

肥料・飼料等専門調査会及び農薬専門調査会における 審議結果について

1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたエトキシキン（平成 24 年 9 月 5 日付 厚生労働省発食安 0905 第 1 号）については、平成 25 年 7 月 17 日に開催された第 73 回肥料・飼料等専門調査会及び平成 25 年 8 月 21 日に開催された第 96 回農薬専門調査会幹事会において審議結果（案）がとりまとめられた。

審議結果（案）については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. エトキシキンに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成 25 年 9 月 2 日（月）開催の食品安全委員会（第 487 回会合）の翌日、平成 25 年 9 月 3 日（火）から平成 25 年 10 月 2 日（水）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、肥料・飼料等専門調査会及び農薬専門調査会幹事会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

飼料添加物・農薬評価書

エトキシキン

2013年9月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

食品安全委員会農薬専門調査会

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
○ 第73回 肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿	5
○ 要約	6
I. 評価対象農薬・飼料添加物の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況	7
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態試験	8
(1) 薬物動態試験（マウス及びラット）	8
(2) 薬物動態試験（ラット）	10
(3) 薬物動態試験（鶏）	10
(4) 代謝試験（マウス及びラット）	10
(5) 代謝試験（イヌ）	12
(6) 植物体内運命試験（なし）[1994年]	12
(7) 土壌運命試験	13
(8) 水中運命試験	13
2. 残留試験	13
(1) 残留試験（牛及び乳汁）	13
(2) 残留試験（牛）	14
(3) 残留試験（豚①）	14
(4) 残留試験（豚②）	15
(5) 残留試験（鶏）	16
(6) 残留試験（鶏卵）	17
(7) 残留試験（牛、豚、羊）	18
(8) 残留試験（魚介類）	18
(9) 土壌残留試験	21

(10) 作物残留試験	21
3. 遺伝毒性試験	21
(1) 遺伝毒性試験 (エトキシキン)	21
(2) エトキシキンの遺伝毒性	23
(3) 遺伝毒性試験 (エトキシキンの植物における 3 種類の代謝物/分解産物)	24
4. 急性毒性試験	25
(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)	25
(2) 急性毒性試験 (イヌ)	26
(3) 急性毒性試験 (イヌ、代謝物)〈参考データ〉	27
5. 亜急性毒性試験	28
(1) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット、強制経口投与)	28
(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、強制経口投与)	29
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)	30
(4) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)	31
(5) 28 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)〈参考データ〉	31
(6) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)	32
(7) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与①)〈参考データ〉	33
(8) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与②)〈参考データ〉	33
6. 慢性毒性及び発がん性試験	34
(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〉	34
(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〉	34
(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)	35
(4) 30 か月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)	36
(5) 5 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (イヌ、混餌投与)	37
(6) 33 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	37
(7) 24 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	38
(8) 32 週間膀胱二段階発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	38
(9) 22 週間膀胱二段階発がん性試験 (ラット、混餌投与)〈参考データ〉	38
(10) エトキシキンの発がん性	38
7. 生殖発生毒性試験	39
(1) 多世代生殖毒性試験 (ラット①、混餌投与)	39
(2) 多世代生殖毒性試験 (ラット②、混餌投与)	39
(3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット、経口投与)	40
(4) 2 世代生殖毒性試験 (イヌ、混餌投与)	40
(5) 発生毒性試験 (ラット①、強制経口投与)	42
(6) 発生毒性試験 (ラット②、強制経口投与)	43
(7) 発生毒性試験 (ラット③、強制経口投与)	43
(8) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与)	44
8. 対象動物を用いた安全性試験	45

(1) 鶏	45
(2) 豚	45
(3) 牛	45
(4) 魚類	45
9. 一般薬理試験	46
(1) 体温	46
(2) 脳波及び瞳孔	46
(3) 血圧、心拍及び呼吸	46
10. その他の試験	47
(1) 腎毒性 (ラット)	47
(2) 神経毒性	47
(3) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	48
(4) 皮膚刺激性試験 (ウサギ及びモルモット)	48
(5) 眼刺激性試験 (ウサギ)	48
(6) 皮膚感作性試験 (モルモット)	48
11. ヒトに関する知見	48
III. 食品健康影響評価	49
1. 国際機関等における評価について	49
(1) JMPR における評価	49
(2) EPA における評価	49
(3) EFSA における評価	49
2. 食品健康影響評価について	50
・表 13 JMPR における各種試験の無毒性量等	52
・別紙 1 : 検査値等略称	53
・別紙 2 : 作物残留試験成績	55
・参照	57

〈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
2013年 7月 17日 第73回肥料・飼料等専門調査会
2013年 8月 21日 第96回農薬専門調査会幹事会
2013年 9月 2日 第487回食品安全委員会（報告）

〈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 冽子
村田 容常

〈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

〈第73回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

太田 敏博 能美 健彦
鰐淵 英機

〈食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿〉

(2012年4月1日から)

・幹事会

納屋聖人 (座長)	三枝順三	松本清司
西川秋佳 (座長代理)	永田 清	吉田 緑
赤池昭紀	長野嘉介	
上路雅子	本間正充	

・評価第一部会

上路雅子 (座長)	津田修治	山崎浩史
赤池昭紀 (座長代理)	福井義浩	義澤克彦
相磯成敏	堀本政夫	若栗 忍

・評価第二部会

吉田 緑 (座長)	桑形麻樹子	藤本成明
松本清司 (座長代理)	腰岡政二	細川正清
泉 啓介	根岸友恵	本間正充

・評価第三部会

三枝順三 (座長)	小野 敦	永田 清
納屋聖人 (座長代理)	佐々木有	八田稔久
浅野 哲	田村廣人	増村健一

・評価第四部会

西川秋佳 (座長)	代田眞理子	森田 健
長野嘉介 (座長代理)	玉井郁巳	山手丈至
川口博明	根本信雄	與語靖洋

〈第96回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿〉

小澤正吾	林 真
------	-----

要 約

抗酸化剤及び植物成長調整剤である「エトキシキン」(CAS No. 91-53-2) について、JMPR の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態(マウス、ラット、イヌ及び鶏)、植物体内運命(なし)、残留(牛、豚、鶏、羊及び魚介類)、遺伝毒性、急性毒性(マウス、ラット及びイヌ)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性(ラット及びイヌ)、生殖発生毒性(ラット、ウサギ及びイヌ)等の試験成績である。

エトキシキンの遺伝毒性試験では、*in vitro* の復帰突然変異試験は全て陰性であったが、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスリンフォーマ TK 試験においては陽性であった。*in vivo* 試験では、幼若ラットの肝臓を用いた小核試験において弱い陽性を示したが、マウス骨髄を用いた小核試験及びラット肝臓を用いた不定期 DNA 合成試験では陰性であった。これらの結果から、エトキシキン(又はその代謝物)は、染色体異常を誘発するが、DNA に直接損傷を与えて遺伝子突然変異を生じさせる可能性は極めて低く、染色体異常誘発は、タンパク質への作用を介した間接的な要因によると考えられた。

エトキシキンは、ラットを用いた 30 か月間慢性毒性/発がん性併合試験の雌において膀胱への発がん性が示唆され、ラットを用いた膀胱二段階発がん性試験において、エトキシキンのみを投与した群で、膀胱に単純過形成及び乳頭状・結節性過形成が認められた。

しかしながら、これらの膀胱への作用はイニシエーション作用によるものではなくプロモーション作用によるものであり、その作用には閾値が存在するものと考えられ、また、過酸化促進作用を持つ代謝物の持続的刺激によってその作用が促進されている可能性も考えられることから、エトキシキンは、遺伝毒性により発がん性を示す物質とは考えられず、閾値の設定は可能であり、一日摂取許容量(ADI)の設定は可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物中における暴露評価対象物質をエトキシキン(親化合物のみ)と設定した。

各種毒性試験から得られた最小の無毒性量(NOEL)は、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験における 2 mg/kg 体重/日であったが、ADI の根拠としては、より新しく、かつ長期間の投与試験であるイヌを用いた 2 世代生殖毒性試験で得られた最小毒性量(LOEL) 2.5 mg/kg 体重/日を採用することが適切であると判断し、この LOEL に安全係数として 300(種差 10、個体差 10 及び LOEL を用いることによる追加の 3)を適用し、エトキシキンの ADI を 0.0083 mg/kg 体重/日と設定することが適切であると考えられた。

I. 評価対象飼料添加物・農薬の概要

1. 用途

抗酸化剤（飼料添加物）

植物成長調整剤（農薬）

2. 有効成分の一般名

和名：エトキシキン

英名：ethoxyquin

3. 化学名

IUPAC

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

CAS (No. 91-53-2)

英名：6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline

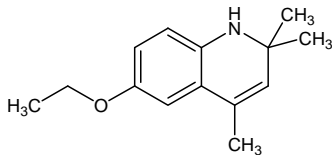
4. 分子式



5. 分子量

217.31

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況

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される。

エトキシキンは、海外で抗酸化剤として広く使用されている。

香辛料、魚粉、家畜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 の酸化防止剤として、チリパウダー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剤及びゴムの安定剤や抗劣化剤として使用される。

日本では、抗酸化剤の飼料添加物として指定されている。
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。
(参照 3、4)

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。(参照 1)
また、今回、甲殻類への基準値設定のための評価要請がされている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JMPR の評価書等を基に、エトキシキンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称は別紙 1 に記載した。

1. 薬物動態試験

各種動態試験 [II. 1] は、エトキシキンのキノリン環ピリジン部の 2,4 位の炭素を ¹³C で標識したもの (以下「[2,4-¹³C]エトキシキン」という。)、ピリジン部の 2,4 位の炭素を ¹⁴C で標識したもの (以下「[2,4-¹⁴C]エトキシキン」という。)、ピリジン部の 3 位の炭素を ¹⁴C で標識したもの (以下「[3-¹⁴C]エトキシキン」という。)、ベンゼン部を ¹⁴C で均一に標識したもの (以下「[phe-¹⁴C]エトキシキン」という。) 及び ¹⁴C で標識 (標識位置不明) されたエトキシキン (以下「¹⁴C-エトキシキン」という。) を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合は比放射能 (質量放射能) からエトキシキンに換算した値 (mg/kg 又は µg/g) を示した。

(1) 薬物動態試験 (マウス及びラット)

ラット (Fischer 344 系、約 8 週齢、雄 3 匹/群) 及びマウス (B6C3F₁、約 8 週齢、雄 3 匹/群) に、[3-¹⁴C]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 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れた。放射活性は 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 で測定した。

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 時間以内に血中及び組織中最高濃度に達した。2.5 及び 25 mg/kg 体重で経口投与した際には 24 時間以内に 85 %以上が排泄され、尿中への排泄は糞中への排泄よりも大きく、投与量の 41 ~64 %であった (表 1)。

ラットでは、わずかな差ではあるが、高用量投与の排泄が低用量投与の場合よりも遅延した。これは、胃内容物排出速度の遅延に伴い、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。

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計算されなかった。血液中の放射活性の約 60 %は血漿中に存在し、8 %は沈殿した血漿タンパク質に関

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

わるものであった。ラットにおいて、25 mg/kg 体重/日反復投与及びより少ない程度ではあるが 250 mg/kg 体重/日投与で、生体内蓄積があるとのいくつかの結果（データ未公表）が示されたが、筋肉には蓄積は認められなかった。

静脈内投与後、肝臓と腎臓では 0.25 時間後に最高濃度に達したが、マウスの脂肪組織では投与 2 時間後に最高濃度となった（表 2）。静脈内投与では 23 %（ラット）及び 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、18）

表 1 [3-¹⁴C]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 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	25 (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

各群 3~6 匹の平均値

表 2 [3-¹⁴C]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

各群 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)

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、[2,4-¹⁴C]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 ¹⁴C 標識 CO₂ 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)

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 ¹⁴C の約 1 %が ¹⁴C 標識 CO₂ として呼気中に排出されるのに対し、鶏では 0.2 %であった。(参照 3)

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 (詳細不明) 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 例の乳汁中には 0.12 及び 0.19 ppm の標識エトキシキンが認められた。(参照 3)

(3) 薬物動態試験 (鶏)

鶏への ¹⁴C-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。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、組織中残留の 79~90 %が消失した。排泄された物質は、15 %が未変化体のエトキシキンで、残りは N-グルクロニド及び N-アセチル誘導体と考えられた。(参照 3)

(4) 代謝試験 (マウス及びラット)

上記 (1) 薬物動態試験において[3-¹⁴C]エトキシキンを投与 (経口 ; 2.5(ラットのみ)、25 又は 250 mg/kg 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、¹H-核磁気共鳴分光法及び質量分析法を用いて検討した。

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 H)、又は 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ったことである。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、経口投与と静脈内投与とで有意な差がみられなかった。

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 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 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 G 及び E の割合が低かった。これは、硫酸化が飽和したか、又はグルクロン酸抱合化が誘導されたことを示している。

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果と対照的であるとされ、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反応スキームが提示された (図 1)。 (参照 5、19)

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 ^a	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

^a 構造式は図 1 参照

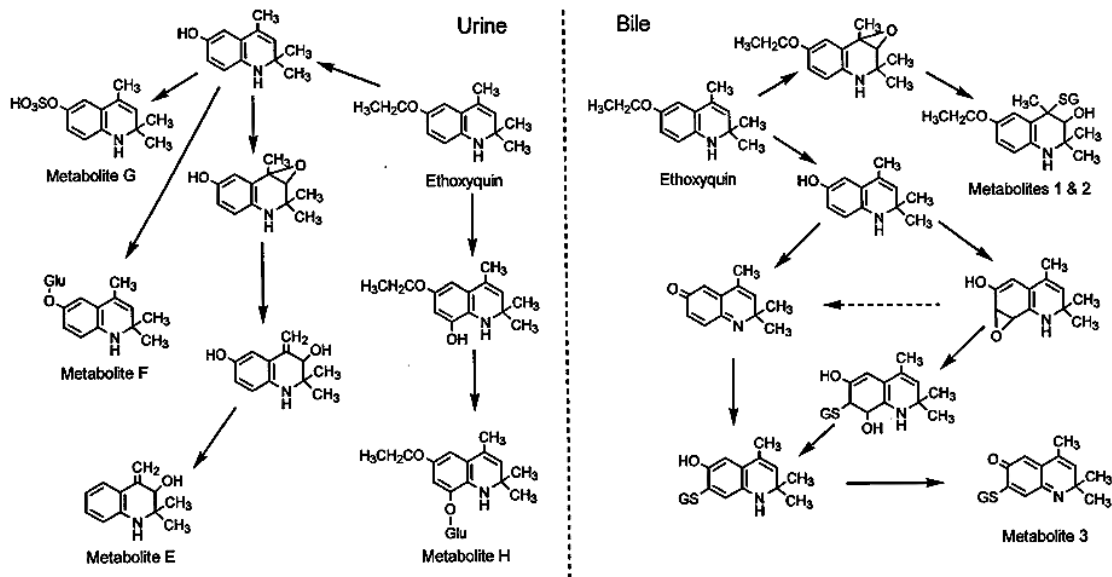


図1 ラットにおけるエトキシキンの推定代謝経路

G:glutathione、Glu:glucuronide

(5) 代謝試験 (イヌ)

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。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）

(6) 植物体内運命試験 (なし)

摘採後のなし（品種：安城、144 個）を[$\text{phe-}^{14}\text{C}$]エトキシキン及び[$2,4\text{-}^{13}\text{C}$]エトキシキンの混合水溶液（20 mg/mL、最大慣行使用量の約 7.5 倍）に 30 秒間浸漬後、風乾し、 $-2 \pm 2.0^\circ\text{C}$ 及び相対湿度 95%以上の換気条件下、最大 33 週間保存して、植物体内運命試験が実施された。

表面洗浄液、全果実、果肉及び果皮中の放射能の経時的分布は表 4 に示されている。

放射能の果肉中への移行量は処理 0 日後の 1.53%TRR から 24 週後には 49.0%TRR に、果皮では処理 0 日後の 14.3%TRR から 24 週後には 40.5%TRR に増加し、果実表面から果肉及び果皮への移行性が示唆された。

処理 33 週後の全果実中に、未変化のエトキシキンは 0.49%TRR (0.085 mg/kg) 認められた。代謝物として、C-N 結合又は N-N 結合による 2 量体が合計で約 40%TRR 認められ、ほかにジヒドロエトキシキン（以下「DHEQ」という。）、メチルエトキシキン（以下「MEQ」という。）及びデヒドロデメチルエトキシキン（以下「DHMEQ」という。）が合計で 7%TRR (1.2 mg/kg) 認められた。（参照 26、27）

表 4 表面洗淨液、全果実、果肉及び果皮中の放射能の経時的分布

処理後 日数	全果実			果肉及び果皮				
	洗淨液 %TRR	洗淨後全果実 %TRR	mg/kg	洗淨液 %TRR	洗淨後果肉		洗淨後果皮	
					%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
0 日後	85.6	14.4	21.3	84.2	1.53	0.370	14.3	19.7
2 日後	61.2	38.8	19.5	65.4	7.25	2.33	27.3	45.3
7 日後	50.5	49.5	24.0	52.1	15.7	4.67	32.2	51.1
14 日後	50.0	50.0	24.4	54.1	19.4	4.52	26.6	34.7
28 日後	40.7	59.3	26.4	37.3	30.1	8.92	32.6	51.8
6 週後	26.4	73.6	26.7	35.7	33.8	8.45	30.5	41.0
8 週後	19.4	80.6	19.9	26.9	36.7	9.01	36.4	46.7
10 週後	15.8	84.2	23.2	16.7	37.3	11.4	46.0	73.3
12 週後	14.9	85.1	20.9	20.8	45.5	11.0	33.8	44.1
16 週後	11.1	88.9	18.8	15.8	40.6	9.72	43.6	55.4
20 週後	20.7	79.3	16.1	18.1	45.2	12.6	36.7	54.9
24 週後	12.5	87.5	25.9	10.5	49.0	14.3	40.5	60.4
28 週後	14.5	85.5	21.4	16.8	44.1	13.7	39.1	71.3
33 週後	8.22	91.8	17.2	12.6	37.2	9.42	50.2	75.5

(7) 土壌運命試験

参照した資料に記載がなかった。

(8) 水中運命試験

①加水分解試験

pH5、pH7 及び pH9 の各種滅菌緩衝液に[phe-¹⁴C]エトキシキン を 0.01 mg/mL となるように添加した後、25°C、暗所下でインキュベートして加水分解試験が実施された。

エトキシキンはいずれの pH においても速やかに加水分解を受け、半減期は、pH5、pH7 及び pH9 でそれぞれ 3.7、6.7 及び 9.3 日であった。

有機可溶性画分における主要成分としてエトキシキンが検出された。ほかに 4 種類の主要分解物（合計 10% TAR 超）及び 3 種類の少量分解物（合計 5% TAR 未満）が検出された。分解物は、メチル化、脱メチル化及び脱エチル化の反応並びにキノリン及びエトキシキン 2 量体の反応により生成したと考えられた。（参照 25、28）

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛及び乳汁）

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 又は 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 日後以降では全例 (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、脂肪からは全例 (0.04～0.05 mg/kg) で検出された。150 ppm 投与群では、肝臓、腎臓及び筋肉のそれぞれ 1 例 (0.01 mg/kg) から検出され、脂肪からは全例 (0.11～0.18 mg/kg) で検出された。500 ppm 投与群では、筋肉の 2 例 (0.01～0.03 mg/kg) 並びに肝臓、腎臓及び脂肪の全例から、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)

(2) 残留試験 (牛)

子牛 (去勢雄 : 2～8 頭/群、未経産雌 : 12 頭) を用いた 2～8 か月間混餌投与試験 (雄 : 0、150、300 又は 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脂肪組織以外の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 投与群並びに未経産雌 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、それぞれ 5.15 及び 10.75 mg/kg のエトキシキンが検出された。(参照 6)

(3) 残留試験 (豚①)

子豚 (交雑種(LW)、雄 6 頭/群) を用いたエトキシキンの 6 か月間混餌投与 (10 又は 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 5 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)

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	0.02	<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
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
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	

2 施設の分析値をそれぞれ上下 2 段に記載した。

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

(4) 残留試験 (豚②)

子豚 (交雑種(LWH)、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 又は 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 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 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。

結果を表 6 に示した。

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 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 以上投与群の小腸及び 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)

表 6 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

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

(5) 残留試験 (鶏)

肉用鶏 (ハバード、5 週齢、雌雄各 14 羽/群) を用いたエトキシキンの 4 週間混餌投与 (10、25、55、75 又は 150 ppm) 試験が実施された。投与開始 14 日後並びに最終投与 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 (雌雄無差別) を測定した。

結果を表 7 に示した。

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 1 日後の脂肪 (それぞれ 0.08 及び 0.04 ppm) に残留が認められた。25 ppm 投与群では中間時の肝臓、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 投与群は、ほぼ同様の残留傾向で、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 日後以降は検出限

界未満であった。150 ppm 投与群では、肝臓及び腎臓で最終投与 1 日後、筋肉で最終投与 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）

表 7 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

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

(6) 残留試験（鶏卵）

採卵鶏（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、30、60 又は 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、採卵し、鶏卵中の残留を調べた。

結果を表 8 に示した。

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 及び 0.09～0.12 ppm）。（参照 6）

表 8 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 (牛、豚及び羊)

牛、豚及び羊 (離乳後 1 か月以内、各 2 頭) に ^{14}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)

(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 又は 450 ppm) 試験を実施し、投与開始時、中間時、最終投与 24、48 及び 72 時間後並びに 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。

あゆにエトキシキンを混餌投与 (0、200、400、800 又は 1,600 ppm) し、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、検出限界: 0.05 mg/kg)。

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 (0.11~0.26 mg/kg)。 (参照 6)

②くるまえびの混餌投与試験

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又は450 ppm）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）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6～24時間後: 15尾/検体、定量限界: 0.01 mg/kg）。

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 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なった。

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 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。（参照6）

③こいの混餌投与試験

こい（1年魚）を用いたエトキシキンの76日間混餌投与（150又は450 ppm）試験が実施され、投与開始時、中間時（投与開始43日後）、最終投与24、48及び72時間後並びに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）。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 投与群: 中間時 0.14、最終投与48時間後 0.20、450 ppm 投与群: 中間時 2.1、最終投与24時間後 0.19、48時間後 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、両投与群のいずれの時点においても検出されなかった。

こい（1年魚）にエトキシキンを混餌投与（0、200、400、800又は1,600 ppm）し、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、検出限界: 0.05 mg/kg）。

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、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。（参照6）

④うなぎの混餌投与試験

うなぎを用いたエトキシキンの2か月間混餌投与（150又は450 ppm）試験が実施され、投与開始時、中間時（投与開始30日後）、最終投与24、48及び72時間後並びに7日後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 mg/kg）。

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。

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日後では検出されなかった。

（*別の検査機関のクロスチェック値）（参照6）

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又は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、投与開始24日後より対照群飼料に切り替え、59日後から3日間再度試験飼料を給餌し投与試験を終了した。投与開始時、投与終了時並びに最終投与1、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濃度を測定し残留を調べた（検出限界: 0.05 mg/kg）。

150 ppm 投与群では、投与終了時の内臓で検出 (0.40 mg/kg) され、最終投与 1 週間後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った。

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。最終投与 1 週間後以降は、筋肉及び内臓のいずれからも検出されなかった。(参照 6)

⑤にじますの混餌投与試験

にじますを用いたエトキシキンの 2 か月間混餌投与 (150 又は 450 ppm) 試験が実施され、投与開始時、中間時 (投与開始 30 日後)、最終投与 24、48 及び 72 時間後並びに 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 mg/kg)。

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: 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った。

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 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 日後では検出されなかった。

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。

にじますにエトキシキンを混餌投与 (0、200、400、800 又は 1,600 ppm、0、14、28、56 又は 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ン濃度が測定された (10 尾以上/検体、検出限界: 0.05 mg/kg)。

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 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 及び 11 mg/kg であった。(参照 6)

にじますを用いたエトキシキンの 16 週間混餌投与 (150 又は 750 ppm) 試験が実施され、投与開始時、中間時 (投与開始 60 日後)、最終投与 24 時間後並びに 1、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、検出限界: 0.05 mg/kg)。

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 mg/kg) されたが、その他の時点では検出されなかった。

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 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。

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。

にじますにエトキシキンを 7 日間混餌投与 (0、200、800、3,200 又は 12,800 ppm、実際の摂取量: 0、15.56、62.22、133.33 又は 258.33 mg/kg) 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 (10 尾以上/検体、検出限界: 0.05 mg/kg)。

筋肉では、全ての群でエトキシキンは検出されなかった。(参照 6)

⑥まだいの混餌投与試験

まだい（0年魚）を用いたエトキシキンの60日間混餌投与（150又は450 ppm）試験が実施され、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）。

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 mg/kg）されたが、48時間後以降は検出されなかった。

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：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、7日後では検出されなかった。

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。

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又は1,600 ppm）し、最終投与24時間後の筋肉及び内臓中のエトキシキンを測定された（20尾以上/検体、検出限界: 0.01 mg/kg）。

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）

（9）土壌残留試験

参照した資料に記載がなかった。

（10）作物残留試験

摘採後のなしを用いて、エトキシキンを分析対象とした作物残留試験が実施された。結果は別紙2に示されている。

エトキシキンの最大残留値は、散布0日後の2.54 mg/kgであった。（参照26、29）

3. 遺伝毒性試験

（1）遺伝毒性試験（エトキシキン）

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9に示した。（参照5、8、10、11）

表 9 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	<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 (±S9)	陰性
		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/plate (±S9)	陰性
	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> H17 rec ⁺ 及び M45 rec ⁻	~1 mg/disk	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンフォーマ細胞	5~25 µg/mL (-S9) 1.3~4.4 µg/mL (+S9)	陽性 ^a
	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 (±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	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
		SD (CD) ラット (雄 6 匹/群) 肝細胞	50、100、200、400、800 mg/kg 体重 24 時間間隔で 2 回経口投与	陽性 ^b
	不定期 DNA 合成試験	SD (CD) ラット (雄) 肝細胞	0~750 mg/kg 体重 14 時間間隔で 2 回経口投与	陰性

a : 遺伝子突然変異ではなく染色体切断誘発性がみられた。

b : 400 及び 800 mg/kg 体重投与群で、小核を有する肝細胞数 (MNHEPs) の有意な増加がみられた。
(MNHEPs : 400mg/kg 体重投与群 ; 19 個、800 mg/kg 体重投与群 ; 33 個、陽性対照群 ; 132 個)

エトキシキンを用いた *in vitro* の復帰突然変異試験及び DNA 修復試験の結果はいずれも陰性であったが、マウスリンフォーマ TK 試験で染色体切断誘発性の陽性結果が得られてお

り、CHO 細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の結果においても陽性であった。一方、*in vivo* 試験では、幼若ラットの肝臓を用いた小核試験において、400 mg/kg 体重以上投与群で、小核を有する肝細胞数の有意な増加がみられ陽性の結果が得られたが、マウス骨髄を用いた小核試験は陰性であり、不定期 DNA 合成試験も陰性であった。

(2) エトキシキンの遺伝毒性

エトキシキンの遺伝毒性試験では、CHO 細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陽性であった。CHO 細胞では構造的異常のほか、倍数性細胞や核内倍加の顕著な増加が認められ、代謝活性化の条件下でより強く現れている。またマウスリンフォーマ TK 試験においても、チミジンキナーゼ欠損 (tk-) 細胞の出現頻度に、代謝活性化の有無にかかわらず有意な増加が認められ、さらに tk-細胞のコロニーサイズの解析からは、遺伝子突然変異ではなく染色体異常が誘発されたことを示す結果が報告されている。

染色体異常誘発を指標にした *in vivo* 試験では、幼若ラットの肝臓を用いた小核試験において、400、800 mg/kg 体重 (2 回投与) 投与群で、小核を有する肝細胞数の有意な増加がみられた。一方、1,500 mg/kg 体重 (1 回投与) の用量まで試験されたマウス骨髄を用いた小核試験では陰性であった。エトキシキンは脂溶性が高く (log Po/w 3.39、pH7)、血漿中濃度測定結果からも全身暴露が確認されていることから、マウス骨髄細胞を用いた小核試験における用量を考慮すると、その結果が陰性であったことには十分な意義があると考えられる。骨髄細胞において陰性、肝細胞において弱い陽性の結果が得られた要因として、染色体異常誘発にはエトキシキン (又はその代謝物) が高濃度で存在することが必須であることが考えられる。

エトキシキンの遺伝毒性を判断する上で、*in vivo* 試験であるラット肝臓を用いた不定期 DNA 合成試験が陰性であったことは重要な意味を持つと考えられる。これは DNA 損傷の修復活性を検出する試験であるが、750 mg/kg 体重、2 回投与でも肝細胞には DNA 損傷が検出されなかった。つまり、エトキシキン (又はその代謝物) は、ラット肝臓において DNA と直接反応して付加体を形成するのではなく、間接的な作用で染色体異常を誘発すると考えられる。間接的な作用とは、タンパク質を介した作用で、例えばトポイソメラーゼ酵素に作用して DNA 複製を阻害、あるいは紡錘体タンパクに作用して染色体配分機構を阻害することで染色体異常を誘発するメカニズムがよく知られている。このタイプのメカニズムによる染色体異常誘発はまれなケースであるが、DNA と直接反応して付加体を形成することで引き起こされる染色体異常とは異なり、細胞毒性と同じく、タンパク機能の阻害はある用量以下では生じないため、基本的に無毒性量が存在する。すなわち、DNA に付加体を形成するタイプの遺伝毒性物質について明確に閾値を設定することは困難であるが、タンパク質を標的としたメカニズムによる遺伝毒性物質には閾値は存在する。

エトキシキン (又はその代謝物) には DNA と直接反応して付加体を形成する作用がみられないことは、細菌を用いた復帰突然変異試験が全て陰性であったことから支持される。現在得られている知見からは、エトキシキン (又はその代謝物) が DNA に直接損傷を与えて遺伝子突然変異を生ずる可能性は極めて低く、検出された染色体異常誘発は、タンパク質への作用を介しての間接的な要因によると思われる。

(3) 遺伝毒性試験（エトキシキンの植物における3種類の代謝物/分解産物）

エトキシキンの植物における3種類の代謝物/分解産物（MEQ、DHEQ及びDHMEQ）の遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表10に示した。（参照8）

表10 MEQ、DHEQ及びDHMEQの遺伝毒性試験結果

(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 (±S9)	陰性
		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/plate (±S9)	陰性
	染色体異常試験	CHO 細胞	5.43~800 µg/mL (±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

(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 (±S9)	陰性
		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	33.3~5,000 µg/plate (±S9)	陰性
	染色体異常試験	CHO 細胞	6.78~1,000 µg/mL (±S9)	陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス (雄6匹/群) 骨髓細胞	250、500、1,000 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性

(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 (±S9)	陰性
		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	10.0~3,330 µg/plate (±S9)	陰性
	染色体異常試験	CHO 細胞	5.43~800 µg/mL (±S9)	陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス (雄 6 匹/群) 骨髓細胞	500、1,000、2,000 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性

エトキシキンの植物における代謝物/分解産物である MEQ、DHEQ 及び DHMEQ についても、*in vitro* 復帰突然変異試験の結果は陰性で、*in vitro* 染色体異常試験では陽性であったが、*in vivo* 小核試験の結果は陰性であった。(参照 8)

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

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 11 に示した。(参照 5、6)

表 11 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 ₅₀ 又は LC ₅₀ (mg/kg 体重又は mg/L 空気)
マウス	経口	雄 : 1,693 (1,476~1,951)
		雌 : 1,775 (1,590~1,981)
	腹腔内	680
	腹腔内	~900
	静脈内	~180
ラット	経口	雄 : 1,393 (1,197~1,620)
		雌 : 1,238 (1,062~1,445)
	経口	1,700
	静脈内	178
	経皮 (24 時間)	>2,000
	吸入 (全身)	>2.0

() 内の数値は、信頼限界 (mg/kg)

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す変化がみられた。(参照 5)

エトキシキンは、過去に、ラットの経口(LD₅₀: 1,700 mg/kg 体重)、経皮(LD₅₀: 2,000 mg/kg 体重以上)及び吸入(LC₅₀: 2 mg/L 以上)試験で急性毒性が低いことが報告されている。(参照 8)

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、肺の充血等がみられた。(参照 6)

(2) 急性毒性試験 (イヌ)

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 又は 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 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。

結果を表 12 に示した。

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。

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 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 が全投与群の雌雄で高く、BUN が全投与群の雌で低かった。病理組織学的所見で腎疾患の徴候が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考えられた。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 日後の全投与群で尿中 Bil 及び褐色尿の検出頻度が上昇した。

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ごくわずかに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的所見によるものと考えられた。また、200 mg/kg 体重投与群の全動物で、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、肝内血管における白血球の増加及び肝細胞の細胞質における泡沫状~網状変化がみられた。

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 及び 200 mg/kg 体重投与群の雌でごくわずかな胆汁うっ滞が認められた。

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、ごくわずか～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。(参照 8)

(3) 急性毒性試験 (イヌ、代謝物) (参考データ)

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ことが示されたため、イヌが使用された。

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、DHEQ 及び DHMEQ) をそれぞれ単回経口投与 (50、100 又は 200 mg/kg 体重、カプセル) 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 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 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。

結果を、表 12 に示した。

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 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、毒性の高い方から順番に MEQ、エトキシキン、DHEQ、DHMEQ であった。

50 mg/kg 体重投与群にみられた影響は、ごくわずかから軽度なものであり、毒性学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)

表 12 イヌにおけるエトキシキン、MEQ、DHEQ 及び DHMEQ の経口投与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"> ・剖検時まで全動物生存 ・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし ・眼検査、剖検で影響なし ・臓器重量に影響なし ・病理組織学的検査では、肝臓でごく軽度～軽度の胆汁うっ滞 (全投与群の雌雄) ・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 ・尿中 Bil 上昇及び褐色尿 (投与 1 日後の全投与群の雌雄) ・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響はごくわずか～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。)

MEQ	<ul style="list-style-type: none"> ・剖検時まで全動物生存 ・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし ・眼検査、剖検で影響なし ・臓器重量に影響なし ・病理組織学的検査では、肝臓でごく軽度～軽度の胆汁色素の蓄積（全投与群の雌雄） ・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与 4 時間後の雌 1～2 匹） ・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 ・尿中 Bil 上昇及び褐色尿（全投与群の雌雄） ・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響はごくわずか～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。）
DHEQ	<ul style="list-style-type: none"> ・剖検時まで全動物生存 ・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 ・眼検査、剖検、病理組織学的検査で影響なし ・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与 4 時間後の雌雄） ・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） ・尿中 Bil 上昇及び褐色尿（全投与群の雌雄） ・50 mg 投与群では血清生化学パラメータへの影響はごくわずか～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。）
DHMEQ	<ul style="list-style-type: none"> ・剖検時まで全動物生存 ・体重、摂餌量、血液学的パラメータに影響なし ・眼検査、剖検、病理組織学的検査で影響なし ・嘔吐（100 及び 200 mg/kg 体重投与群の雌雄） ・目やに（200 mg/kg 体重投与群の雄（5/6 例）） ・褐色尿（全投与群の雌雄） <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>

5. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）

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 日間強制経口投与（0、50、250、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日）試験が実施された。病理組織学的検査は、50、250 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の肝臓、肺、腎臓、胃及び肉眼的病変部について実施した。

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 日後までに死亡した。2 例の死因は、前胃部の壊死及び潰瘍と考えられた。

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率が増加した。

体重については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与開始初期に 50 % の増加抑制がみられた。

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

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 γ -GTP 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度が高かった。

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/日以下の投与群では、肉眼的病変は認められなかった。

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/日投与群の雌雄で、腎臓病変 (間質細胞浸潤、尿細管上皮の再生及び尿細管拡張) が認められた。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肥大の発生頻度が上昇した。

(参照 5)

本試験における NOAEL は設定されなかった。

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、強制経口投与)

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: コーンオイル) を 13 週間強制経口投与 (0、20、40、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、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。投与前と投与 12 週間後に眼検査を実施した。全動物について全身の剖検を行い、肺、肝臓、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群については 30 以上の組織について検査を行った。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態では、種々の組織部位 (特に会陰部) の着色、流涎及び褐色尿が 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。

眼検査では、投与による影響は認められなかった。

体重増加量については、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、40 mg/kg 体重/日投与群では、減少は軽度 (10 %) であった。摂餌量は、投与群と対照群でほぼ同じであった。

血液学的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、T.Bil、BUN、 γ -GTP、Chol 及び TSH の増加並びに RBC、WBC、プロトロンビン時間 (PT) 及び Glu の減少) 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。

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。

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、腎臓については、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雄雌で 4～20%まで増加した。脳及び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。

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、腎乳頭壊死及び細胞質空胞化の発生頻度が増加し、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の雌では石灰化、腎乳頭壊死及び腎症の頻度が増加した。腎症の頻度は、200 mg/kg 体重/日投与群の雌においても増加した。

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、精巣上体の化膿性炎症、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上昇し、同投与群の雌では、食道炎及び胸腺の上皮性細胞過形成の頻度が増加した。（参照 5）

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。

(3) 13 週間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）

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（0、2,000、3,500、6,000 又は 10,000 ppm）試験が実施された。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

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色調が暗褐色化した。

体重は、2,000 ppm 投与群の雄では投与開始 2 週間後から、雌では投与開始 1 週間後から、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開始 1 週間後から減少し、10,000 ppm 投与群では顕著な減少であった。

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。

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、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 WBC の減少がみられたが、雄では認められなかった。

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 が増加した。また、高用量群では、BUN の増加並びに Alb 及び TP の減少が認められた。

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 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。

剖検では、6,000 及び 10,000 ppm 投与群のほぼ全例で甲状腺の黒赤色化がみられた。

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。

病理組織学的検査では、甲状腺におけるろ胞上皮過形成（コロイド減少）（2,000～10,000 ppm 投与群の雄：4～10 例、雌：3～10 例）、肝細胞の肥大（6,000～10,000 ppm 投与群の雄：3～10 例、雌：7～10 例）及び脂肪変性（10,000 ppm 投与群の雄：8 例、雌：7 例）、骨髄の低形成（6,000～10,000 ppm 投与群の雄：3 例、雌：3～7 例）、脾臓のうっ血（6,000

～10,000 ppm 投与群の雄：3～6 例、2,000～10,000 ppm 投与群の雌：9～10 例) 及びヘモジデリン沈着 (6,000 ppm 投与群の雄：3 例、2,000～10,000 ppm 投与群の雌：5～9 例)、腎臓の尿細管拡張 (6,000～10,000 ppm 投与群の雄：4～5 例、雌：2～3 例) 等が認められた。(参照 6、9)

最小用量の 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、本試験における NOAEL は設定できなかった。

(4) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)

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 (150、300、600 又は 1,200 ppm) 試験が実施された。

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かった。

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。

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、全投与群の雌で PLT の減少並びに 1,200 ppm 投与群の雄で Ht 及び Hb の減少がみられたが、いずれも軽度で正常範囲の変動であった。

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、雌で A/G 比の低下及び TP の増加並びに 300 及び 600 ppm 投与で LDH の増加がみられたが、いずれも軽度で正常範囲の変動であった。

尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

臓器の絶対重量では、600 及び 1,200 ppm 投与群の雄の腎臓並びに 1,200 ppm 投与群の雌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。

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、9)

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、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 : 雄 72.7 mg/kg 体重/日相当から計算) と考えられた。

(5) 28 日間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与) (参考データ)

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、25、50、100 又は 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れた。

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。

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記載する。

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、歯茎の蒼白等であった。

体重増加抑制及び摂餌量の減少は、全投与群でみられた。

肝機能障害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 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²（Activated partial thromboplastin time (APTT)）の短縮もみられた。

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。

剖検では、消化管の赤色調及び肝臓の暗調化が共通して認められた。

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、対照群には認められなかった。（参照 5）

例数が少ないため、適切な毒性評価ができないことから NOAEL は設定できなかった。

（6）90 日間亜急性毒性試験（イヌ、経口投与）

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 日間経口投与（0、2、4、20 又は 40 mg/kg 体重/日、カプセル）試験が実施された。

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、この群には試験最後の 6 週間に空のカプセルを与えて事実上の投与回復試験群とした。

40 mg/kg 体重/日投与群の雌（1 例）が、投与 13 日後に切迫殺された。他の所見は雌雄で同様であった。

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、嘔吐等の所見が、20 及び 40mg/kg 体重/日投与群で共通してみられ、4 mg/kg 体重/日投与群では投与 4 時間間に時々みられた。これらの所見は、40 mg/kg 体重/日投与群の 7～13 週（回復期間）でもみられた。

体重減少は、40mg/kg 体重/日投与群の投与 1～7 週間後で見られ、投与を中止すると回復した。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%）。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%）。

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%まで減少した。

血液学的検査では、APTT の用量依存的な短縮が唯一の顕著な変化で、4 mg/kg 体重/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。

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 γ -GTP 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 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 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た。

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。

² 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

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 及び 40 mg/kg 体重/日投与群での暗調化の所見は、病理組織学的には、色素沈着の増加、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、時々、軽度～中程度の色素沈着、ごく軽微な肝細胞壊死及び空胞化が認められた。色素は、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)

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たことから、NOAEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。

(7) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与①) 〈参考データ〉

子豚 (交雑種(LW)、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、300、500、800、1,000 又は 1,500 ppm) 試験が実施された。

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、対照群と比較して著しい差はみられなかった。

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、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。

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。

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、生殖腺の絶対及び相対重量の減少傾向が認められた。

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なかった。(参照 6、9)

例数が少ないため、適切な毒性評価ができないことから NOAEL は設定できなかった。

(8) 6 か月間亜急性毒性試験 (豚、混餌投与②) 〈参考データ〉

子豚 (交雑種(LW)、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の 6 か月間混餌投与 (0、2,400、3,800、6,200 又は 10,000 ppm、0、93、136、170 又は 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 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、試験開始 13 週間後及び試験終了時に実施された。

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 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 週間後) が死亡又は衰弱のため剖検された。

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

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。糞の排泄量は極端に少なく、黄緑色を呈した。

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。

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、TP 及び Alb の低下傾向が認められた。

尿検査では、著変は認められなかった。

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 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 以上投与群では顕著な増加が認められた。

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、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細胞の肥大及び脂肪変性が認められた。(参照 6、9)

例数が少ないため、適切な毒性評価ができないことから NOAEL は設定できなかった。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(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)

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) 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 又は 100 (1 日齢時のみ) mg/mL) した。それぞれ 1 日齢時で 500、2,500 又は 5,000 mg/kg 体重、21 日齢時で 250 又は 1,250 mg/kg 体重に相当した。

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% のマウスが死亡した。対照群では 15% が死亡した。

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。肺腫瘍及び肝細胞癌の発生頻度は、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ずかな増加 (低用量群: 雌 4 例、中用量群: 2 例、対照群: 0) がみられたが、著者らはこの結果の信頼性は低いと考えた。

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を 4 回皮下投与した場合において、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。(参照 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)

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

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 週間与えた。この試験では腎臓病変の進行を調べるため試験開始 4、12 (又は 14)、24、58 及び 78 週間後に剖検した。

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。

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 週間後に明確な腎乳頭の間質の変性がみられ、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、腎乳頭の間質変性 (interstitial degeneration) がごくわずかに 14 週間後にみられたが、進行は認められなかった。

Fischer344 ラットで一般にみられる慢性進行性腎症は、エトキシキン投与群で加速された。Schmorl 染色により、リポフスチンが黄褐色の色素沈着として投与群、特に雌の近位尿細管に認められた。

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査で回復は認められなかった。著者らは前がん病変とみなされる所見はなかったと判断した。

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) の若齢雄ラットに対する強い腎毒性が示された。(参照 5)

(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)

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、250、500、1,000、2,000 又は 4,000 ppm) による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。被験動物は、投与開始 200、400、600 及び 715 日後に剖検された。

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。

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 日後に認められた。

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 投与群の雌で投与開始 200 日後に増加が認められた。

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 日後において正常であった。

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られた。

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) 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化とを区別することはできなかった。

JMPR は、この試験では 1 群あたりの動物数が少なく、背景レベルが低い腫瘍のような稀な事象の変化を検出するには感度に限度があるため、発がん性についての評価は行っていない。しかし、投与量の用量範囲が広いこと及び経時的にサンプリングされていることから、報告された所見はある程度の信頼性があると考え、NOAEL を 125 ppm (6 mg/kg 体重/日) としている。(参照 3、5)

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とから、NOAELは125 ppm (6 mg/kg 体重/日) と考えられた。発がん性については、評価できなかった。

(4) 30 か月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与)

ラット (Fischer344 系、投与群：雌雄各 80 匹/群、対照群：雌雄各 130 匹) を用いた、エトキシキンの 30 か月間混餌投与 (0、160、400、1,000 又は 2,500 ppm(雄：0、7.09、17.69、44.98 又は 115.5 mg/kg 体重/日、雌：0、8.38、20.58、52.88 又は 138.8 mg/kg 体重/日)) による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。被験動物は、投与開始 26、52、78 及び 130 週間後に剖検された。

一般状態に異常は認められず、死亡率は、投与群と対照群との間で有意な差は認められなかった。

体重増加抑制が、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で認められた。

尿検査では、投与に起因する異常はみられなかった。投与群及び対照群ともにタンパク反応がみられ、試験期間が進むとともに反応が強くなる傾向がみられたことから、加齢による変化と考えられた。また、潜血及びケトン体の反応で陽性がみられたが、投与群及び対照群のいずれからも検出されたことから、投与に起因する変化ではなく偶発的なものと考えられた。

血液学的検査では、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で 78 週間後まで Ht、Hb 及び RBC の軽度の減少又は減少傾向がみられたが、130 週間後ではみられなかった。

血液生化学的検査では、400 ppm 以上投与群の雌及び 2,500 ppm 投与群の雄で T.Chol の軽度の増加がみられた。また、400 ppm 以上投与群の雌雄で ALT、AST 及び ALP の低下又は低下傾向が 78 週間後までみられたが、130 週間後ではみられなかった。

剖検所見では、1,000 ppm 以上投与群の雄で肝臓の腫大及び腎臓表面の顆粒状化又は粗造化が、雌で腎臓における退色が、並びに雌雄で甲状腺の褐色化がそれぞれみられた。また、2,500 ppm 投与群の雌雄で脾臓の萎縮がみられた。

臓器重量では、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で腎臓の絶対及び相対重量の増加又は増加傾向がみられ、2,500 ppm 投与群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の増加又は増加傾向が、脾臓で絶対及び相対重量の減少又は減少傾向がみられた。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変として、肝臓では 2,500 ppm 投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞腫大の増加が、2,500 ppm 投与群の雄で肝細胞泡沫状脂肪化がみられた。腎臓では 2,500 ppm 投与群の雌雄で褐色色素沈着及び腎盂粘膜上皮の過形成の増加がみられた。脾臓では 2,500 ppm 投与群の雌雄で萎縮がみられた。甲状腺では 400 ppm 以上投与群の雄及び 2,500 ppm 投与群の雌でろ胞上皮過形成及びろ胞上皮褐色色素沈着がみられた。膀胱では 400 ppm 以上投与群の雌及び 1,000 ppm 以上投与群の雄で粘膜上皮過形成、1,000 ppm 以上投与群の雌及び 2,500 ppm 投与群の雄で粘膜上皮乳頭状過形成並びに 400 ppm 以上投与群の雌で脂肪浸潤 (粘膜下織及び筋層における脂肪組織の増殖) の増加がみられた。

腫瘍性病変としては、エトキシキン投与に起因すると思われる腫瘍の発生が雌の膀胱でみられ、乳頭腫が 400 及び 1,000 ppm 投与群で各 1 例並びに 2,500 ppm 投与群で 8 例、角化

棘細胞腫が 1,000 ppm 投与群で 1 例、移行上皮癌が 1,000 ppm で 2 例、2,500 ppm で 4 例みられた。2,500 ppm 投与群の膀胱腫瘍は 16% (12/77 例) であった。これは、試験に供されたラットの系統における当該腫瘍発生率の背景情報 (1%未満~2.5%) と比較して有意に高いものであった。膀胱腫瘍以外には投与に起因すると思われる腫瘍の誘発はなかった。また、腫瘍性病変全体の発生頻度は、対照群に比べ投与群で低い傾向がみられた。(参照 12)

400 ppm 以上投与群で、腎臓、甲状腺及び膀胱に影響がみられたことから、本試験の NOAEL は 160 ppm (雄で 7.09 mg/kg 体重/日、雌で 8.38 mg/kg 体重/日) と考えられた。エトキシキンが膀胱に対して発がん性があることが示唆された。

(5) 5 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (イヌ、混餌投与)

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

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なかった。

(参照 5)

本試験における NOAEL は 300 ppm (7.5 mg/kg 体重/日) と考えられた。

(6) 33 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

N-nitrosoethyl-*N*-methanolamine イニシエーション処置による腎及び肝腫瘍の研究の一部として、ラットの対照群の 1 つ (Fischer 344 系、8 週齢、雄 25 匹) に、試験終了時 (41 週齢) までエ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学的検査が行われた。

肝臓では、 γ -GTP 陽性病巣、過形成結節³及び肝細胞癌は認められず、腎臓病変については、データが示されていない。(参照 5)

N-nitrosobutyl-*N*-hydroxybutylamine イニシエーション処置による膀胱腫瘍研究の一部として、対照群ラット (Fischer 344 系、雄 25 匹) にエトキシキンが混餌投与 (8,000 ppm) された。

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・結節性過形成の発生率は、アスコルビン酸投与群及びエリスルビン酸ナトリウム投与群よりも高く、単純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。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腫は認められなかった。(参照 5)

³ 肝細胞腺腫

(7) 24 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

上記 (6) の試験と同様の膀胱癌の研究が実施され、ラット (Fischer 344 系、雄 15 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) された。

膀胱の乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫の誘発は認められなかった。(参照 5)

(8) 32 週間膀胱二段階発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

N-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) でイニシエーション処置された膀胱二段階発がん性試験が実施された。ラット (Fischer344 系、6 週齢、雄 25 匹/群) に、あらかじめ BBN を 4 週間飲水投与 (500 ppm) した後、エトキシキンを混餌投与 (8,000 ppm) し、エトキシキン投与 32 週後に膀胱の病理組織学的検査が行われた。

BBN 処置後にエトキシキンを投与した群では、単純過形成、乳頭状・結節性過形成、乳頭腫及び癌の発生が認められ、乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫の発生頻度は、対照群 (BBN のみの投与群) に比べ有意に増加した。

また、BBN 未処置のエトキシキン 32 週間単独投与群においても乳頭状・結節性過形成の発生が認められたが、腫瘍の発生はみられなかった。(参照 13)

(9) 22 週間膀胱二段階発がん性試験 (ラット、混餌投与) (参考データ)

BBN でイニシエーション処置された膀胱二段階発がん性試験が実施された。ラット (Fischer344 系、6 週齢、雄 20 匹/群) に、あらかじめ BBN を 2 週間飲水投与 (500 ppm) した後、エトキシキンを混餌投与 (1,250、2,500 又は 5,000 ppm) し、エトキシキン投与後 22 週後に膀胱の病理組織学的検査が行われた。

BBN 処置後の 5,000 ppm 投与群で乳頭腫が、1,250 及び 2,500 ppm 投与群で乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫が認められたが、対照群 (BBN のみの投与群) との間に発生頻度に有意な差は認められなかった。

BBN 未処置のエトキシキン (5,000 ppm) 22 週間単独投与群においては過形成等の増殖性病変の発生は認められなかった。(参照 14)

(10) エトキシキンの発がん性

ラットを用いた 30 か月間慢性毒性/発がん性併合試験において膀胱への発がん性が示唆された。

ラットを用いた 32 週間の膀胱二段階発がん性試験において、エトキシキン (8,000 ppm) を単独投与した群では、膀胱に単純過形成及び乳頭状・結節性過形成が認められた。一方、22 週間の膀胱二段階発がん性試験では、エトキシキン (5,000 ppm) の単独投与群において、膀胱に過形成を含む増殖性病変は認められていない。

また、32 週間の膀胱二段階発がん性試験において、BBN 処置後のエトキシキン投与群で、乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫の発生頻度が、対照群に比べて有意に増加したが、22 週間の試験では、乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫の発生頻度について BBN 処置後のエトキシキン投与群と対照群 (BBN のみの投与群) との間に有意差は認められなかった。

BBNによるイニシエーション未処置群での膀胱における単純過形成及び乳頭状・結節性過形成の所見は、プロモーション作用を有する抗酸化剤であるL-アスコルビン酸ナトリウムの投与試験においてもみられたという報告がある。(参照 15、16)

以上のことから、32週間の膀胱二段階発がん性試験でのエトキシキン単独投与群における膀胱の過形成の発生は、イニシエーション作用によるものではなくプロモーション作用によるものであり、その作用には閾値が存在するものと考えられる。

また、ラットを用いた18か月間及び30か月間慢性毒性/発がん性併合試験において脂肪酸の過酸化に由来するとされるリポフスチン沈着が腎臓でみられていることから、エトキシキンの高濃度暴露によって脂質の過酸化促進(prooxidant)が生じていると推察される。

エトキシキンは生体内でフェノール性代謝物に変換され、さらに硫酸及びグルクロン酸抱合を受けて、尿及び糞中に排泄される。これらの代謝物にはパーオキシダーゼによるキノンイミンへの酸化によってprooxidant作用を示す可能性をもつものが含まれていると考えられる。抗酸化作用を示すビタミンE誘導体やお茶の成分が、高濃度条件下でprooxidant作用を示すことが知られており、エトキシキン投与でみられた膀胱粘膜の増殖性病変は、親化合物ではなく、prooxidant作用を持つ代謝物の持続的刺激によって促進されている可能性が考えられる。(参照 17、18、19、20、21)

これらのことから、ラットを用いた30か月間慢性毒性/発がん性併合試験においてみられた膀胱の発がん性については、遺伝毒性によるものではなく、非遺伝毒性機序によるものとみなされ閾値の設定は可能であると考えられた。

エトキシキン以外に、非遺伝性で膀胱に発がん性を示す物質として、ワサビ等のアブラナ科植物に含有しているアリルイソチオシアネート並びに農薬及び食品添加物として殺菌剤等の用途で使用されているオルトフェニルフェノールが知られている。(参照 22、23)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 多世代生殖毒性試験(ラット①、混餌投与)

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

第1回目の交配により得られた産児を用いて、第2世代を得た。

受胎能、産児数及び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かった。

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、この報告の信頼性はやや低い。エトキシキンは、500ppm(25mg/kg体重/日相当)の混餌投与では、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)

(2) 多世代生殖毒性試験(ラット②、混餌投与)

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又は1,125ppm)した。

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

また、妊娠1～10日にエトキシキン混餌投与（1,125 ppmまで）した試験では、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）

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、NOAELは、125 ppm（6 mg/kg 体重/日）と考えられた。

（3）2世代生殖毒性試験（ラット、経口投与）

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又は300 mg/kg 体重/日）し、2世代生殖毒性試験が実施された。動物は1週間個別に飼育し、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（F₁）は母動物に離乳（PND21）までは育て、離乳したラットを選択してPND81±10まで雌雄別に飼育した（F₁）。これらのF₁を群ごとに7日間同居させF₂を作出した。F₂は出生後に安楽死させた。

親動物では、300 mg/kg 体重/日投与群でF₀及びF₁の雄の体重が減少（対照群より7～20%低値）し、F₀及びF₁世代のエトキシキン投与群では、肝臓及び腎臓重量が用量相関的に増加（13～56%増加）した。

F₀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の減少（22%）、一腹当たりの出生児数の減少（22%）及び妊娠期間の明らかな延長がみられた。

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（クロスオーバー試験）が実施された。エトキシキン投与雌と無処置雄から生まれた児は対照群と比べて約20%体重が軽かったが、投与雄と無処置雌から生まれた児には影響はみられなかった。

F₁の雌雄においてエトキシキンの影響はみられなかった。

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し、300 mg/kg 体重/日の用量で生殖毒性（妊娠期間の延長及びクロスオーバー試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は設定できなかった。（参照10、24）

（4）2世代生殖毒性試験（イヌ、混餌投与）

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ら、イヌを用いたエトキシキンの2世代生殖試験を実施した。

最初の交配（F₀）では、イヌ（ビーグル種、雄5匹及び雌10匹/群）を用い、交配前に少なくとも82日間のエトキシキン混餌投与（0、100又は225 ppm）を行った。次のF₁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（雌では2回目の発情周期）の交配までの期間にエトキシキンを混餌投与（0、100又は225 ppm）した。

F₀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投与群の親動物（F₀）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 ppm投与群の雌2匹からは産児が得られなかった。

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

産児数、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であった。

225 ppm 投与群の児動物では、肛門のただれ及び発赤、脱水、鼻汁並びに流涙の症状を示すものが雌雄ともに増加した。鼻汁及び流涙は、100 ppm 投与群でも増加した。

100 及び 225 ppm 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) の短縮がみられた。尿パラメータへの影響は認められなかった。

最初の交配で交尾しなかった雌 (対照群 3 匹、225 ppm 投与群 2 匹) は、再交配では交尾がみられた。

F₁ 動物では、100 ppm 投与群の雄 (1 例) 及び 225 ppm 投与群の雌 (2 例) が死亡又は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 例の死亡原因として心臓疾患が疑われ、他の 1 例は肺炎のため剖検された。

一般状態では、過度の流涙、脱水症状、消瘦、歯肉の蒼白等がみられ、毒性徴候を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。

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。

摂餌量は、試験開始当初には、225 ppm 投与群で増加したが、その後 (試験開始後 8~18 週の雄及び 8~30 週の雌) 低下した。

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 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 週間後並びに最終分析時点) で減少がみられた。

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) で血清中 ALP、 γ -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 100 ppm 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、顕著な変化は認められなかった。

F₁ においては、精液分析並びに交尾行動、妊娠、出産及び離乳に関して対照群と投与群で明白な違いは認められなかった。成体 (F₁) では、投与に起因する一般状態は過剰な流涙のみであり、全投与群の雄でみられた。

血液学的検査では、投与による影響は観察されなかった。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、Alb 及び A/G 比の低下並びに T.Bil、 γ -GTP、ALP 及び ALT の増加) がみられ、225 ppm 投与群では統計的に有意であった。雄では、ALP、 γ -GTP 及び ALT に用量相関的な増加がみられたが、有意差は認められなかった。

剖検では、225 ppm 投与群の雄 1 例及び雌 2 例で肝臓の変色 (暗紫色) がみられ、エトキシキン投与群の雌 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。

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、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。

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 による暗赤褐色の色素沈着は、対照群及び 100 ppm 投与群の雄の肝臓ではみられなかったが、100 ppm 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 例)にみられ、色素沈着の程度は用量相関的であった。脾臓の線維化及び出血の頻度は、225 ppm 投与群の雌で増加し(対照群 0/13 例に対し 3/11 例)、下垂体嚢胞の頻度は、225 ppm 投与群の雌雄で増加した(雄:対照群 0/8 例に対し 2/6 例、雌:対照群 2/12 例に対し 4/10 例)。

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た。出生時及び妊娠 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が認められた。100 ppm 投与群の児動物における死亡率の上昇は、225 ppm 投与群ではみられず、100 ppm 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。死亡率は、対照群 7/62(11%)、100 ppm 投与群 24/91(26%)及び 225 ppm 投与群 10/77(13%)であった。

試験期間中、100 ppm 投与群の雄 4 例及び雌 1 例並びに 225 ppm 投与群の雌 2 例で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、起立不全及び髄鞘変性と関係する頭部と胴体部の不安定性がみられた。一般状態に異常がみられなかった同腹児の検査では、神経学的な障害は認められなかった。影響を受けた動物は、全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。影響がみられた児動物の親動物を混餌投与せずに交配した結果、神経障害を示した児の発現率は、1 母体で 17%、他の 1 母体で 25%であった。これらの結果は、神経障害は遺伝的な要因により発現したことを示唆している。

摂餌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 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、225 ppm では 6 mg/kg 体重/日に相当した。

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殖成績に影響を及ぼさないことが示された。(参照 5)

100 ppm 投与群で過剰な流涙及び脱水症状等の一般状態、血液生化学的変化及び肝臓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 ppm(2.5 mg/kg 体重/日相当)と考えられた。

(5) 発生毒性試験(ラット①、強制経口投与)

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 日に強制経口投与(0、62、125、250、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒:コーンオイル)し、催奇形性を調べるための用量設定試験が実施された。

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され、500 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、毒性影響はみられなかった。

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、症状は用量相関的であった。

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 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。

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、性比及び頭臀長には投与による影響は認められなかった。（参照 5）

（6）発生毒性試験（ラット②、強制経口投与）

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（0、50、150 又は 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った。

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。

試験期間中に母動物の死亡例は認められなかった。

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られた。

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 6～20 日に対照群に比べ 13 %減少した。150 mg/kg 体重/日投与群では、体重増加の減少は 6～20 日に 5 %であった。

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%減少した。

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

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、投与との関連は認められなかった。変異の発生率は対照群で最も高かったが、個々の変異については有意な増加は認められなかった。（参照 5、8）

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 350 mg/kg 体重/日と考えた。催奇形性は認められなかった。

（7）発生毒性試験（ラット③、強制経口投与）

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、45、130 又は 400 µL/kg 体重/日、溶媒：オリーブ油（10 mL/kg 体重））し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 7～17 日に行い、妊娠 21 日に胎児を検査した。

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 µL/kg 体重/日以上投与群では、加えて暗緑青色又は暗青色の尿の排泄がみられた。

体重増加の抑制が 400 µL/kg 体重/日投与群でみられ、摂餌量の減少は 130 µL/kg 体重/日以上投与群で認められた。

母動物の剖検では異常は認められなかった。対照群と各投与群で黄体数、着床数及び着床率には、投与による影響は認められなかった。胎児死亡率、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量、性比等についても影響は認められなかった。

胎児の外表観察では、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、偶発的な変化と判定された。(参照6、9)

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

(8) 発生毒性試験(ウサギ、強制経口投与)

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、24又は120 µL/kg 体重/日、懸濁用液:1%CMC(carboxymethyl cellulose)液(5 mL/kg 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、妊娠28日に胎児を検査した。

120 µL/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 µL/kg 体重/日投与群の1例は流産し、5 µL/kg 体重/日投与群の1例は流産後に死亡した。対照群では、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、投与による影響は認められなかった。

胎児の外表及び内部異常については、5 µL/kg 体重/日投与群の胎児1例に小眼球症及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嚢水の増量がそれぞれ胎児1例に認められた。

骨格異常では、6腰椎が5 µL/kg 体重/日投与群の胎児1例にみられ、軟骨異栄養症及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、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。

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された。(参照6、9)

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。

8. 対象動物を用いた安全性試験

(1) 鶏

①ヒナ

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

②肉用鶏

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

③採卵鶏

採卵鶏 (10羽/群) にエトキシキンを混餌投与 (125 又は 500 ppm) し、8 週間観察した。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。(参照 6)

④種鶏

親鶏 (70羽/群) 及びヒナ (200羽/群) に、エトキシキンを混餌投与 (7.5、75 又は 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、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められなかった。(参照 6)

(2) 豚

豚 (6頭/群) にエトキシキンを混餌投与 (1,500 又は 15,000 ppm) し、体重増加量、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、有意な差は認められなかった。(参照 6)

(3) 牛

牛 (2~4頭/群) にエトキシキンを混餌投与 (1,500 又は 15,000 ppm) し、16 週間観察した。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)

(4) 魚類

①うなぎ

うなぎ (2年魚、400~600尾/群) にエトキシキンを混餌投与 (0、150 又は 750 ppm) し、約 4 か月間飼育した。750 ppm 投与群では、摂餌不良となったが、飼料効率及び斃死率につ

いては対照群との差は認められなかった。150 ppm 投与群の斃死率では、対照群より良好であった。(参照 6)

うなぎ(2年魚、100~600尾/群)にエトキシキン混餌投与(0、150又は450ppm)し、32日間飼育した。斃死率、飼料効率等において対照群との明確な差は認められなかった。(参照 6)

②にじます

にじます(300尾/群)にエトキシキン混餌投与(0、150又は750ppm)し、約4か月間飼育した。飼料効率、成長率、斃死率等において対照群との明確な差は認められなかった。(参照 6)

にじます(200尾/群)にエトキシキン混餌投与(0、150又は450ppm)し、約2か月間飼育した。飼料効率、成長率、斃死率等において対照群との明確な差は認められなかった。(参照 6)

③あゆ

あゆ(400尾/群)にエトキシキン混餌投与(0、150又は450ppm)し、約2か月間飼育した。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。(参照 6)

④こい

こい(まごい、200尾/群)にエトキシキン混餌投与(0、150又は450ppm)し、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投与群では、対照群より良好な結果であった。(参照 6)

9. 一般薬理試験

(1) 体温

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体重以下の投与量では顕著な影響は認められなかった。(参照 6)

(2) 脳波及び瞳孔

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、投与による影響を6時間観察したが、特に顕著なものは認められなかった。(参照 6)

(3) 血圧、心拍及び呼吸

麻酔ウサギ(JW-Nibs)を用いてエトキシキンが経口投与(500mg/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)

10. その他の試験

(1) 腎毒性 (ラット)

ラット (Fischer 344 系、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との関連性が調べられた。

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、 γ -GTP の組織化学的検出、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 α_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好酸性細胞質内封入体、尿細管基底膜 (lamina) 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。

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 α_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)

(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、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信頼できる短期間投与試験において脳の肉眼的及び病理組織学的所見がみられないことから、消費者、使用者等が暴露されると考えられる用量においてリスクが生じることはないと思われる。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ると考えられる。(参照 10)

(3) 皮膚刺激性試験（ウサギ）

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、24時間後に除去した。

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例にごくわずかの赤みが残っていた

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。（参照3）

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。（参照5）

(4) 皮膚刺激性試験（ウサギ及びモルモット）

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

(5) 眼刺激性試験（ウサギ）

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。これらの全ての影響は、4日以内に完全に消失した。（参照5）

(6) 皮膚感作性試験（モルモット）

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弱い紅斑反応を示した。（参照5）

11. ヒトに関する知見

20年間のエトキシキンの流通及び使用で、皮膚刺激性及び感作性を示す報告はみられなかった。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ンゴを取り扱う作業者の間に多く発生した。

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なく、感作の結果であることが示された。（参照3）

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みられる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%程度の低い濃度のエトキシキンで惹起された作業場で、パッチテスト陽性と記録された。（参照5）

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. 国際機関等における評価について

(1) JMPR における評価

JMPR は1998年に、イヌを用いた2世代生殖毒性試験における一般状態等のLOAEL(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 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、かつ新しい試験であった。

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、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/分解産物への適応を含めて確認されている。(参照5、8)

(2) EPA における評価

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: ARfD)及び慢性参照用量(Chronic Reference Dose: CRfD)が算出され、発がん性に関しては、適切な試験が実施されていないことから、癌のリスクがアメリカ人集団の70年暴露推定値に上限推定勾配係数(Q₁)を乗じて計算され、癌の発生確率として表されている。

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 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病理組織学的所見(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。

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(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(Q₁)は0.04 (mg/kg 体重/日)¹と計算され、生涯における癌発生の確率は2×10⁻⁶未満と推定された。(参照4)

(3) EFSA における評価

EFSAでは、2010年に農薬のピアレビューにおける結論(CONCLUSION ON 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、主には哺乳動物に対する毒性に焦

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ほ乳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れた。

ほ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、エトキシキンに対して基準値（ADI、ARfD 及び許容作業暴露レベル(AOEL)等）を設定することはできなかつたとされている。（参照 25）

2. 食品健康影響評価について

エトキシキンの遺伝毒性試験では、CHO 細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陽性であり、CHO 細胞では構造的異常のほか、倍数性細胞や核内倍加の顕著な増加が認められ、代謝活性化の条件下でより強く現れている。マウスリンフォーマ TK 試験での陽性結果は、遺伝子突然変異ではなく染色体異常が誘発されたことを示すものと考えられた。

染色体異常誘発を指標にした *in vivo* 試験では、幼若ラットの肝臓を用いた小核試験において、高用量投与群で小核を有する肝細胞数の有意な増加がみられたが、マウス骨髄を用いた小核試験では陰性であった。エトキシキンは脂溶性が高く、血漿中濃度測定結果からも全身暴露が確認されていることから、マウス骨髄細胞を用いた小核試験が陰性であったことには十分な意義があると考えられる。また、これらの結果から、染色体異常誘発にはエトキシキン（又はその代謝物）が高濃度で存在することが必須であると考えられる。

さらに、*in vivo* 試験のラット肝臓を用いた不定期 DNA 合成試験は陰性であり、エトキシキン（又はその代謝物）は、ラット肝臓において DNA と直接反応して付加体を形成するのではなく、間接的な作用で染色体異常を誘発すると考えられる。

エトキシキン（又はその代謝物）には DNA と直接反応して付加体を形成する作用がみられないことは、細菌を用いた復帰突然変異試験が全て陰性であったことから支持される。現在得られている知見からは、エトキシキン（又はその代謝物）が DNA に直接損傷を与えて遺伝子突然変異を生ずる可能性は極めて低く、染色体異常誘発は、タンパク質への作用を介しての間接的な要因によると考えられる。

エトキシキンの発がん性については、ラットを用いた 30 か月間慢性毒性/発がん性併合試験の雌において 2,500 ppm 投与群で膀胱の腫瘍性病変が有意に増加したが、この試験における投与群の全臓器の腫瘍発現頻度は対照群に比べ減少する傾向がみられた。

一方、ラットを用いた膀胱二段階発がん性試験において、エトキシキンのみを 32 週間投与した群では、膀胱に単純過形成及び乳頭状・結節性過形成が認められたが、乳頭腫及び癌は認められていない。また、エトキシキンの 22 週間投与群では、膀胱に過形成を含む増殖性病変は認められていない。

また、32 週間の膀胱二段階発がん性試験において、BBN 処置後エトキシキンを投与した群で、乳頭状・結節性過形成及び乳頭腫の発生頻度が、対照群に比べて有意に増加したが、

22 週間の試験では膀胱の増殖性病変の発生頻度においてはエトキシキン投与群と対照群 (BBN のみの投与群) との間に有意差は認められなかった。

BBN 等によるイニシエーション未処置群での膀胱における単純過形成及び乳頭状・結節性過形成は、プロモーション作用を有する抗酸化剤である L-アスコルビン酸ナトリウムの投与においてもみられる所見であり、エトキシキン投与による膀胱における過形成の発生は、イニシエーション作用によるものではなくプロモーション作用によるものであり、その作用には閾値が存在するものと考えられた。

さらに、慢性毒性試験において、腎臓へのリポフスチン沈着がみられていることから、エトキシキンの高濃度暴露によって脂質の過酸化促進が生じていると推察され、エトキシキンによる膀胱粘膜の増殖性病変は、親化合物ではなく、prooxidant 作用を持つ代謝物の持続的刺激によって促進されている可能性が考えられた。

これらのことから、エトキシキンは、遺伝毒性により発がん性を示す物質とは考えられず、閾値の設定は可能であり、ADI の設定は可能であると考えられた。

また、植物体内運命試験において、10%TRR を超える代謝物は認められなかったことから、農産物中における暴露評価対象物質をエトキシキン (親化合物のみ) と設定した。

各種毒性試験から得られた最小の NOAEL は、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験における 2 mg/kg 体重/日であったが、ADI の根拠としては、より新しく、かつ長期間の投与試験であるイヌを用いた 2 世代生殖毒性試験で得られた LOAEL 2.5 mg/kg 体重/日を採用するほうが適切であると判断される。しかしながら、この LOAEL は NOAEL の近傍の値であると考えられること、LOAEL の根拠となる試験において認められた一般状態、肝臓への影響等の所見は軽度であると考えられることから、追加係数としては、3 を用いることが妥当であると判断した。ADI の設定に当たっては、LOAEL に安全係数として 300 (種差 10、個体差 10 及び LOAEL を用いることによる追加の 3) を適用し、0.0083 mg/kg 体重/日と設定することが妥当であると考えられた。

以上より、エトキシキンの ADI として、次の値を採用することが妥当と考えられる。

エトキシキン 0.0083 mg/kg 体重/日

暴露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 13 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 又は 1,000 経口	— 50 : 腎臓病変
	13 週間亜急性 毒性試験	0、20、40、200 又は 400 経口	20 40 (雄) : 体重増加抑制
	2 年間慢性毒 性/発がん性併 合試験	0、62、125、250、500、 1,000、2,000 又は 4,000 ppm 混餌	125ppm (6) 250 ppm : 肝臓及び腎臓の比重量 増加
	多世代生殖毒 性試験	0、250 又は 500 ppm 混餌	— 投与による影響なし
	多世代生殖毒 性試験	0、125、375 又は 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 又は 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 又は 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	90 日間亜急性 毒性試験	0、2、4、20 又は 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 又は 300 ppm 混餌	300 ppm (7.5) 投与による影響なし
	2 世代生殖毒 性試験	0、100 又は 225 ppm (0、 2.5 又は 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 世代生殖毒性試験における過剰な流涙及び脱水症状等 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1：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	アルカリホスファターゼ
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)]
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
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
DAT	処理後日数 (days after treatment)
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 染色	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 ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最小毒性量
LSC	液体シンチレーションカウンター
MTD	最大許容量
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板数
PND	生後日数
RBC	赤血球数
RET	網状赤血球数
TAR	総投与 (処理) 放射能
T.Bil	総ビリルビン
TP	総タンパク質
TRR	総残留放射能
TSH	甲状腺刺激ホルモン

略称	名称
WBC	白血球数

〈別紙 2 : 作物残留試験成績〉

作物名 処理法 (実施年)	試験 圃場 数	使用量	回数 (回)	DAT (日)	エトキシキン残留値 (mg/kg)		
		(mg ai/L)			分析値		平均値
なし 収穫後 散布 (乳剤) (1999年)	1	2,400	1	0	1.39	1.76	1.58
					1.69	1.36	1.54
	1	2,800	1		1.96	1.61	1.79
					1.82	1.51	1.67
	1	2,800	1		2.22	2.24	2.23
					2.04	2.40	2.22
	1	2,900	1		1.81	1.55	1.68
					2.12	1.86	1.99
	1	2,700	1		2.38	2.19	2.29
					2.32	1.89	2.11
	1	2,900	1		1.73	2.19	1.96
					2.35	2.54	2.45
	1	2,800	1		1.94	1.86	1.90
					1.33	1.78	1.56
					1.74	1.88	1.81
					1.84	1.76	1.80
			2.18	2.33	2.26		
			2.14	2.14	2.14		
			1.54	1.90	1.72		
			1.45	1.39	1.42		
			1.48	1.55	1.52		
			1.84	1.60	1.72		
			2.00	2.05	2.03		
			1.32	1.39	1.36		
なし 収穫後 処理 (乳剤) (ブラシ式) (1999年)	1	2,700	1	0	0.37	0.44	0.44
					0.25	0.38	0.32
	1		1		0.72	0.61	0.66
					0.67	0.66	0.66

作物名 処理法 (実施年)	試験 圃場 数	使用量 (mg ai/L)	回数 (回)	DAT (日)	エトキシキン残留値 (mg/kg)		
					分析値		平均値
なし 収穫後散布 +薬剤浸漬果 実袋 (乳剤) (2001年)	1	1,700 (散布) + 1,000 (果実袋浸漬)	1	0	0.898	0.723	0.81
					0.759	0.809	0.78
	1		1	0	0.621	0.599	0.61
					0.990	1.07	1.0
	1		1	0	1.12	1.23	1.2
					0.865	0.781	0.82
	1		1	1	0.752	0.729	0.74
					0.702	0.738	0.72
	1		1	1	0.488	0.434	0.46
					0.522	0.645	0.58
	1		1	1	0.513	0.543	0.53
					0.542	0.541	0.54
	1		1	7	0.618	0.553	0.59
					0.769	0.766	0.77
	1		1	7	0.598	0.555	0.58
					0.368	0.388	0.38
	1		1	7	0.612	0.581	0.60
					0.560	0.522	0.54
	1		1	14	1.53	1.19	1.4
					1.59	1.40	1.5
1	1	14	1.75	1.46	1.6		
			1.31	1.21	1.3		
1	1	14	1.30	1.03	1.2		
			0.932	0.936	0.93		
1	1	29	0.258	0.256	0.26		
			0.238	0.296	0.27		
1	1	29	0.274	0.173	0.22		
			0.154	0.136	0.14		
1	1	29	0.370	0.430	0.40		
			0.501	0.445	0.47		
なし 収穫後くん煙 処理 (1997年)	4	16.2 g ai/1000kg	1	0	<0.3		<0.3

〈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. 三菱化学メディエンス(株)、エトキシキンの幼若ラットを用いた肝臓小核試験、2013
12. (財)畜産生物科学安全研究所、昭和58年度飼料安全性及び有用性確認調査委託事業試験報告書、エトキシキンの長期毒性・催腫瘍性試験
13. Shoji Fukushima, Yasushi Kurata, Masa-aki Shibata, Etsuo Ikawa and Nobuyuki Ito: Promotion by ascorbic acid, sodium erythorbate and ethoxyquin of neoplastic lesions in rats initiated with *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Cancer Letters*, 1984; 23 : 29-37
14. Shoji Fukushima, Tadashi Ogiso, Yasushi Kurata, Masato Hirose and Nobuyuki Ito: Dose-dependent effects of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene and ethoxyquin for promotion of bladder carcinogenesis in *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-initiated, unilaterally ureter-ligated rats. *Cancer Letters*, 1987; 34: 83-90
15. S. Cohen, T. Anderson, L. Oliveira, and L. Arnold: Tumorigenicity of Sodium Ascorbate in Male Rats. *Cancer Research*, 1998; 58, 2557-2561
16. Masa-Aki Shibata, Shoji Fukushima, Emiko Asakawa, Masao Hirose and Nobuyuki Ito: The Modifying Effects of Indomethacin or Ascorbic Acid on Cell Proliferation Induced by Different Types of Bladder Tumor Promoters in Rat Urinary Bladder and Forestomach Mucosal Epithelium. *Jpn. J. Cancer Res*, 1992; 83,31-39
17. Shahrzad Tafazoli, James S. Wright and Peter J. O'Brien: Prooxidant and Antioxidant Activity of Vitamin E Analogues and Troglitazone. *Chem. Res. Toxicol*, 2005; 18: 1567-1574
18. Joshua D. Lambert, Ryan J. Elias: The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2010; 501: 65-72

19. M.M.Manson, J.A.Green and H.E.Driver: Ethoxyquin alone induces preneoplastic changes in rat kidney whilst preventing induction of such lesions in liver by aflatoxin B₁. *Carcinogenesis*, 1987; vol.8 no.5: 723-728
20. J.M.Sanders, L.T.Burka and H.B.Matthews: Comparative metabolism and disposition of ethoxyquin in rat and mouse. I. Disposition. *Xenobiotica*, 1996; vol.26 no.6: 583-595
21. L.T.Burka, J.M.Sanders and H.B.Matthews: Comparative metabolism and disposition of ethoxyquin in rat and mouse. II. Metabolism. *Xenobiotica*, 1996; vol.26 no.6: 597-611
22. National Toxicology Program: Technical Report Series No. 234 Carcinogenesis bioassay of allyl isothiocyanate (CAS No. 57-06-7) in F344/N rats and B6C3F₁ mice: 1982
23. Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group: 2-PHENYLPHENOL AND ITS SODIUM SALT, 1999
24. 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
25. 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
26. JMPR: ETHOXYQUIN, 217-234, 1999
27. 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 3, B.7, April 2008
28. 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 4, B.8, April 2008
29. JMPR: ETHOXYQUIN, 1187-1194, 2008