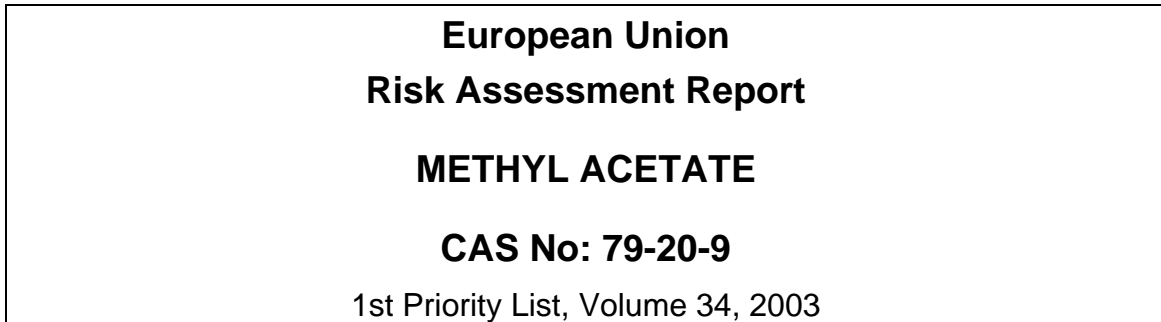


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 34, 2003)
酢酸メチル



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2013年8月

本部分訳文書は、methyl acetate (CAS No: 79-20-9)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 34, 2003)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、
http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk_assessment/REPORT/methylacetatereport037.pdf
 を参照のこと。

4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)評価

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝、および分布

酢酸メチルは高い蒸気圧を示すため(20°Cで220 hPa)、吸入曝露の状態は、普遍的に生じ得る。水溶性であること(295 g/L)と0.18という分配係数(log Pow)から、いずれの経路から取り込まれても、生体内に広く分布することが示唆される。

酢酸メチルの *in vitro* での加水分解については、ラットおよびヒトの血液中での半減期が、それぞれ2~3時間および4時間と測定されており、血中での加水分解はラットの方がヒトよりも早いことが示されている(Filov, 1961)。この加水分解は、一次反応に則するものであった。

Ghittori et al.(1984)は、37°Cの血液中における酢酸メチルの加水分解データ(濃度：2.18 µg/L；7時間後：1.96 µg/L)を報告しているが、それはFilov(1961)が示したデータよりも遅い値であった。その反応生成物は、酢酸とメタノールであったと確認されている。

最近の報告では(Mizunuma et al., 1992)、酢酸メチル(27.9 µg/mL)をヒトの血液と36°Cで2~8時間インキュベートすることにより、酢酸メチルからメタノールへの *in vitro* 加水分解が確認されている。この反応の速度は非常に速く、酢酸メチルは、その60%が2時間でメタノールに変換し、ほとんどすべてが8時間で消失した(検出限界は0.1 µg/mL)。濃度測定は、ヘッドスペースガスクロマトグラフィー分析によって行われ、メタノールの生成は、ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー法により詳細に確認された。酢酸メチルを加水分解する能力は、血液の細胞成分および非細胞分画の両方に一様に分布していた。

雄のF344ラットの鼻粘膜由来のカルボキシルエステラーゼ(S9ホモジネート)と酢酸メチルのインキュベートにおいて、S9-蛋白1 mgあたり15 ± 3 nmol/分という加水分解速度が得られている(Dahl et al., 1987)。

酢酸メチルをウサギに経口投与した場合、メタノールと酢酸に加水分解された (Tambo, 1973; BG Chemie, 1995)。この試験では、5%水溶液として、20 mL/kg (1,000 mg/kg) の用量で投与が行われた。投与後 30 分から 5 時間までの血中メタノール濃度が測定された。酢酸メチルはどの時点の試料中にも検出されなかったが、メタノールは 30 分後には血中や尿中で認められた。血中メタノール濃度のピークは、3 時間時点における 0.573 mg/mL であった。経口投与された酢酸メチルは、消化管で加水分解される。したがって、血中や尿中ではメタノールと酢酸だけが検出され、酢酸メチルは検出されなかった。同様に、吸入曝露後の血中や尿中では、これらの加水分解産物だけが検出された。曝露後 30~60 分にはアシドーシスが現れ、これは明らかに酢酸の生成に起因するもので、2~3 時間持続した。

気管切開術を施したウサギを、645 L のチャンバー内で酢酸メチルに 3 時間吸入曝露したところ、曝露直後の呼気内には、酢酸メチルが、吸入量の 30~50% 以下 (20 mg/L 以下) の濃度で認められた。曝露を終えた後には、呼気中に酢酸メチルは認められなかった。酢酸メチルの吸入濃度は維持されていたが、血中に酢酸メチルは検出されなかった。このことは、加水分解が迅速であることを示している (Filov, 1961; BG Chemie, 1995)。

最近実施されたラットを用いた試験 (HMR, 1999a) の中で、亜急性吸入曝露 (5 日/週、6 時間/日) が行われている。最終日に行った 6 時間の吸入曝露 (2,000 ppm) の直後、30、60、120 分後および 18 時間後の時点で、いずれも酢酸メチルの濃度は 5 ppm 以下 (v/v; < 4.6 mg/L) であった。この試験では、各時点で雌雄各 2 匹ずつのラットから、血液サンプルを採取した。

4 匹のラットを、酢酸メチルがほぼ飽和した空気に曝露 (25 L 容器内) した、10~20 分後に催眠作用が認められた。この時点で断頭して採取した血液中に、酢酸メチルが 70~80 mg/100 mL の濃度で検出された。メタノールに吸入曝露した同様の試験では、この催眠作用は、主に酢酸メチルによって誘発されることが示されている (Filov, 1964a,b; BG Chemie, 1995)。

約 200 ppm の酢酸メチル (165~290 ppm; およそ 610 mg/m³) とメタノール (160~225 ppm) に対し、それぞれ 2 人の被験者を、1 回 2 時間、1 日 2 回 (2 時間間隔) で 3~4 日間反復吸入曝露した。いずれも、曝露を行った日の最初の曝露により尿中メタノール濃度が増加し、2 回目の曝露後 4 時間以内にピークを示した (尿中メタノール濃度は >10 mg/L)。いずれの場合も、その濃度は、翌朝には正常 (< 5 mg/L) に戻っていた (Tada et al., 1974)。

メタノール代謝の動物種ごとの特異性

メタノールは、肝臓において、アルコール脱水素酵素によりホルムアルデヒドに代謝される。ホルムアルデヒドは、さらにギ酸に代謝される。ギ酸化合物はメタノールの有害代謝産物と考えられており、その蓄積に関しては、顕著な種差が存在する。ギ酸の代謝にはテ

トラヒドロ葉酸化合物を必要とする。サルとヒトは、げっ歯類に比べて、メタノールに対する感受性が高い。それは、肝臓でのテトラヒドロ葉酸化合物濃度の低さによるもので、そのために代謝が遅く、ギ酸化合物の蓄積を来たす(Dorman et al., 1994)。

霊長類では、代謝速度を越えるような高用量を投与された場合にのみ、ギ酸化合物が蓄積する。用量が 600 mg/kg/日以下の場合、サルとラットの間の種差はないと考えられている(Takeda and Katoh, 1988)。したがって、代謝における種差は、LD₅₀ や LC₅₀ のような用量や急性毒性を扱う場合には考慮しなくてはならない。

Andrews et al.(1987)の試験では、サル(およびラット)を、最高 5,000 ppm(およそ 6,666 mg/m³)のメタノール蒸気に 20 回反復曝露したが、結果として眼に対する有害影響は認められていない。したがって、この用量では、毒性を示すほどのギ酸の生成はなく、眼の損傷も起らなかったと考えられる。ただし、ギ酸の血中濃度については検討されていない。これらの試験では、サルにおいて中枢神経への影響がみられていない。したがって、ラットも、検討すべき用量(致死量未満)における、酢酸メチルの亜急性または亜慢性毒性作用を評価するためには、有用なモデルであると考えられる。

トキシコキネティクス、代謝および分布のまとめ

経口投与された酢酸メチルは、その一部は、胃粘膜のエステラーゼによって、消化管内でメタノールと酢酸に分解される。酢酸メチルはまた、血中のエステラーゼでも加水分解される。ラットを 2,000 ppm(6,040 mg/m³)で吸入曝露した場合でも同等の分解を受け、血中濃度は 4.6 mg/L 未満であった。飽和濃度に近い濃度を除いては、高濃度における検討は行われていない。飽和濃度における吸入曝露では、酢酸メチルが血中で検出されている。

In vitro での加水分解に関するいくつかのデータから、酢酸メチルの血中半減期は、大まかに、2~3 時間(ラット)あるいは約 2 時間(ヒト)と推定されている。エステルの加水分解に関しては、呼吸上皮のカルボキシルエステラーゼの局所的な活性が特に重要である。ヒトやラットの鼻の呼吸組織および嗅覚組織について検討が行われており、ラットの鼻の呼吸組織のカルボキシルエステラーゼ活性は、ヒトよりも 3 倍高かった。一方、嗅覚組織のカルボキシルエステラーゼ活性は、ヒトとラットで同等であった(Bogdanffy et al., 1998)。

4.1.2.2 急性毒性

動物におけるデータ

経口投与、経皮投与および吸入曝露による急性毒性は、ラットを用いた試験の結果では、低いものであった。ラットについては、経口投与による LD₅₀ は 6,482 mg/kg (Smyth et al., 1962)、吸入曝露の LC₅₀ は >49 mg/L/4h (Smyth et al., 1962)、経皮投与での LD₅₀ は >2,000 mg/kg (Hoechst AG, 1988a) と報告されている。マウスの LC₅₀ は > 24 mg/L/8h、ネコの LC₅₀ は > 30 mg/L/10h と報告されており、両動物種で同様の影響が認められている (von Oettingen, 1960)。

雌雄各 5 匹のラットの皮膚に、酢酸メチル 2,000 mg/kg (媒体不使用) を 24 時間閉塞塗布したが、症状は認められなかった。死亡例はなく、14 日間の観察期間後の剖検でも、異常は認められなかった (Hoechst AG, 1988b)。経口投与や酢酸メチル蒸気への吸入曝露により、麻酔症状、痙攣、呼吸困難および嘔吐が引き起こされ、吸入曝露ではさらに、眼や上気道に刺激症状が認められた (von Oettingen, 1960)。

酢酸メチルの吸入により、麻酔作用が現れるが、その作用持続時間は短い。麻酔作用は、マウスでは 34 mg/L から (von Oettingen, 1960)、ネコでは 56 mg/L からみられる (von Oettingen, 1960)。しかし、初期には呼吸障害、嘔吐および痙攣が現れることがあるため、麻酔作用は一様に得られるものではなく、また、深い麻酔作用は非常に得られにくい。

さらに、適度な範囲内であれば、短時間の高濃度曝露の方が、長時間の低濃度曝露より、いくぶん耐容性が高いようである。また、麻酔状態からの回復は速やかな方であるが、完全影響から脱却するには数日を必要とすると考えられる (von Oettingen, 1960)。

ヒトにおけるデータ

酢酸メチルの蒸気を 45 分間偶発的に吸入した事例では、重度の頭痛と顕著な嗜眠が認められ、6 時間にわたって持続した (von Oettingen, 1960)。それ以上の詳細データは得られていない。酢酸メチル蒸気への職業曝露を受けていた 69 歳の作業員の事例では、目まい、頭痛、倦怠感および不安定歩行が、散発的に現れた。そのような症状が現れている際、突然両目の視力を失うことが反復的に起こり、視神経に両側性委縮、左眼の視野に広範な中心暗点、および右眼の視野に求心性狭窄が認められた (von Oettingen, 1960)。

急性毒性に関する結論

ヒトでは、酢酸メチルの吸入曝露により、重度の頭痛および顕著な嗜眠が認められること

から、EU の警句「R67、蒸気が眠気や目まいを引き起こすおそれがある」を表示する必要がある。分類についてはセクション 1.4 を参照されたい。ラットを用いた急性毒性試験では、経口投与の LD₅₀ は >5,000 mg/kg であり、経皮投与の LD₅₀ は >2,000 mg/kg であった。吸入曝露では、マウスにおける 8 時間 LC₅₀ は 24 mg/L、ネコにおける 10 時間 LC₅₀ は >30 mg/L であった。これらのデータに基づくと、急性毒性に関して、酢酸メチルを有害性物質と分類することは妥当ではない。

4.1.2.3 刺激性

動物におけるデータ

皮膚刺激性

EU および OECD のガイドラインに準拠して、Draize 皮膚刺激性試験が実施されている。3 匹のウサギそれぞれに、0.5 mL の酢酸メチル(媒体不使用)の半閉塞曝露処置を 4 時間行った。浮腫は認められなかったが、グレード 1 の紅斑が 1 時間後の観察で認められ、3 匹中 2 匹のウサギでは、24 時間後の観察でも紅斑が持続していた。紅斑はすべて、48 時間以内に消失した。3 匹中 1 匹では、処置部位の皮膚に、乾燥性の肌荒れが認められた (Hoechst AG, 1988b)。

眼刺激性

EU および OECD のガイドラインに準拠して、Draize の眼刺激性試験が実施されている。3 匹のウサギそれぞれを、無希釈の酢酸メチル 0.1 mL で処置した。重度の刺激症状が、角膜(24、48 および 72 時間の観察時点における平均スコアはそれぞれ 1、1.7 および 1.3)、虹彩(平均スコアはそれぞれ 1、1 および 1)に認められ、褪色や出血を伴う結膜の発赤(平均スコアはそれぞれ 1.7、1.7 および 2)および浮腫(平均スコアはそれぞれ 2.7、2.3 および 3)も認められた。これらの症状は 7 日以内に回復した (Hoechst AG, 1988c)。

呼吸器刺激性

マウスにおける呼吸数半減濃度(RD₅₀)は、829 ppm と報告されている (Muller and Greff, 1984)。

ヒトにおけるデータ

ヒトの皮膚に酢酸メチル 2 滴を滴下した場合に、冷却効果と落屑がみられたが、刺激性はみられなかった(von Oettingen, 1960)。それ以上のデータは得られていない。蒸気への 5 分間曝露においては、およそ 15 mg/L の濃度から、眼、鼻、喉頭および気管に刺激症状が認められた(Reus, 1933、BG Chemie, 1995 により引用、それ以上のデータは得られていない)。

刺激性のまとめ

酢酸メチルは、ヒトやウサギに軽度にとどまる皮膚刺激性を示すことが明らかとなっている(浮腫はなく、最大でもグレード 1 で 48 時間以内には回復する紅斑)。しかし、ウサギを用いた Draize 眼刺激性試験では、強い眼刺激性がみられた(24、48 および 72 時間後の虹彩刺激性の平均スコアはそれぞれ 1、1 および 1、結膜浮腫の平均スコアはそれぞれ 2.7、2.3、3)。ただし、それらは 7 日以内には回復した。ヒトが酢酸メチル蒸気に曝露された場合には、眼および気道に刺激症状が誘発される。これらのデータに基づくと、酢酸メチルは「Xi(刺激性物質)」に分類され、「R36(眼に刺激性がある)」の表示が適用される。分類については、セクション 1.4 を参照されたい。

4.1.2.4 腐食性

酢酸メチルは、ヒトやウサギに軽度にとどまる皮膚刺激性を示すことが明らかにされている(セクション 4.1.2.3 を参照)。Draize 眼刺激性試験において、ウサギの眼に強い刺激性を示したが、影響は可逆性であった(セクション 4.1.2.3 を参照)。したがって、酢酸メチルには、腐食性はない。

4.1.2.5 感作性

動物におけるデータ

データは得られていない。

ヒトにおけるデータ

ヒトにおける適切なデータは、得られていない。25 人のボランティアで行ったマキシミゼーションテストにおいて、ワセリンを媒体とした 10%酢酸メチルで曝露を行ったが、感作性は認められなかった(Kligman, 1976)。ヒトでは、酢酸メチルに曝露されてきた長い経験があるが、曝露されたヒトでの接触アレルギーの報告は無い(Klaschka and Vossman, 1994)。このことから、酢酸メチルが皮膚感作性を示すとは思われない。とくに、酢酸メチルは、水と接触すると、組織非特異的エステラーゼによってメタノールと酢酸に加水分解されることも、その理由である。また、メタノールと酢酸については、皮膚感作性はない(メタノール、Fisher, 1986)か、あっても数事例に限られている(酢酸、Weil and Rogers, 1951)。

4.1.2.6 反復投与毒性

動物におけるデータ

B.8 法(OECD 412)に準拠して、酢酸メチルの 28 日間吸入曝露試験が、最近行われている(HMR, 1999a)。各群雌雄 10 匹ずつの Sprague-Dawley ラットを用い、0、75、350 および 2,000 ppm(平均分析濃度は 79、335 および 2,018 ppm であり、227、1,057 および 6,040 mg/m³に相当)の酢酸メチル(純度>99.5%)に 1 日 6 時間、週に 5 日間、鼻部曝露した。雌雄の高濃度群で体重および摂餌量が減少した(雄で雌よりも顕著)が、平均相対摂餌量(体重 1kg あたりの 1 日摂餌量)に有意差はなかった。また、同群では赤血球数、ヘモグロビンおよびヘマトクリットの平均値の増加、白血球数およびリンパ球数の減少が認められた。臨床化学的検査では、雄の高濃度群および雌の全投与群において、コレステロールの値に、有意な用量依存性の減少が認められた。雌雄の高濃度群で血清カルシウム濃度が増加していた。雌の高濃度群で、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)活性が、わずかだが、有意に増加した(対照群が 34 U/L であったのに対して 41 U/L)。雌の高濃度群では、さらに尿量の増加や尿比重の減少も認められた。体重に影響が及ぼされたことに関連して、雄の高濃度群で、いくつかの臓器において、絶対重量の減少や相対重量の増加が認められた。高濃度群の雌雄で副腎重量の増加が、高濃度群の雌で胸腺重量の減少が認められた。中濃度群の雌にも、軽微だが有意に、副腎重量の増加と胸腺重量の減少が認められた。剖検では、酢酸メチル処置に由来する変化は認められなかった。病理組織学的検査では、主に高濃度群の雌雄全てにおいて、嗅上皮に軽度から中等度の変性および壊死が(鼻腔の 4 部位の中の第 3 部位で)認められた。その他には、いずれの群のいずれの臓器にも、処置に関連した異常は認められなかった。2,000 ppm 群で嗅粘膜の変性がみられたことから、局所作用に関する NOAEC は、350 ppm(1,057 mg/m³)と推定された。飼料効率がいずれの群でも同等であったことから、

体重の減少は、摂餌量の減少に起因するものと考えられた。副腎に病理組織学的変化が認められなかったことから、副腎重量の変化とコレステロールの減少の毒性学的意義は不明であるが、例えばストレスのような、非特異的な毒性反応によるものとも解釈される。副腎皮質への特異的な作用の可能性は否定できないが、ステロイドホルモンの血清中濃度に関するデータは提示されていない。赤血球数の変化は、高濃度群の雌にみられた尿量の増加や摂水量の減少によって、血液濃縮が生じたことを示すものとも思われるが、摂水量のデータがないことから、詳細は不明である。ラットにおける ALAT の増加は、肝細胞の障害を示すものである。しかし、形態学的病変が無いことや、他の関連検査項目のいずれにも変化が認められていないことから、肝細胞のわずかな機能障害を示すものと考えられる。胸腺重量の減少および白血球やリンパ球の減少は、免疫抑制的影響が生じ得ることを手掛かりとして考察すべきであろう。しかし、副腎や他の免疫臓器に形態学的変化がないことから、こうした考え方も確定的ではないと思われる。以上のように、尿量増加、わずかな肝細胞機能障害、副腎重量増加および血清コレステロール濃度の減少が、酢酸メチル処置による軽微な有害作用として示された。したがって、全身作用に関する NOAEC も、350 ppm (1,057 mg/m³) と導出された。

酢酸メチルの亜急性、亜慢性または慢性毒性に関しては、これ以外に、信頼できる動物試験データは、得られていない。

信頼性が低い試験ではあるが、Flury and Wirth (1933) は、ネコ 4 匹を 19~21 mg/L の酢酸メチルに 8 日間 (1 日 6 時間) 曝露した。1 匹は体重の減少を示して死亡し、その他の動物には眼の刺激症状、流涎、摂餌量減少および進行性で中等度の中樞神経系抑制が認められた。血液学的検査では、ヘモグロビンおよび赤血球数の増加、並びに一過性の白血球増加が認められた。動物は試験終了時には衰弱していたが、徐々に回復した。

吸入曝露以外の経路による試験データは、得られていない。他の部位 (消化管、皮膚) に酢酸メチル処置を行った場合においては、酢酸メチルが加水分解される前に局所的毒性を及ぼす可能性は、排除されない (セクション 4.1.2.1 参照のこと)。

ヒトにおけるデータ

酢酸メチルに対するヒトの反復曝露に関する情報は希少である。曝露やその影響に関する定量的なデータは、十分に検討・報告されていない。職業曝露の事例では、他の化合物にも曝露されており、みられた影響が明らかに酢酸メチルに起因したとすることはできない。そのため、ヒトの健康へのリスクを評価する上で、観察された影響が妥当なものであるかどうかは疑問が残る。このような制約はあるものの、以下にいくつかのデータを文献から

引用する。

スウェーデンの 7 か所の塗料工場において、混合溶剤に曝露された 47 人の労働者のうち、11 人が酢酸メチルに曝露されていた(曝露量の範囲は 3~169 mg/m³、中央値は 13 mg/m³)。この 47 人の労働者の群における肝臓の酵素活性は、対照群と比較して同等であった。個々の溶剤いずれについても、それとの相関性を示す結果は認められなかった(Lundberg and Hakansson, 1985)。

Duquenois and Revel(1934)は、靴工場の女性労働者に関する報告をしている。彼女らには、眼の刺激症状、視力障害、CNS 症状、呼吸困難、心臓障害が起こり、ギ酸メチル、ギ酸エチル、酢酸エチルおよび酢酸メチルの混合物が確認された。

皮膚への影響

ハンドブック、労働衛生ガイドラインおよび化学物質安全カードには、酢酸メチルへの急性、長期または反復曝露により、皮膚刺激症状のみならず、皮膚の乾燥や荒れといった症状も惹起されると記載されている(国際化学物質安全性カード, 1993)。ヒトの皮膚に酢酸メチルを 2 滴塗布したところ、冷却効果と落屑が認められたが、刺激性は認められなかった(von Oettingen, 1960)。

反復投与毒性のまとめ

以上のように、酢酸メチルの局所あるいは全身作用を検討した、信頼できる反復投与動物試験データは、吸入曝露によるものに限られる。2,000 ppm(6,040 mg/m³)の酢酸メチルに、ラットを 1 日 6 時間、1 週間に 5 日鼻部曝露したところ、28 日の処置期間中に、嗅粘膜に変性や壊死が認められた(HMR, 1999a)。この濃度では、いくつかの軽度な全身影響性(尿量増加、わずかな肝細胞機能障害、副腎重量増加および血清コレステロール濃度の減少)が懸念された。

ヒトにおける反復または長期曝露事例の適切なデータは、得られていない。

酢酸メチルに急性、長期または反復曝露された際、皮膚の脱脂や乾燥、ひび割れが生ずるという一般的な経験に基づき、この物質には、「R66、反復曝露により皮膚の乾燥やひび割れの恐れあり」と表示されている。分類についてはセクション 4.1 を参照のこと。

最大無毒性量(NOEL)

吸入ばく露

ラットで適切に行われた28日間吸入曝露試験から、気道での局所作用に関するNOAECは、350 ppm(1,057 mg/m³)と導出されている(HMR, 1999a)。

この28日間吸入試験(HMR, 1999a)から、全身作用に関するNOAECも導出され、その値は350 ppm(1,057 mg/m³)であった。

その他の投与経路

その他の投与経路については、NOAELやLOAELを求めた適切な試験データは、得られていない。

NOAECsの導出に対するコメント

全身作用

上述のHMRの試験(1999a)では、副腎重量の増加および血清コレステロール濃度の減少は、明らかに用量に関連して見られた影響であった。より長期の曝露を行った場合、それらの影響の有害性がより明らかになると思われる。しかし現時点では、この血清コレステロール濃度の減少および副腎重量の増加が、尿量増加(例えばアルドステロン合成に及ぼす影響を介して)、あるいは胸腺の退縮やリンパ球の減少(例えば糖質コルチコステロイド合成に及ぼす影響を介して)と関連しているかどうかは不明確である。それらの影響が被験物質への曝露によって引き起こされたことに疑問の余地はないが、350 ppmでの処置に起因する影響の毒性学的な意義は、非常に低いか、あるいは疑わしいと考えられる。

上述のHMRの試験(1999a)で認められた所見は、ストレスによって生ずる所見に類似している。しかし、ストレスに関連する所見と比較して、酢酸メチルによる影響は、明確な用量依存性を示し、中・高濃度群では統計学的に有意であった。つまり、これらの影響は、明らかに被験物質に起因するものであり、試験手技を主因とするものではない。

その他に有用なデータが得られないため、最終的に350 ppmを全身作用に関するNOAECとする。

メタノールに関するデータを、酢酸メチルの吸入毒性の評価において、さらに考慮する必要はない。なぜなら、酢酸メチルについて、信頼できる吸入試験のデータが得られている

からである。被験物質そのもののデータがなかったり妥当性が低い場合には、代謝物や構造類似物のデータが有用である。そうしたデータには、他のデータの裏付けとなったり、被験物質の潜在的な毒性を示唆したりするものがある。

Andrews et al.の試験(1987、セクション 4.1.2.1 参照)で、ラットやサルにおけるメタノールの吸入による影響が検討されているが、そのデータの質は、酢酸メチルを用いた HMR の試験(1999a)のものよりも低い。その Andrews の試験では、血液学および臨床化学的検査は含まれておらず、検査した臓器や組織の数も限定されていた(鼻甲介、気管、肺、腎、食道、肝および視神経を含む眼球)。

局所作用

HMR の試験(1999a)で検討された酢酸メチルの濃度については、高濃度と中濃度との間に大きな差がある。もしその間の濃度を追加して検討していたら、より高い NOAEC が得られたかもしれない。

Celanese(2000)は、予備試験における 500 ppm の酢酸メチルへの 5 日間連続曝露が、それによって鼻に対する毒性がみられていないことから、NOAEC として最も妥当であると主張している。除外する特別な理由がない限り、一般には、慢性毒性の評価に際しては、長期間処置を行った試験が選ばれる。HMR の試験(1999a)の予備試験における用量設定根拠については、十分記載がある。同じ濃度でも、曝露 5 日目に認められた影響から曝露 28 日目の結果を予測することは妥当ではない。

4.1.2.7 変異原性試験

細菌を用いた試験

未公表ではあるが、細菌を用いた変異原性試験が適切に実施されている。酢酸メチルは、Aroclor 誘導ラット肝 S-9 mix の有無に関わらず、ネズミチフス菌(*Salmonella typhimurium*)の TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537 および TA 1538 株、さらに大腸菌(*Escherichia coli*)の WP2uvrA 株において、復帰突然変異を増加させることはなかった。検討された酢酸メチルの最高濃度は、5,000 µg/plate であった(Hoechst, 1988d)。

別の試験では、ネズミチフス菌の TA 97、TA 98、TA 100、TA 1535 および TA 1538 株を用いて、10,000 µg/plate までの濃度が検討されている。代謝活性系が無い場合でも、ラットやハムスターの肝 S-9 mix 存在下でも、やはり陰性の結果が得られている。この試験では 20 分

のプレインキュベーションが施されている (Zeiger et al., 1992)。

酵母を用いた試験

酵母の D 61.M 株を用いて、酢酸メチルの異数性誘発能が検討されている (Zimmermann et al., 1985)。結果は陽性であったが、その陽性を示した最低の濃度は 3.38% であり、それはおよそ 33,800 µg/mL または 456 mmol/L に相当する高い濃度であった。そのため、この所見は、*in vivo* 状況との関連性は低いと考えられる。

In vivo 試験

酢酸メチルは、28 日間吸入曝露により行った、ラットの骨髄小核試験において、陰性を示した (HMR, 1999b)。曝露は 1 日 6 時間、1 週に 5 日間行われ、濃度は 75、350 および 2,000 ppm が採用された。各群の動物数は雌雄各 5 匹であった。最終曝露の 24 時間後に細胞を採取し、多染性赤血球 (PCE) および正染性赤血球 (NCE) を調べた。局所的細胞毒性 (PCE/NCE 比) は認められなかった。ただし、一般毒性徴候が最高用量で認められた (詳細はセクション 4.1.2.6 を参照のこと)。

その他の情報

メタノール

Campbell et al. (1991) が、メタノールについて詳細に検討している。マウスを 800 または 4,000 ppm のメタノールに 5 日間吸入曝露し、血液中の赤血球および肺の細胞について、細胞遺伝学的影響を解析した。一般毒性に関するデータは示されていない。結果は、一貫して陰性であり、赤血球では小核の増加はみられず、肺細胞では、姉妹染色分体交換や染色体異常および小核形成の頻度の増加はみられなかった。

酢酸

酢酸は、細菌を用いた遺伝子突然変異試験 (Ames テスト) において、陰性を示した (von der Hude et al., 1988)。哺乳動物の培養細胞 (CHO 細胞) を用いた試験では、酢酸の添加によって pH 値の低下が生じるためそれを中和して行われたが、染色体異常の誘発は認められなかった (Morita et al., 1990)。

変異原性の結論

酢酸メチルは、細菌を用いた変異原性試験およびラット骨髄小核試験において、陰性を示した。さらに、加水分解産物であるメタノールおよび酢酸にも、変異原性を示す所見は認められなかった。したがって、変異原性に関する懸念はなく、酢酸メチルは、変異原性について分類する必要がない。

4.1.2.8 がん原性

酢酸メチルのがん原性に関する試験データは、得られていない。

関連するデータ

メタノール

マウスを 0、10、100 ないしは 1,000 ppm のメタノールに 18 ヶ月間吸入曝露した試験では、腫瘍の有意な増加は認められなかった。ラットを同じ濃度のメタノールに 24 ヶ月間吸入曝露した場合は、雄において、肺の乳頭状腺腫または腺腫症が用量依存的に増加し、1,000 ppm 群では統計学的に有意であった (Takeda and Katoh, 1988、要約のみの報告)。

別の概要報告書 [新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO), 1987] には、日本で行われた Takeda and Katoh (1988) による試験で示されたデータと同じと思われるデータが提示されており、ラット (F344/DuCrj) やマウス (Crj:B6C3F1) の系統、用量および曝露期間が全く同じである。全身吸入曝露に関する NEDO の報告書 (1987) では、肺腺腫が高頻度に認められたが、メタノールの用量には依存しないと報告されている (雄のみについて、対照群、10、100 および 1,000 ppm 群で、それぞれ 1/52、5/52、2/52 および 6/52 匹)。この腺腫の発生頻度は、背景データの範囲内であったと報告されている。腺腫あるいは腺腫様病変がみられた動物数は、用量依存的増加を示したが、対照群に比べて有意差はなかった (5/52、6/52、7/52 および 10/52 匹)。雌の 1,000 ppm 群では褐色細胞腫が増加したが、有意ではなかった (対照群、10、100 および 1,000 ppm 群で、それぞれ 2/50、3/51、2/49 および 7/51 匹)。

以上のように、メタノールは、ラットやマウスを用いた吸入曝露試験において、がん原性を示さないと報告されている。

酢酸

酢酸のがん原性に関する動物試験のデータは、得られていない。

4.1.2.9 生殖・発生毒性

動物におけるデータ

受胎障害：データは得られていない。

発生毒性：データは得られていない。

ヒトにおけるデータ

データは得られていない。

その他の情報

ウサギでのトキシコキネティクス試験(セクション 4.1.2.1 参照)から、酢酸メチルは、血中および組織中の非特異的なエステラーゼによってメタノールと酢酸に迅速に加水分解されると考えられる。実際の酢酸メチルの血中濃度を測定した詳細な検討が、28 日間吸入曝露試験に供したラットについて行われており(HMR, 1999a)、曝露終了直後に採取した血液試料には、酢酸メチルは検出されなかった(< 4.6 µg/mL)(セクション 4.1.2.1 参照)。このデータをまとめると、未変化体自体の全身における生物学的利用能は無視して良いと思われる。したがって、酢酸メチルの生殖毒性に関しては、迅速な加水分解によって生ずる代謝産物の毒性を考慮することとなる。

酢酸

わずかなデータしか得られていないが、*in vivo* で酢酸に催奇形性は認められていない。リンゴ酢の催奇形性評価が、ウサギを用いて行われている。妊娠ウサギに毎日(妊娠 6 日から 18 日まで)最高 1.6 g/kg の被験物質を投与したが、着床および母動物や仔動物の生存率には、明らかな影響は認められなかった。投与群の軟組織および骨格組織における異常所見数は、対照群における自然発生数と差はなかった。酢酸ナトリウムを、200 mg /kg までの用量で、未孵卵処置の鶏卵の気室または卵黄内に注入した場合でも、100 mg /kg までの用量で、96

時間の孵卵処置後に鶏卵の気室または卵黄内に注入した場合でも、ニワトリ胚の発生に催奇形性影響は認められなかった〔米国技術情報局(NTIS), 1977からの引用〕。

メタノール

メタノールが生殖(受胎能/発生・発達)に及ぼす影響に関する動物試験のデータを Table 4.10 に示した。

Table 4.10 Summary of studies relevant to reproduction with methanol

Species	Protocol	Results
Rat (inhalation)	200 ppm/7 days (6 h/d)	no effects on serum testosterone, LH, corticosterone (Cameron et al., 1984)
Rat (inhalation)	200 ppm/6 weeks (8 h/d, 5 d/week); 50,200, 800 ppm/ 13 weeks (20 h/d, 7d/week)	no effects on testosterone synthesis, testis weight up to and including 800 ppm: no effects on testis (Lee et al., 1991)
Rat (inhalation)	5,000 ppm for 1, 3, 6 hours	no significant effects on serum LH, FSH, and testosterone (Cooper et al., 1992)
Mice (gavage)	1,000 mg/kg for 5 days	no effects on sperm morphology (Ward et al., 1984)
Fertility studies		
2-generation-study rat (inhalation)	10,100, 1,000 ppm (continuously)	up to and including 1,000 ppm no effects on reproductive capacity and capability NOAEC (fertility): 1,000 ppm (NEDO, 1987)
Developmental toxicity studies		
Rat (inhalation)	200, 1,000, 5,000 ppm g.d. 7-17 (continuously)	NOAEC (mat.tox.): 1,000 ppm NOAEC (dev.tox.): 1,000 ppm (NEDO, 1987)
Rat (inhalation)	5,000, 10,000 ppm g.d. 1-19 (7 h/d); 20,000 ppm g.d. 7-15 (7 h/d)	NOAEC (mat.tox.): 10,000 ppm NOAEC (dev.tox.): 5,000 ppm (Nelson et al., 1985; 1990)
Rat (inhalation)	15,000 ppm g.d. 7-19 (7 h/d)	no significant changes in postnatal neurobehavioral and neurophysiological development (Stanton et al., 1995)
Mice (inhalation)	1,000, 2,000, 5,000, 7,500, 10,000, 15,000 ppm (7 h/d) g.d. 6-15	NOAEC (mat.tox.): 5,000 ppm NOAEC (dev.tox.): 1,000 ppm (Rogers et al., 1993)
Mice (inhalation)	10,000 ppm g.d. 6-15 (6 h/d), 5,000, 10,000, 15,000 ppm, g.d. 7-9 (6 h/d), 10,000, 15,000 ppm g.d. 9-11 (6h/d)	NOAEC (mat.tox.): 5,000 ppm LOAEC (dev.tox.): 5,000 ppm (Bolon et al., 1993 ; 1994)
Rat (gavage)	1,600, 2,400, 3,200 mg/kg/d g.d. 1-8	NOAEL (mat. tox.): 2,400 mg/kg/d NOAEL (dev.tox.): 3,200 mg/kg/d (Cummings, 1993)

Table 4.10 continued overleaf

Table 4.10 continued Summary of studies relevant to reproduction with methanol

Species	Protocol	Results
Rat (gavage)	1.3, 2.6, 5.2 ml/kg g.d. 10	NOAEL (mat tox.): 2.6 ml/kg LOAEL (dev.tox.): 1.3 ml/kg (Youssef et al., 1991)
Rat (oral)	2% in drinking water (≈ 2,500 mg/kg/d) g.d. 15-17 or 17-19	no effects on the dams and on fetal development and postnatal growth, indications for behavioral abnormalities (Infurna and Weiss, 1986)
Mice (gavage)	2,200 mg/kg/d g.d. 6-15	Embryo-/ fetotoxic and teratogenic effects comparable to inhalatory exposure of 10,000 ppm (Rogers et al., 1993)

メタノールを被験物質とした受胎能試験

Sprague Dawley ラットを用いた 2 世代試験が実施されている (NEDO, 1987; Takeda and Kato, 1988 ; 両方とも概略報告書)。この試験は、1980 年 10 月に示された化学物質の試験法に関する OECD ガイドラインに準拠して行われた。各群雌雄 30 匹ずつ (F0 世代) を、1,000、100 ないしは 10 ppm のメタノールに全身連続曝露 (訳注:「連続」は 1 日に数時間ではなく 1 日中の意) した。曝露は、8 週齢から交配期間の終了まで (雄は 16 週齢以降まで)、もしくは、交配期間および妊娠期間を通じ授乳期間の終了 (雌) まで実施した。F1 世代の雄に対する曝露は、出生から交配終了 (14 週齢以降) まで、F1 の雌に対する曝露は、出生から交配期間、妊娠期間および授乳期間を通してその仔の離乳 (出産後 21 日) まで、実施した。F2 世代の雌雄も出生から 21 日齢まで曝露し、さらに各腹の仔動物の雌雄 1 匹ずつに対して、8 週齢まで曝露を実施した。原則として、1 腹あたりの仔動物数は、出産後 4 日に、8 匹に間引いた。出生後 21 日に、各腹仔から雌雄 2 匹ずつを繁殖用として選別し、その後の様々な試験に使用した。その他の動物は屠殺して剖検した。

F0 世代の観察および検査 : 全動物について、少なくとも 1 日 1 回は、臨床症状および生死の確認を行った。6 週齢から 16 週齢まで、体重、摂餌量および摂水量の測定を毎週行った。交配前の 2 週間、雌については、膣垢検査で性周期を確認した。妊娠期間中の母動物については、少なくとも 1 日 1 回、臨床症状および生死の確認、ならびに流産や早期分娩の有無の観察を行った。妊娠 0、7、14 および 20 日に、体重、摂餌量および摂水量を測定した。授乳期間には、母動物について、授乳、巣作りおよび共食いなどの、哺育行動を観察した。生後 0、4、7、14 および 21 日に、体重、摂餌量および摂水量を測定した。交配期間終了後には、全ての雄を剖検した。精巣、精巣上体、精囊および前立腺を、摘出して保存した。出産後 21 日に、すべての母動物を剖検し、着床部位の検査を行った。膣、子宮および卵巣を保存した。

F1 世代の観察および検査 : 出生時に F1 動物について、生死、性別および外表観察を行った。

さらに、一般状態や生死の観察を、離乳までの毎日、およびその後は1週間に少なくとも5日間行った。生後0、4および21日の生存仔動物数に基づき、生存率および離乳率を算出した。腹ごとの体重を、生後0および4日(間引き前)に測定した。間引き後は、個々の仔動物の体重を、4、7、14および21日に測定した。離乳から生後14週までの体重測定は、週に1回実施した。全ての仔動物について、耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣下降、膣開口など、出生後の形態学的分化指標を観察した。行動機能に関しては、間引き後の全ての仔動物について、平面立ち直り反応、同側屈筋反射、耳介反射、聴覚性驚愕反応、視覚認識反応、疼痛反応、角膜反射および懸垂能を、離乳後の適切な時期に検査した。情動性検査(オープンフィールド試験)、学習能力検査(ポールクライミング試験)、運動協調性試験(回転棒試験)などの行動機能検査を、5週齢以降に、雌雄各10匹について実施した。これらの検査の終了後、仔動物を屠殺し、剖検した。これらの検査に使用しなかった動物は、8週齢またはそれ以降に屠殺し、主要な臓器の重量を測定した。次世代の繁殖用に選択された雌については、12週齢から性周期を検査し、同群の雄と交配した。次世代繁殖用の雄は交尾確認後に、雌は出産21日以降に剖検し、主要臓器の重量を測定した。

F2世代の観察および検査 : F2の仔動物は、21日齢までの授乳期間、それぞれの母動物に哺育させ、F1仔動物と同じ方法で同じ検査を行った。各腹の雌雄1匹ずつには、離乳後も曝露を施し、8週齢の時点で剖検して主要臓器の重量を測定した。

この試験の結果は次のように報告されている。F0およびF1世代では、性周期、交尾までの期間、交尾率および妊娠率などの、受胎能の指標に統計学的に有意な差は認められなかった。F0動物およびF1で次世代繁殖用に残した動物において、出産状況や哺育行動、および剖検所見に異常はみられなかった。妊娠期間および授乳期間における、体重、摂餌量および摂水量にも差は認められなかった。

出生後の形態学的分化については、高用量群(1,000 ppm)のF1およびF2世代でやや早い精巣下降が認められた以外、異常は認められなかったと報告されている。

運動機能検査については、情動性検査(オープンフィールド試験)、学習能力検査(ポールクライミング試験)および運動協調性試験のいずれにおいても、いずれの群のいずれの世代にも明らかな異常はみられなかったと報告されている。

臓器重量については、高用量群(1,000 ppm)のF1世代の雌雄で、8週齢での剖検時に脳重量の減少がみられ、同じ変化は、F1の雄の16週齢(交配後)での剖検時、およびF1の雌の24週齢(出産および授乳後)での剖検時にも認められた。F2でも高用量群(1,000 ppm)の雌雄の8週齢での剖検で、脳、下垂体および胸腺重量の減少が認められた。しかし、臓器重量の数値が示されていないために、その変化の程度を検証することができない。なお、病理組織

学的検査では異常はみられなかったと報告されており、いずれの臓器にも曝露による影響はなかったことが示唆される。

この2世代試験の進行中に、同じ系統のラットを500、1,000ないしは2,000 ppmのメタノール蒸気に妊娠0日からF1世代を通して曝露した追加試験が行われ、脳の重量に関するデータが示された。低用量群(500 ppm)では、離乳時(3週齢)および6または8週齢の時点で、脳重量に影響は認められなかった。1,000 ppm曝露群の雄では、離乳時、6および8週齢の時点で、わずかな脳重量の減少が認められた。同群の雌でも、離乳時には同じ変化が認められたが、その後の検査時点では変化はみられなかった。2,000 ppm曝露群では雌雄とも、脳重量が3、6および8週齢の時点で、対照群よりも統計学的に有意($p < 0.001$)に低い値を示した。この2,000 ppm群の脳重量減少は、雌の仔動物ではおよそ7.7~12%、雄の仔動物ではおよそ12~14.6%に達するものであった。上述の2世代試験では、1,000 ppm曝露群において、形態学的(脳の病理組織学的)検査や、学習能検査などの機能検査で異常は認められなかった。このことを考慮すると、この1,000 ppm群の微妙な脳重量の変化は、毒性学的に特に意義のあるものとは考えられない。

以上のように、この試験の結果全体から、メタノールへの連続吸入曝露による、受胎能に関するNOAECは1,000 ppm(1,300 mg/m³)、発生毒性に関するNOAECも1,000 ppm(1,300 mg/m³)と判定することができる。

メタノールでの発生毒性試験

Sprague Dawley ラットを用いた吸入曝露による催奇形性試験(NEDO, 1987 ; Takeda and Kato, 1988 ; 両者とも概要報告書)が、日本の厚生省発行の医薬品の毒性試験ガイドライン(1984)に従って行われている。母動物を、妊娠7~17日の間、5,000、1,000ないしは200 ppmのメタノールに曝露した(連続全身曝露)。この試験では、2セットが、別々に並行して進められた。各曝露濃度群のそれぞれについて、合計36匹の母動物を分け、1セット目には12匹を割り当てて曝露し、自然分娩させて離乳(21日齢)まで哺育させた。2セット目には残り(20~24匹)を割り当てて曝露し、妊娠20日で屠殺した。

妊娠期間中、母動物の一般状態および生死について、1日1回観察を行った。体重、摂餌量および摂水量を、妊娠0、7、14、17および20日、ならびに出産後0、4、7および21日に測定した。2セット目の母動物は妊娠20日に帝王切開を行ってから剖検し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存および死亡胎仔数について検査した。着床前および着床後損失率を、それらの得られたデータから算出した。自然分娩させた1セット目の母動物については、哺育期間中、一般状態および授乳、巣作り、食殺などの哺育行動について観察した。哺育期間終了後、母動物を剖検し、着床後生存率を、着床数から算出した。

帝王切開で取り出した生存胎仔については、性別を判定し、口腔内を含む外表異常について観察し、体重を測定した。胎仔のそれぞれ半数を、内臓および骨格検査に供した。自然分娩仔(F1)については、生存数および死産数、性別および出産時の異常の有無について検査した。生後4日目に1腹あたり8匹に間引きし、離乳までは毎日、その後は少なくとも週に5日、一般状態および生死を観察した。生後0~4日の生存率(新生仔生存率)、および生後4~21日の生存率(離乳率)を算出した。生後21日目に、仔動物を母動物から離し、雌雄別に飼育して、その後の検査に使用した。体重は、生後0および4日(間引き前)は、1腹ごとに測定し、生後4、7、14および21日には個体別に測定した。離乳後も、毎週1回、個体別に体重測定を行った。仔動物について、出生後の形態学的分化(耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣下降および陰開口)を観察した。間引き後、離乳前の適切な時期に、すべての仔動物について、運動機能検査として、平面立ち直り反応、同側屈筋反射、耳介反射、角膜反射、驚愕反射、視覚認識反応、疼痛反応、および懸垂能を観察した。5週齢時に、約半数の仔動物について、区画移動、立ち上り、洗顔、毛づくろい、排便および排尿行動を、円形オープンフィールドで3分間観察した。6週齢時には、学習能を評価するために、1日10回のポールクライミング試験(条件回避反応試験)を5日間にわたって実施した。7週齢時には、回転筒上における3分間あたりの歩行距離や落下頻度を計測した。これらの検査後に、仔動物を剖検した。

運動機能検査に使用しなかった動物は8週齢で剖検し、主要臓器の重量を測定した。

高用量群(5,000 ppm)の母動物に明らかな毒性影響が認められた。それらは、体重増加量の減少(対照群よりも20 g少ない)、妊娠期間中の摂餌量および摂水量の減少、妊娠期間の延長(平均0.7日)、および死亡例の発現(妊娠18および19日にそれぞれ2匹)であった。

妊娠20日で屠殺した動物では、高用量群(5,000 ppm)で多くの後期吸収胚がみられ、1腹あたりの生存胎仔数(12.9 ± 4.0)が対照群(15.0 ± 1.6)に比べて有意に少なく($P < 0.05$)、その他の群に比べても少なかった。この群における着床数に対する後期吸収胚の割合は、1腹当たり10.4%で、対照群の0.6%に比べて有意に高く、生存胎仔の体重も有意に低かった($P < 0.05$)。

自然分娩した動物では、高用量群(5,000 ppm)の生存仔数(12.6 ± 2.5 /腹)が、対照群(15.2 ± 1.6 /腹)に比べて有意に少なく、着床後の胚生存率(86%/腹)も対照群(96%/腹)より有意に低かった。

胎仔検査では、高用量群(5,000 ppm)において、内臓および骨格の異常が認められた。具体的には、心室中隔欠損(1腹あたりの平均発生率は48%; 20腹中16腹で発生)、頸肋(1腹あたりの平均発生率は65%; 20腹中19腹で発生)、頸部大動脈弓肋横突孔閉鎖(1腹あたりの

平均発生率は 45% ; 20 腹すべてに発生)、二分脊椎(1 腹あたりの平均発生率は 15% ; 20 腹中 11 腹に発生)、およびほとんどすべての骨化パラメータの遅延などが認められた。

自然分娩された仔動物の生存率は、対照群や低用量群で 97~99%であったのに対し、高用量群(5,000 ppm)では 82%であり、高用量群では、出生後の死亡率が有意に高かった。間引き(4 日目)後は、いずれの群でも死亡は認められなかった。出生仔の形態学的発達に、明らかな相違はみられなかった。反射反応、情動性検査、学習能力および運動協調性についても、処置による変化は認められなかった。8 週齢での剖検では、高用量群の仔動物で、片側性の甲状腺委縮が 16.5%という高率で見られた。この甲状腺の片側性の変化は 5,000 ppm 群の仔動物にのみ認められ、12 腹中 8 腹でみられた。8 週齢で剖検した仔動物の臓器重量については、高用量群でいくつかの臓器に変動が認められたが、1,000 ppm 群の仔動物では、脳重量も含めていずれの臓器重量にも変化は認められなかった。

以上のように、この試験の結果全体から、メタノールへの連続吸入曝露による母体毒性に関する NOAEC は 1,000 ppm(1,300 mg/m³)であり、発生・発達毒性に関する NOAEC も 1,000 ppm(1,300 mg/m³)であると判断された。

さらに、Sprague-Dawley ラット、を 20,000、10,000 ないしは 5,000 ppm のメタノールに、妊娠 7~15 日の間(1 日 7 時間)曝露し、妊娠 20 日に屠殺した試験が行われている。母動物に対する毒性の徴候(初日の曝露後のわずかに不安定な歩行)は、高用量群(20,000 ppm)の母動物においてのみ認められたと報告されている。この妊娠動物に対する曝露では、黄体数、着床数、胎仔の死亡率または胎仔吸収率に影響は認められなかった。胎仔に関しては、10,000 ppm 群に体重の有意な減少がみられ、20,000 ppm 群では、内臓奇形(泌尿器系)および骨格奇形(椎骨欠損、頸肋)、脳脱出および脳ヘルニアの発生率増加が認められた。この試験からは、発生・発達への影響に関する NOAEC は 5,000 ppm(6,500 mg/m³)とされる。なお、その濃度での曝露期間中のメタノールの血中濃度(非妊娠ラットで測定)は、0.8~2.4 mg/mL と報告されている(Nelson et al., 1985, 1990)。

CD-1 マウスを用いた試験では、15,000、10,000、7,500、5,000、2,000 ないしは 1,000 ppm のメタノールに、妊娠 6~15 日の間(1 日 7 時間)、母動物を吸入曝露した。いずれの用量でも、曝露後の母動物には、明らかな中毒症状は認められなかった。7,500、10,000 および 15,000 ppm 群でそれぞれ 1 匹の母動物が死亡したが、用量関連性は認められなかった。5,000 ppm までの群の母動物には、変化は認められなかった。メタノール曝露群の母動物の体重増加量は、妊娠期間を通して、対照群と同等であったことから、著者は、メタノール曝露は母動物の体重に影響しないと報告している(詳細なデータは示されていない)。仔動物の観察では、頸肋の発現が用量に比例して増加し(1 腹あたりの割合が、対照群では 28.0%であったのに対し、1,000、2,000、5,000 および 15,000 ppm 群でそれぞれ 33.6、49.6、74.4 および 60.0%)、

2,000 ppm 以上の群で統計学的に有意であった。用量に比例して、口蓋裂(1腹あたりの割合が、対照群では0.21%であったのに対し、1,000、2,000、5,000、7,500、10,000 および 15,000 ppm 群でそれぞれ0.65、0.17、8.8、46.6、52.7 および 48.3%)、および脳脱出(1腹あたりの割合が、対照群では0%であったのに対し、1,000、2,000、5,000、7,500、10,000 および 15,000 ppm 群でそれぞれ0、0.88、6.9、6.8、27.4 および 43.3%)の増加がみられ、5,000 ppm 以上の群で統計学的に有意であった。着床後死亡率は、7,500 ppm 以上の群で、用量に比例して増加した。10,000 ppm 以下の群では、胎仔の体重には影響は認められなかった。この試験からは、発生・発達への影響に関する NOAEC は 1,000 ppm (1,300 mg/m³) であり、この濃度は、母動物におけるメタノールの血中濃度としては 0.06~0.13 mg/mL に相当していた (Rogers et al., 1993)。

メタノールによって誘発される神経管欠損に着目した試験が、CD-1 マウスを用いて行われている。メタノールへの吸入曝露(1日6時間)を、10,000 ppm の濃度で妊娠6~15日の間に、15,000、10,000 ないしは 5,000 ppm の濃度で最も神経系の発生が影響を受けやすい妊娠7~9日の間に、または、15,000 ないしは 10,000 ppm の濃度で妊娠9~11日の間に実施した。15,000 ppm のメタノールに曝露された群において、神経学的な母体毒性が、曝露の初日、2日目および3日目に、それぞれ20、10 および 5%の母動物に認められた。その症状は、運動失調、回転行動、斜頸、自発運動の減少などであった。この母動物の症状は、曝露終了後12時間以内に回復した。5,000 および 10,000 ppm 群では、明らかな臨床症状は認められなかった。メタノールに曝露される前の母動物の体重は、全ての群で同等であったが、曝露によって減少した。妊娠6~15日に10,000 ppm の曝露を受けた群では、 41.7 ± 1.9 g (対照群で 45.4 ± 4.3 g) であった。また15,000 ppm の曝露を受けた群では、対照群(妊娠7~9日)では 51.2 ± 0.9 g であったのに対し、妊娠7日目の曝露後で 45.3 ± 2.0 g、妊娠7~8日の曝露後で 46.1 ± 1.8 g、妊娠7~9日の曝露後で 45.9 ± 1.8 g であった。また、メタノールへの曝露により、1腹あたりの吸収胚の数が増加した。10,000 ppm で妊娠6~15日に曝露を受けた群では32.2% (対照群で4.4%)、同濃度で妊娠7~9日に曝露を受けた群では13.4% (対照群で1.1%) という増加を示した。15,000 ppm での曝露を受けた群では、対照群(妊娠7~9日)の2.7%に対して、妊娠7日目の曝露後では38.6%、妊娠7~8日の曝露後では41.9%、妊娠7~9日の曝露後では46.2%という増加を示した。さらに、妊娠17日目の胎仔体重にも減少がみられた。10,000 ppm の場合は、妊娠6~15日に曝露を受けた群で 0.81 ± 0.03 g (対照群は 0.93 ± 0.02 g) であった。15,000 ppm での曝露を受けた群では、対照群(妊娠7~9日)では 0.92 ± 0.05 g であったのに対し、妊娠7~8日目の曝露後で 0.81 ± 0.02 g、妊娠7~9日目の曝露後で 0.82 ± 0.02 g であった。仔動物の検査では、10,000 ppm を超える曝露を受けた群で、内臓奇形(腎盂拡張)および骨格奇形(口蓋裂、尾部異常)がみられた。腎盂の空洞化が、最低濃度の5,000 ppm 群から認められた(妊娠7~9日に5,000、10,000 および 15,000 ppm で曝露を受けた群で、妊娠腹数で見ると、対照群の41%に対して、それぞれ100、90 および 75%に、仔動物数で見ると

と、対照群の 4.3%に対して、それぞれ 49.5、31.2 および 44.9%)。神経管欠損(脳脱出など)が、10,000 ppm 以上の群で認められた(妊娠 7~9 日に 5,000、10,000 および 15,000 ppm で曝露を受けた群で、妊娠腹数で見ると、対照群の 0%に対して、5,000、10,000 および 15,000 ppm 群で、それぞれ 0、30 および 65%、仔動物数で見ると、対照群の 0%に対して、それぞれ 0、3.6 および 14.7%)。以上より、この試験からは、子動物の発生・発達に関する LOAEC として、5,000 ppm (6,500 mg/m³)が導出された(Bolon et al., 1993)。

妊娠 1~8 日のラットへの強制経口投与を、複数回独立試行した試験が行われている。妊娠 9、11 および 20 日に評価が実施されたが、胚や胎仔の発達ならびに新生仔の生存率について、3,200 mg/kg の用量まで影響は認められなかった。母動物では、妊娠 9 日の評価時に、最高用量群においてのみ、体重増加量に有意な減少がみられた。一方、妊娠 20 日の評価時には、いずれの群でも体重増加量に有意な変化は認められなかった。他の臨床的毒性徴候は認められなかったと報告されている(Cummings, 1993)。

メタノールを、妊娠 10 日のラットに、1.3、2.6 ないしは 5.2 mL/kg の用量で単回経口投与した試験が実施されている。5.2 mL/kg 群で、母体毒性(10%以上の体重減少)が認められた。胎仔においては、体重の減少(11~21%)、および、用量依存性の異常(停留精巣、眼の異常)の発生率増加が、より低い用量でも認められた(1.3、2.6 および 5.2 mL/kg でそれぞれ 0.6、4.8 および 6.7%)(Youssef et al., 1991、要約のみ)。

メタノールを、妊娠 15~17 日または 17~19 日のラットに飲水投与(2%溶液)した試験が行われている。約 2,500 mg/kg/日の用量に相当したが、胎仔の発達、および出生後の成長に影響は認められなかった。しかし、処置群の新生仔は、出生後 1 日の授乳開始に対照群よりも長時間を要し、出生後 10 日にはホームケージからの巣作り材料の移動に長い時間を要した(Infurna and Weiss, 1986)。

メタノールを、妊娠 6~15 日のマウスに、4,000 mg/kg の用量で経口投与した試験が行われている。メタノールは、蒸留水に溶解(12%, w/v)して、8 時と 15 時の 1 日 2 回、それぞれ 2 g/kg、すなわち 16 mL/kg 投与された。胚および胎仔に対する毒性に加えて催奇形性が認められた。例えば、口蓋裂が、対照群では 0%であったのに対し、処置群では 1 腹当たり 43.5%に認められた。また、脳脱出が、対照群では 0%であったのに対し、処置群では 1 腹当たり 28.8%に認められた。さらに、母動物の体重増加抑制が認められた(妊娠 6、8、10、12、15 および 17 日の体重が、対照群ではそれぞれ 26.4、29.8、32.1、36.1、43.6 および 48.6 g であったのに対し、処置群ではそれぞれ 26.5、29.9、31.8、35.3、37.3 および 38.1 g であった)。この用量でのメタノールの血中濃度はおよそ 4 mg/mL であり、これは同じような重篤な影響がみられた 10,000 ppm での吸入曝露の際の血中濃度と同等であった(Rogers et al., 1993)。

メタノールへのラットおよびマウスの曝露による生殖・発生毒性試験のまとめ

ラットやマウスを用いた様々な試験において、メタノールは、雄の受胎能に関する種々のパラメータに明らかな影響を示さなかった。

ラットを用いた2世代試験では10、100ないしは1,000 ppmのメタノールへの連続曝露が行われ、第1世代および第2世代の生殖能力のパラメータに、影響は認められなかった。F1およびF2世代の出生後の発達において、わずかな重量変化(脳)が、1,000 ppm曝露群でみられたが、出生後の形態的ならびに機能的発達との関連性はみられなかった。メタノールを連続吸入させた、この2世代曝露試験からは、受胎能に関するNOAECは、1,000 ppm(1,300 mg/m³)と導出された。

ラットを用いた連続吸入曝露による発生毒性試験では、5,000 ppm群で、仔動物の発生・発達に対する影響(1腹あたりの生存胎仔数や生存出生仔数の減少、後期吸収胚の増加、胎仔体重の減少、胎児の内臓および骨格異常、出生後死亡率の上昇)が、母体毒性(体重増加量の減少)とともに認められた。しかし、1段低い用量(1,000 ppm)では、そのような影響は認められなかった。ラットを間欠的に曝露した場合(1日7時間)では、10,000 ppmで、発生への影響(胎仔の内臓および骨格異常、胎仔体重の減少)が認められたが、5,000 ppmでは認められなかった。ラットを用いたこの間欠曝露試験からは、発生毒性に関するNOAECは、1,000 ppm(1,300 mg/m³)と導出された。この値は、マウス用いたいくつかの試験により支持されている。それらの試験では、2,000 ppm(1日7時間曝露)で、母体毒性は示されずに胎仔で骨格異常(頸肋)という発生毒性が誘発されたが、1,000 ppmでは、そのような影響は認められていない。

吸入経路では、メタノール曝露に対する妊娠ラットの感受性は、全日連続曝露という試験条件の方が、連日の間欠曝露(1日7時間)よりも、高いように思われた。全日連続曝露によるNEDO(1987)の試験では、5,000 ppmで、胚/胎仔毒性が示されたのと同時に、母動物にも明らかな一般状態の悪化が認められた。妊娠ラットを間欠曝露した場合では、10,000および20,000 ppmで、胎仔の内臓および骨格異常、脳脱出、ならびに脳ヘルニアが認められたが、これらの用量で、母動物には、摂餌量、摂水量および体重には明らかな影響が認められず、メタノールが、構造的異常を特異的に惹起する性質を有している可能性を示している。このことは、マウスを用いた試験の知見からも支持されるが、マウスに関しては、妊娠中に間欠曝露した場合のデータしか得られていない。マウスでは、7,500 ppm以上の濃度で、体重減少、臨床症状および死亡のような、母体毒性が生じる可能性が報告されている。しかし、胎仔の構造的な異常は、マウスでも、やはり母体毒性量より低い2,000や5,000 ppmで認められている。

マウスやラットを用いた発生・発達毒性試験において、メタノールは、母体毒性の徴候を示す曝露量や示さない曝露量で、仔動物の構造的異常を誘発することが示された。上述(セクション4.1.2.1)のように、霊長類とげっ歯類とでは、メタノール代謝に種差がある。げっ歯類をメタノールに曝露した際には血中にギ酸エステルが蓄積することはない(Kavet and Nauss, 1990)ため、げっ歯類ではメタノール自体が発生毒性を示すと思われる。

げっ歯類に対するメタノールの胎仔毒性および催奇形性については、血中濃度がマウスで 500 µg/mL (Rogers et al., 1993)、ラットで 2,000 µg/mL (Nelson et al., 1985)となるような設定で、妊娠期間中に間欠吸入曝露した試験において報告されている。これらの影響は、マウスで母動物のメタノール血中濃度が 63~130 µg/mL となるような設定で、妊娠期間中に間欠吸入曝露を行った試験(Rogers et al., 1993)、および、雌雄のラット仔動物(9 週齢)で血中濃度が 53 および 99 µg/mL となるような設定で、出生前ならびに出生後の発生・発達期に連続吸入曝露を行った試験(NEDO, 1987)では、みられていない。これらの動物試験データに対し、ヒトにおける血中メタノール濃度については、200 ppm のメタノール[職業許容曝露濃度(MAK)値]への6時間曝露を行った場合、7~8 µg/mL となることが示されている(Lee et al., 1992)。さらに、ヒトにおけるメタノール吸入の生理学的薬物動態(PBPK)モデル(Perkins et al., 1995)によれば、メタノール蒸気に8時間曝露された後のメタノールの血中濃度は、ヒトとラットやマウスのような実験動物とでは異なることが判明している。例えば、このモデルによる推測では、1,000 ppm のメタノール蒸気に8時間曝露された後のヒトのメタノール血中濃度は、マウスにおける濃度の約3.5~7分の1である。

生殖・発生毒性のまとめ

酢酸メチルの生殖・発生毒性に関するデータは得られていない。しかし、酢酸メチルが速やかに加水分解されることから、代謝物の生殖・発生毒性に基づく有害性評価は妥当である。酢酸メチルの代謝物については、まず、酢酸は、胎仔毒性も催奇形性も示されていないことから、重要性は低いと思われる。一方、メタノールでは、げっ歯類で胚/胎仔毒性や催奇形性が示されている。しかし、それはいずれも比較的高用量の場合であり、母体毒性だけが示されているものもあった。ラットを用いた2世代吸入試験(NEDO, 1987)から、受胎能に関するメタノールのNOAECは1,000 ppm(1,300 mg/m³)と導出された。酢酸メチルが直ちにメタノールにモル比1で分解されると仮定すると、受胎能に関する酢酸メチルのNOAECは、約3,000 mg/m³と算出される。間欠吸入曝露や連続吸入曝露によるマウスの試験(Rogers et al., 1993)ならびにラットの試験(NEDO, 1987)から、発生・発達毒性に関するメタノールのNOAECは1,000 ppm(1,300 mg/m³)と導出された。この値から、発生・発達毒性に関するNOAECは、約3,000 mg/m³と算出される。