンを250 mg/kg 体重で投与した場合は、25 mg/kg 体重で投与した場合よ  
30 りC-6硫酸抱合体(代謝物G)の放射標識の割合が高かった(表3)。25 mg/kg 体重で  
31 6回投与後の尿中代謝物プロフィールは、単回投与後と同様であった。250 mg/kg 体重  
32 6回投与後では、単回投与後より、グルクロニド代謝物F及びHの割合が高く、代謝物  
33 G及びEの割合が低かった。これは、硫酸化が飽和したか、あるいはグルクロン酸抱合  
34 化が誘導されたことを示している。

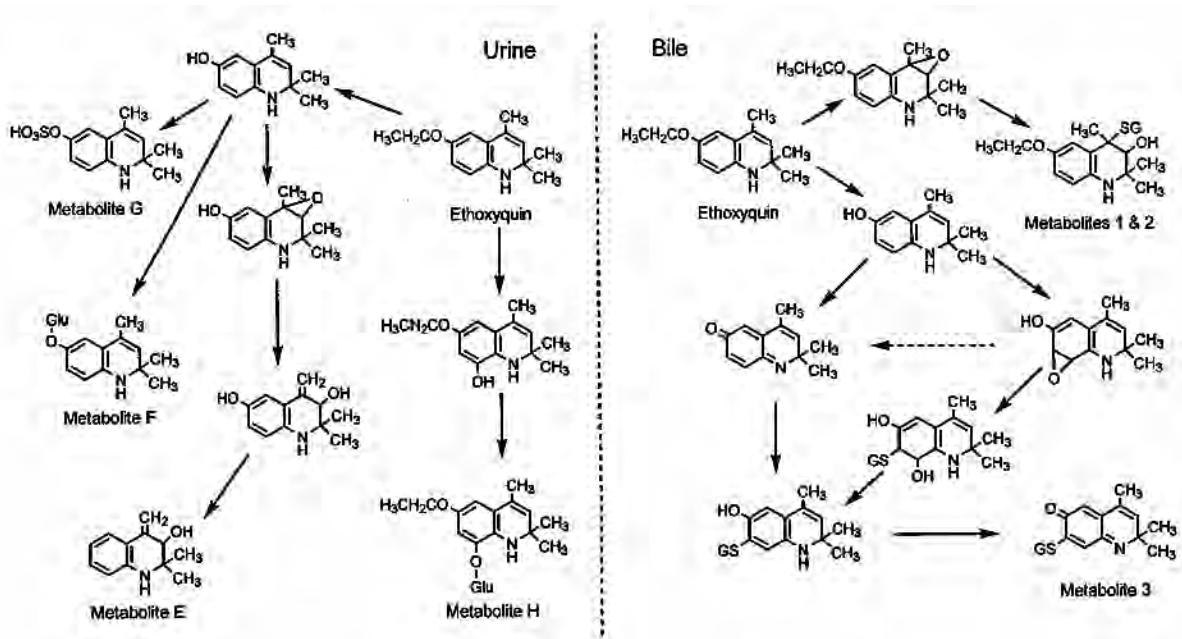
35 腎臓及び肝臓においては、主要代謝物はGであった。糞便サンプルは抽出不十分で(回  
36 収率30%以下)、信頼できる結果は得られなかった。胆汁中からは、3種類のグルタチ  
37 オン抱合体が検出され、未変化体は放射標識の5%以下であった。この知見は、胆汁中  
38 の大部分の放射標識はエトキシキンとして存在するとしている他の研究グループの結  
39 果と対照的であるとし、反応性求電子中間体(エポキシド)の産生を含む胆汁代謝物の  
40 反応スキームが提示された(図1)。(参照5) [JM  
1998, p33~34]

1  
2  
3

表 3 ラットへの[3-14C]エトキシキン強制経口投与後の代謝物プロフィール  
(24時間尿サンプル中の総放射活性に対する割合 (%))

代謝物 <sup>a</sup>	投与量 (mg/kg 体重)			
	1 × 25	6 × 25	1 × 250	6 × 250
A	6	7	4	9
B	6	5	4	7
C	9	8	5	3
D	7	6	2	< 1
E	17	12	10	6
F	5	6	3	15
G	34	42	59	30
H	3	4	4	14
未変化体	< 1	< 1	< 1	< 1

4 a 構造式は図 1 参照  
5



6  
7 図 1 ラットにおけるエトキシキンの推定代謝経路  
8 G:glutathione、Glu:glucuronide  
9

10 (5) 代謝試験 (イヌ)

11 イヌを用いた代謝試験において、エトキシキンは、それ自体は尿中に排泄されず (定  
12 量限界以下)、4 種類の未同定代謝物 (おそらくグルクロニド) として排泄されることが  
13 示された。代謝過程でエトキシ基が分子から分かれたという証拠は認められなかった。  
14 排泄は主に腎臓経路で行われ、糞便からはわずかであることが示された。(参照 3) [JMPPR  
15 1969, Absorption, distribution and excretion, p2]

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (牛、乳汁)

泌乳牛 (ホルスタイン種、36~105 か月齢、3 頭/群) にエトキシキンが 28 日間混餌投与 (50、150 及び 500 ppm) された。投与開始前並びに投与開始 1、3、7、14、21 及び 28 日後の乳汁、投与終了後の肝臓、腎臓、筋肉 (背最長筋) 及び脂肪 (腎臓周囲脂肪) について、蛍光検出器付 HPLC により乳汁及び組織中のエトキシキン濃度が測定された (定量限界 : 0.01 mg/kg)。

乳汁については、50 及び 150 ppm 投与群のいずれの時点においてもエトキシキンは検出されなかった。500 ppm 投与群では、投与開始 1 及び 7 日後にそれぞれ 1 及び 2 例 (0.01~0.02 mg/L) から検出され、投与開始 14 日後以降ではそれぞれ 3 例 (0.02~0.03 mg/L) から検出された。組織については、50 ppm 投与群の肝臓、腎臓及び筋肉からは検出されなかったが、脂肪からは 3 例 (0.04~0.05 mg/kg) 検出された。150 ppm 投与群では、肝臓、腎臓、筋肉のそれぞれ 1 例 (0.01 mg/kg) から検出され、脂肪からは 3 例 (0.11~0.18 mg/kg) 検出された。500 ppm 投与群では、筋肉の 2 例 (0.01~0.03 mg/kg) 並びに肝臓、腎臓及び脂肪のそれぞれ 3 例から、0.04~0.06、0.01~0.02 及び 0.60~0.82 mg/kg が検出された。(参照 7) [エトキシキンの牛への移行調査報告書、p367~382]

### (2) 残留試験 (牛)

子牛 (去勢雄 : 2~8 頭/群、未經産雌 : 12 頭) を用いた 2~8 か月間混餌投与試験 (雄 : 0、150、300 及び 900 ppm、雌 : 150 ppm) が実施された。0 (無投与群) 及び 150 ppm 投与群では、可食部筋肉及び肝臓並びにその他のタンパク質含有可食部組織において、有意な濃度のエトキシキンは認められなかった (無投与群 : 肝臓 0.29、腎臓 0.48 及び筋肉 0.16 mg/kg、150 ppm 投与群 : それぞれ 0.21、0.10 及び 0.27 mg/kg)。また、300 及び 900 ppm 投与群並びに未經産雌 150 ppm 投与群の肝臓中エトキシキン濃度は、無投与群と比較して有意に異なるものではなかった (それぞれ 0.4、0.53 mg/kg 及び検出されず)。しかし、300 及び 900 ppm 投与群 (推奨投与濃度の 2~6 倍) の脂肪からは、明確な量のエトキシキンが検出された (それぞれ 5.15 及び 10.75 mg/kg)。(参照 6) [エトキシキンの概要、P73、資料 6 Monsanto 社資料 Effect of Feeding Graded Levels of Ethoxyquin to Cattle、p 185~197]

### (3) 残留試験 (豚①)

子豚 (LW 種、雄 6 頭/群) を用いたエトキシキンの 6 か月間混餌投与 (10 及び 30 ppm) 試験が実施された。対照群 (雌雄各 2 頭/群) には、無添加飼料を給与した。投与開始 3 か月後並びに最終投与 0、1、3、5 及び 7 日後に各群 1 頭の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸から検体を採取した。残留分析は、2 施設で実施された。

結果を表 4 に示した。

各投与群の中間時及び最終投与 0 日後では、肝臓及び小腸に微量の残留が認められたが、それ以外では全て検出限界未満であった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p70~71、資料 1 エトキシキンの豚における残留試験、p81~92]

1

2 表 4 豚の各組織におけるエトキシキンの残留分析結果 (ppm)

投与区分	組織	中間時	最終投与後日数				
			0日	1日	3日	5日	7日
10 ppm	肝臓	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<0.01		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
小腸	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
	0.01	0.04	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
脂肪	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	
	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	
30 ppm	肝臓	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<0.01		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
小腸	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
	0.56	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
脂肪	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	
	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	

3 2 施設の分析値をそれぞれ上下 2 段に記載した。

4 検出限界 : 0.01 ppm (肝臓、腎臓、筋肉、小腸)、0.03 ppm (脂肪)

5

## 6 (4) 残留試験 (豚②)

7 子豚 (LWH 種、雄 6 頭/群) を用いたエトキシキンの 9 週間混餌投与 (10、30、60  
8 及び 150 ppm) 試験が実施された。投与開始 35 日後並びに最終投与 0、1、3、5 及び 7  
9 日後に各群 1 頭の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸から検体を採取した。対照群は、雄  
10 2 頭を用い、投与開始 14 日後及び最終投与 5 日後に検体を採取した。

11 結果を表 5 に示した。

12 エトキシキン 10 ppm 投与群では、中間時及び最終投与 0~7 日後の全ての検体で残  
13 留は検出限界未満であった。中間時では 30ppm 以上投与群の肝臓及び小腸並びに  
14 150ppm 投与群の脂肪に、最終投与 0 日後では、30ppm 以上投与群の肝臓、60ppm 以  
15 上投与群の小腸並びに 150 ppm 投与群の脂肪に残留が認められたが、残留の減衰は速  
16 やかで、最終投与 1 日後では、全て検出限界未満となった。(参照 6) [エトキシキンの概  
17 要、P71~72、資料 2 エトキシキンの残留試験報告書 (ブロイラー及びブタ)、p95~115]

1  
2

表 5 豚の各組織におけるエトキシキンの残留分析結果 (ppm)

投与区分	組織	中間時	最終投与後日数				
			0日	1日	3日	5日	7日
10 ppm	肝臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
30 ppm	肝臓	0.01	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
60 ppm	肝臓	0.04	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	0.05	0.14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
150 ppm	肝臓	0.12	0.06	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	0.03	0.24	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	0.04	0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03

3 検出限界：0.01 ppm (肝臓、腎臓、筋肉、小腸)、0.03 ppm (脂肪)

4  
5

(5) 残留試験 (鶏)

6 肉用鶏 (ハバード種、5 週齢、雌雄各 14 羽/群) を用いたエトキシキンの 4 週間混餌  
7 投与 (10、25、55、75 及び 150 ppm) 試験が実施された。投与開始 14 日後並びに最  
8 終投与 0、1、2、3 及び 4 日後に、各群 3 羽 (雌雄無差別) の肝臓、腎臓、筋肉及び脂  
9 肪から検体を採取した。対照群は、投与開始 14 日後及び最終投与 0 日後に各 3 羽 (雌  
10 雄無差別) を測定した。

11 結果を表 6 に示した。

12 エトキシキン 10 ppm 投与群では、中間時の腎臓 (0.02 ppm) 並びに最終投与 0 及び  
13 1 日後の脂肪 (それぞれ 0.08、0.04 ppm) に残留が認められた。25 ppm 群では中間時  
14 の肝臓、腎臓及び脂肪並びに最終投与 0 日後の腎臓及び 0~3 日後の脂肪に残留がみら  
15 れ、その他の部位及び時点では検出限界未満であった。55 及び 75 ppm 群は、ほぼ同様  
16 の残留傾向で、肝臓及び腎臓において最終投与 0 日後まで残留がみられ、脂肪では 4 日

1 後についても残留がみられた。筋肉では、中間時のみに残留がみられ、最終投与 0 日後  
 2 以降は検出限界未満であった。150 ppm 群では、肝臓及び腎臓で最終投与 1 日後、筋肉  
 3 で最終投与 0 日後、脂肪では最終投与 4 日後まで残留が認められた。（参照 6）[エトキ  
 4 シキンの概要、P68～70、資料 2 エトキシキンの残留試験報告書（ブロイラー及びブタ）、p95～115]

5

6 表 6 鶏の各組織におけるエトキシキンの残留分析結果 (ppm)

投与区分	組織	中間時	最終投与後日数				
			0 日	1 日	2 日	3 日	4 日
10 ppm	肝臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.03	0.08	0.04	<0.03	<0.03	<0.03
25 ppm	肝臓	0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.09	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	0.28	0.18	0.14	0.10	0.05	<0.03
55 ppm	肝臓	0.15	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.15	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	0.61	0.43	0.31	0.29	0.14	0.07
75 ppm	肝臓	0.18	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.43	0.04	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	0.87	0.48	0.34	0.23	0.20	0.13
150 ppm	肝臓	0.59	0.07	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.81	0.09	0.02	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.04	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	2.95	1.33	1.53	0.78	0.36	0.30

7 検出限界：0.01 ppm（肝臓、腎臓、筋肉、小腸）、0.03 ppm（脂肪）

8

9 (6) 残留試験（鶏卵）

10 卵用鶏（ノーリン 101、10 羽/群）にエトキシキンを 28 日間混餌投与（0、7.5、15、  
 11 30、60 及び 150 ppm）し、投与開始 7 及び 14 日後並びに最終投与 0、1 及び 2 日後に、  
 12 採卵し、鶏卵中の残留を調べた。

13 結果を表 7 に示した。

14 卵白では、全投与群について、いずれの時点においても検出限界（0.03 ppm）未満で  
 15 残留は認められなかった。



卵黄では、7.5、15 及び 30 ppm 投与群の全ての時点で検出限界未満であり、残留は認められなかったが、60 及び 150 ppm 投与群では、最終投与 2 日後まで全ての時点で残留が認められた（それぞれ 0.03～0.06、0.09～0.12 ppm）。（参照 6）[エトキシキンの概要、P70、資料 3 エトキシキンの残留試験報告書（鶏卵への移行）、p119～128]

表 7 鶏卵中のエトキシキンの残留分析結果（ppm）

試験材料	投与量 (ppm)	投与開始後日数		最終投与後日数		
		7 日	14 日	0 日	1 日	2 日
卵白	7.5	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	15	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	30	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	60	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	150	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
卵黄	7.5	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	15	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	30	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
	60	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03
	150	0.12	0.11	0.10	0.12	0.09

#### (7) 残留試験（子牛、豚、子羊）

子牛、豚及び子羊（離乳後 1 か月以内、各 2 頭）に <sup>14</sup>C 標識エトキシキンが 10 日間経口投与（30 ppm、0.25～1.92 mg/kg/日相当）され、最終投与 12～16 時間後の残留が検討された。

標識エトキシキンは、いずれの動物においても筋肉（可食部）では検出されなかったが、豚及び子羊の肝臓からは検出された（0.14～0.28 ppm、検出限界：0.15 mg/kg）。

（参照 6）[エトキシキンの概要、P72、(5) Monsanto 社資料 Lack of Residue in Pigs, Lambs and Calves Eating Santoquin Treated Forages、p177～181]

#### (8) 残留試験（魚介類）

##### ① あゆの混餌投与試験

あゆを用いたエトキシキンの 63 日間混餌投与（150 及び 450 ppm）試験を実施し、投与開始時、中間時、並びに最終投与 24、48、72 時間後及び 7 日後の筋肉及び内臓中のエトキシキン濃度が測定された（10 尾以上/検体、検出限界：0.05 mg/kg）。

150 ppm 投与群では、最終投与 48 時間後の内臓でエトキシキンが検出（0.07 mg/kg）されたが、中間時を含めその他の時点では検出されなかった。筋肉については、いずれの時点においても検出されなかった。

450 ppm 投与群では、最終投与 24 時間後の筋肉及び内臓で検出（0.06～0.09 mg/kg）されたが、中間時を含めその他の時点では検出されなかった。

1 あゆにエトキシキン混餌投与 (0、200、400、800 及び 1,600 ppm) し、投与 24  
2 時間後の筋肉及び内臓中のエトキシキン濃度が測定された (10 尾以上/検体、検出限界:  
3 0.05 mg/kg)。

4 筋肉では、800 ppm 投与群でエトキシキンが検出 (0.08 mg/kg) されたが、その他の  
5 投与群からは検出されなかった。内臓では、400 ppm 以上投与群から検出された (0.11  
6 ~0.26 mg/kg)。(参照 6) [エトキシキンの概要、P74、資料 7 養魚飼料添加物使用基準検討試験事  
7 業 (アユ) p201~210]

## 8 9 ②くるまえびの混餌投与試験

10 くるまえび(当歳えび)を用いたエトキシキンの 12 日間混餌投与 (150 及び 450 ppm)  
11 試験を実施し、投与開始時並びに最終投与 6、12 及び 24 時間後の可食部 (腸管付き)  
12 中のエトキシキン濃度が HPLC により測定された (投与開始時: 20 尾/検体、最終投与 6  
13 ~24 時間後: 15 尾/検体、定量限界: 0.01 mg/kg)。

14 150 ppm 投与群では、最終投与 6 及び 12 時間後の検体からそれぞれ 0.09 及び 0.02  
15 mg/kg のエトキシキンが検出されたが、最終投与 24 時間後の検体では定量限界以下と  
16 なった。

17 450 ppm 投与群では、最終投与 6 及び 12 時間後の検体からそれぞれ 0.14 及び 0.07  
18 mg/kg のエトキシキンが検出され、最終投与 24 時間後では定量限界以下となった。(参  
19 照 6) [エトキシキンの概要、P76、資料 13 養殖クルマエビ酸化防止剤残留試験報告書、p329~366]

## 20 21 ③こいの混餌投与試験

22 こい (1 年魚) を用いたエトキシキンの 76 日間混餌投与 (150 及び 450 ppm) 試験  
23 が実施され、投与開始時、中間時 (投与開始 43 日後、前日の最終投与から約 16 時間経  
24 過した当日の投与直後)、並びに最終投与 24、48、及び 72 時間後並びに 7 日後の筋肉  
25 及び内臓中のエトキシキン濃度が測定された (10 尾以上/検体、検出限界: 0.05 mg/kg)。  
26 両投与群の内臓で、最終投与 48 時間後までエトキシキンが検出 (150 ppm 群: 中間時  
27 0.14、最終投与 48 時間後 0.20、450 ppm 群: 中間時 2.1、投与終了後 24 時間 0.19、  
28 48 時間 0.14 mg/kg) されたが、72 時間後以降は検出されなかった。筋肉では、両投与  
29 群のいずれの時点においても検出されなかった。

30  
31 こい (1 年魚) にエトキシキンを混餌投与 (0、200、400、800 及び 1,600 ppm) し、  
32 投与 24 時間後の筋肉及び内臓中のエトキシキン濃度が測定された (10 尾以上/検体、検  
33 出限界: 0.05 mg/kg)。

34 筋肉では、いずれの濃度の投与群からもエトキシキンは検出されなかった。内臓では、  
35 800 ppm 及び 1,600 ppm 投与群で検出され、それぞれ 0.08 及び 0.22 mg/kg であった。

36 (参照 6) [エトキシキンの概要 p74~75、資料 8 養魚飼料添加物使用基準検討試験委託事業報告書 (コ  
37 イ) 211~231]

## 38 39 ④うなぎの混餌投与試験

1 うなぎを用いたエトキシキンの2か月間混餌投与(150及び450 ppm)試験が実施さ  
2 れ、投与開始時、中間時(投与開始30日後)、並びに最終投与24、48、及び72時間後  
3 並びに7日の筋肉中のエトキシキン濃度が測定された(10尾/検体、検出限界: 0.05  
4 mg/kg)。

5 150 ppm 投与群では、いずれの時点においてもエトキシキンは検出されなかった。

6 450 ppm 投与群では、最終投与72時間後まで検出(中間時0.22、最終投与24時間  
7 後0.65及び0.45\*、48時間後0.22、72時間後0.15 mg/kg)され、7日後では検出され  
8 なかった。(\*別の検査機関クロスチェック値)(参照6)[エトキシキンの概要p74~75、資料  
9 9 養魚飼料添加物使用基準検討試験委託事業報告書(ウナギ)p233~252]

10  
11 うなぎ(ニホンウナギ、2年魚)を用いたエトキシキンの4か月間混餌投与(150及  
12 び750 ppm)試験が実施された。750 ppm 投与群は、試験途中に摂餌不良となり、投  
13 与開始24日後より対照群飼料に切り替え、59日から3日間について再度試験飼料を給  
14 餌し投与試験を終了した。投与開始時、投与終了時、投与終了後1、2及び4週間にお  
15 ける筋肉及び内臓中のエトキシキン濃度を測定し残留を調べた(検出限界: 0.05 mg/kg)。

16 150 ppm 投与群では、投与終了時の内臓で検出(0.40 mg/kg)され、投与終了後1週  
17 間以降は検出されなかった。筋肉については、いずれの時点においても検出されなかつ  
18 た。

19 750 ppm 投与群では、投与終了時までの3日間における1尾あたりのエトキシキン摂  
20 取量が3.4mgで、投与終了時の筋肉から平均0.72 mg/kg (0.58、0.87 mg/kg)、内臓か  
21 ら平均0.92 mg/kg (0.85、0.99 mg/kg)のエトキシキンが検出された。投与終了後1週  
22 間以降は、筋肉及び内臓のいずれからも検出されなかった。(参照6)[エトキシキンの概  
23 要p74~75、資料11 養魚飼料添加物使用基準検討試験事業受託報告 ウナギp281~295]

#### 24 25 ⑤にじますの混餌投与試験

26 にじますを用いたエトキシキンの2か月間混餌投与(150及び450 ppm)試験が実施  
27 され、投与開始時、中間時(投与開始30日後)、並びに最終投与24、48及び72時間後  
28 並びに7日後の筋肉及び内臓中のエトキシキンが測定された(10尾/検体、検出限界: 0.05  
29 mg/kg)。

30 150 ppm 投与群では、最終投与24時間後までの内臓でエトキシキンが検出(中間時:  
31 0.31、最終投与24時間後: 0.27 mg/kg)され、最終投与48時間後以降は検出されなかつ  
32 った。

33 450 ppm 投与群では、最終投与72時間後までの内臓で検出(中間時1.0、最終投与  
34 24時間後1.4、48時間後0.35、72時間後0.1 mg/kg)され、最終投与7日後では検出  
35 されなかった。

36 両投与群ともに、筋肉ではいずれの時点においても検出されなかった。

37  
38 にじますにエトキシキンを混餌投与(0、200、400、800及び1,600 ppm、0、14、  
39 28、56及び101.1 mg/kg 体重相当)し、投与24時間後の筋肉及び内臓中のエトキシキ  
40 ン濃度が測定された(10尾以上/検体、検出限界: 0.05 mg/kg)。

1 筋肉では、800 ppm 及び 1,600 ppm 投与群で検出され、それぞれ 0.09 及び 0.19 mg/kg  
2 であった。内臓では、全投与群から検出され、投与量の順にそれぞれ 0.18、0.6、1.4、  
3 及び 11 mg/kg であった。(参照 6) [エトキシキンの概要 p74~75、資料 10 養魚飼料添加物使用  
4 基準検討試験委託事業報告書 (ニジマス) p255~279]

5  
6 にじますを用いたエトキシキンの 16 週間混餌投与 (150 及び 750 ppm) 試験が実施  
7 され、投与開始時、中間時 (投与開始 60 日後)、並びに最終投与 24 時間後、並びに 1、  
8 2 及び 4 週間後における筋肉及び内臓中のエトキシキンが測定された (10 尾以上/検体、  
9 検出限界: 0.05 mg/kg)。

10 150 ppm 投与群では、最終投与 24 時間後の内臓からエトキシキンが検出 (0.19  
11 mg/kg) されたが、その他の時点では検出されなかった。

12 750 ppm 投与群では、最終投与 24 時間後までの内臓で検出 (中間時 0.37、最終投与  
13 24 時間後 2.02 及び 2.10 mg/kg) されたが、その他の時点では検出されなかった。

14 両投与群ともに、筋肉ではいずれの時点においても検出されなかった。

15  
16 にじますにエトキシキンを 7 日間混餌投与 (0、200、800、3,200 及び 12,800 ppm、  
17 実際の摂餌量 : 0、15.56、62.22、133.33 及び 258.33 mg/kg) し、最終投与 24 時間後  
18 の筋肉及び内臓中のエトキシキンが測定された (10 尾以上/検体、検出限界: 0.05 mg/kg)。

19 筋肉では、全ての群でエトキシキンは検出されなかった。内臓では、対照群を含む全  
20 全ての群から検出され、投与量の順にそれぞれ 0.29、0.50、1.30、3.48 及び 2.56 mg/kg  
21 であった。(参照 6) [エトキシキンの概要 p74~75、資料 12 養魚飼料添加物使用基準検討試験委託  
22 事業報告書 (ニジマス) p299~327]

## 23 24 ⑥まだいの混餌投与試験

25 まだい (0 年魚) を用いたエトキシキンの 60 日混餌投与 (150 及び 450 ppm) 試験  
26 が実施され、投与開始時、最終投与 24、48、及び 72 時間後並びに 7 日後における筋肉  
27 及び内臓中のエトキシキンを測定した (20 尾以上/検体、検出限界: 0.01 mg/kg)。

28 150 ppm 投与群では、最終投与 24 時間後の内臓からエトキシキンが検出 (0.04  
29 mg/kg) されたが、48 時間後以降は検出されなかった。

30 450 ppm 投与群では、最終投与 72 時間後までの内臓で検出 (最終投与 24 時間後 :  
31 0.51 mg/kg 及び 0.46mg/kg、48 時間後 : 0.23 mg/kg、72 時間後 : 0.14 mg/kg) され、  
32 7 日後では検出されなかった。

33 両投与群ともに、筋肉ではいずれの時点においても検出されなかった。

34  
35 まだい (0 年魚) にエトキシキンを 7 日間混餌投与 (0、200、400、800 及び 1,600 ppm)  
36 し、最終投与 24 時間後の筋肉及び内臓中のエトキシキンが測定された (20 尾以上/検体、  
37 検出限界: 0.01 mg/kg)。

38 筋肉では、800 ppm 及び 1,600 ppm 投与群で検出され、それぞれ 0.06 及び 0.09 mg/kg  
39 であった。内臓では、全投与群から検出され、投与量の順にそれぞれ 0.06、0.15、3.01

及び 5.19 mg/kg であった。(参照 6) [エトキシキンの概要 p73、資料 4 養魚飼料添加物使用基準検討試験委託事業報告書 (マダイ) p131~169]

### 3. 遺伝毒性試験

エトキシキンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 8 に示した。(参照 5、8、10) [JMPR 1998、p40、JMPR 2005、p386~387、392~393、EFSA DAR 2008(1)、p849~850]

表 8 エトキシキンの遺伝毒性試験結果

	試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 [JMPR 1998] [JMPR 2005]	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	10~1,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>hcr trp</i>	≥5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537	10.0~5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
		遺伝子突然変異試験 [JMPR 1998] [EFSA 2008]	<i>B.subtilis</i> H17 rec+及び M45 rec-	0.02 mL
		マウスリンフォーマ細胞 (TK 遺伝子座)	5~25 µg/mL (-S9) 1.3~4.4 µg/mL (+S9)	陽性*
	染色体異常試験 [JMPR 2005] 染色体異常試験 [JMPR 2005]	チャイニーズハムスター卵巣 由来細胞 (CHO 細胞)	6.78~1,000 µg/mL (DMSO 含む) (+/-S9)	陽性
ヒト末梢血リンパ球 (健常人 3 名)		0.01~0.5 mmol/L	陽性	
<i>in vivo</i>	小核試験 [JMPR 2005]	CD-1 マウス (雄 6 匹/群) 骨髓細胞	375、750、1,500 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性
<i>ex vivo</i>	不定期 DNA 合成試験 [EFSA 2008]	ラット肝細胞	0~750 mg/kg 体重 14 時間間隔で 2 回投与	陰性

1 \* : 遺伝子突然変異ではなく染色体切断誘発性がみられた。

2  
3 エトキシキンを用いた *in vitro* の復帰突然変異試験及び遺伝子突然変異試験の結果は、  
4 マウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験で染色体切断誘発性いずれも陰性  
5 陽性結果が得られておりであったが、染色体異常試験の結果はでも陽性であった。しかし、  
6 ~~*in vivo* の試験では、小核試験の結果が陰性であり、*ex vivo* の不定期 DNA 合成試験でも~~  
7 ~~陰性であることから、エトキシキンは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないものと~~  
8 ~~考えられた。(参照 5、8) [JMPR 1998、p40、JMPR 2005、p386~387、392~393]~~  
9 事務局：JMPR 2005 の Comments には「*in vivo* の染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験の結果についても  
10 陰性である」という記載があります。

11  
12 エトキシキンの植物における 3 種類の代謝物/分解産物（メチルエトキシキン (MEQ)、  
13 デヒドロエトキシキン (DHEQ) 及びデヒドロデメチルエトキシキン (DHMEQ)) の遺  
14 伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 9 に示した。(参照 8) [JMPR 2005、  
15 p391~392]

16  
17 表 9 MEQ、DHEQ 及び DHMEQ の遺伝毒性試験結果

18 (a) MEQ

	試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100 TA1535、TA1537	3.33~5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞 (CHO 細胞)	5.43~800 µg/mL (DMSO 含む) (+/-S9)	陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス (雄 6 匹/群) 骨髓細胞	375、750、1,500 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性

19  
20  
21  
22  
23  
24  
25 (b) DHEQ

	試験	対象	用量	結果
--	----	----	----	----

<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100 TA1535、TA1537	10.0～5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3～5,000 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞(CHO 細胞)	6.78～1,000 µg/mL (DMSO 含む) (+/-S9)	陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス (雄 6 匹/群) 骨髄細胞	250、500、1,000 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性

1

2

## (c) DHMEQ

	試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100 TA1535、TA1537	3.33～2,500 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	10.0～3,330 µg/plate (DMSO 含む) (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞(CHO 細胞)	5.43～800 µg/mL (DMSO 含む) (+/-S9)	陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス (雄 6 匹/群) 骨髄細胞	500、1,000、2,000 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性

3

4

5

6

7

8

9

専門委員コメント

10

この後のコメントについては議論が必要かと思えます。

11

12

13

## 4. 急性毒性試験

14

## (1) 急性毒性試験 (マウス、ラット)

1 マウス及びラットにおけるエトキシキンの急性毒性試験の結果を表 10 に示した。(参照  
2 5、6) [JMPR 1998、p34、エトキシキンの概要、p60]

3

4 表 10 マウス及びラットにおけるエトキシキンの急性毒性試験結果

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> 又は LC <sub>50</sub> (mg/kg 体重又は mg/L 空気)	参照
マウス	経口	雄：1,693 (1,476～1,951)	[エトキシキン 概要]
		雌：1,775 (1,590～1,981)	
	腹腔内	680	[エトキシキン 概要]
	腹腔内	～900	[JMPR 1998]
	静脈内	～180	[JMPR 1998]
ラット	経口	雄：1,393 (1,197～1,620)	[エトキシキン 概要]
		雌：1,238 (1,062～1,445)	
	経口	1,700	[JMPR 1998]、
	静脈内	178	[エトキシキン 概要]
	経皮 (24 時間)	>2,000	[JMPR 1998]
	吸入 (全身)	>2.0	[JMPR 1998]

5 ( ) 内の数値は、信頼限界 (mg/kg)

6

7 非経口的に投与する場合を除き、エトキシキンには、ほとんど急性毒性が認められな  
8 かった。エトキシキン暴露後の毒性徴候は、振戦、運動失調、活動性低下、低体温及び  
9 被毛の赤黄色着色であった。剖検及び病理組織学的検査では、消化管への刺激作用を示  
10 す変化がみられた。(参照 5) [JMPR 1998、p34]

11

12 エトキシキンは、過去に、ラットの経口 (LD<sub>50</sub>: 1700 mg/kg 体重)、経皮 (LD<sub>50</sub>: 2,000  
13 mg/kg 体重以上) 及び吸入 (LC<sub>50</sub>: 2 mg/L 以上) 試験で急性毒性が低いことが報告され  
14 ている。(参照 8) [JMPR 2005、p390]

15

16 ラット、マウスともにエトキシキン投与後 5～10 分で立毛がみられ、被毛の光沢及び  
17 自発運動の低下がみられた。高用量投与群においては、うずくまり姿勢、反射能の低下  
18 等の中樞神経の抑制がみられた。死亡したラット及びマウスは、いずれも小腸粘膜の充  
19 血、肥厚及び広範な斑状出血巣が顕著な変化であり、次いで腎臓の腫大、肝臓の退色、  
20 肺の充血等がみられた。(参照 6) [エトキシキン概要、p60]、

21

22 (2) 急性毒性試験 (イヌ)



1 イヌ（ビーグル種、雌雄各 6 匹/群）を用いたエトキシキンの単回経口投与（50、100  
2 及び 200 mg/kg 体重、カプセル）試験が実施された。対照群のイヌには、空のカプセル  
3 を与えた。投与 24 時間後の最初の剖検に雌雄各 4 匹/群のイヌを用い、残りの雌雄各 2  
4 匹/群には 14 日間の非投与回復期間を設定した。被験動物は全て剖検に供した。

5 結果を表 11 に示した。

6 全動物が剖検時まで生存した。体重、摂餌量、血液学的検査、眼検査、剖検における  
7 肉眼所見及び臓器重量には、投与による影響は認められなかった。

8 血液生化学的検査では、回復期間を設定した全投与群の雄並びに 100 及び 200 mg/kg  
9 体重投与群の雌において、ALP 及び ALT の上昇がみられた（ただし、この試験段階の  
10 被験動物数は、2 匹/群であった）。投与 1 日後の検査では、血清中 T.Bil が全投与群の  
11 雌雄で高く、BUN は全投与群の雌で低かった。病理組織学的所見では腎疾患の徴候が  
12 みられなかったため、BUN の低下は軽微な肝機能不全によるものとされた。~~起因して~~  
13 ~~いた。~~T.Bil の増加は、回復期間終了までに正常値に戻った。また、投与 1 日後の全投与  
14 群で尿中 Bil 及び褐色尿の検出頻度が上昇した。

15 最初の剖検時に~~は~~、病理組織学的所見が肝臓に限られ、全投与群の全ての動物で極  
16 わずか～軽度の胆汁うっ滞が認められた。胆汁うっ滞は、肝内毛細胆管での胆汁の球状  
17 集積により特徴付けられ、血液生化学的検査における T.Bil の増加は~~その~~病理組織学  
18 的所見によるものとされた。~~との相関性が示された。~~また、200 mg/kg 体重投与群の全  
19 動物で、胆汁うっ滞に加え肝細胞中のグリコーゲン蓄積が減少した。雄（1 例）では、  
20 肝内血管における白血球の増加及び肝細胞中~~の細胞質~~における~~泡沫状～網状形態を~~  
21 ~~示す細胞質変化性~~がみられた。

22 回復時の剖検~~時~~には、病理組織学的所見は肝臓に限られ、全投与群の雄並びに 100  
23 及び 200 mg/kg 体重投与群の雌で極わずかな胆汁うっ滞が認められた。

24 50 mg/kg 投与群における肝臓への影響を示す血清生化学パラメータの変化は、極わず  
25 か～軽度で毒性学的な意義は不明であった。そのため、これを毒性学的に重要なものと  
26 は判断せず、イヌにおけるエトキシキンの NOAEL を 50 mg/kg 体重と結論づけた。（参  
27 照 8）[JMPR 2005、p384～385]

### 28 29 (3) 急性毒性試験（イヌ、代謝物）〈参考データ〉

30 過去の試験において、イヌがエトキシキンの毒性作用に対してラットより敏感である  
31 ことが示されたため、イヌが使用された。

32 イヌ（ビーグル、雌雄各 6 匹/群）に、植物における 3 種類のエトキシキン代謝物（MEQ、  
33 DHEQ 及び DHMEQ）をそれぞれ単回経口投与（50、100 及び 200 mg/kg 体重、カプ  
34 セル）し、急性毒性試験を実施した。対照群のイヌには、空のカプセルを与えた。投与  
35 24 時間後の最初の剖検に雌雄各 4 匹/群のイヌを用い、残りの雄雌各 2 匹/群には 14 日  
36 間の非投与回復期間を設定した。被験動物は全て剖検に供した。

37 結果を、表 11 に示した。

38

1 イヌを用いたエトキシキン及びその植物代謝物（3種）の単回経口投与試験では、4  
 2 種類の化合物ともに標的臓器は肝臓であった。得られた情報から、4種類の化合物は、  
 3 毒性の低い方から順番にMEQ、エトキシキン、DHEQ、DHMEQであった。

4 50 mg/kg 体重投与群にみられた影響は、極めてわずかから軽度なものであり、毒性学  
 5 的な意義は不明であった。褐色尿は、化合物又はその誘導体中の発色基の存在によるも  
 6 のであった。JMPR では、これらは毒性学的に重要なものではないとし、4種類の化合  
 7 物全てについてNOAELは50 mg/kg 体重であると結論付けた。（参照8）[JMPR 2005、  
 8 p384~385]

11 表 11 イヌにおけるエトキシキン、MEQ、DHEQ 及び DHMEQ のカプセル経口投与  
 12 (50、100 及び 200 mg/kg 体重) による急性毒性試験結果

被験物質名	所見
エトキシキン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・剖検時まで全動物生存</li> <li>・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし</li> <li>・眼検査、剖検で影響なし</li> <li>・臓器重量に影響なし</li> <li>・病理組織学的検査では、肝臓で極軽度～軽度の胆汁うっ滞（全投与群の雌雄）</li> <li>・血清中 Bil（全投与群の雌雄）並びに ALP 及び ALT（投与 2 週間後の全投与群の雄、100 及び 200 mg/kg 体重投与群の雌）の上昇</li> <li>・尿中 Bil 上昇及び褐色尿（投与 1 日後の全投与群の雌雄）</li> <li>・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響は極わずか～軽度（JMPR では投与による毒性影響ではないとし、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日としている。）</li> </ul>
MEQ	<ul style="list-style-type: none"> <li>・剖検時まで全動物生存</li> <li>・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし</li> <li>・眼検査、剖検で影響なし</li> <li>・臓器重量に影響なし</li> <li>・病理組織学的検査では、肝臓で極軽度～軽度の胆汁色素の蓄積（全投与群の雌雄）</li> <li>・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与 4 時間後の雌 1～2 匹）</li> <li>・血清中 Bil（全投与群の雌雄）並びに ALP、ALT、AST 及び γ-GTP（投与 2 週間後の全投与群の雄又は雌）の上昇</li> <li>・尿中 Bil 上昇及び褐色尿（全投与群の雌雄）</li> <li>・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響は極微程度～軽度（JMPR では投与による毒性影響ではないとし、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日としている。）</li> </ul>

DHEQ	<ul style="list-style-type: none"> <li>・剖検時まで全動物生存</li> <li>・体重、摂餌量、血液学的及び血清生化学パラメータに影響なし</li> <li>・眼検査、剖検、病理組織学的検査で影響なし</li> <li>・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与 4 時間後の雌雄）</li> <li>・血清中 Bil 上昇（投与 1 日後の 100 mg/kg 体重投与群の雌及び 100 並びに 200 mg/kg 体重投与群の雌雄）</li> <li>・尿中 Bil 上昇及び褐色尿（全投与群の雌雄）</li> <li>・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響は極軽度～軽度（JMPR では投与による毒性影響ではないとし、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日としている）</li> </ul>
DHMEQ	<ul style="list-style-type: none"> <li>・剖検時まで全動物生存</li> <li>・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし</li> <li>・眼検査、剖検、病理組織学的検査で影響なし</li> <li>・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与群の雌雄）</li> <li>・目やに（200 mg/kg 体重投与群の雄（5/6 例））</li> <li>・褐色尿（全投与群の雌雄）</li> </ul> <p>（試験報告者は、投与による毒性影響ではないとし、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日としている。）</p>

1

2 5. 亜急性毒性試験

3 (1) 28 日間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）

4 ラット（SD 系、雌雄各 5 匹/群）を用いたエトキシキン（純度：97.6%）の 28 日間強  
5 制経口投与（0、50、250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日）試験が実施された。病理組  
6 織学的検査は、50、250 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の肝臓、肺、腎臓、胃及び肉  
7 眼的病変部について実施した。

8 1,000 mg/kg 体重/日投与群では、全ての動物が多臓器障害を伴い投与開始 3 日後ま  
9 での死亡した。2 例の死亡原因は、前胃部の壊死及び潰瘍と考えられて~~であった~~。

10 250 mg/kg 体重/日以上投与群では、流涎、被毛湿潤及び褐色尿の発生有症率が増加し  
11 た。

12 体重について増加は、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で試験の最初投与開始初期に  
13 50%の増加抑制がみられた。

14 RBC、Ht 及び Hb は、250 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 500 mg/kg 体重/日投与群  
15 の雌雄で約 10%減少した。

16 血液生化学的検査では、雌雄ともに変化（TP、T.Bil、Chol、P、K、Ca 及び  $\gamma$ -GTP  
17 の増加並びに Glu の減少）がみられ、250 及び 500 mg/kg 体重/日投与群の雄でその頻  
18 度が高かった。

19 250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で、肝臓の絶対及び相対重量の増加 (> 40%) が  
20 みられた。腎臓の相対重量は、用量相関的に増加 (< 10%) した。1,000 mg/kg 体重/日  
21 以下の投与群では、肉眼的病変は認められなかった。

1 病理組織学的検査では、50 及び 250 mg/kg 体重/日投与群の雄並びに 500 mg/kg 体重  
2 /日投与群の雌雄で、腎臓病変（間質性細胞浸潤、尿細管上皮の再生及び尿細管拡張）が  
3 認められた。500 mg/kg 体重/日投与群では、肺の出血及び浮腫並びに肝細胞腫肥大の発  
4 生頻度が上昇した。（参照 5）[JMPR 1998、 p35]

5 本試験における NOAEL は設定されなかった。

## 6 7 (2) 13 週間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）

8 ラット（SD 系、6 週齢、雌雄各 10 匹/群）にエトキシキン（純度：97.6 %、溶媒：コ  
9 ーンオイル）を 13 週間強制経口投与（0、20、40、200 及び 400 mg/kg 体重/日）し、  
10 亜急性毒性試験が実施された。200 mg/kg 体重/日投与群では、67 日目にわずかな過剰  
11 投与（2～14%）があったが、本試験の結果を損なうものではないと判断された。投与  
12 前と投与 12 週間後に眼科検査を実施した。全動物について全身の剖検を行い、肺、肝  
13 臓、腎臓及び肉眼的病変について病理組織学的検査を行った。対照群及び最高用量投与  
14 群については 30 以上の組織について検査を行った。

15 試験期間中に死亡例は認められなかった。

16 一般状態では、種々の組織部位（特に肛門生殖器部位）の着色、流涎、及び褐色尿が  
17 200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌雄でみられ、雌で頻度が高かった。

18 眼科検査では、投与による影響は認められなかった。

19 体重増加については、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄で明らかな減少がみられ、  
20 40 mg/kg 体重/日投与群では、減少は軽微度（10 %）であった。摂餌量は、投与群と対  
21 照群でほぼ同じであった。

22 血液学及び血液生化学的検査では、400 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で変化（RET、  
23 T.Bil、BUN、 $\gamma$ -GTP、Chol 及び TSH の増加、並びに RBC、WBC、PT 及び Glu の減  
24 少）がみられ、そのうちの多くは 200 mg/kg 体重/日投与群でも有意差がみられた。

25 尿については、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群で濃く着色し、400 mg/kg 体重/日  
26 投与群では尿量が増加した。比重の変化は認められなかった。

27 剖検での主な所見は、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌雄における甲状腺の赤  
28 色化であった。肝臓の絶対及び相対重量は、用量相関的に 15～70%まで増加し、腎臓に  
29 ついては、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で 4～20%まで増加した。脳及び  
30 精巣の相対重量の変化は、体重減少に伴う二次的なものと考えられた。

31 病理組織学的検査により、雄雌ともに腎臓が主要な標的臓器であることが明らかにさ  
32 れた。200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄では、尿細管の石灰化、腎乳頭壊死及び  
33 細胞質空胞化の発生頻度が上昇増加し、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌では石  
34 灰化、腎乳頭壊死及び腎症障害の頻度が上昇増加した。腎症障害の頻度は、200 mg/kg  
35 体重/日投与群の雌においても上昇増加した。甲状腺の鰓後嚢胞（ultimobranchial cysts）  
36 の発生頻度は、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄、並びに 200 mg/kg 体重/日投与  
37 群の雌で上昇増加がみられた。

## 38 39 専門委員コメント

40 甲状腺の組織所見は背景的なものと考えられますので、削除してよいと思います。

1  
2  
3 また、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄では、副腎の細胞質内空胞化、精巢上  
4 体の化膿性炎症、前立腺の非化膿性炎症、肺の石灰化及び肺胞の組織球症の発生頻度が  
5 上昇し、同投与群の雌では、食道炎症及び胸腺の上皮過形成の頻度が上昇増加した。(参  
6 照 5) [JMPR 1998, p16435-46536]

7 20 及び 40 mg/kg 体重/日投与群では、肉眼的病変、肝臓、肺及び腎臓のみを検査し  
8 ていることに注意すべきであるが、40 mg/kg 体重/日投与群の雄において体重増加抑制  
9 がみられたことから、本試験における NOAEL は 20 mg/kg 体重/日と考えられた。

### 10 11 (3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)

12 ラット (SD 系、5 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いたエトキシキンの 13 週間混餌投与  
13 (0、2,000、3,500、6,000 及び 10,000 ppm) 試験が実施された。

14 試験期間中に死亡例は認められなかった。

15 投与開始 2 週間後から 6,000 ppm (2 例) 及び 10,000 ppm 投与群 (5 例) で腹部の  
16 脱毛がみられた。投与開始 9 週間後あたりから 10,000 ppm 投与群では雌雄ともに尿の  
17 色調が暗褐色化した。

18 体重は、2,000 ppm 投与群の雄では投与 2 週間後から、雌では投与開始 1 週間後から、  
19 対照群に比べて有意な減少がみられた。3,500 ppm 以上投与群では雌雄ともに投与 1 週  
20 間後から減少し、10,000 ppm 投与群では顕著な減少であった。

21 摂餌量は、投与濃度が高くなるに従い減少した。飲水量も、同様の減少傾向を示した。

22 血液学的検査では、2,000 ppm 以上投与群の雌及び 10,000 ppm 投与群の雄で、Ht、  
23 Hb 及び RBC の減少が認められた。また、2,000、3,500 及び 6,000 ppm 投与群の雌で  
24 WBC の減少がみられたが、雄では認められなかった。

25 血液生化学的検査では、全投与群の雌雄ともに LDH 及び AST が減少し、Chol が増  
26 加した。また、高用量群では、BUN の増加及び Alb 並びに TP の減少が認められた。

27 尿検査では、10,000 ppm 投与群のほとんどの検体で、色調の暗褐色化がみられ、6,000  
28 ppm 以下の投与群よりもウロビリノーゲン及びタンパク質の反応が強かった。

29 剖検では、6,000 及び 1,000 ppm 投与群のほぼ全例で甲状腺の黒赤色化がみられた。

30 臓器重量では、全投与群の雌雄で肝臓及び腎臓の相対重量の増加が顕著であった。

31 病理組織学的検査では、甲状腺におけるコロイド非分泌性の腺濾胞上皮過形成 (コロ  
32 イド減少) (2,000~10,000 ppm 群の雄: 4~10 例、雌: 3~10 例)、肝細胞の腫肥大 (6,000  
33 ~10,000 ppm 群の雄: 3~10 例、雌: 7~10 例) 及び脂肪変性 (10,000 ppm 群の雄:  
34 8 例、雌: 7 例)、骨髓の低形成 (6,000~10,000 ppm 群の雄: 3 例、雌: 3~7 例)、脾  
35 臓のうっ血 (6,000~10,000 ppm 群の雄: 3~6 例、2,000~10,000 ppm 群の雌: 9~10  
36 例) 及びヘモジデリン沈着 (6,000 ppm 群の雄: 3 例、2,000~10,000 ppm 群の雌: 5  
37 ~9 例)、腎臓の尿細管拡張 (6,000~10,000 ppm 群の雄: 4~5 例、雌: 2~3 例) 等が  
38 認められた。(参照 6、9) [エトキシキンの概要、p61、エトキシキンの安全性に関する資料 No.2、昭  
39 和 55 年度飼料の安全性及び有用性確認調査委託事業実施報告書、p497~594]

1 最低用量の 2,000 ppm 投与群で体重増加の抑制などの毒性徴候がみられたため、本試  
2 験における NOAEL は設定できなかった。

#### 3 4 (4) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)

5 ラット (SD 系、5 週齢、雌雄各 15 匹/群) を用いたエトキシキンの 26 週間混餌投与  
6 (150、300、600 及び 1,200 ppm) 試験が実施された。

7 試験期間中に死亡例はなく、投与によると考えられる一般状態への影響は認められな  
8 かった。

9 体重、飼料摂取量及び飼料効率については、投与に起因する影響は認められなかった。

10 血液学的検査では、全投与群の雌及び 300 ppm 以上投与群の雄で WBC の減少、全投  
11 与群の雌で PLT の減少及び 1,200 ppm 群の雄で Ht 並びに Hb の減少がみられたが、い  
12 ずれも軽度で正常範囲の変動であった。

13 血液生化学的検査では、300 ppm 以上投与群の雄で LDH、AST 及び BUN の減少、  
14 雌で A/G 比の低下及び TP の増加がみられ、300 及び 600 ppm 群の雌で LDH の増加が  
15 みられたが、いずれも軽度で正常範囲の変動であった。

16 尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

17 臓器の絶対重量では、600 及び 1,200 ppm 投与群の雄の腎臓、1,200 ppm 投与群の雌  
18 雄の肝臓で軽度の増加が認められ、相対重量についても同様の傾向であった。

19 剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。(参照 6、  
20 9) [エトキシキンの概要、p60~61、エトキシキンの安全性に関する資料 No.1、昭和 54 年度飼料の安全  
21 性及び有用性確認調査委託事業実施報告書、p399~495]

22 600 ppm 投与群の雄で、腎臓重量 (絶対及び相対重量) の増加がみられたことから、  
23 本試験における NOAEL は混餌濃度 300 ppm (18.175 mg/kg 体重/日相当、1,200 ppm :  
24 雄 72.7 mg/kg 体重/日相当から計算) と考えられた。

25  
26 事務局 [エトキシキンの安全性に関する資料 No. 1] では、「検体投与群では、平均体重の推移に差がなく、  
27 組織学的な対応が認められない点から、本試験での最大投与量である 1,200 ppm は NOAEL に近いものと  
28 思われる。」とされています。

#### 29 30 (5) 28 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与) <参考データ>

31 イヌ (ビーグル種、雌雄各 1 匹/群) に、エトキシキン (純度 97.6%) を経口投与 (0、  
32 25、50、100 及び 200 mg/kg 体重/日、カプセル) し、28 日間亜急性毒性試験が実施さ  
33 れた。

34 100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群の全例は、それぞれ投与 17 日後及び 7 日後までに  
35 死亡又は剖検された。50 mg/kg 体重/日投与群の雌 (1 例) は 21 日目に剖検された。

36 試験開始時の動物数及び死亡例が少ないため、主要な一貫性のある変化のみ以下に  
37 記載すである。

38 死亡又は生存したイヌの一般状態は、活動性の低下、排便の減少、褐色尿及び歯茎の  
39 蒼白等であった。

40 体重増加抑制及び摂餌量の減少は、全投与群でみられた。

1 肝機能障害~~臓~~の損傷を示す酵素の血清中活性は、測定した全ての群(25 及び50 mg/kg  
2 体重/日) で投与 4 週間後に増加した。また、活性化部分トロンボプラスチン時間<sup>2</sup>  
3 (Activated partial thromboplastin time (APTT)) の減少もみられた。

4 肝臓及び腎臓の相対重量は、25 及び 50 mg/kg 体重/日投与群で増加した。

5 剖検では、消化管の~~発赤色調~~及び肝臓の暗調色化が共通して認められた。

6 病理組織学的検査では、全投与群の動物で肝臓に色素沈着がみられたが、対照群には  
7 認められなかった。(参照 5) [JMPR 1998、 p36]

8 ~~本試験における NOAEL は得られなかった。~~

#### 9 10 (6) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)

11 イヌ (ビーグル種、雌雄各 5 匹/群) を用いた、エトキシキン (純度 97.6%) の 90 日  
12 間経口投与 (0、2、4、20 及び 40 mg/kg 体重/日、カプセル) 試験が実施された。

13 40 mg/kg 体重/日投与群では、試験当初の 7 週間に明瞭な毒性徴候 (体重の減少、体  
14 表面の着色、褐色尿、眼球強膜の褐色化、暗色粘性便及び嘔吐) がみられ、~~これらの~~群  
15 には、試験最後の 6 週間に空のカプセルを与えて事実上の非投与回復試験群とした。

16 40 mg/kg 体重/日投与群の雌 (1 例) が、投与 13 日後に~~瀕死状態で剖検~~切迫殺された。  
17 他の所見は雌雄で同様であった。

18 一般状態では、腹部及び泌尿生殖器周辺での褐色化、褐色尿、糞便の減少及び嘔吐等  
19 の所見が、20 及び 40mg/kg 体重/日投与群で共通して定常的にみられ、4 mg/kg 体重/  
20 日群では投与 4 時間の間後に時々みられた。これらの所見は、40 mg/kg 体重/日投与群  
21 の 7~13 週 (回復期間) でもみられた。

22 体重減少は、40mg/kg 体重/日投与群の投与 1~7 週間後でみられ、投与を中止すると  
23 回復した。しかし、試験終了時における雌の平均体重は、対照群より少なかった (12%)。

24 20 mg/kg 体重/日投与群では、試験期間中を通して体重増加抑制がみられた (60%)。

25 摂餌量は、20 mg/kg 体重/日投与群で 20 %、40 mg/kg 体重/日投与群で最大 50 %まで  
26 減少した。

27 血液学的検査では、APTT の用量依存的な減少が唯一の顕著な変化で、4 mg/kg 体重/  
28 日以上投与群の雄及び 40 mg/kg 体重/日投与群の雌に認められた。

29 血液生化学的検査では、肝機能障害の指標である T.Bil、ALP、ALT、AST 及び  $\gamma$ -GTP  
30 の顕著な増加が、20 mg/kg 体重/日投与群の投与 4 及び 12 (又は 13) 週間後、並びに  
31 40 mg/kg 体重/日投与群の投与 4 週間後で認められた。また、ALT 及び ALP は、4 mg/kg  
32 体重/日投与群でもわずかな増加が認められた。40 mg/kg 体重/日投与群 (投与期間 7 週  
33 間、回復期間 6 週間) では、投与 13 週間後までに、血清中の値がほぼ対照値に回復し  
34 た。

35 臓器の絶対及び相対重量では、有意な変化は認められなかった。

---

<sup>2</sup> 血液の内因性凝固に関する検査項目:接触因子活性化剤によりフィブリンが形成されるまでの内因性凝固に  
要する時間を反映する

1 剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する変化は肝臓に限定されていた。20 及  
2 び 40 mg/kg 体重/日投与群での暗調色化の所見は、病理組織学的には、色素沈着の増加、  
3 肝細胞壊死、細胞質空胞化及び胆管過形成と関連していた。4 mg/kg 体重/日投与群では、  
4 時々、軽度～中程度の色素沈着、極軽微な肝細胞壊死及び空胞化が認められた。色素は、  
5 ほとんどの場合、ポルフィリン及び Bil で、ヘモジデリンも時折認められた。（参照 5）  
6 [JMPR 1998、 p36~37]

7 本試験において、4 mg/kg 体重/日投与群で一般状態の変化及び肝臓への影響がみられ  
8 たことから、NOAEL は、2 mg/kg 体重/日と考えられた。

9 事務局：本評価書における NOAEL の最小値になります。

#### 11 (7) 6 か月間亜急性毒性試験（豚、混餌投与①）＜参考データ＞

12 子豚（LW 種、雌雄各 2 頭/群）を用いたエトキシキンの 6 か月間混餌投与（0、150、  
13 300、500、800、1,000 及び 1,500 ppm）試験が実施された。

14 試験期間中に死亡例はなく、一般状態、体重、摂餌量及び飼料要求率については、対  
15 照群と比較して著しい差はみられなかった。

16 血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、検査値に若干の変動がみられたが、  
17 正常範囲内の変動であり、投与に起因する変化は認められなかった。

18 剖検においても、投与に起因する変化は認められなかった。

19 臓器重量では、150 ppm 以上投与群の雌及び 300 ppm 以上投与群の雄で肝臓の絶対  
20 重量及び相対重量の増加傾向がみられ、150 ppm 以上投与群の雌では、生殖腺の絶対及  
21 び相対重量の減少傾向が認められた。

22 病理組織学的検査では、肝臓に小円形細胞及び多形核白血球の浸潤が散発的に認めら  
23 れ、腎臓で小円形細胞の浸潤が散見されたが、いずれも軽度で炎症につながるものでは  
24 なく、対照群の動物においても認められたことから、投与に起因するものとは判断され  
25 なかった。（参照 6、9）[エトキシキンの概要、p61~62、エトキシキンの安全性に関する資料 No.4、  
26 昭和 54 年度飼料の安全性及び有用性確認調査委託事業、p699~746]

27 ~~最低用量の 150 ppm 投与群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の増加傾向及び生殖腺重  
28 量の減少傾向が認められたため、本試験における NOAEL は設定できなかった。~~

#### 30 (8) 6 か月間亜急性毒性試験（豚、混餌投与②）＜参考データ＞

31 子豚（LW 種、雌雄各 2 頭/群）を用いた 50%プレミックス製剤によるエトキシキン  
32 の 6 か月間混餌投与（0、2,400、3,800、6,200 及び 10,000 ppm、0、93、136、170 及  
33 び 188 mg/kg 体重/日に相当）試験が実施された。50%プレミックスの基質として天然  
34 ケイ酸が含まれているため、対照群として 0 ppm の他に 1%天然ケイ酸投与群（雌雄各  
35 1 頭）が設定された。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は、試験開始前、試  
36 験開始 13 週間後及び試験終了時に実施された。

37 試験期間中に、6,200 ppm 投与群の雌 2 頭（投与開始 15 及び 22 週間後）及び 10,000  
38 ppm 投与群の雌雄各 2 頭（雄：投与開始 10 及び 13 週間後、雌：投与開始 7 及び 9 週  
39 間後）が死亡又は衰弱のため剖検された。

40 平均体重及び摂餌量は、3,800 ppm 以上投与群で、対照群に比較して少なかった。



1 一般状態では、試験開始直後から 6,200 ppm 以上投与群の雌雄で摂餌量が極めて少な  
2 く、徐々に体重が減少した。それに伴い貧血、歩行困難さらに起立不能となり死亡する  
3 動物がみられた。エトキシキン濃度の増加に伴い、飼料摂取の忌避がみられた。糞の排  
4 泄量は極端に少なく、黄緑色を呈した。

5 血液学的検査では、6,200 ppm 以上投与群で Ht 及び Hb の低下が認められた。

6 血液生化学的検査では、6,200 ppm 以上投与群で AST 及び ALT の増加並びに ALP、  
7 TP 及び Alb の低下傾向が認められた。

8 尿検査では、著変は認められなかった。

9 臓器重量では、3,800 ppm 以上投与群のほとんどの臓器において、絶対重量が対照群  
10 と比較して減少したが、相対重量では増加した。しかし、肝臓については、2,400 及び  
11 3,800 ppm 投与群で絶対重量が増加し、6,200 ppm 以上投与群では極端な減少が認めら  
12 れた。相対重量では、2,400 ppm 投与群で増加傾向がみられ、3,800 ppm 以上投与群で  
13 は顕著な増加が認められた。

14 剖検及び病理組織学的検査では、3,800 ppm 以上投与群で、肝臓及び脾臓におけるヘ  
15 モジデリン沈着、諸臓器における水腫、膵臓の腺房細胞分泌顆粒の減少等がみられ、  
16 6,200 ppm 以上投与群では、骨髄の血球系細胞の低形成、膠様髄並びに一部の動物に肝  
17 細胞の腫肥大及び脂肪変性が認められた。(参照 6、9) [エトキシキンの概要、p62~63、エ  
18 トキシキンの安全性に関する資料 No.5、昭和 55 年度飼料の安全性及び有用性確認調査委託事業、  
19 p747~814]

20 ~~最低用量の 2,400 ppm 投与群で肝臓重量の増加が認められたため、本試験における~~  
21 ~~NOAEL は設定できなかった。~~

22  
23 事務局：肝臓の絶対重量の変化（相対重量では増加傾向がみられますが統計的に有意な差はみられません）か  
24 ら「NOAEL は設定できなかった」としましたが、参照資料では、これを投与による影響とはせず、NOAEL  
25 は 2,400 ppm とされています。

## 26 27 6. 慢性毒性及び発がん性試験

### 28 (1) 53 週間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス、皮下投与）〈参考データ〉

29 新生児マウス（Swiss ICR/Ha、低用量群：57 匹、中用量群：53 匹、高用量群：28 匹）  
30 を用いて、エトキシキン溶液を 1、7、14 及び 21 日齢時に皮下投与（10、50 及び 100  
31 （1 日齢時のみ）mg/mL）した。それぞれ 1 日齢時で 500、2,500 及び 5,000 mg/kg 体  
32 重、21 日齢時で 250 及び 1,250 mg/kg 体重に相当した。

33 離乳するまでに、高用量群で 100%、中用量群で 74%及び低用量群で 2%のマウスが  
34 死亡した。対照群では 15%が死亡した。

35 試験終了（試験開始 53 週間後）までの各時点で、数匹のマウスを剖検し、組織及び  
36 病変の限定部位について、主に腫瘍に関する検査を実施した。肺腫瘍及び肝細胞がんの  
37 発生頻度は、投与群と対照群でほぼ同じであった。なお、悪性リンパ腫の発生頻度にわ  
38 ずかな上昇増加（低用量群：雌 4 例、中用量群：2 例、対照群：0）がみられたが、著者ら  
39 は、この結果の信頼性は低いと考えている。

1 以上の結果から、新生児マウスに致死量近傍のエトキシキンに4回皮下投与した場合  
2 において、1歳齢までは腫瘍の発生頻度に有意な増加がみられないことが示された。(参  
3 照5) [JMPR 1998、 p36]

## 4 5 (2) 18か月間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット、混餌投与) <参考データ>

6 ラット(Fischer 344、3週齢、雌雄各6~19匹/群)を用いたエトキシキン(純度不  
7 明)の18か月間混餌投与(0及び5,000 ppm)による慢性毒性/発がん性併合試験が実  
8 施された。

9 そのうちの1群には、エトキシキンを24週間混餌投与した後、対照飼料を34週間で  
10 えた。~~腎臓病変の進行を調べるため、この試験では腎臓病変の進行を調べるため試験~~  
11 開始4、12(又は14)、24、58及び78週間後に剖検した。

### 12 13 専門委員コメント1

#### 14 何故58週の試験で78週の検査ができるのか

15  
16 体重増加抑制が、投与群の雌で試験開始後1~5週間にみられ、雄では3週間後以降  
17 に認められた。摂餌量については、試験開始後4週間までの雌雄で減少がみられた。

18 腎臓の病理学的検査では、雌雄で明らかな違いが認められた。雄では、4及び14週間  
19 後に明確な腎乳頭の間質性の変性がみられ、24週間後までに腎皮質の腎盂腎炎を伴う壊  
20 死及び腎盂の尿路上皮過形成に進行した。雌では、腎乳頭の間質性変性が極わずかに14  
21 週間後にみられたが、進行は認められなかった。

22 Fischer344ラットで一般に見られる慢性進行性腎症は、エトキシキン投与群で加速さ  
23 れた。Schmorl染色により、リポフスチン~~の~~が黄金茶色の色素沈着がとして投与群、  
24 特に雌の近位尿細管に認められた。

25 24週間後に認められた病変については、引き続き対照飼料を34週間給与した後の検  
26 査で回復は認められなかった。著者らは前がん性増殖を示す証拠はなかったと判断した。

27 本試験において、エトキシキン(混餌濃度5,000 ppm、250 mg/kg体重/日相当)の若  
28 齢雄ラットに対する強い腎毒性が示された。(参照5) [JMPR 1998、 p38]

### 29 30 専門委員コメント2

31 n数が少ないため参考試験としました。

### 32 33 専門委員コメント3

34 間質性変性は意味がとりづらい所見名です。間質の水腫のことでしょうか。

## 35 36 37 38 (3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット、混餌投与) <参考データ>

1 ラット（雌雄各約 10 匹/群）を用いた、エトキシキンの 2 年間混餌投与（0、62、125、  
2 250、500、1,000、2,000 及び 4,000 ppm）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施さ  
3 れた。被験動物は、投与開始 200、400、600 及び 715 日後に剖検された。

4 死亡率は、投与群と対照群の間で有意な差は認められなかった。

5 有意な体重増加抑制が、2,000 ppm 投与群の雄で投与開始 225 日後に、雌では 21 日  
6 後に認められた。

7 肝臓及び腎臓の相対重量では、250 ppm 投与群の雄及び 1,000 ppm 投与群の雌で投  
8 与開始 200 日後に増加が認められた。

9 Hb は、2,000 及び 4,000 ppm 投与群の雌雄ともに、投与開始 100 日及び 300 日後に  
10 おいて正常であった。

11 腎皮質における組織学的変化が、2,000 及び 4,000 ppm 投与群の雄で投与開始 200 日  
12 後にみられたが、雌では認められなかった。他の全ての臓器は、雌雄ともに 200 日後で  
13 は正常であった。400 日後では、雄にのみ腎臓（腎盂腎炎）、肝臓及び甲状腺に病変がみ  
14 られた。

15 717 日まででは、雌雄で同様の病変がみられたが、雄で顕著であった。700 日後に偶  
16 発的に腫瘍の発生がみられたが、発生頻度に用量相関性はみられず、対照群にも発生が  
17 みられた。62 ppm 投与群では、明確な影響はみられず、500 ppm 投与群の雄（2 例）  
18 で腎臓にわずかな病変が認められたが、700 日以降に検査した群の異常と加齢による変  
19 化とを区別することはできなかった。

20 この試験では 1 群あたりの動物数が少なかったため、背景レベルが低い腫瘍のような  
21 稀な事象の変化を検出するには感度に限度があるが、投与量の用量範囲が広いこと及び  
22 経時的なサンプリングにより、報告された所見はある程度の信頼性があると考えられた。

23 （参照 3、5）[JMPR 1969、p4、JMPR 1998、p37]、

24 本試験において、250 ppm 投与群の雄で肝臓及び腎臓の相対重量の増加がみられたこ  
25 とから、NOAEL は （JMPR の結論と同様に）125 ppm（6 mg/kg 体重/日） と考えられ  
26 た。

#### 27 専門委員コメント

28 n 数が少ないため参考試験としました。

#### 30 31 32 33 (4) 5 年間慢性毒性/発がん性併合試験（イヌ、混餌投与）

34 イヌ（雌雄各 14 頭/群）にエトキシキンを混餌投与（0 及び 300 ppm）し、5 年間慢  
35 性毒性/発がん性併合試験が実施された。

36 血液学的検査、尿検査、血液生化学的検査（AST、BUN、BSP 試験）、臓器重量、相  
37 対重量、体重、並びに肉眼的及び病理組織学的検査において投与による影響は認められ  
38 なかった。

39 （参照 5）[JMPR 1998、p39]

1 本試験における NOAEL は (JMPR の結論と同様に) 300 ppm (7.5 mg/kg 体重/日)  
2 と考えられた。

#### 3 4 (5) 33 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

5 *N*-nitrosoethyl-*N*-ethanolamine で誘発した腎及び肝腫瘍の研究の一部として、ラッ  
6 トの対照群の 1 つ (Fischer 344、8 週齢、雄 25 匹) に、試験終了時 (41 週齢) までエ  
7 トキシキンが混餌投与 (8,000 ppm) され、肝臓、腎臓及び肉眼的病変部分の病理組織  
8 学的検査が行われた。

9 肝臓では、 $\gamma$ -GTP 陽性病巣、過形成結節及び肝細胞がんは認められず、腎臓病変につ  
10 いては、所見がなかったデータが示されていない。(参照 5) [JMPR 1998、p37~38]

#### 11 12 専門委員コメント

13 過形成結節は用語としては古いので、肝細胞腺腫とするかどうか。

14  
15 *N*-nitrosoethyl-*N*-ethanolamine 誘発による膀胱がん研究の一部として、対照群ラッ  
16 ト (Fischer 344、雄 25 匹) にエトキシキンが混餌投与 (8,000 ppm) された。

17 投与開始 32 週間後での膀胱における単純過形成並びに乳頭状及び結節性過形成の発  
18 生率は、アスコルビン酸投与群及びエリソルビン酸ナトリウム投与群よりも高く、単純  
19 性過形成の発生率は *N*-nitrosobutyl-*N*-hydroxybutylamine 単独投与群よりも高かった。  
20 無投与の対照群は設定されなかった。エトキシキン投与群では、膀胱の乳頭腫及びがん  
21 腫は認められなかった。(参照 5) [JMPR 1998、p37~38]

#### 22 23 (6) 24 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

24 上記 (5) の試験と同様の膀胱がんの研究が実施され、ラット (Fischer 344、雄 15  
25 匹/群) にエトキシキンが 24 週間混餌投与 (8,000 ppm、400 mg/kg 体重/日相当) され  
26 た。

27 膀胱の乳頭状及び結節性過形成並びに乳頭腫の誘発は認められなかった。(参照 5)  
28 [JMPR 1998、p38]

### 29 30 7. 生殖発生毒性試験

#### 31 (1) 多世代繁殖生殖毒性試験 (ラット①、混餌投与)

32 ラットに、エトキシキンを 40 日間混餌投与 (0、250、及び 500ppm、トコフェロー  
33 ル微減飼料使用) した後、連続して 3 回交配させ出産させた。

34 第 1 回目の交配により得られた最初の産児を用いてが、第 2 世代の産児を得るために  
35 用いられた。

36 受胎能、産同腹胎児数及び産児の生存率に反映するような繁殖への影響は認められな  
37 かった。

38 投与群は対照群よりも出産及び成育の成績が良く、500 ppm 投与群の方が 250 ppm  
39 投与群よりも成績が良かった。

1 交配前の投与期間が短く、純度及び1群あたりの動物数が不明であることから、この  
2 報告の信頼性はやや低いが、エトキシキン~~は~~、500 ppm (25 mg/kg 体重/日相当) の混  
3 餌投与では、繁殖成績に顕著な影響を及ぼさないと結論付けられた。(参照 5) [JMPR 1998、  
4 p40]

## 6 (2) 多世代繁殖毒性試験 (ラット②、混餌投与)

7 ラット (雌、8~9 匹/群) を用い、交配日にエトキシキンを混餌投与 (0、125、375  
8 及び 1,125 ppm) した。

9 妊娠期間は全ての群でほぼ同じであったが、~~同腹児数は~~375 ppm 以上投与群でわず  
10 かに産児数の減少がみられた。また、1,125 ppm 投与群では死産の発生率が増加し、離  
11 乳時までの生存率が減少した。

12 また、妊娠 1~10 日にエトキシキンを混餌投与 (1,125 ppm まで) した試験では、  
13 同腹児数、死産数、離乳時生存数及び離乳時体重に影響はみられなかった。(参照 5)  
14 [JMPR 1998、p40]

15 本試験において、375 ppm 以上投与群で同腹児数の減少がみられたことから、  
16 NOAEL は、125 ppm (6 mg/kg 体重/日) と考えられた。

## 18 (3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット、経口投与)

19 ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) にエトキシキンを強制経口投与 (0、75、150 及び  
20 300 mg/kg 体重/日) し、2 世代生殖毒性試験が実施された。被験動物は 1 週間個別に飼  
21 育し、その後 16 週間雌雄で飼育し交尾させた。その期間 (16 週間) 中に、出生した児  
22 動物については生後 1 日 (PND1) に検査した。その後 (17 週以降) 出生した児 (F<sub>1</sub>)  
23 は母動物に離乳 (PND21) まで哺育させ、離乳したラットを選択して PND81±10 まで  
24 雌雄別に飼育し哺育させた (F<sub>1</sub>)。これらの F<sub>1</sub> を群ごとに 7 日間まで同居させ F<sub>2</sub> を作  
25 出した。F<sub>2</sub> は出生後に安楽死させた。

26 親動物では、300 mg/kg 体重/日投与群で F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> の雄の体重が減少 (対照群より 7  
27 ~20 %低値) し、F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> 世代のエトキシキン~~全投与群の F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub>~~ では、肝臓及び  
28 腎臓重量が用量相関的に増加 (13~56 %増加) した。

29 F<sub>0</sub> の受胎率は 300 mg/kg 体重/日投与群で低下し、一組当たりの同腹児数が減少  
30 (22 %)、一腹当たりの出生児数の減少 (対照群と比べて 22 %の減少)、及び妊娠期間  
31 の明らかな延長がみられた。

32 性別による影響をみるため、投与した雌雄にそれぞれ無処置の動物と交配させる試験  
33 の交尾の (クロスオーバー試験) が実施された。~~雌にエトキシキンを投与雌と無処置雄~~  
34 ~~から生まれた場合~~生まれた児は対照群と比べて約 20 %体重が軽かったが、~~投与雄と無処置雌~~  
35 ~~から生まれた児が投与された場合には~~影響はみられなかった。

36 F<sub>1</sub> の雌雄においてエトキシキンの影響はみられなかった。

37 以上より、エトキシキンは 75 mg/kg 体重/日以上用量で腎臓及び肝臓に影響を及ぼ  
38 し、300 mg/kg 体重/日の用量で生殖毒性 (妊娠期間の延長及び交尾のクロスオーバー試  
39 験における児動物の体重減少) がみられた。150 mg/kg 体重/日が本試験における生殖毒

1 性及び児動物に対する影響の NOAEL と考えられ、親動物に対する毒性の NOAEL は  
2 設定できなかった。(参照 10、11) [EFSA DAR 2008(1)、p851、EFSA DAR 2008(2)、p945]

#### 3 4 (4-3) 2 世代繁殖毒性試験 (イヌ、混餌投与)

5 エトキシキン~~は~~、酸化による劣化防止のため市販のドッグフードに添加されることか  
6 ら、イヌを用いたエトキシキンの 2 世代繁殖試験を実施し~~にはイヌが用いられた~~。

7 最初の交配 (F<sub>0</sub>) では、イヌ (ビーグル種、雄 5 匹及び雌 10 匹/群) を用い、交配前  
8 に少なくとも 82 日間のエトキシキン混餌投与 (0、100 及び 225 ppm) を行った。次  
9 の F<sub>1</sub> 交配に用いる児動物 (雄 8 匹及び雌 13 匹) には、離乳時から 10~30 か月 (雌  
10 では第 2 回目の発情周期) の交配繁殖までの期間にエトキシキンを混餌投与 (0、100  
11 及び 225 ppm) した。

12  
13 F<sub>0</sub> の交配~~に~~関しては、同一群内の体重にかなりのばらつきがみられたが、225 ppm 投  
14 与群の親動物~~成体~~ (F<sub>0</sub>) で、投与開始から 17 週間後まで及び妊娠後期に体重減少の傾  
15 向がみられた。雄は、ほとんどの試験期間中で摂餌量が減少した。妊娠が確認された 225  
16 ppm 投与群の雌 2 匹からは産児が得られなかった。

17 交尾行動、分娩、出産及び離乳~~に関する~~の指標、精液パラメータ並びに一般状態につ  
18 いては、群間で有意な差は認められなかった。

19 産仔数、児動物の生存率並びに児動物の体重及び~~発育~~は、全ての群でほぼ同じ  
20 であった。

21 225 ppm 投与群の児動物では、肛門のただれ、表皮剥離及び発赤、脱水、鼻汁並びに流  
22 涙の症状を示すものが雌雄ともに増加した。~~後の 2 つの症状~~鼻汁並びに流涙は、100 ppm  
23 投与群でも増加した。

24 100 及び 225 ppm 全投与群の親動物の雌及び 225 ppm 投与群の親動物の雄で、統計  
25 的に有意な ALP の増加がみられた。また、雌雄ともに 225 ppm 投与群で、正常範囲内  
26 の値であったが、単球数及び部分トロンボプラスチン時間 (PTT) の減少がみられた。  
27 尿パラメータへの影響は認められなかった。

28 最初の交配で交尾しなかったに失敗した雌 (対照群 3 匹、225 ppm 投与群 2 匹) は、  
29 ~~再交配~~では交尾がみられたは成功した。

30  
31 F<sub>1</sub> 動物では、100ppm 投与群の雄 (1 例) と 225 ppm 投与群の雌 (2 例) が死亡又は  
32 瀕死状態で剖検された。雄は、神経症状が疑われたため剖検された。雌 1 例の死亡原因  
33 としては心臓病疾患が疑われの疑いで死亡し、もう他の 1 例は肺炎のため剖検された。

34 一般状態では、過度の流涙、脱水症状、削瘦及び歯肉の蒼白等がみられ、毒性徴候を  
35 示す雌雄の各動物数及び発生数ともに用量相関的に増加した。

36 225 ppm 投与群の雄の平均体重は、試験開始後 48 週まで低かった~~対照群より少なか~~  
37 ~~った~~。

38 摂餌量は、試験開始当初には、225 ppm 投与群で増加したがの方が対照群より多か  
39 ~~った~~が、その後 (試験開始後 8~18 週の雄及び 8~30 週の雌) 低下したは少なくなった。

1 血液学的検査では、投与群及び対照群ともに試験期間を通してかなりの変動がみられ  
2 た。RBC、Ht 及び Hb に投与に起因する影響がみられ、投与群の雌雄（試験開始 10 及  
3 び 23 週間後）で対照群に比べ 11 %まで減少した。また、PTT への影響もみられ、225  
4 ppm 投与群の雌（試験開始 23 及び 62 週間後）及び低用量群の雌（試験開始 23 及び 36  
5 週間後並びに最終分析時点）で減少がみられた。

6 血液生化学的検査では、225 ppm 投与群（試験開始 10、23 及び 36 週間後）で血清  
7 中 ALP、 $\gamma$ -GTP 及び ALT の増加、並びに A/G 比の減少がみられ、その変動は 100ppm  
8 投与群で少なかった。これらの変化は、肝機能障害を示している。尿検査では、顕著な  
9 変化は認められなかった。

10  
11 ~~F<sub>1</sub>の交配~~においては、精液分析及び交尾行動、妊娠、出産、離乳に関して対照群と投  
12 与群で明白な違いは認められなかった。成体（F<sub>1</sub>）では、投与に起因する一般状態は過  
13 剰な流涙のみであり、全投与群の雄でみられた。

14 血液学的検査では、投与による影響は観察されなかった全ての群で同様の結果であ  
15 る。血液生化学的検査では、雌で用量相関性のあるパラメータの変化（Glu、Chol、TP、  
16 Alb 及び A/G 比の低下並びに T.Bil、 $\gamma$ -GTP、ALP 及び ALT の増加）がみられ、225 ppm  
17 投与群では統計的に有意であった。雄では、ALP、 $\gamma$ -GTP 及び ALT に用量相関的な増  
18 加がみられたが、有意差は認められなかった。

19 剖検では、225 ppm 投与群の雄 1 例及び雌 2 例で肝臓の暗紫色の変色（暗紫色）が見  
20 られ、エトキシキン全投与群の雌 2 例では頸部リンパ節に出血がみられた。これらの病  
21 変は対照群ではみられないことから、投与によるものと考えられた。

22 エトキシキン投与群の雄で、脾臓及び精巣の絶対重量及び脳比重量の増加がみられ、  
23 相対重量では統計的に有意な増加が認められた。雌では、肝臓（10%）、腎臓（10%）及  
24 び脾臓（40%）の絶対及び相対重量の増加がみられたが、統計的に有意ではなかった。

25 病理組織学的検査では、肝臓、下垂体及び脾臓が標的器官であることが示された。剖  
26 検でみられた雌の頸部リンパ節の出血は確認されなかった。プロトポルフィリン IX に  
27 よる暗赤褐色の色素沈着は、対照群及び 100ppm 投与群の雄の肝臓ではみられなかった  
28 が、100ppm 投与群の雌（7/13 例）及び、225 ppm 投与群の雌雄（雄：2/7 例、雌：10/11  
29 例）にみられ、色素沈着の程度は用量相関的であった。脾臓の線維化~~症~~及び出血の頻度  
30 が、225 ppm 投与群の雌で増加~~し~~上昇し（対照群 0/13 例に対し 3/11 例）、下垂体嚢胞の  
31 頻度は、225 ppm 投与群の雌雄で増加~~し~~上昇した（雄：対照群 0/8 例に対し 2/6 例、雌：  
32 対照群 2/12 例に対し 4/10 例）。

33 エトキシキン投与群の雄の児動物では、灰白色～蒼白色の歯茎、過剰な流涙及び脱水  
34 症状の頻度が上昇し、雌の児動物では脱水症状の頻度が増加~~し~~上昇した。出生時及び妊娠  
35 6 週までの児動物では、体重がわずかに減少し（10%未満）、雌の児動物では用量相関性  
36 が認められた。100ppm 投与群の児動物における死亡率の上昇は、225 ppm 投与群では  
37 みられず、100ppm 投与群では同腹児数が多かったことによるものと考えられた。死亡  
38 率は、対照群 7/62（11%）、100ppm 投与群 24/91（26%）及び 225 ppm 投与群 10/77  
39（13%）であった。

1 試験期間中、100 ppm 投与群の雄 4 例及び雌 1 例並びに 225ppm 投与群の雌 2 例で  
2 神経障害の徴候が認められた。発症例では、後肢の機能障害、起立不全、及びミエリン  
3 変性と関係する頭部と胴体部の不安定性がみられた。一般状態に異常がなかった正常な  
4 同腹児の検査では、神経学的な障害欠陥は認められなかった。影響を受けた動物は、全  
5 て、対照群の動物にはない共通の雄の祖先を持つ系統であった。影響がみられたを受け  
6 た児動物の両親動物を混餌投与せずに交配した結果場合、神経障害を示した児の発生現  
7 率は、1 母体で 17 %~~腹が 1 例~~、他の 1 母体例では 25%~~腹~~であった。これらの結果は、  
8 神経障害は遺伝的な要因により発現したことを示唆病因を強く示している。

9  
10 ~~この試験におけるエトキシキンの実際の摂取量は、平均で開始時の 100 及び 225 ppm~~  
11 ~~であった。実際の摂取量は試験期間中に変動し、特に授乳中に増加したが、平均で 25 g/kg~~  
12 ~~体重/日と考えられ、エトキシキンの平均摂取量は、100 ppm で 2.5 mg/kg 体重/日、~~  
13 ~~225ppm では 6 mg/kg 体重/日に相当した。~~

14  
15 以上の結果から、エトキシキンは 225 ppm までの混餌投与群でイヌの生殖能及び繁  
16 殖成績に影響を及ぼさないことが示された。(参照 5) [JMPR 1998、p40~42]

17 100ppm 投与群で過剰な流涙及び脱水症状等の一般状態、血液生化学的变化及び肝臓  
18 の色素沈着がみられたことから、この試験全体の NOAEL は得られず、LOAEL は 100  
19 ppm、(2.5 mg/kg 体重/日相当) と考えられた。

20 事務局：本評価書における LOAEL の最小値になります。

21 JMPR ではこの値を ADI の根拠としています。

22 JMPR 2005 年には以下の記述があります。

23  
24 1998 年の JMPR で、イヌを用いたエトキシキンの混餌投与 (0、100 及び 225ppm)  
25 による 2 世代繁殖毒性試験について評価された。  
26 試験の最高用量 (5.6 mg/kg 体重/日相当) でもまで、繁殖パラメータへの影響は認め  
27 られなかった。  
28 一般状態では、脱水症状及び過度の流涙等がみられた。  
29 肝毒性が認められ、特に雌に顕著であった。影響は最低用量の 100 ppm で認められ、  
30 イヌを用いた亜急性毒性試験でみられたものと一致した。  
31 最低用量の 100 ppm (2.5 mg/kg 体重/日相当) は、毒性徴候及び肝臓への影響により、  
32 LOAEL と考えられた。(参照 8) [JMPR 2005、p393]

#### 33 34 (5-4) 発生毒性試験 (ラット①、強制経口投与)

35 妊娠ラット (SD 系、8 匹/群) を用いて、エトキシキン (純度 97.6%) を妊娠 6~19 日  
36 に強制経口投与 (0、62、125、250、500 及び、1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：コーンオ  
37 イル) し、催奇形性を調べるための用量設定試験が実施された。

38 1,000 mg/kg 体重/日投与群は妊娠 9 日までに全て死亡又は切迫殺剖検され、500  
39 mg/kg 体重/日投与群の 3 例は妊娠 10~11 日に死亡した。剖検では、毒性影響はみられ  
40 なかった。



1 一般状態では、全投与群で排便の減少、暗色尿及び被毛の褐色化が認められ、症状は  
2 用量相関的であった。

3 摂餌量及び体重の減少が、125 mg/kg 体重/日以上投与群の投与開始時にみられ、妊娠  
4 9 日以降では、体重増加は 500 mg/kg 体重/日以下の全ての群で同等であった。これらの  
5 動物では、妊娠 20 日まで体重が対照群と比べて 20 %低下した。

6 胎児の体重は、500 mg/kg 体重/日投与群で減少したが、外表奇形、性比及び頭殿長に  
7 ~~の検査では投与による影響は認められなかった。~~ (参照 5) [JMPR 1998、 p42]

#### 8 9 (6-5) 発生毒性試験 (ラット②、強制経口投与)

10 妊娠ラット (SD 系、25 匹/群) を用い、エトキシキン (純度 97.6%) の強制経口投与  
11 (0、50、150 及び 350 mg/kg 体重/日、溶媒：コーンオイル) による発生毒性試験が実  
12 施された。投与は妊娠 6～19 日に行い、妊娠 20 日に剖検し、子宮及び卵巣の検査を行  
13 った。

14 また、全胎児の体重、性別並びに外表及び内臓奇形について調べ、骨格検査を行った。  
15 ~~胎児の半数の頭部はウィルソン切片法で調べ、残りの半数の頭部は中央冠状切片で調べ~~  
16 ~~た。全胎児について、アリザリンレッド S 染色により骨格検査を行った。~~

17 試験期間中に母動物の死亡例は認められなかった。

18 最高用量 (350 mg/kg 体重/日) 投与群の母動物で泌尿生殖器の着色がみられ、またこ  
19 れらの群の動物及び 150 mg/kg 体重/日投与群の数例では、その他の部分でも着色がみ  
20 られた。

21 350 mg/kg 体重/日投与群では、母動物の体重が妊娠 6～7 日に減少し、体重増加は 6  
22 ～20 日に対照群に比べ 13 %減少した。150 mg/kg 体重/日投与群では、体重増加の減少  
23 は 6～20 日に 5 %であった。

24 摂餌量は、150 mg/kg 体重/日投与群で 9 %減少し、350 mg/kg 体重/日投与群では 13%  
25 減少した。

26 剖検では、母動物に特筆すべき所見はなかった。子宮重量、胎仔腹数、吸収胚数、  
27 着床前及び着床後胚損失数、性比及び胎児重量は、全ての群で同等であった。

28 胎児における奇形及び異常に関する個々の所見は、正常範囲内であり、投与との関連  
29 は認められなかった。全体的な変異の発生率は対照群で最も高かったが、個々の変異に  
30 ついては有意な増加は認められなかった。 (参照 5、8) [JMPR 1998、 p42、JMPR 2005、 p393]

31 本試験において、150 mg/kg 体重/日投与群に体重増加抑制がみられたことから、母動  
32 物の NOAEL は 50 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は、試験の最高用量である  
33 350 mg/kg 体重/日と考えた。催奇形性は認められなかった。

#### 34 35 (7-6) 発生毒性試験 (ラット③、強制経口投与)

36 妊娠ラット (CD/CRJ、20～22 匹/群) を用いて、エトキシキンを強制経口投与 (0、  
37 45、130 及び 400 µL/kg 体重/日、溶媒：オリーブ油 (10 mL/kg 体重)) し、発生毒性  
38 試験が実施された。投与は妊娠 7～17 日に行い、母動物を妊娠 21 日にと殺し胎児を  
39 摘出した。

1 母動物の一般状態では、全投与群で暗緑青色の糞の排泄がみられ、130  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日  
2 以上投与群では、加えて暗緑青色又は暗青色の尿の排泄がみられた。

3 体重増加の抑制が 400  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群でみられ、摂餌量の減少は 130  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重  
4 /日以上投与群で認められた。

5 母動物の剖検では異常は認められなかった。~~排卵及び着床状態については、~~対照群と  
6 各投与群で黄体数、着床数及び着床率にはの平均値が近似し、投与による影響は認めら  
7 れなかった。胎児死亡率、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量、性比等についても同様に  
8 影響は認められなかった。

9 胎児の外表形観察では、全ての群で異常は認められなかった。内部観察では、投与群  
10 の胎児に水腎症及び輸尿管異常が 1.3~2.5 %の割合で出現した。骨格観察では、頸椎椎  
11 弓低形成、肋骨短小、腰椎化、仙椎化等の骨格異常が、投与群において 0.4~1.3 %、対  
12 照群では 0.6 %出現した。これらの異常は出現状況及び使用した SD ラットの特性から、  
13 偶発的な変化と判定された。(参照 6、9) [エトキシキンの概要、p63~64、エトキシキンの安全性  
14 に関する資料 No.3、昭和 54 年度飼料の安全性及び有用性確認調査委託事業実施報告書、p595~698]

15 本試験において、130  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群で摂餌量の減少がみられたことから、母動  
16 物の NOAEL は 45  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日、胎児に対する NOAEL は、試験の最高用量である  
17 400  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日と考えた。催奇形性は認められなかった。

#### 19 (8-7) 発生毒性試験（ウサギ、強制経口投与）

20 妊娠ウサギ（JW-Nibs、8~9 匹/群）を用いて、エトキシキンを強制経口投与（0、5、  
21 24 及び 120  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日、懸濁用液：1 %CMC (carboxymethyl cellulose) 液（5 mL/kg  
22 体重））し、発生毒性試験が実施された。投与を妊娠 6~18 日に行い、母動物を妊娠 28  
23 日にと殺し胎児を摘出した。

24 120  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群の全例（9 匹）で、投与開始後に体重、摂餌量及び飲水量が  
25 の減少がみられ、うち 5 例が死亡、1 例が流産、他の 1 例が早産した。24  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/  
26 日投与群の 1 例は、流産し、5  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群の 1 例は流産後に死亡した。対照群  
27 では、1 例が早産であった。1 %CMC 液の投与により消化器障害が起こり、流産及び早  
28 産の一因となった可能性が考えられた。排卵、着床及び胎児の発育には、投与による影  
29 響は認められなかった。

30 胎児の外表形及び内部異常については、5  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群の胎児 1 例に小眼球症及  
31 び水腎症の合併が認められ、対照群では、小体症、頭蓋欠損、短頭症並びに腹水及び心  
32 嚢水の増量がそれぞれ胎児 1 例に認められた。

33 骨格異常では、6 腰椎が 5  $\mu\text{L}/\text{kg}$  体重/日投与群の胎児 1 例にみられ、軟骨異栄養症及  
34 び環椎の椎弓形成不全が、対照群の胎児 1 例にみられた。胸骨の部分的癒合、腰椎化、  
35 仙椎化及び尾椎骨の側方移動が、対照群及び各投与群に低率に認められた。

36 これらの異常の型及び出現頻度と投与量には関連が認められず、偶発性の変化と判断  
37 された。(参照 6、9) [エトキシキンの概要、p64、エトキシキンの安全性に関する資料 No.3、昭和 54  
38 年度飼料の安全性及び有用性確認調査委託事業実施報告書 p595~698]

1 本試験において、120 µL/kg 体重/日投与群で体重、摂餌量及び飲水量の減少がみられ  
2 たことから、母動物の NOAEL は 24 µL/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は、試験の  
3 最高用量である 120 µL/kg 体重/日と考えた。催奇形性は認められなかった。

## 4 5 8. 対象動物を用いた安全性試験

### 6 (1) 鶏

#### 7 ①ヒナ

8 ヒナ (30羽/群) にエトキシキン混餌投与 (0、125、250 及び 1,250 ppm) し、10  
9 週間観察した。体重増加量、飼料摂取量、育成率及び健康状態等に投与による有意な差  
10 は認められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

#### 11 12 ②肉用鶏

13 肉用鶏 (25羽/群) にエトキシキン混餌投与 (0、125、150、250 及び 1,250 ppm)  
14 し、10 週間観察した。死亡率、体重増加量、飼料摂取量、発育及び健康状態等に投与に  
15 による有意な差は認められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

#### 16 17 ③産卵鶏

18 産卵鶏 (10羽/群) にエトキシキン混餌投与 (125 及び 500 ppm) し、8 週間観察  
19 した。体重、卵重、飼料摂取量及び産卵率に投与による有意な差は認められなかった。  
20 (参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

#### 21 22 ④種鶏

23 親鶏 (70羽/群) 及びヒナ (200羽/群) に、エトキシキン混餌投与 (7.5、75 及び  
24 750 ppm) し、490 日間観察した。親鶏の産卵率、受精率及びふ化率並びにヒナの生存  
25 率及び成長率において、投与群と対照群で差は認められなかった。組織学的検査では、  
26 親鶏 (雌雄) 及びヒナの肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、輸卵管及び甲状腺において異常は認  
27 められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

### 28 29 (2) 豚

30 豚 (6頭/群) にエトキシキン混餌投与 (1,500 及び 15,000 ppm) し、体重増加量、  
31 飼料摂取量及び飼料効率について 8 週間調べた。15,000 ppm 投与群では、対照群に比  
32 べ飼料摂取量及び体重増加日量がやや劣る傾向がみられたが、1,500 ppm 投与群では、  
33 有意な差は認められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

### 34 35 (3) 牛

36 牛 (2~4頭/群) にエトキシキン混餌投与 (1,500 及び 15,000 ppm) し、16 週間観  
37 察した。15,000 ppm 投与群では、食下量の低下がみられたが、発育及び飼料摂取量に  
38 においては投与による有意な差は認められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p66]

### 39 40 (4) 魚類

1 ①うなぎ

2 うなぎ（2年魚、400～600尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び750ppm）  
3 し、約4か月間飼育した。750ppm投与群では、摂餌不良となったが、飼料効率及び斃  
4 死率については対照群との差は認められなかった。150ppm投与群の斃死率では、対照  
5 群より良好であった。

6  
7 うなぎ（2年魚、100～600尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び450ppm）  
8 し、32日間飼育した。斃死率及び飼料効率等において対照群との明確な差は認められな  
9 かった。（参照6）[エトキシキンの概要、p67]

10  
11 ②にじます

12 にじます（300尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び750ppm）し、約4  
13 か月間飼育した。飼料効率、成長率及び斃死率等において対照群との明確な差は認めら  
14 れなかった。

15  
16 にじます（200尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び450ppm）し、約2  
17 か月間飼育した。飼料効率、成長率及び斃死率等において対照群との明確な差は認めら  
18 れなかった。（参照6）[エトキシキンの概要、p67]

19  
20 ③あゆ

21 あゆ（400尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び450ppm）し、約2か月  
22 間飼育した。450ppm投与群では、試験開始後10日頃から摂餌が低下し、飼料効率も  
23 対照群に比べて劣ったが、150ppm投与群では、対照群との差は認められなかった。（参  
24 照6）[エトキシキンの概要、p67]

25  
26 ④こい

27 こい（まごい、200尾/群）にエトキシキンを混餌投与（0、150及び450ppm）し、  
28 76日間飼育した。450ppm投与群では、摂餌量及び飼料効率が低下したが、150ppm  
29 投与群では、対照群より良好な結果であった。（参照6）[エトキシキンの概要、p67]

30  
31 9. 一般薬理試験

32 (1) 体温

33 ウサギ（JW種、雌）にエトキシキンが経口投与（500mg/kg体重）された。投与24  
34 時間後に0.6～2.1℃の体温低下が認められ、72時間後には回復した。100mg/kg体重以  
35 下の投与量では顕著な影響は認められなかった。（参照6）[エトキシキンの概要、p65]

36  
37 (2) 脳波及び瞳孔

38 ウサギ（JW種）にエトキシキンが経口投与（500mg/kg体重以下）され、投与によ  
39 る影響をが6時間観察された。したが、特に顕著なものは認められなかった。（参照6）  
40 [エトキシキンの概要、p65]

### (3) 血圧、心拍及び呼吸

麻酔ウサギ (JW-NIBS 種) を用いてエトキシキンが経口投与 (500 mg/kg 体重以下) された。投与による顕著な影響は認められなかった。(参照 6) [エトキシキンの概要、p65]

## 10. その他の試験

### (1) 腎毒性について (ラット)

ラット (Fischer 344、雄: 3~8 週齢、4~8 匹/群、雌: 8 週齢、8 匹) に、エトキシキン (純度 90%) を混餌投与 (5,000 ppm、雄: 20、26 及び 30 週間、雌: 30 週間) し、エトキシキンにより生じた腎臓病変の年齢及び性別への依存性が調べられた。

腎臓の病理組織学的検査として、ブロモデオキシウリジン (BrdU) 標識、 $\gamma$ -GTP の組織化学的検出、~~ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色~~、アリザリンレッド染色並びに免疫ブロット法による尿中 Alb 及び  $\alpha_2u$  グロブリンの検査を行った。

体重増加は、投与群で 10~15% 減少した。雄では、腎臓の絶対重量が 5~50% 増加し、結果として相対重量が増加した。雌では、腎臓の相対重量が 12% 増加した。

全投与群の雄で腎皮質の変化 (尿細管上皮細胞内のエオジン染色性細胞質内封入体、尿細管薄膜内のタンパク質蓄積) がみられた。3 週齢時から投与された雄では、腎乳頭壊死、軽微な Ca 沈着及び腎盂の尿路移行性上皮の過形成がみられた。

投与群の雌の腎臓の組織学的所見では、高濃度のリポフスチン沈着を除き、対照群と同様であった。

#### 専門委員コメント

薄膜 Lamina の意味が不明で訳しづらい所見となっています。

雄における BrdU 標識は、好塩基性の尿細管再生像及び通常の HE 染色像とともに、投与 30 週間後で増加がみられたが、投与 20 週間後では増加は認められなかった。雌での BrdU 標識については記載がなかった。

尿中の  $\alpha_2u$  グロブリン濃度は、投与群の雄でわずかに低下したが、Alb 濃度は有意に増加した。

以上のように、最初の暴露の時期により、エトキシキン混餌投与 (5,000 ppm、250 mg/kg 体重/日相当) によるラットの腎臓病変のパターンが変化し、3 週齢から暴露した場合は、8 週齢からの暴露でみられた皮質病変に加えて腎乳頭壊死が発生した。(参照 5) [JMPR 1998、p38]

### (2) 神経毒性

ラット及びマウスの急性毒性試験 (経口及び吸入) において、高用量 (単回強制経口投与試験で >1,500 mg/kg 体重) の投与後に運動失調、痙攣又は呼吸困難等の毒性徴候がみられた。また、エトキシキン及びその代謝物の血液脳関門への侵入及び中枢神経系への蓄積の可能性が排除されないことから、神経毒性に関しては明らかに不確実な事項

1 が存在している。しかし、単回又は反復投与による神経毒性に限定した試験は実施され  
2 ていない。したがって、エトキシキンの神経毒性の可能性について最終的な結論を下す  
3 ことはできない。しかしながら、毒性試験のプロファイル全体及び特に有効な信頼でき  
4 る短期間投与試験においてける脳の肉眼的剖検及び病理組織学的所見がみられないこ  
5 とから、消費者、使用者等が理論的に暴露されると考えられる用量においてリスクが生  
6 じることは予測されない。遅発性神経毒性に関しては、エトキシキンはそのような影響  
7 を起こす可能性のある化学的分類（有機リン化合物）には属さないことから無関係であ  
8 ると考えられる。（参照 10）[EFSA DAR 2008(1)、p819、852]

### 9 10 (3-2) 皮膚刺激性試験（ウサギ）

11 ウサギ（3 匹）を用いて、エトキシキン（原液乳剤（70%））を塗布（露出皮膚）し、  
12 24 時間後に除去しされた。

13 24 時間後には、全ての動物でわずかな紅斑がみられ、48 時間後では、1 例に極わず  
14 かの赤みが残っていた

15 エトキシキンは、上記の条件下において軽度の皮膚刺激性物質であると分類された。  
16 （参照 3）[JMPR 1969、 Short-term studies, Rabbit、p3]

17  
18 エトキシキンは、ウサギ皮膚への半閉塞塗布（4 時間）により、一過性の軽微な紅斑  
19 を生じた。浮腫はなかったが、落屑（desquamation）が暴露後 7 日までみられた。（参  
20 照 5）[JMPR 1998、p35]

### 21 22 (4-3) 皮膚刺激性試験（ウサギ、モルモット）

23 エトキシキンをウサギ及びモルモットの皮膚（直径 2 cm）に 1 日 1 回 2 週間連続塗  
24 布したところ、小赤斑、続いて発疹、痂皮の形成が認められた。しかし、塗布終了後、  
25 病変は徐々に消失し、2~3 週間後に回復した。（参照 6）[エトキシキンの概要 p65]

### 26 27 (5-4) 眼刺激性試験（ウサギ）

28 エトキシキンは、ウサギの結膜に一過性の軽微~軽度の発赤及び浮腫を生じた。これ  
29 らの全ての影響は、4 日以内に完全に消失した。（参照 5）[JMPR1998、p35]

### 30 31 (6-5) 皮膚感作性試験（モルモット）

32 モルモット（雌雄各 6 匹）を用いた皮膚感作性試験において、エトキシキンは非常に  
33 弱い紅斑反応を示した。（参照 5）[JMPR1998、p35]

## 34 35 1 1. ヒトに関する知見

36 20 年間のエトキシキンの流通、使用で、皮膚刺激性及び感受作性を示す症状の報告は  
37 みられなかった。しかし、皮膚炎が、エトキシキン 70% 溶液で噴霧され濡れた状態のリ  
38 ングを取り扱う従業員の間に多く発生した。

1 ボランティアによるパッチ試験から、これらの皮膚反応は直接の刺激によるものでは  
2 なく、感作の結果であることが示された。(参照 3) [JMPR 1969、OBSERVATION IN MAN、  
3 p4]

4  
5 いくつかの報告で、エトキシキンを含む動物用飼料を取り扱う作業者に多く見られる  
6 重度の皮膚炎の原因が、エトキシキンである可能性が示された。ワセリン中 0.01%程度  
7 の低い濃度のエトキシキンで惹起された作業員で、パッチテスト陽性と記録された。報  
8 告書の著者らは、~~空気汚染及び光感受性の関与を指摘した。~~ (参照 5) [JMPR 1998、p43]  
9

### 10 Ⅲ. 食品健康影響評価

#### 11 1. 国際機関等における評価について

##### 12 (1) JMPR における評価

13 JMPR は 1998 年に、イヌを用いた 2 世代生繁殖試験における一般状態等の LOAEL  
14 (2.5 mg/kg 体重/日) に安全係数 500 を適用し、エトキシキンの ADI を 0.005 mg/kg  
15 体重/日と設定している。この安全係数は、LOAEL を用いていること並びに遺伝毒性及  
16 び長期毒性の試験データが不十分であることによるものである。この試験は、NOAEL  
17 として 2 mg/kg 体重/日が示された 90 日間亜急性毒性試験より長期間で、最近の新しい  
18 試験であった。

19 2005 年の JMPR では、長期毒性に関する追加情報はなかったが、エトキシキン及び  
20 植物におけるその 3 種類の代謝物/分解産物 (MEQ、DHEQ 及び DHMEQ) の遺伝毒  
21 性に関する情報が提供され、これらの化合物は *in vivo* で遺伝毒性はないと結論付けら  
22 れた。これらの 3 種類の代謝物のうち DHEQ 及び DHMEQ の急性毒性は、エトキシキ  
23 ンより強くはなかったが、MEQ はわずかに強いようであった。しかし、この会合では、  
24 安全係数 500 は、この毒性の違いに対して十分に許容できるものと結論付けられ、1998  
25 年の JMPR で設定された ADI の妥当性が、3 種類の代謝物/分解産物 (MEQ、DHEQ  
26 及び DHMEQ) への適応を含めて確認されている。(参照 5、8) [JMPR 1998、p44、JMPR  
27 2005、p393~394]

##### 28 (2) EPA における評価

29 EPA における食品摂取による影響評価では、急性参照用量 (Acute Reference Dose :  
30 ARfD) 及び慢性参照用量 (Chronic Reference Dose : CRfD) が算出され、発がん性  
31 に関しては、適切な試験が実施されていないことから、がんのリスクがアメリカ人集団の  
32 70 年暴露推定値に上限推定勾配係数 ( $Q_1$ ) を乗じて計算され、がんの発生確率として  
33 表されている。

34 ARfD は、ウサギの発生毒性試験において最大用量の 3 mg/kg 体重/日で影響がみられ  
35 なかったことから、安全係数 100 (種差 : 10、個体差 : 10) を適用して 0.03 mg/kg 体  
36 重/日と設定されている。CRfD については、イヌの 90 日間亜急性毒性試験から得た  
37 NOAEL (2 mg/kg 体重/日) に安全係数 100 (種差 : 10、個体差 : 10) を適用して 0.02  
38 mg/kg 体重/日と設定されている。この試験における LOAEL は、肝臓酵素値の上昇及び  
39 組織病理学的所見 (細胞質空胞化及び肝細胞壊死) から 4 mg/kg 体重/日であった。  
40

1 エトキシキンに構造的に近似している 1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline では、ラ  
2 ットを用いた 2 年間の試験で腎臓腫瘍の発生がみられ、エトキシキンでは雄のラットに  
3 腎毒性がみられた。エトキシキンには発がん性に関する試験がないが、最大許容量  
4 (MTD) と発がん性との間には関係性が高いと結論され、エトキシキンの発がん性の境  
5 界推定が行われた。Q 境界推定法及び MTD を用いて、上限推定勾配係数 ( $Q_1$ ) は 0.04  
6 (mg/kg 体重/日)<sup>1</sup> と計算され、生涯におけるがん発生の確率は  $2 \times 10^{-6}$  未満と推定され  
7 た。(参照 4) [EPA 2004, p19~23]

### 8 9 (3) EFSA における評価

10 EFSA では、2010 年に農薬のピアレビューにおける結論 (CONCLUSION ON  
11 PESTICIDE PEER REVIEW) を提示している。この報告書では、エトキシキン及び  
12 その製剤のなしへの使用申請 (抗酸化剤及び殺菌剤) に対して、主に哺乳動物に対する  
13 毒性に焦点を当て評価が行われた。その中で、評価対象物質中の不純物の分析法及び哺乳  
14 動物を用いた毒性試験等において、評価への適用にあたり問題点が多いことが指摘さ  
15 れた。

16 哺乳動物を用いた毒性試験については、申請者から提示された長期毒性/発がん性、神  
17 経毒性、生殖毒性及び発生毒性などの主要なエンドポイントの試験が、1959 年にまで遡  
18 る国際評価機関の評価、抄録及び指定報告担当加盟国 (RMS) で収集された文献等によ  
19 るもので、基準値の設定及び追加の安全係数を設定するための科学的根拠となるもので  
20 はないと判断された。その結果、データベースが限定されているため結論が得られず、  
21 エトキシキンに対して基準値 (ADI、ARfD 及び許容作業者暴露レベル (AOEL) 等)  
22 を設定することはできなかったとされている。(参照 12) [EFSA 2010 PEER REVIEW, p952]

23  
24  
25 事務局 :

26 海外では次のように評価されています。

#### 27 1 JMPR

28 評価書では毒性学的エンドポイントとして以下があげられています。

29 ① NOAEL : イヌ 90 日間亜急性毒性試験 2mg/kg 体重/日

30 ② LOAEL : イヌ 2 世代生殖毒性試験 2.5mg/kg 体重/日

31 以下の理由により LOAEL 2.5mg/kg 体重/日を採用しています。

32 ① 2 世代生殖毒性は、亜急性毒性試験より長期間投与試験であること。

33 ② 亜急性毒性試験より新しい試験であること

34 ADI を設定するための安全係数を種差 10、個体差 10 に以下の理由から 5 を追加し、500 としています。

35 ① NOAEL ではなく LOAEL を採用していること

36 ② 長期毒性試験データが不十分であること

37 以上から、ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定しています。

#### 38 39 2 EPA



1 CRFDとしてイヌの90日間亜急性毒性試験から得たNOAEL(2mg/kg体重/日)に安全係数100を適用し、0.02  
2 mg/kg体重/日と設定しています。

3

4 3 EFSA

5 エトキシキンに含まれる不純物の遺伝毒性のある可能性及び哺乳動物を用いた慢性毒性試験に関するデー  
6 タが不十分であることから、ADIの設定は困難と結論づけています。

7

8 これらをもとに、調査会では食品健康影響評価の方向性をご審議いただきたいと考えます。

表 12 JMPR における各種試験の無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日) 等
ラット	28 日間亜急性 毒性試験	0、50、250、500 及び 1,000 経口	— 50 : 腎臓病変
	13 週間亜急性 毒性試験	0、20、40、200 及び 400 経口	20 40 (雄) : 体重増加抑制
	18 か月間慢性 毒性/発がん性 併合試験	0 及び 5,000 ppm 混餌	— 5,000 (雄) : 強い腎毒性 (腎臓の腎乳頭間質性変性、皮質 壊死、腎盂尿路上皮過形成)
	2 年間慢性毒 性/発がん性併 合試験	0、62、125、250、500、 1,000、2,000 及び 4,000 ppm 混餌	125ppm (6) 250 ppm : 肝臓及び腎臓の比重量 増加
	24 週間発がん 性試験 (膀胱がんの 研究)	8,000 ppm (400) 混餌	— 膀胱の乳頭状/結節性過形成及び乳 頭腫の誘発認めず
	33 週間発がん 性試験 (腎及び肝腫 瘍の研究)	8,000 ppm 混餌	— 肝臓の $\gamma$ -GTP 陽性病巣、過形成結 節及び肝細胞がんを認めず、腎臓 病変に所見なし
	33 週間発がん 性試験 (膀胱がんの 研究)	8,000 ppm 混餌	— 膀胱の乳頭腫及びがん腫を認めず
	多世代繁殖 毒性試験	0、250 及び 500 ppm 混餌	— 投与による影響なし
	多世代繁殖 毒性試験	0、125、375 及び 1,125 ppm	125 ppm (6) 375 ppm 以上 : 同腹児数の減少
	発生毒性試験	0、62、125、250、500 及び 1,000 経口	— 62 以上 : 排便の減少及び暗色尿及 び被毛の褐色化
	発生毒性試験	0、50、150 及び 350 経口	母動物 : 50 150 : 体重増加抑制 胎児 : 350 投与の影響なし

			催奇形性なし
イヌ	28日間亜急性毒性試験	0、25、50、100及び200 経口	— 25以上：体重増加抑制及び摂餌量の減少等
	90日間亜急性毒性試験	0、2、4、20及び40 経口	2 4：一般状態の変化及び肝臓への影響
	5年間慢性毒性/発がん性併合試験	0及び300 ppm 混餌	300 ppm (7.5) 投与による影響なし
	2世代繁殖毒性試験	0、100及び225 ppm (0、2.5及び6) 混餌	LOAEL：100 ppm (2.5) 100 ppm：過剰な流涙及び脱水症状などの一般状態、血液生化学的変化並びに肝臓の色素沈着
ADI	0.005 mg/kg 体重/日		
ADIの設定根拠	LOAEL：2.5 mg/kg 体重/日 SF：500 イヌ 2世代繁殖毒性試験における過剰な流涙及び脱水症状などの一般状態、血液生化学的変化並びに肝臓の色素沈着		

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
Alb	アルブミン
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) ]
<u>AOEL</u>	<u>許容作業者暴露レベル</u>
ARfD	急性参照用量
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) ]
Bil	ビリルビン
BrdU 標識	ブロモデオキシウリジン標識
BUN	血中尿素窒素
BSP 試験	ブロモスルホフタレイン試験
Chol	コレステロール
C <sub>max</sub>	最高濃度
CRfD	慢性参照用量
DMSO	ジメチルスルホキシド
EPA	米国環境保護庁
Glu	グルコース (血糖)
γ-GTP	γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HE	ヘマトキシリン・エオジン染色
Ht	ヘマトクリット値
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JMPR	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LC <sub>50</sub>	半数致死濃度
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LSC	液体シンチレーション係数管
MTD	最大許容量
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板数
<u>PND</u>	<u>生後日数</u>
PT	プロトロンビン時間
(A) PTT	(活性化) 部分トロンボプラスチン時間
RBC	赤血球数

RET	網状赤血球数
T.Bil	総ビリルビン
TP	総タンパク質
TSH	甲状腺刺激ホルモン
WBC	白血球数

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 14th Edition, 2006
3. FAO/ WHO: 1969 EVALUATIONS OF SOME PESTICIDE RESIDUES IN FOOD, THE MONOGRAPHS Issued jointly by FAO and WHO, ETHOXYQUIN
4. EPA: Reregistration Eligibility Decision (RED) for Ethoxyquin, CASE 0003, 2004
5. Jmpr: ETHOXYQUIN 159-177, 1998.
6. 厚生労働省, 食品健康影響評価に係る資料（飼料添加物エトキシキンの概要）
7. (社) 日本科学飼料協会、エトキシキンの牛への移行調査 報告書
8. Jmpr: ETHOXYQUIN (addendum) 241-253, 2005.
9. 飼料添加物エトキシキンの安全性に関する資料
10. EFSA : Draft Assessment Report(DAR)-public version-,Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State Germany for the existing active substance ETHOXYQUIN of the fourth stage of the review programme referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC,Volume3,Annex B,part 2/B,B.6,April 2008
11. EFSA : Draft Assessment Report(DAR)-public version-,Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State Germany for the existing active substance ETHOXYQUIN of the fourth stage of the review programme referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC,Volume3,Annex B,part 2/A,B.6,April 2008
12. EFSA : CONCLUSION ON PESTICIDE PEER REVIEW, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance ethoxyquin, EFSA Journal 2010;8(9):1710