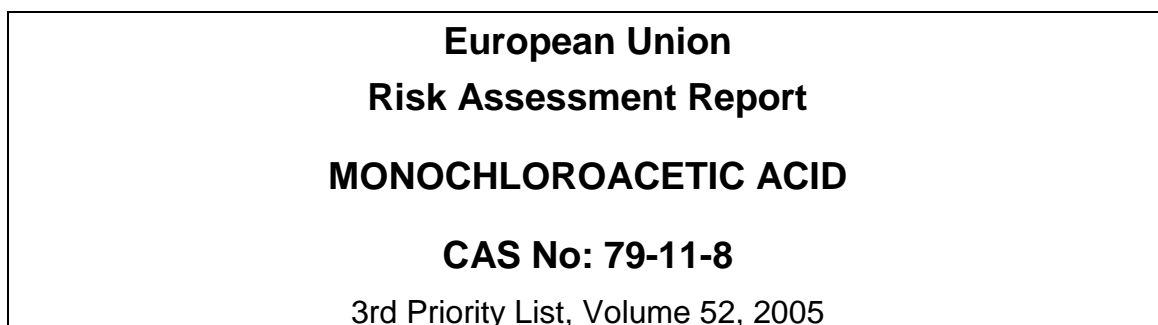


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 52, 2005)
モノクロ酢酸



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部

2013年2月

本部分翻訳文書は、monochloroacetic acid (CAS No:79-11-8)に関するEU Risk Assessment Report (Vol. 52, 2005)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/mcaareport320.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

4.1.2.1.1 動物における試験

経口投与

Sprague Dawley 雄ラット 35 匹を用い、0.06 mg/kg の[1-¹⁴C]-モノクロロ酢酸(1.0 μCi)を単回強制経口投与したところ、血漿、肝臓、腎臓、心臓、精巣および脾臓中の放射能濃度は投与後 1~2 時間で最高に達し、その後速やかに減少した($t_{1/2}$ =2~7 時間)。しかし、脳における放射能濃度は、他の臓器に比べると低値であったものの 8 時間後まで増加し続け、その後 24 時間にわたって定常状態を示した。このデータは、モノクロロ酢酸(MCAA)が経口摂取後速やかに吸収されることを示している。尿中への排泄は、主として最初の 24 時間(投与量の 51%)に認められた(Berardi and Snyder, 1983; Berardi, 1986a)。

別の試験では、雄の Swiss-Webster マウス(n=6/群)に、0.6、150 または 250 mg/kg の[1-¹⁴C]-MCAA(1.0 μCi)が投与された。その結果、MCAA は、経口摂取後速やかに吸収され、速やかに体内から排泄された。また、消失半減期は、非神経組織で 12 時間以内、CNS(中枢神経系)では 26 時間であることが明らかとなった。腸および腎臓では、他の臓器に比べ消失相の推移が早いようである。24 時間後には投与した MCAA の 32.0~59.3%が、72 時間後には 33.7~60.8%が尿中に排泄された。検出された主要な尿中代謝物は、S-カルボキシメチル-L-システインおよびチオ二酢酸であった。マウスにおける MCAA の分布パターンから、MCAA のトキシコキネティクス特性は用量依存性を示すことが示唆されている。150 mg/kg や 250 mg/kg の投与では、マウスの脳領域中の最高濃度は、血漿中濃度に非常に近い値であった(Berardi, 1986a)。

Buphendra et al.(1992)は、雄の Sprague Dawley ラット 15 匹に、0.1 mM/kg 体重の[1-¹⁴C]-MCAA (9.5 mg/kg 体重に相当)を強制単回経口投与し、MCAA の分布を検討した(媒体については

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

報告されていない)。動物は、投与後 4、8、12、24 および 48 時間の各時点で屠殺した(各時点 3 匹)。24 時間以内に、投与量の 90% の MCAA やその代謝物が尿中に排泄された。尿中排泄率および各組織中に検出された ^{14}C 標識物質の分布 (Table 4.5 を参照のこと) から、MCAA は速やかに吸収され、速やかに体内から排泄されることが示唆される。また、腸および腎臓では、他の臓器に比べ消失相の進行が早いと考えられる。最高濃度の放射能は、投与後 4 時間および 8 時間に腸および腎臓で検出され、続いて肝臓、脾臓、精巣、肺、脳および心臓の順に高い放射能が認められた。

Table 4.5 Distribution of ^{14}C -label in different tissues of rats treated with a single oral dose of 0.1 mmole/kg bw [^{14}C]CAA

Tissues	Hours after treatment				
	4	8	12	24	48
Intestine	192.1 ± 8.8	154.0 ± 4.5	16.1 ± 0.8	8.5 ± 0.6	4.0 ± 0.1
Kidney	191.5 ± 13.8	156.3 ± 4.8	33.6 ± 1.3	16.1 ± 0.3	10.5 ± 0.6
Liver	79.0 ± 0.9	90.5 ± 3.0	35.4 ± 1.3	21.1 ± 0.8	15.5 ± 0.2
Spleen	53.7 ± 2.0	42.4 ± 5.3	19.3 ± 0.5	9.4 ± 0.4	6.2 ± 0.4
Testes	26.0 ± 1.1	21.0 ± 1.2	8.7 ± 0.7	4.2 ± 0.2	3.8 ± 0.1
Lung	24.0 ± 0.6	24.6 ± 0.9	14.8 ± 2.0	8.4 ± 0.5	7.6 ± 0.1
Brain	16.4 ± 0.9	18.9 ± 0.5	14.5 ± 0.5	7.8 ± 0.6	4.5 ± 0.4
Heart	12.3 ± 0.2	10.6 ± 0.5	6.1 ± 0.3	4.6 ± 0.5	4.3 ± 0.2

The values are mean ± SD of three animals expressed as nmole/g tissue

別に雄ラットの 2 群 (n=3/群) を設け、1 mM/kg 体重 (95 mg/kg 体重に相当) の [^{14}C]-MCAA を、1 日 1 回、1 日ないしは 3 日間強制単回経口投与した (媒体は不詳)。1 回目ないしは 3 回目の投与から 24 時間後に動物を屠殺し、[^{14}C]-MCAA の組織分布を検討した。この結果、[^{14}C]-MCAA に単回曝露した場合、24 時間後の種々の組織中の ^{14}C 標識物質の濃度は、1 mmole/kg 体重投与群では 0.1 mmole/kg 体重投与群の 1.4~3.8 倍高い値を示した (Table 4.6 を参照)。分布パターンは、両群で類似していることが明らかにされた。また、高用量を 3 回投与した群における投与 24 時間後の組織中 ^{14}C 標識物質濃度にも、肝臓および脾臓を除き、同用量の単回投与群に比べ有意な増加が認められたこのデータは、MCAA が用量依存的に組織に蓄積することを示している。なお、高用量群における投与後の尿中排泄については報告がなく、高用量を 1 日 1 回、3 日間投与したときの組織分布に関する詳細データは示されていない。

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

Table 4.6 Distribution pattern of ^{14}C -label in different tissues after 24 hr of single oral doses of 0.1 and 1.0 mmole/kg bw [^{14}C] MCAA to rats (Buphendra et al., 1992)

Tissues	Doses (mmole/kg bw)		Ratio of ^{14}C -label (1.0/0/1)
	0.1	1.0	
Kidney	16.1	57.7	3.6*
Liver	21.1	53.7	2.5*
Intestine	8.5	32.1	3.8***
Lung	8.4	18.9	2.3**
Spleen	9.4	17.8	1.9*
Heart	4.6	13.5	2.9**
Brain	7.8	10.7	1.4*
Testes	4.2	8.0	1.9

Values are mean values of 3 animals in each group and expressed as nmole/g tissue.
P-values: * ≤ 0.05 , ** ≤ 0.01 , *** ≤ 0.001 for differences between the two dose levels.

経皮投与

マウス (Swiss-Webster) を用いた試験が行われている。400 mg/kg の融解した MCAA (65°C) で皮膚を 2 分間前処置してから同部位に 0.6 mg/kg の [^{14}C] MCAA を 3 分間適用した場合、前処置を行わなかった場合に比べ皮膚吸収が有意に増加したことが報告されている。しかし、282 mg/kg の [^{14}C] MCAA を 25°C または 65°C の水溶液として 3 分間皮膚適用した場合には、適用 6 時間後のマウスの血漿、全脳、皮膚および尿中の放射能濃度には、25°C 群と 65°C 群との間で有意差は認められなかった (Berardi, 1986a)。

皮下投与

雄の Sprague Dawley ラット (n=3) に 162 mg/kg 体重の [^{14}C] MCAA (媒体については報告されていない) を単回皮下投与したところ、肝臓および腎臓で血漿中濃度を上回る放射活性が検出されたことが報告されている (投与の 4~128 分後)。また、心臓および脳の総放射活性は、血漿中濃度と同様であった。

53 mg/kg 体重の [^{14}C] MCAA を投与した場合も、前述の高用量の場合と同様の分布パターンが認められた。この低用量 (53 mg/kg) の場合には、血漿中の放射能は投与後 32 分で最高濃度に達し、血漿からの放射能の消失は二相性を示した (半減期は急性相で約 90 分、緩徐相で 500 分)。腎臓の皮質および髄質には、ほぼ同濃度の ^{14}C -MCAA が認められた。MCAA 投与の 17 時間後までに、投与した放射能 (53 mg/kg 体重) の約 50% が尿中に回収された (Hayes et al. 1973)。

腹腔内投与

Yllner(1971)は、雌マウス(系統および動物数については報告されていない)に、70、90 または 100 mg の $[1-^{14}\text{C}]$ -MCAA(水に溶解)を、腹腔内投与した。投与後3日間で、投与量の82~88%が尿中に、8%が CO_2 として呼気中に、0.2~3%が糞中に排泄され、2~3%は動物の体内に残留していた。尿のペーパークロマトグラフィーの結果、MCAAの主要代謝物はS-カルボキシメチル-L-システイン(遊離型33~43%、抱合型1~6%)およびチオ二酢酸(33~42%)であることが示され、他に少量のグリコール酸(3~5%)およびシュウ酸(0.1~0.2%)が認められた。著者らは、MCAAの代謝に関し、以下の2つの代謝経路を示唆した(**Figure 4.1**を参照)。1) 主要代謝経路では、まずS-カルボキシメチルグルタチオンが生成され、続いてS-カルボキシメチルシステインに変換される。S-カルボキシメチルシステインの一部は、さらにチオ二酢酸にまで代謝される。2) 非主要代謝経路では、おそらく炭素-塩素結合の酵素的加水分解によってグリコール酸が生成され、この大部分は二酸化炭素に酸化される。

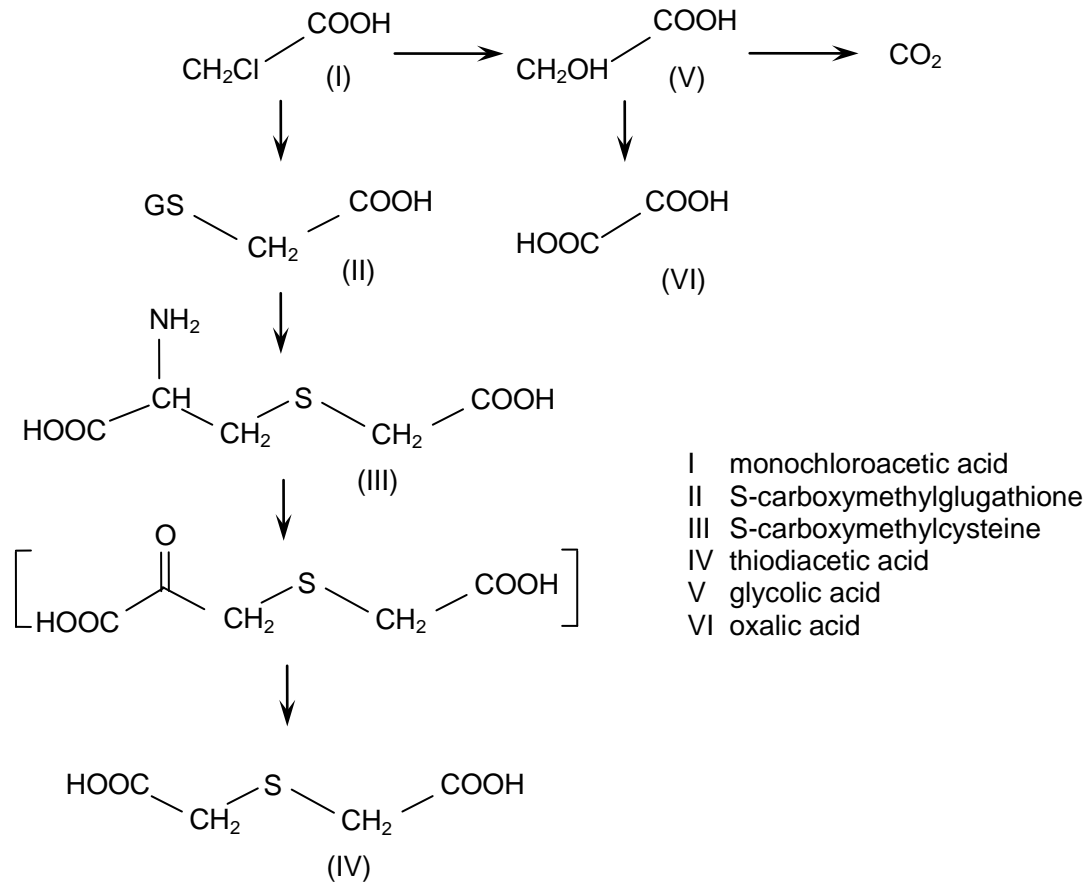


Figure 4.1 Suggested metabolic pathways of MCAA in the mouse. The compounds in brackets were not isolated (Yllner, 1971)

静脈内投与

Bhatet al.(1990)による全身オートラジオグラフィ試験では、Sprague Dawley ラット(1群3匹、性別不明)に0.07 mg/kg 体重の[1-¹⁴C]-MCAA(溶媒は10%炭酸ナトリウム溶液)を単回静脈内投与し、5分後、1、4、12、24 および 48 時間後の各時点で動物を屠殺した。この結果、循環血中の放射能は速やかに消失し、5分後にはすでに肝臓および排泄系に高濃度の¹⁴C放射能が認められた。MCAA やその代謝物は、排泄器官の壁(例えば腎皮質、胃壁など)、および頸部の背側上部など特定の部位の褐色脂肪中に存在しており、高濃度の¹⁴C放射能が心筋組織に認められた。[¹⁴C]-MCAA 投与の1時間後には、放射能の多くは小腸内腔に排泄された。脳、胸腺、唾液腺および舌では、1時間後に[¹⁴C]-MCAA の蓄積が顕著に認められた。4時間後には、肝臓およびその他の組織の大部分の放射能が排泄され始めた。他の組織と異なり、中枢神経系、胸腺および膵臓への放射能の分布は、これより遅れて認められた。これらの結果から、MCAA やその代謝物の蓄積は、親水性組織では早期に起こるが、親油性組織ではこれより遅れて起こることが示唆された。この試験の報告は限られており、各組織中の実際のMCAA濃度に関する情報は示されていない。

成熟雄ラットに低毒性量および毒性量(それぞれ10 mg/kg 体重および75 mg/kg 体重)の[¹⁴C]-MCAA を静脈内投与し、MCAA の分布、代謝および排泄を検討した結果が報告されている(Saghir et al., 2001)。この試験ではまた、胆管カニューレを挿入した別のラット群を用い、胆汁中排泄が検討された非挿管群では、血漿ならびにその他の組織、器官およびいくつかの器官の内容物(胃、小腸および大腸)の放射能を測定し、血漿および尿(膀胱内の尿を含む)については、MCAA そのものの濃度も分析した。加えて、胆汁中および尿中の代謝物の分析を行った。血漿データの分析には、コンパートメントモデル解析が用いられた。1-または3-コンパートメントモデルよりも、2-コンパートメントモデルを用いた場合に、最適なデータが得られた。この試験の中で行われた用量設定試験(10~125 mg/kg 体重)では、毒性の発現が非常に急激に認められた。50 mg/kg 体重以下の投与群では明らかな毒性徴候は認められなかったが、60 mg/kg 体重投与群では43%、70 mg/kg 体重投与群では50%を超えるラットが昏睡状態となった後に死亡した。昏睡および死亡までの平均時間は、各群でそれぞれ70分および75分であった。70~100 mg/kg 体重までの用量の投与群における死亡率はほぼ同じであり、用量反応は明確ではなかった。また、110 mg/kg 体重以上の用量では、投与を受けたラットの100%が死亡した。昏睡状態に陥ったが投与後90分以内に死亡しなかった動物の大半は、突然意識を取り戻して回復した。

10 mg/kg 体重および75 mg/kg 体重(動態試験に採用された用量)を静脈内投与したところ、放射能およびMCAA は非常に急速に組織に分布した。5分後に全身循環血中に残留していた放射能は、低用量群および高用量群で、それぞれ投与量の0.6%および1.0%(血液1 mL 当たり)にすぎなかった。血漿中の放射能の大半はMCAA の未変化体であり、赤血球との結

合はごくわずかであった(赤血球 1 g 当たり、投与量の 0.08% 未満)。多くの臓器において、 t_{\max} は 15 分未満であり、5 分未満である臓器も認められた。小腸内容物および尿中でのみ、 t_{\max} 値はこれを上回り、それぞれ 45 分および 16 時間以上であった。また、血漿中の MCAA の総量および未変化体量の AUC (濃度 - 時間曲線下面積) は、75 mg/kg 体重投与群で 10 mg/kg 体重投与群の 22~23 倍大きく、予測された 7~8 倍(用量の比に相当)をはるかに上回ったことから、用量の増加に伴い、分布やクリアランスが緩徐になることが示された。低毒性量投与群の肝臓および腎臓には、毒性量投与群に比べ高濃度の放射能が検出された。血漿、肝臓、心臓、肺および褐色脂肪中の放射能濃度は、特に 10 mg/kg 体重投与群では互いに平行して変化したが、脳および胸腺では、血漿中に比べやや遅れて推移した。肝臓中の放射能濃度は、低用量群および高用量群で、それぞれ 5 分以内および 15 分に最高値を示した。また、腎臓中の放射能濃度は、各群でそれぞれ 45 分および 4 時間に最高値を示した。消失速度定数および分布速度定数は、毒性用量では大幅に減少した。毒性用量投与群では、大部分の組織で平均滞留時間が延長したことから示されるように、末梢コンパートメントでの MCAA の滞留が増高したため、同群における排泄はさらに遅延した。消化管内容物には投与量のかなりの分量が検出され、その大部分は再吸収されたが、その分画についても同様の傾向が認められた。腸肝循環(これにより再曝露が生じる)を活性炭またはコレステラミンを用いて阻害することによる、100 mg/kg 体重投与時の毒性抑制が試みられたが、効果は認められなかった。胆汁中には MCAA 代謝物が排泄され、解毒が 1 段階進んでいることが判明した。胆汁中に検出された放射能は、親化合物よりも高い極性を有する 1 つの代謝物に由来するものであった。投与量のかなりの分量が尿中に検出され(低用量群で 73%、高用量群で 59%)、そのうち 55~68% は MCAA の未変化体であった。データにより、MCAA に曝露されたラットにおける突然の昏睡や死亡は、肝臓の解毒能が急激に限界に達したために起こることが示されたことから、MCAA の毒性発現の律速段階は、肝臓における解毒作用であると同定された。

酵素阻害

Hayes et al. (1973) は、MCAA による [1-¹⁴C]-酢酸の酸化阻害を検討した *in vitro* 試験を行い、MCAA は非競合的に酢酸酸化を阻害したことを報告した。

モノフルオロ酢酸 (MFAA) は、ミトコンドリア酵素アコニターゼの阻害物質であることが知られている。そこで、Bryant et al. (1992) は、F344 雌ラット(被験群:n=3 ; 対照群:n=6) を用い、MCAA の 24、48 ないしは 96 mg/kg 強制単回経口投与が及ぼす、心臓および肝臓におけるアコニターゼ活性への影響を検討した。投与の 1.5~2 時間後に肝臓および心臓を摘出して、それぞれのアコニターゼ活性を測定した。その結果、MCAA は心臓ではアコニターゼ活性を阻害したが、肝臓では阻害はみられなかった。ラットを用いた 13 週間反復投

与毒性試験で心筋症の発症が観察されており、著者らは、アコニターゼ活性の阻害と心筋症発症との関連性を示唆している(NTP, 1992)。

ラットの肝切片を用いた *in vitro* の試験で、0.1 mM の MCAA により、[U-¹⁴C]-アラニンからグルコースへの放射標識の取り込みが阻害されたが、ケトン体および ¹⁴CO₂ の生成には影響がみられなかったことが示された。このデータから、MCAA がピルビン酸カルボキシラーゼを特異的に阻害することにより糖新生を抑制することが示唆された(Doedens and Ashmore, 1972)。

Dierickx (1984) は、グルタチオンおよび 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンを基質として用い、MCAA とラット肝グルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST)との *in vitro* での相互作用を検討した。その結果、MCAA は粗抽出物中の GST 活性を用量依存性に阻害した。各種 GST アイソザイムがそれぞれ阻害された。阻害は用量依存性を示したが、直線性のもではなかった。GST への直接的な共有結合が主要な相互作用機序と考えられ、この結合が MCAA に対する防護の役割を果たすことが示唆された。トキシコキネティクスおよび代謝に関するデータにより、GST への結合は MCAA の代謝過程の一段階であることが示された。したがって、MCAA は自身の代謝を抑制する物質であると考えられる。

αMCAA は、単離したラット心臓ミトコンドリアのピルビン酸デヒドロゲナーゼ(PDH)および α-ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ(KGHD)のいずれも阻害することが示された。この阻害作用は長時間のインキュベーションを行った場合にのみ認められ、その正確なメカニズムについては未だ明らかにされていない。PDH と α-KGHD の両者が阻害されることにより細胞のエネルギー産生が大きく影響を受け、細胞が嫌気性解糖に移行する結果、乳酸が蓄積すると考えられる(ECETOC, 1991 で言及されている)。

脂質との相互作用

Bhatand Ansari(1988)は、[¹⁴C]-MCAA を用い、ラット肝ミクロソームと MCAA をコエンザイム A(CoA)およびアデノシン三リン酸の存在下でインキュベーションすることにより、*in vitro* における MCAA と脂質の相互作用を検討した。この結果、放射能の大半がリン脂質に取り込まれることが明らかにされた。

Bhat and Ansari(1989)はまた、別の試験で、*in vivo* における MCAA とラット肝脂質の共有結合性相互作用を検討した。この試験では、ラットに 8.75 mg/kg (50 μCi)の[1-¹⁴C]クロロ酢酸を単回経口投与し、投与の 24 時間後に動物を屠殺した。肝臓から抽出した脂質は、Sep-Pak シリカカートリッジを使用した固相抽出により、中性脂質とリン脂質とに分離した。この試験により、MCAA はコレステロールと結合してコレステロールクロロアセートを形成

し得ることが示された。また、MCAA は、優先的に中性脂質と反応した。細胞膜に対するこのような抱合反応の影響および毒性への寄与については明らかにされていないが、抱合体はより脂溶性の高い生成物であることから、排泄されるよりも滞留しやすい傾向があると考えられる。

スルフヒドリル基との相互作用

Hayes et al.(1973)は、*in vivo* および *in vitro* における、MCAA とシステインのスルフヒドリル(SH)基との相互作用を検討した。この結果、*in vitro* では、MCAA によるシステイン SH 基の有意なアルキル化は認められなかった。*In vivo* では、LD₉₀ 量の MCAA の経口投与により、ラットの肝臓中の総 SH 含量が約 30%減少したが、このとき、脳および心臓の SH 濃度には影響が認められなかった。ラットの肝臓では、タンパク質画分にも非タンパク質画分にも、MCAA との結合が認められた。ラット肝における MCAA の各種 SH 基への結合量は時間とともに増加し、総 SH 含量は、120 分で対照値の約 50%にまで低下した。また、ラット腎臓の皮質および髄質においても、MCAA 投与の 84~120 分後に総 SH 含量の有意な低下が認められたが、これらの時点では、脳および心臓の SH 基のアルキル化には影響が認められなかった。

4.1.2.1.2 ヒトにおける知見

Dancer et al.(1965)は、炭素 14 で標識された高温のクロロ酢酸によって皮膚の汚染を受けたヒトの事例を報告している。この事例では、事故後、火膨れした皮膚汚染部位の計測、ならびに血液中、呼気中および尿中の ¹⁴C 標識物質濃度の測定が行われた。紅斑などの他の損傷は認められず、創傷は通常の時間内に治癒した。約 300 μCi の ¹⁴C 標識物質(MCAA 0.002 mL に相当)が尿中に排泄され、呼気中への排泄もこれとほぼ同量であると算出された。MCAA の尿中排泄の半減期は、約 15 時間であった。事故の 17.5 時間後に採取された血液サンプルでは、放射能の大半は血漿中に残存しており、分離した赤血球に認められた放射能は 20%未満であった。また、この血液サンプル中の ¹⁴C 濃度は事故後最初の 24 時間に採取された尿中の濃度よりもはるかに低かったことから、血液中の放射能は非常に速やかに尿中に移行することが示唆された。6 日後には、血液中に検出された放射能はごくわずかであった。なお、経皮吸収率の推定は行うことができなかった。

4.1.2.1.3 結論

MCAA のトキシコキネティクス、代謝および分布に関する試験の大半は報告内容が不十分であること、および大部分の試験が比較的高用量(LD₅₀に近い用量)を設定して実施されたことに留意が必要である。なお、吸入曝露後の MCAA のトキシコキネティクス、代謝および分布に関する情報は得られていない。また、ヒトにおいては、経皮曝露での乏しい定性的データが、症例報告 1 例から得られているだけである。

ラットを用いた試験では、¹⁴C-MCAA の経口曝露を受けた後、投与量の少なくとも 90% が消化管から吸収された。経皮曝露については、得られた毒性データ(4.1.2.2 項を参照)により、ラット、ウサギおよびヒトでは皮膚からの吸収が速やかであることが示されているが、それらのデータから経皮吸収速度または経皮吸収率を推定することはできなかった。したがって、リスクの総合判定においては、経皮吸収率を 100% とする。また、吸入曝露に関する毒性データからは、吸入による吸収速度または吸収率についての結論が得られていないが、1 件の吸入試験で高い毒性が認められたこと、および MCAA は低分子量の化合物であることを考慮し、リスク総合判定においては吸入による吸収率を 100% とする。

放射性標識物質は吸収されると速やかに組織に分布し、腸、腎臓および肝臓に最も高濃度に認められた。また、中枢神経系にも放射性標識物質が認められ、血液-脳関門を通過することが示された。分布パターンについては、最初に脂肪の少ない組織に急速に分布し、続いて、脳のような脂肪を多く含む組織に取り込まれることが明らかにされた。種々の用量および曝露経路について試験が行われたが、分布パターンに相違は認められなかった。高用量の ¹⁴C-MCAA で反復曝露した場合、単回曝露した場合と比較して、組織内に検出された放射能は有意に増加した。皮下投与後の血漿中からの放射能の消失は、二相性を示した。

¹⁴C-MCAA をラットに静脈内投与したところ、放射性標識物質は非常に急速に組織に分布した(t_{max} は、ほぼすべての臓器で 15 分未満)。また、血漿中の MCAA の総量および未変化体量の AUC(濃度 - 時間曲線下面積)は、75 mg/kg 体重投与群で 10 mg/kg 体重投与群の 22~23 倍大きく、予測された 7~8 倍(用量の比に相当)をはるかに上回ったことから、用量の増加に伴い、分布やクリアランスが緩徐になることが示された。また、高用量群で肝臓および腎臓に用量比を上回る MCAA が検出されたことから、毒性用量では、解毒能および排泄能がそれぞれ限界に達していたことが示された。

放射性標識物質は、主として尿を介して速やかに排泄された。呼気中および糞中にも排泄が認められた。ラットにおいては、経口投与で 24 時間以内に投与量の 90% が、腹腔内投与(吸収率 100%)では投与後 3 日以内に 82~88% が、皮下投与では投与後 17 時間で投与量の 50% が尿中に回収された。マウスにおいては、経口投与後 72 時間で 34~61% が尿中に排泄

された。また、ヒト(1例のみ)においては、 ^{14}C 標識 MCAA による皮膚汚染を受けた後の、放射性標識物質の尿中排泄の半減期は約 15 時間であり、尿中および呼気中への排泄量はほぼ同量であった。

MCAA の代謝に関しては、2 つの経路が示唆された。主要代謝経路では、まず S-カルボキシメチルグルタチオンが生成され、続いて S-カルボキシメチルシステインに変換される。S-カルボキシメチルシステインの一部は、さらにチオ二酢酸にまで代謝される。また、非主要代謝経路では、おそらく炭素 - 塩素結合の酵素的加水分解によってグリコール酸が生成され、この大部分は二酸化炭素に酸化される。

MCAA は、酢酸の酸化に関わる酵素、アコニターゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ、 α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ、およびグルタチオン S-トランスフェラーゼといった、種々の酵素を阻害することが示されている。アコニターゼ活性の阻害により心筋症が発症される可能性、および、ピルビン酸カルボキシラーゼの阻害により糖新生が抑制される可能性が示唆された。また、MCAA は、少なくとも *in vitro* においては、ピルビン酸デヒドロゲナーゼおよび α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼを阻害するため、これらの酵素の両者が阻害されると細胞のエネルギー産生が障害され、嫌気性解糖に移行する結果、乳酸が蓄積すると考えられる。グルタチオン S-トランスフェラーゼの阻害に関しては、MCAA との主要な相互作用は GST への直接的な共有結合であると結論され、この結合が MCAA に対する防護の役割を果たすものと考えられた。GST への結合は MCAA の代謝過程の一段階であることから、MCAA は自身の代謝を抑制すると結論付けられる。

MCAA と脂質との相互作用も確認されており、MCAA は主としてリン脂質に取り込まれることが明らかにされた。また、MCAA はコレステロールと結合してコレステロールクロロアセタートを形成し得ることが示された。抱合体はより脂溶性の高い生成物であることから、このような抱合反応の影響により、排泄されるよりも保持されやすくなると考えられる。

高用量(LD₉₀)の MCAA をラットに投与することにより、肝臓および腎臓における各種 SH 基のアルキル化が起こることが示されている。

4.1.2.2 急性毒性

重要と思われる急性毒性試験の概要を、Table 4.7 に示す。

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

Table 4.7 Acute toxicity

Route	Species	LD50/LC50	Unity	Reference
Oral (gavage, 1% conc. in water)	rat (female, Wistar)	90	mg/kg bw	Hoechst AG (1979a)
Oral	rat (sex and strain unknown)	277.5	mg/kg bw	Kurcatov and Vasileva (1976)
Oral (gavage, 10% concentration)	rat (sex and strain unknown)	55	mg/kg bw	Maksimov and Dubinina (1974)
Oral	mouse (male, Swiss-Webster)	260	mg/kg bw	Berardi et al. (1987)
Oral	mouse (male, strain unknown)	300	mg/kg bw	Berardi and Snyder (1983)
Inhalation (exposure time not reported, according to KEMI (1994) 4 hours)	rat (sex and strain unknown)	180	mg/m ³	Maksimov and Dubinina (1974)
Inhalation (1 houけ)	rat (male and female F344)	>259	mg/m ³	Streeter et al. (1987)
Dermal (1%, 5%, and 40% concentration in 0.9% NaCl)	rat (female, Wistar)	1% c.: >100 5% c.: >400 40% c.: 305	mg/kg bw	Hoechst AG (1979b)
Dermal (50% concentration in 0.9% NaCl)	rabbit (sex unknown, Albino-Himalayan)	250	mg/kg bw	Hoechst AG (1979c)
Subcutaneous (50% concentration in 0.9% NaCl)	rat (female, Wistar)	97.4	mg/kg bw	Hoechst AG (1979d)
Subcutaneous	rat (male, Sprague-Dawley))	5	mg/kg bw	Hayes et al. (1972)
Subcutaneous	rat (sex and strain unknown)	108	mg/kg bw	Hayes et al. (1973)
Subcutaneous	mouse (male, Swiss Webster)	130	mg/kg bw	Berardi (1986a)
Subcutaneous	mouse (male)	150	mg/kg bw	Berardi and Snyder (1983)
Intravenous	rat (male, Sprague-Dawley)	75	mg/kg bw	Elf Atochem (1995)

4.1.2.2.1 動物における試験

経口投与

ラットにおける LD₅₀ 値は 55~277.5 mg/kg 体重 (Hoechst AG, 1979a; Kurcatov and Vasileva, 1976; Maksimov and Dubinina, 1974)、マウスにおける LD₅₀ 値は 260~300 mg/kg 体重 (Berardi et al., 1987; Berardi and Snyder, 1983) であることが示されている。

大半の試験は詳細が報告されておらず、引用文献のいくつかは古いものであるかまたは要約しか入手できていないが、MCAA は、飲み込むと有毒な物質に分類すべきであると考え

るのが妥当である。

雌の Wistar ラット(各群 10 匹)に、40、63、100 または 160 mg/kg 体重を単回強制経口投与した試験では、曝露後 120 分～24 時間に死亡例が認められた(LD₅₀: 90 mg/kg 体重)。瀕死動物では、毒性徴候として神経行動の変化、流涙および脈動呼吸が認められた。生存ラットにおいても同様の影響が観察されたが、重症ではなく、48 時間以内に回復がみられた。肉眼的検査では、死亡例では肝臓、肺、胃および脾臓の褪色化が認められたが、生存例では変化が認められなかった(Hoechst AG, 1979a)。10%MCAA 溶液の単回経口曝露(強制投与)による LD₅₀ 値は、55 mg/kg 体重であった。著者らは、死亡の原因は局所的な損傷であると述べているが、詳細な説明はなされていない(Maksimov and Dubinina, 1974)。マウスに 320～380 mg/kg 体重を単回経口投与した試験では、生存動物の 10%に前肢の硬直が認められた。前肢の硬直を示した動物は、MCAA 投与の 48 時間後、2、5 および 8 週間後に屠殺し、脳組織の組織学的検査を行った。この結果、脳のいくつかの領域(特に小脳)で毛細血管外に赤血球が認められたことから、投与の 48 時間後には血液 - 脳関門(BBB)の障害があったことが示唆された。このことは、300 mg/kg 体重の MCAA をマウスに経口投与した結果、静脈内投与した [¹⁴C]-インスリンおよび [³H]-ドパミンの脳の全領域への移行量が増加したことにより確認された。著者らは、神経機能障害および死亡のいずれも、マウスの BBB の障害によるものであると述べている。この試験における LD₅₀ は 260 mg/kg 体重、LD₈₀ は 380 mg/kg 体重と算出された(Berardi et al., 1987; Berardi, 1986a+b)。雄マウスに 300 mg/kg 体重(LD₅₀ 値に相当)の MCAA を経口投与した試験では、振戦および呼吸抑制が認められ、ときに強直性間代性痙攣がみられた。また、複数の生存動物で、(曝露の)24 時間後に挙尾、重度の振戦および前肢の麻痺が認められた(Berardi and Snyder, 1983)。

吸入

Hercules Inc.は、アルビノラット(Charles River)、白マウス(Swiss)およびモルモット(English)を用いて行った、MCAA の急性蒸気吸入毒性試験を 2 件報告している(1969c+d)。これらの試験では、MCAA の原液を 75°C に熱して蒸気を発生させた。その後、動物を 24°C、平均濃度 3.1×10^4 mg/m³ の設定で 1 分間(各動物種 2 匹ずつ)、または 24°C、 2.7×10^4 mg/m³ の設定で 3、5 ないしは 10 分間(各動物種 3 匹ずつ)曝露した。対照群は設けられなかった。被験動物に死亡例はみられなかった。1 分間曝露群では曝露の 5～60 分後に、5 分間曝露群および 10 分間曝露群では曝露中に、すべての動物に軽度の流涙および鼻汁分泌が認められた。また、剖検では、肺に多少の充血が認められた。これらの試験では、曝露時間が短かく、かつ各試験群の動物数が十分ではなかったため、MCAA の EC 分類にはこの試験結果を使用することはできない。

Streeter et al. (1987)は、雌雄の F344 ラット (1 群雌雄各 6 匹)における急性吸入試験の報告をしている。MCAA の物理学的特性のため、蒸気濃度の検出限界は 66 ppm、飽和状態 (20°C) における MCAA 蒸気濃度は約 137 ppm であった。66 ppm で 1 時間曝露した後、そのままの状態動物の観察と体重測定を行った。曝露中、すべてのラットに斜視およびわずかな嗜眠傾向が認められた。曝露後には、会陰部の尿染および体重減少が一過性に認められ、曝露に対する典型的な非特異的ストレス反応であることが示唆された。2 週間の曝露後観察期間の終了時、死亡例および曝露に関連した病理学的変化は認められなかった。この試験の結果、MCAA の 1 時間 LC₅₀ は 66 ppm (259 mg/m³) を上回ると結論された。

別の試験では、ラットにおける LC₅₀ 値は 180 mg/m³ であった (曝露時間は示されていないが、スウェーデン国立化学品監督局 (KEMI) の文書 (1994) には 4 時間と言及されている) (Maksimov and Dubinina, 1974)。しかし、この試験の詳細は不明であり、毒性徴候についても記述されていない。これらの急性毒性試験の結果を考慮すると、MCAA は、高い吸入毒性を有する物質に分類されるべきである。

経皮投与

Hoechst AG (1979b)により、雌の Wistar ラット (各群 6 匹)を用いた経皮曝露試験が行われている。所定の面積 (約 30 cm²) の皮膚に、種々の用量の MCAA (1%濃度で 50 および 100 mg/kg 体重、5%濃度で 200 および 400 mg/kg 体重、40%濃度で 200、280、400 および 2,000 mg/kg 体重)を経皮投与した。この試験は、閉塞条件下で実施された。この結果、1%または 5%濃度の MCAA に曝露した動物には死亡例はなかったが (LD₅₀ 値はそれぞれ 100 mg/kg 体重超および 400 mg/kg 体重超)、40%濃度の 280、400 および 2,000 mg/kg 体重投与群で曝露の 3.5~24 時間後に死亡例が認められた (詳細については記述されていない)。瀕死状態のラットは、神経行動の変化、流涙および呼吸困難を呈し、全死亡例で、肺および腸に肉眼的変化が認められた。また、2,000 mg/kg 体重投与群では、適用部位の皮膚の変色が認められた。生存動物では、曝露後 48 時間以内に投与による影響は認められず、48 時間後の屠殺時にも肉眼的変化は観察されなかったこの試験における LD₅₀ は、305 mg/kg 体重であった (40%濃度の MCAA を用いての結果に基づく)。また、経皮毒性は、被験物質濃度 (%) および曝露用量 (mg/kg 体重) の両者の影響を受けることが示された。

Hoechst AG (1979c)による別の急性経皮毒性試験では、Albino-Himalayan ウサギ (1 群 6 匹、性別は不明)に、50%濃度の MCAA が、種々の用量 (63、125、250 および 500 mg/kg 体重) で適用された。適用面積については報告されていない。この試験は閉塞条件下で実施された。この結果、曝露後 260 分~24 時間に死亡例がみられた (詳細は不明)。最高用量群 (500 mg/kg 体重) では、神経行動の変化、流涙、呼吸数の増加、および皮膚の局所的な刺激症状

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

や腐食が認められた。これより低用量(63、125、250 mg/kg 体重)で用量依存性に認められた影響は、呼吸数の増加、皮膚の局所的な刺激症状や腐食、および腹臥姿勢のみであった。生存動物にはいかなる徴候も認められなかった。この試験における LD₅₀は、250 mg/kg 体重であった。これらの試験の結果に基づき、40%濃度や 50%濃度の MCAA は、皮膚と接触すると有害な物質に分類される。

Millischer et al.(1988)は、60°Cで融解した純粋 MCAA(用量については記載がない)を、NZW ウサギ(1 群 5～10 匹)の剃毛した皮膚(背面、100 cm²)に直接適用した試験について、報告している。接触時間は 90～300 秒で、曝露後、水を用いた皮膚洗浄が 120 秒間行われた。この試験条件は、労働者が偶発的に飛散物を浴びてしまう場合に相当するものであった。この結果、曝露後数時間以内にすべての動物が死亡した(90 秒間の曝露で 5～12 時間以内、300 秒間の曝露では 2.5～7.5 時間以内)。瀕死動物に高血糖および重度のアシドーシスが認められており、このような生化学的変化は、ヒトにおける所見と同様のものである(Millischer, 1987、関連項を参照のこと)。しかし、ヒトの場合とは対照的に、ウサギでは軽度の高カリウム血症が認められた。また、MCAA を洗い流すまでの皮膚接触時間の延長により、死亡までの時間が短縮された。

Hercules Inc.(1969a)により、2 部構成の試験が行われている。第 1 部では、アルビノの New Zealand ウサギ(各群雄 2 匹)の剃毛した腹部皮膚(総体表面積の約 10%)に、融解していない MCAA を 79.0、118.5、177.8 および 266.7 mg/kg 体重の用量で、閉塞適用した。なお、被験物質(固体状態)は、水や媒体で湿らせたものではなかった。適用後 24 時間でプラスチックシートをはがし、残留物をすべて除去した。皮膚適用の後、計 14 日間継続して死亡、局所皮膚反応および行動異常の有無を観察した。この結果、下位 2 つの低用量群には死亡例はなかったが、177.8 mg/kg 体重投与群で 1 匹が、最高用量群では 2 匹のいずれもが死亡した。適用後 1 時間以内に上位 2 つの高用量群のすべての動物で自発運動亢進が認められたが、24 時間後にはすべての生存動物で異常は認められなかった。接触時間終了時、MCAA との接触部位に壊死が認められ、14 日後でも改善はみられなかった。この試験は各用量群の動物数が少なく、なおかつ皮膚適用前に被験物質を湿潤させていなかったため、この試験結果を用いて LD₅₀を確定することはできない。第 2 部では、融解していない MCAA を 200 mg/kg 体重の用量で、10 匹のアルビノウサギ(雌雄各 5 匹)の背部に適用した。なお、被験物質(固体状態)は、水や媒体で湿らせたものではなかった。適用部位をガーゼで覆って半閉塞条件とし、24 時間皮膚に接触させた後、ガーゼおよび残留物を除去した。動物の死亡の有無の観察期間は短く、48 時間であった。この結果、雌では 5 匹中 2 匹が死亡したが、雄には死亡例がなかった。Hercules Inc.(1969b)により、別の経皮曝露試験が行われている。アルビノ New Zealand ウサギ(各群雄 2 匹)に、融解した MCAA を、種々の用量(0.2～10 mL)で、様々な適用面積(体表面積の 1、3、5、10、20 または 40%)に対して皮膚適用した。ま

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

た、様々な接触時間で検討を行い、接触時間終了時に炭酸ナトリウムで治療的処置を行う群も設けた。さらに、試験の一部では、1.0 mL/kg 体重のウレタンを静脈内注射して麻酔を施した後、融解 MCAA を適用した。これと同じ試験の中で、雑種犬 1 匹を用い、2.6 mL/kg 体重の融解 MCAA (4,108 mg/kg 体重に相当) を総体表面積の 20% の皮膚に 15 分間適用したところ、4 時間以内に死亡を認めた。ウサギを用いて種々の条件で行われた試験における死亡データの概要を **Table 4.8** に示す。

Table 4.8 Summary of mortality data observed in the study of Hercules Inc. (1969b)

Exposed surface area % of total body surface area exposed	Dose total dose in mg/kg bw	Mortality			
		I 15-minute contact + wash with sodium carbonate	II 1-minute contact + wash with sodium carbonate	III 15-minute contact + wash with sodium carbonate (other sample)	IV 1-minute contact + wash with sodium carbonate (other sample)
1.0	126-174	0/2	-	0/2	-
3.0	395-490	2/2	0/2	2/2	0/2
5.0	600-901	2/2	½	-	-
10.0	1,580-2,054	2/2	2/2	-	-
20.0	3,318-4,108	3/3*	2/2	-	-
40.0	5,372-6,636	2/2	2/2	-	-

* the additional animal in this group was a mongrel dog

総体表面積の 3% 以上に 0.25 mL/kg 体重 (395 mg/kg 体重に相当) の MCAA を 15 分間適用した場合、および、総体表面積の 5% 以上に 0.57 mL/kg 体重 (901 mg/kg 体重に相当) を 1 分間適用した場合に、死亡が観察された。石鹼および水による適用部位の洗浄、重炭酸ナトリウムによる治療、無処置、または適用前の麻酔処置は、いずれも有益な効果をもたらさないと考えられた。MCAA の適用直後、すべての動物に自発運動量の低下がみられ、2~3 時間後には呼吸困難および虚脱が認められた。MCAA との接触があった部位には、適用後 15 分以内に重度の浮腫、皰、および壊死が認められた。死亡例の剖検では、血管系の拡張が広範囲に認められ、MCAA との接触部位には皮膚の壊死がみられたが、明らかに本化合物に起因すると考えられる組織学的変化は認められなかった。各用量群の動物数が少ないため、この死亡データに基づいて MCAA の LD₅₀ 値を確定することはできない。

Hercules Inc. (1971) により報告された別の試験では、重炭酸ナトリウムの非経口投与による治療をただちに行った場合、局所適用した MCAA による致死的な転帰が改善または変化するか否かが検討された。6 匹のアルビノ New Zealand ウサギ (性別不明) を、死亡するまで 2,000 mg/kg 体重の融解した MCAA に経皮曝露した。また、6 匹を 2,000 mg/kg 体重で 5 分間、さらに別群の 6 匹を 1,000 mg/kg 体重の融解した MCAA で 5 分間経皮曝露し、曝露後

に生理食塩水(3匹)または重炭酸塩(3匹)を点滴投与した。この結果、重炭酸ナトリウムによる治療を行わなかった動物はすべて3時間以内に、重炭酸ナトリウムによる治療を行った動物もすべて5.5時間以内に死亡した。上記3群の結果に基づき、それら条件下では、致死用量のMCAAを局所適用したウサギに重炭酸ナトリウムの非経口投与を行っても、被験物質による致死転帰は改善されないと結論付けられた。

エタノールがMCAAの解毒剤として使用できるか否かを検討する試験が行われている(Millischer et al., 1988)。ウサギに、皮膚曝露により通常すべてが死亡する高用量のMCAAを適用した。この試験デザインの詳細は報告されていないが、その試験条件下では、エタノールを最大限(血中エタノール濃度3g/L)投与しても、死亡を回避することはできなかった。しかし、MCAAへの曝露後にエタノールを点滴したウサギでは、エタノールを点滴しなかったウサギに比べ、死亡までの平均時間が延長された。また、エタノールを投与したウサギでは、エタノールを投与しなかったウサギに比べ、血液中のグルコース、カリウムおよび炭酸水素イオン(HCO_3^-)の値がわずかに修復されたようである。

皮下投与

ラットにおける LD_{50} については5~108 mg/kg 体重(Hayes et al., 1972; Hoechst AG, 1979d; Hayes et al., 1973.)、マウスにおける LD_{50} については130 mg/kg 体重(Berardi, 1986a)および150 mg/kg 体重(Berardi and Snyder, 1983)という値が報告されている。しかし、大半の試験は詳細に報告されていないか、要約しか得られておらず、さらに、引用された文献のいくつかは古いものである。また、一部の試験は、MCAAの急性毒性を検討する目的で実施されたものではなかった。

Hoechst AG(1979d)は、Wistar 雌ラットにおける LD_{50} が97.4 mg/kg 体重であったという試験結果を報告している。この試験では、1群10匹のラットに、80、100、125、200または315 mg/kg 体重(50%濃度のMCAAを使用)を皮下投与した。この結果、投与後172分以内および3日後に死亡例が認められた。毒性影響として、神経行動の変化、呼吸数の増加、注射部位における局所的な影響(皮膚および筋肉の灰褐色化)、ならびに肝臓(褐色化および重度の出血)および小腸(赤色化)での肉眼的変化が認められた。生存動物には、一般状態の変化および肉眼的変化は認められなかった。

静脈内投与

Elf Atochem(1955)は、Sprague-Dawley 雄ラットにおける LD_{50} が75 mg/kg 体重(95%信頼区間:53~117 mg/kg 体重)であったという試験結果を報告している。この試験では、各群5匹

の Sprague-Dawley 雄ラット 6 群に、30、50、70、80 または 90 mg/kg 体重の MCAA を静脈内投与した。この結果、投与の 30～40 分後から、50、70、80 または 90 mg/kg 体重投与群のほぼすべての動物に、運動低下、鎮静、呼吸困難、側臥位、窒息や昏睡が認められた。30 mg/kg 体重投与群では、運動低下および鎮静のみが認められた。これらの徴候は、中枢神経系毒性を示すものと考えられた。死亡数は、30、50、70、80 または 90 mg/kg 体重投与群で、それぞれ 5 匹中 0 匹、1 匹、1 匹、2 匹および 5 匹であった。これらの死亡例の大半が、投与当日に死亡した。70 mg/kg 体重投与群および 80 mg/kg 体重投与群の生存動物 7 匹のうち 1 匹で、体重減少が認められた。全死亡例に対して肉眼的検査を実施したが、投与に関連した変化は認められなかった。

静脈内投与におけるトキシコキネティクスの検討の中で行われた用量設定試験 (10～250 mg/kg 体重) では、毒性の発現が非常に急激に認められた。50 mg/kg 体重以下の投与群では明らかな毒性徴候は認められなかったが、60 mg/kg 体重投与群で 43%、70 mg/kg 体重投与群では 50% を超えるラットが昏睡状態となり、後に死亡した。昏睡や死亡までの平均時間は、各群でそれぞれ 70 分および 75 分であった。70～100 mg/kg 体重までの用量の投与群における死亡率はほぼ同じであり、用量反応は明確ではなかった。また、110 mg/kg 体重以上の用量では、投与を受けたラットの 100% が死亡した。昏睡状態に陥ったが投与後 90 分以内に死亡しなかった動物の大半は、突然意識を取り戻して回復した (Saghir et al., 2001)。

4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

経口曝露

Feldhaus et al. (1993) および Rogers (1995) は、5 歳女兒における経口摂取による中毒の事例を簡潔に報告している。この女兒は、MCAA を 80% 含むいぼ治療薬を、茶さじ 1 杯分、誤って経口摂取した。この直後に嘔吐および虚脱が認められ、1.5 時間後には対処不能の代謝性アシドーシスおよび不整脈が発現した。摂取から 8 時間後に、女兒は死亡した。剖検では、肺および脳の浮腫、肝臓における脂肪浸潤ならびに胃粘膜の著しい充血が認められた。

経皮曝露

Ruty et al. (1988) は、経皮吸収によるヒトの全身性中毒の事例を報告した。偶発事故により、加圧下にあった融解 MCAA が突然飛び散り、それを 47 歳の労働者が両足 (体表面積の約 6%) に浴びた。曝露後、I 度の熱傷が認められたが、全身状態は良好であった。しかし、4 時間後、徐々に消化器徴候が現れ、悪心に続いて 30 分以内に嘔吐を認めた。その後、心血管性

ショックが起こるとともに、意識消失や興奮と抑うつとの相変換といった進行性の神経症状を呈し、患者は昏睡状態となり、不整脈を示すようになった。収縮期血圧は 70、心拍数は 120、体温は平熱であったが、非常に持続性の強い代謝性アシドーシスがみられた。これに対し、標準的な蘇生法および緩衝液の大量投与に加え、エタノールによる解毒治療が施された。血液中エタノール濃度は定常状態には達しなかったが、症状に改善がみられ、24 時間後には、死の危険はないものと判断された。熱傷は、長期間(2~3 ヶ月)かかって治癒に至った。

エタノールは酢酸塩供与体として作用すると考えられている。エタノールの代謝過程で生成される酢酸塩がクロロ酢酸塩と競合し、クロロ酢酸塩のクレブス回路への取り込みが阻害されると考えられる。しかし、この事例における症状の改善が、この解毒治療の効果によるものか否かの結論は得られていない。

別の事例が、Kusch et al.(1990)により報告されている。45 歳の男性が、偶発事故により、両足に融解 MCAA (90%)の噴霧を受けた。事故後ただちに安全シャワーを使用し、10 分間水で洗い流した後、熱傷部位に氷をあて、患者をベッドに寝かせた。曝露部位は、体表面積の 10%程度と推定された。その後 30~45 分間にわたり悪心および嘔吐がみられたが、医務室での処置および観察中、患者の意識レベルは正常であった。病院への搬送中に 3 回の嘔吐があり、入院後最初の 6 時間には頻脈(100~120 回/分)および散発性の心室性期外収縮が認められた。また、初期には低カリウム血症が認められた。

両足の熱傷は部分的に肥厚(I 度および II 度)していたが、入院後に拡大または深度が増すことはなかった。患者に対し、塩化カリウム(KCl)、高用量のコルチコステロイドおよび利尿剤の静脈内投与による治療が行われ、2 日後にはカリウムおよびプレドニゾンが経口投与された。この患者が生存できたのが、用いられた治療法が奏効したためであったのか否か、または、曝露後の迅速な洗浄やいくつかの条件が組み合わさったことと関連しているのか否かについては不明であった。この患者には嘔吐、頻脈および「散発性の心室性期外収縮」がみられたことから、このレベルの経皮曝露により、全身毒性を十分生じ得ることが証明された。

Kulling et al.(1992)は、MCAA への経皮曝露後、全身性中毒により死亡した事例を報告している。38 歳の男性が体表の 25~30%にモノクロロ酢酸溶液(80%)を浴び、表皮および真皮浅層の熱傷に加え、数時間以内に見当識障害、興奮、心不全および昏睡などの、全身性中毒の特徴的な徴候を発現した。その後、重度の代謝性アシドーシス、横紋筋融解症、腎機能不全および脳浮腫が起り、8 日目に脳ヘルニアのため死亡した。曝露 4 時間後の血漿中 MCAA 濃度は 33 mg/L であり、経皮吸収のあったことが確認されている。

Kulling et al. (1992) はまた、60°Cの MCAA (濃度は不明) を浴びた 25 歳男性の事例についても報告している。この男性は、顔、首、上胸部、鼠径部および両足の広範囲にわたり表皮熱傷を受けた。この事故の 1 時間後、血痰を伴う咳および痙攣を示し、4 時間後に意識を消失して死亡した。剖検では、肺胞の損傷、心膜および胸膜の点状出血、ならびに右心拡張が認められた。この患者は、経皮曝露に加え当該物質を吸入していたことが示唆され、これにより重度の症状が急激に発現し死の転帰をとったと考えられた。

Millischer et al. (1987) は、融解 MCAA または MCAA 濃厚溶液との偶発的な皮膚接触に起因する、全身性中毒の事例を 7 件報告している。曝露を受けた面積は、多くは総体表の 10% 程度であったが、それより少ない事例もあった。曝露部位は主として両足であり、I 度～III 度の熱傷が認められた。一般に、事故直後の評価では熱傷の範囲は狭く重症度も軽度であったが、数時間後には、II 度または III 度の熱傷に移行し、影響の及んだ面積も拡大した。臨床徴候としては、まず消化器症状(嘔吐)が現れ、その後神経症状(興奮相、痙攣)が認められた。その後、心血管性ショックを起こした後に意識を消失し、昏睡に至った。最初の徴候は、皮膚接触後 1～3 時間以内に発現した。主な生物学的変化は重度のアシドーシスであり、高血糖および低カリウム血症も認められた。また、尿量の減少およびクレアチニン酸キナーゼの上昇が観察された。ほとんどの事例で皮膚接触後 4～18 時間に死亡を認めたが、1 事例のみ 7 日後に死亡した。剖検で認められた臓器病変は一律のものではなく、肝臓、脳、腎臓および心臓などの多数の臓器に影響が及んでいた。

Braun and Walle (1987) は、右手の甲および前腕に MCAA の飛沫を浴びた、23 歳の化学技術者の事例を報告している。その MCAA は、94% エタノールを媒体とした、濃度 1.5 M の溶液であった。10 分間腕を水で洗浄したにもかかわらず、曝露後 1 時間内に紅斑および小さな水疱が発生した。この病変は 10 日で治癒したが、小さな瘢痕が残り、14 日後、瘢痕部位に、かゆみを伴う小水疱が出現した。

28 日目に、国際標準の一連の抗原および 70% メタノールに溶解した 1% MCAA 溶液を用い、パッチテストを行った。その結果、MCAA 溶液に対して 4+ の強い反応が認められた。このとき、対照の 2 名では陰性であった。著者らは、MCAA のエチルエステル (EMCA) が、陽性反応の原因物質として疑われると考えた (MCAA とエタノールとの反応により、EMCA と水が生成され得る)。そこで、49 日目にアセトンおよびエタノールに溶解した 1% EMCA (純度 99.9%) 溶液ならびに 1% MCAA 水溶液を用いて、パッチテストを行った。この結果、EMCA のパッチに対して 4+ の強い反応が認められたが、MCAA に対しては陰性であった。

4.1.2.2.3 結論

動物における試験は OECD または EU のガイドラインに準拠して実施されたものではないと考えられ、なおかつ大半のデータは古く、限定的な報告しかなく、審査官は、得られたデータの量は、附属書 VIIA に規定された急性毒性に関する要件を十分満たしていると判断している。

危険物質の分類 (Classification of Dangerous Substances) に携わる委員会の作業部会 (Commission Working Group) は、急性毒性に関して得られたデータに基づき、MCAA について、「吸入した場合や皮膚に接触した場合および飲み込んだ場合に有毒(T)」、であると分類すべきと判断した。

また、純粋な MCAA には、R フレーズ 23/24/25 (「吸入すると有毒」「皮膚に接触すると有毒」「飲み込むと有毒」) が適用される。

4.1.2.3 刺激性

4.1.2.3.1 動物における試験

皮膚および眼への刺激性

情報が得られたすべての試験において、MCAA は、皮膚に対する刺激性および腐食性、ならびに眼に対する刺激性を有することが報告されている (Hoechst AG, 1979e; Maksimov and Dubinina, 1974; Christofano et al., 1970)。なお、大半の試験は、詳細が不明である。Hoechst AG (1979) が行った試験では、500 mg の MCAA を、塩化ナトリウム溶液 (0.9%) 0.05 mL に溶解し、Albino-Himalayan ウサギ (6 匹) の剃毛した無処置皮膚および擦過皮膚 (2.5 cm²) に、閉塞条件下で適用した。この結果、曝露後にすべての動物が死亡したため、追加試験を行うこととなった。追加試験では、6 匹のウサギを、150~250 mg の MCAA (用量 100 mg/kg 体重、体重 1.5~2.5 kg、0.9% 塩化ナトリウム溶液に溶解した MCAA の 50% 溶液を使用) で、24 時間経皮曝露 (閉塞条件下、無処置皮膚) した。この結果、重度の皮膚刺激および腐食 (不可逆的な影響) が認められた。なお、皮膚刺激性スコアは示されていない。また、この文献では、6 匹のウサギを用いた眼刺激性試験についても報告されている。100 mg の MCAA を、塩化ナトリウム溶液 (0.9%) 0.01 mL に溶解し、点眼した結果、重度の眼刺激が認められた。なお、眼刺激性スコアは報告されていない。これらのデータに基づき、MCAA は、皮膚に対して腐食性を有しており、眼に重大な障害を与える危険性を有すると判断された。

気道

Hercules Inc. (1969c+d, 4.1.2.2 急性毒性の項を参照のこと)は、2件の急性蒸気吸入毒性試験を行っており、試験を行ったすべての動物に、軽度の流涙および鼻汁が認められたと報告している。

十分な報告はなされていないが、ラットを用いた急性吸入試験で、 23.7 mg/m^3 の濃度において呼吸器刺激が認められている。その他の詳細については、報告されていない(Maksimov and Dubinina, 1974)。

4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

MCAA の刺激性に関するデータは、4.1.2.2「急性毒性」の項に述べたとおりである。ヒトにおける MCAA への曝露事例では、全例で真皮熱傷のみられたことが報告されており、融解 MCAA または MCAA 濃厚溶液との偶発的な皮膚接触により I 度～III 度の化学熱傷を生じることが明らかにされた (Millischer et al., 1987)。融解 MCAA (90%) への偶発的な皮膚接触後にただちに安全シャワーで洗浄を行った事例においても、接触部位における I 度および II 度の熱傷を阻止することはできなかった (Kusch et al., 1990)。Maksimov and Dubinina (1974) は、ヒトにおける呼吸器(知覚)刺激の閾値は 5.7 mg/m^3 であると報告しているが、その他の詳細は示されていない。

4.1.2.3.3 結論

動物における試験の情報が得られているが、OECD や EU のガイドラインに準拠して実施されたものではなく、なおかつ大半のデータは古く、限定的な報告しかなされていない。しかしながら、審査官は、得られたデータにより、眼や皮膚に対する MCAA の刺激性試験の要件は十分に満たされていると判断している。MCAA は、皮膚に対して腐食性を有しており (R34)、眼に重大な障害を与える危険性を有する (Xi, R41) と考えられる。腐食性物質に分類され、警句 R34 が用いられるため、記号 Xi および警句 R41 の表示は必要とされない。この様な場合には、眼に重大な障害を与える危険性を有することが暗黙了解事項として含まれるとみなされる。

MCAA の気道に対する刺激作用については、わずかな情報しか得られていない。ラットでは、 23.7 mg/m^3 の濃度で呼吸器刺激が認められた。ヒトにおいては、呼吸器(知覚)刺激の閾値は、 5.7 mg/m^3 であることが報告されている (Maksimov and Dubinina, 1974)。

4.1.2.4 腐食性

4.1.2.3 項(刺激性)に述べたとおり、MCAA は皮膚に腐食性を示すと考えられる。

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物における試験

MCAA の感作性に関する情報は、Maksimov and Dubinina(1974)による報告書のオランダ語訳中で簡潔に記述された感作性試験から得られるのみである。この報告書は、ウサギ(動物数は不明)を用いて開放条件で行われた皮膚感作性試験について記述したものである。この試験では、ウサギの皮膚に5%のMCAA 溶液を1日1回、30日間適用し(感作誘導)、その後、様々な濃度のMCAA で感作惹起した(0.1%、1%、5%、10%ないしは50%のMCAA 溶液を1滴)。この参考文献中では、MCAA は感作性を有しないと結論付けられているが、この試験の報告内容は不十分であるため、MCAA の感作性を評価する上での信頼性は低いと考えられる。

MCAA の呼吸器感作性に関するデータは、得られていない。

4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

「急性毒性」の項に記載のとおり、Braun and Walle(1987)は、MCAA およびそのエチルエステル(EMCA)を用いたパッチテストを行った症例を報告している。MCAA のエタノール溶液(用量は不明)に曝露された患者に対し、曝露から28日後に国際標準の一連の抗原および70%メタノールに溶解した1%MCAA 溶液を用い、パッチテストを行った。その結果、MCAA に対して4+の強い反応が認められた。このとき、対照2名では陰性であった。著者らは、MCAA のエチルエステル(EMCA)が、陽性反応の原因物質として疑われると考えた(MCAA とエタノールとの反応により、EMCA と水が生成され得る)。そこで、49日目にアセトンおよびエタノールに溶解した1%EMCA(純度99.9%)溶液ならびに1%のMCAA 水溶液を用いてパッチテストを行った。この結果、EMCA に対して4+の強い反応が認められたが、MCAA に対しては陰性であった。この症例報告に基づく、MCAA が感作性を有する可能性を排除することはできない。

一方で、MCAA の製造および取扱いに40年以上携わった作業員において、MCAA に対する接触アレルギーは1例も報告されていない。比較的多くの作業員が、皮膚に大小の損傷

を受け、II 度～III 度の熱傷に至っている。このような条件は接触アレルギーの誘発に最適であるにもかかわらず、アレルギー発症の報告はない。また、いぼ治療薬として MCAA を使用したことにより接触アレルギー反応が生じたという記録もない(Industry Risk Assessment Group, 2000)。

4.1.2.5.3 結論

提示されたデータでは、指令 67/548/EEC の附属書 VIIA に規定された基本要件に関して、不十分であると考えられる。しかし、MCAA を用いた幅広い試験の結果や、接触アレルギーの誘発に最適な条件下においてアレルギー発症例の報告がないことを考慮すると、追加の試験は不要であると考えられる。加えて、MCAA には腐食性があるため、感作性の適切な評価を行うことは困難であると考えられる。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 動物における試験

反復投与毒性試験の中で、リスク評価において最も重要性の高かったものについて、Table 4.9 に結果の概要を示す(4.1.2.8「がん原性」の項も参照されたい)。

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

Table 4.9 Oral repeated-dose toxicity

Study	NOAEL (mg/kg bw/day)	LOAEL (mg/kg bw/day)	Effects	Reference
Oral toxicity				
study 1: subacute, rat (5d/wk, 12 doses over 16 days, gavage; 0, 7.5, 15, 30, 60, 120 mg/kg bw/day)	7.5	15	Lacrimation	NTP, 1992
study 2: subacute, male mice (5 d/wk, 12 doses over 16 days, gavage; 0, 15, 30, 60, 120, 240 mg/kg bw/day)	120	240	mortality, clinical signs	NTP, 1992
study 3: subacute, female mice (5 d/wk, 12 doses over 16 days, gavage; 0, 30, 60, 120, 240, 480 mg/kg bw/day)	60	120	Lacrimation	NTP, 1992
study 4: semichronic, rat (13 wk, 5 d/wk, gavage; 0, 30, 60, 90, 120, 150 mg/kg bw/day)	<30	30	changes in heart, liver, and kidney weights and clinical chemistry values; at doses \geq 60 mg/kg bw/day: cardiomyopathy and mortality	NTP, 1992
study 5: semichronic, mice (13 wk, 5 d/wk, gavage; 0, 25, 50, 100, 150, 200 mg/kg bw/day)	100	150	increased liver weight, decreased serum cholinesterase activity	NTP, 1992
study 6: carcinogenicity (*), rats (103 wk, 5 d/wk, gavage; 0, 15, 30 mg/kg bw/day)	<15	15	decreased survival, acute inflammation of the nasal mucosa	NTP, 1992
study 7: carcinogenicity (*), mice (103 wk, 5 d/wk, gavage; 0, 50, 100 mg/kg bw/day)	<50	50	acute inflammation of the nasal mucosa	NTP, 1992
study 8: carcinogenicity (*), rats (104 wk, daily, drinking water; 0, 3.5, 26.1, 59.9 mg/kg bw/day)	3.5	26.1	changes in body weight	DeAngelo et al., 1997

* Description of study is provided in Section 4.1.2.8 'Carcinogenicity'.

経口投与

NTP(1992 ; **Table 4.9** 内の study 1)による用量設定試験では、5～6週齢のF344/Nラット(1群雌雄各5匹)に、脱イオン水に溶解したMCAAを、16日間強制経口投与した(投与スケジュール:1日1回、週5日間)。投与用量は、0、7.5、15、30、60および120 mg/kg 体重/日であった。第3日に、高用量群の雄1匹が死亡した。この動物では、投与後4時間以内に、流涙の増加、虚脱、緩徐呼吸、四肢の筋緊張低下、運動失調、および把握反射の低下が認められた。流涙は、60および120 mg/kg 体重/日投与群の雄、ならびに15～120 mg/kg 体重/日投与群の雌にも認められた。著者らは、この影響の発現率が用量依存性であるかどうかについては言及していない。また、体重(増加)に有意な変化はなく、剖検時の肉眼的検査や全臓器の病理組織学的検査では、MCAAに起因した病変は認められなかった。試験デザインは不十分であったが、高用量における流涙の発現に基づき、NOAELは7.5 mg/kg/体重/日とされる。

別の16日間試験(NTP, 1992 ; **Table 4.9** 内の study 2 および 3)では、同様の曝露計画で、7～8週齢の雄のB6C3F1マウス(1群5匹)に0、15、30、60、120および240 mg/kg 体重/日、雌のB6C3F1マウス(1群5匹)には0、30、60、120、240および480 mg/kg 体重/日のMCAAを投与した(NTP, 1992)。雄の240 mg/kg 体重/日投与群、ならびに雌の240および480 mg/kg 体重/日投与群で、全動物が2日以内に死亡した。これら死亡した動物に認められた臨床症状は、流涙、運動失調、自発運動の低下、緩徐呼吸、徐脈、低体温、虚脱、立毛、四肢の筋緊張の低下、把握反射の低下などであった。雌雄ともに、平均最終体重、臓器の絶対および相対重量、ならびに肉眼的および顕微鏡的検査の所見に、投与に関連した影響は認められなかった。120 mg/kg 体重/日投与群(雌)では、流涙が観察された。試験デザインは不十分であったが、NOAELは、雌のマウスでは流涙の発現に基づき60 mg/kg 体重/日、雄では臨床症状および死亡の発生に基づき120 mg/kg 体重/日とされる。

ラットを用いた13週間試験が、NTP(NTP, 1992 ; **Table 4.9** 内の study 4)により実施されている。この試験では、F344/Nラット(6～7週齢、1群雌雄各20匹)に、脱イオン水に溶解したMCAAを、0、30、60、90、120ないしは150 mg/kg 体重/日の用量で、13週間強制経口投与した。第4週および第8週に中間評価を行い(1群雌雄各5匹)、中間評価時および試験終了時には血液学的検査、臨床化学検査、および尿検査を実施した。この結果、120および150 mg/kg 体重/日投与群のすべてのラット、90 mg/kg 体重/日投与群の20匹中19匹、ならびに60 mg/kg 体重/日投与群の雄2匹および雌1匹が、試験終了前に死亡した。死亡例では、投与に関連して心筋症が用量依存性に発症しており、これが死亡の原因と考えられた。高用量群では死亡率が高かったことから、試験結果は、主として0、30および60 mg/kg 体重/日投与群について報告されている。平均体重(増加)および一般所見に、投与に関連した影響は認められなかった。心臓の絶対重量の減少が、60 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で認められ、

心臓の相対重量の減少が、60 mg/kg 体重/日投与群の雄ならびに 30 および 60 mg/kg 体重/日投与群の雌(用量依存性あり)で認められた。肝臓の絶対重量の増加が、60 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められ、肝臓の相対重量の増加が、30 および 60 mg/kg 体重/日投与群の雄(用量依存性あり)ならびに 60 mg/kg 体重/日投与群の雌で認められた。また、30 および 60 mg/kg 体重/日投与群の雄(用量依存性あり)で、腎臓の相対重量の増加が認められた。血中尿素窒素は、90～150 mg/kg 体重/日投与群の雄および 60～150 mg/kg 体重/日投与群の雌で、用量依存性に増加した。ASAT および ALAT の用量依存性の増加が 60～150 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で認められたが、いずれの検査時点、いずれの用量群においても、統計学的に有意な増加ではなかった。血中サイロキシン(T4)濃度の増加が、第 4 週では 90、120 および 150 mg/kg 体重/日投与群の雄で、第 8 週では 90 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められた。血清コリンエステラーゼ活性の低下が、雄では、13 週間後に 30 および 60 mg/kg 体重/日投与群で認められ、雌では、第 4 週および第 8 週には全投与群で、13 週間後には 60 mg/kg 体重/日投与群で認められた。この血清コリンエステラーゼ活性の低下は、肝毒性、もしくは MCAA またはその代謝物による直接的なコリンエステラーゼ阻害に起因したものと考えられた。加えて、雌では、血漿中の総タンパク質(30 mg/kg 体重/日以上)の群)、アルブミン(60 mg/kg 体重/日群)、カルシウム(30 および 60 mg/kg 体重/日群)、およびナトリウム(30 mg/kg 体重/日以上)の群)の低下が、8 週間後や 13 週間後に認められた。血漿カリウムの増加が、13 週間後に、60 mg/kg 体重/日投与群の雌ならびに 30 および 60 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められた。4 週間後、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値および赤血球数の増加が 150 mg/kg 体重/日投与群の雄で、好中球数の増加が 90、120 および 150 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められた。MCAA 投与の 8 週間後には、30、60、90 および 120 mg/kg 体重/日投与群の雄に、リンパ球数の減少が認められた。試験期間中に死亡したラットの剖検では、胸腔の血液または透明な赤色液体の貯留、および肺うっ血が観察された。また、雌雄ともに、60 mg/kg 体重/日以上)の用量群で、心筋症の発症が用量依存性に認められた。したがって、この試験の結果から NOAEL を確定することはできない。

B6C3F1 マウス(7～8 週齢)を用いて 13 週間試験が行われており、脱イオン水に溶解した MCAA が、0、25、50、100、150 および 200 mg/kg 体重/日の用量で、13 週間強制経口投与された(1 群雌雄各 20 匹 ; NTP, 1992 ; Table 4.9 内の study 5)。この結果、200 mg/kg 体重/日投与群で、すべての雄および雌 2 匹が死亡したが、そのうち雄 2 匹および雌 1 匹の死因は強制経口投与時の外傷であった。最高用量群の死亡例のうち雄 5 匹および雌 1 匹において、肝細胞の細胞質の空胞変性がみられ、同群の生存例の雌において、体重増加抑制が認められた。100 および 200 mg/kg 体重/日投与群の雌で、肝臓の絶対重量および相対重量が増加(用量依存性なし)したが、150 mg/kg 体重/日投与群では増加は認められなかった。100 mg/kg 体重/日投与群における肝重量の変化については、それがわずかであったこと、および他の肝臓パラメータには変化がなかったことから、毒性学的に重要ではないと考えられた。投

EURAR V52: MONOCHLOROACETIC ACID

与開始の 8 週間後および 13 週間後に、150 および 200 mg/kg 体重/日投与群の雌で、血清コリンエステラーゼ活性の低下が認められ、これはおそらく、肝毒性、もしくは MCAA またはその代謝物による直接的なコリンエステラーゼ阻害に起因したものと考えられた。生存動物における剖検や病理組織学的検査では、投与に関連した影響は認められなかった。試験デザインは不十分であったが、この試験における NOAEL は 100 mg/kg/体重/日とされる。また、この試験では、マウスにおける標的臓器は肝臓であると考えられた。

上述の NTP による試験の結果から、マウスよりもラットの方が、MCAA の毒性影響に対する感受性が高いと考えられた。また、明確な性差はないことが示された。なお、病理組織学的検査は実施されたが、その詳細については報告書に示されていない。

DeAngelo et al.(1989)は、クロロ酢酸によるペルオキシソーム増殖の誘発に対する感受性の種差について検討を行った。この試験では、B6C3F1 雄マウスおよび Sprague-Dawley 雄ラットを用い、MCAA を 14 日間飲水投与した。マウスに対しては 0、11、21 および 32 mM(算出された平均摂取量は 0、265、386 および 482 mg/kg 体重/日；飲水量は測定せず)、ラットに対しては 0、11、21 および 32 mM(算出された平均摂取量は 0、170、321 および 501 mg/kg 体重/日；飲水量は測定せず)の濃度が設定された。各濃度群で解析に使用した生存動物数は、マウスではそれぞれ 6 匹、5 匹、6 匹および 6 匹、ラットでは 6 匹、6 匹、6 匹および 5 匹であった(各群の開始時の動物数は示されていない)。この試験の結果、マウスでは、体重、肝臓の相対重量およびペルオキシソーム増殖に対する MCAA による有意な影響は認められなかったが、ラットでは、全用量群で体重および肝臓の相対重量について、用量依存性で統計学的に有意な減少が認められた。ペルオキシソーム増殖のパラメータについては、ラットにおいても、投与に関連した影響は認められなかった。この試験では、その他の観察は行われなかった。試験デザインは不十分であったが、雄のマウスは雄のラットに比べ、MCAA の飲水投与に対する感受性が低いものと考えられる。

Fuhrman et al.(1955)は、Wistar ラットを用い、以下に示す 3 件の MCAA 混餌投与試験を行っている。ただし、著者らが飼料中での MCAA の安定性に関するデータを報告していないことに留意されたい。NTP の反復投与毒性試験(NTP, 1992)において、投与経路として強制経口投与が選択されたのは、ガスクロマトグラフィ分析により、MCAA は飼料組成物中で不安定であることが明らかにされたためであった。したがって、Fuhrman が行った試験の結果の解釈には、注意が必要である。

Fuhrman et al.(1955)は、雄の離乳アルビノ Wistar ラットに、MCAA を 208 日間混餌投与した(各群 6 匹)。用量は、0.005%、0.01%、0.025%、0.05%および 0.1% (2.5、5、12.5、25 および 50 mg/kg 体重/日に相当)の用量で、対照群を 1 群設けた。試験デザインは不十分なものであった。以下をパラメータに設定した。すなわち、体重、摂餌量、外観、行動、ならび

に心臓、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、肺、胃、小腸、膵臓、甲状腺、膀胱や精巣の肉眼および顕微鏡所見について検討を行った。試験デザインに、血液学的検査および臨床化学的検査は含まれていなかった。また、臓器重量の測定も行われなかった。最高用量群で、個体ごとの1日の摂餌量が他の群に比べやや多かったにもかかわらず、体重増加量の統計学的に有意な低下が認められた。0.005%、0.01%、0.025%および0.05%投与群では、5例が負傷(詳細は不明)または肺炎により死亡した。剖検では、投与に関連した肉眼的および顕微鏡的病変は認められなかった。試験デザインは不十分であったが、高用量群における体重増加量の低下に基づき、NOAELは25 mg/kg 体重/日とされる。

Fuhrman et al.(1955)による第2の試験では、2.5ヵ月齢のWistarラットにMCAAを0.1%含む飼料を与え、運動量測定ケージ内での活動性に対する影響を検討した(2群、1群6匹)。40日間の学習・調整期間(第1日～第40日)の後、初回の試験期間(第41日～第60日)を開始した。第61日に両群の飼料を入れ替えた。すなわち、それぞれのラットは自身の対照例として処置された。再調整期間(第61日～第67日)を設け、その後2回目の試験期間(第68日～第88日)を開始した。この結果、MCAAの投与期間中の平均走行距離は、対照処置時に比べわずかに減少し、統計学的有意差が認められた。

Fuhrman et al.(1955)による第3の試験では、MCAAを0.1%含む飼料を90日間給与し、肝グリコーゲン、ならびに肝臓、大脳皮質、腎皮質および骨格筋の試料における酸素消費量への影響を検討した。若齢成熟Wistarラット6匹にMCAAを添加した飼料を、他の6匹にMCAAを添加していない飼料を給与した結果、肝グリコーゲンおよび酸素消費量には、MCAA投与の影響は認められなかった。

Sprague-Dawley雄ラット(投与群5匹、対照群5匹)に、MCAAを90日間飲水投与した試験が報告されている(Bhat et al., 1991)。投与溶液については、濃度を1.9 mM(19 mg/kg 体重/日に相当)とし、各ラットがLD₅₀の約1/4を摂取するように調製した。この結果、投与群の体重は、対照群の体重の95.2%であった。臓器重量には、統計学的に有意な変化は認められなかった。主要臓器の光学顕微鏡検査では、肺(血管周囲炎病巣)や肝臓(軽微なコラーゲン沈着、軽微～軽度の門脈拡張)に、種々の程度の変化が認められた。他の臓器には、形態学的変化は認められなかった。なお、血液学的検査および臨床化学的検査は実施されなかった。試験デザインが不十分であったため、この試験からリスク評価に適したNOAEL/LOAELを確定することはできない。しかし、この試験の結果は、NTP(1992)による試験の結果と矛盾するものではないことに留意されたい。

ラットやマウスに飲水投与または強制経口投与した試験では、MCAAのがん原性を示す証拠は得られていない。DeAngelo et al.(1997; 4.1.2.8「がん原性」の項を参照のこと)が行った2年間飲水投与試験では、NOAELは3.5 mg/kg 体重/日であった。この濃度では、生存、体重、

または(非)腫瘍性病変に対する影響は、認められていない。

吸入投与

吸入曝露に関しては、信頼性の高い反復投与毒性試験のデータは、得られていない。

経皮曝露

皮膚接触に関しては、信頼性の高い反復投与毒性試験のデータは、得られていない。

4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

ヒトにおいては、MCAA への反復曝露による毒性に関するデータは、得られていない。

4.1.2.6.3 結論

上述のデータにより、指令 67/548/EEC の附属書 VIIA に規定された基本要件は満たされていると考えられる。したがって、得られた反復投与毒性試験データによる、反復曝露に関するリスク総合判定が可能である。なお、経皮および吸入による反復曝露については、毒性を評価するのに適切な試験データが得られていない。

いくつかの試験において死亡率の増加が認められており、LD₅₀ 値に近い用量で死亡が観察されている。曝露の初日や最初の週で比較的高い死亡率が認められたことから、この影響は急性相だけの毒性影響であると考えられる。

MCAA の経口反復投与毒性データが、16 日間および 13 週間の曝露試験より得られている。16 日間毒性試験(強制経口投与による)は、試験デザインは不十分であったが、NOAEL は、流涙の発現に基づき、ラットで 7.5 mg/kg 体重/日、マウスでは 60 mg/kg 体重/日とされた。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験(強制経口投与による)では、最低用量(すなわち 30 mg/kg 体重/日)においても、心臓、肝臓および腎臓の重量、ならびに臨床化学検査値に変化が認められたため、この結果から NOAEL を確定することはできなかった。この試験では、雌雄ともに、60 mg/kg 体重/日以上で、心筋症が用量依存性に発生している。マウスへの 13 週間強制経口投与では、肝重量の増加および血清コリンエステラーゼ活性の低下が観察され、この試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日であった。

DeAngelo et al.(1997)が行った、ラットにおける2年間飲水投与試験では、3.5 mg/kg 体重/日という NOAEL が得られており、この値がリスク総合判定の起点として用いられている(4.1.2.8「がん原性」の項を参照のこと)。この濃度では、生存、体重または(非)腫瘍性病変に対する影響は、認められていない。

長期経口投与における MCAA の主な標的臓器は、ラットおよびマウスのいずれにおいても肝臓であり、ラットでは心臓および腎臓も標的となった。また、がん原性試験において、体重増加量の減少、生存率の低下、および鼻粘膜の炎症が観察されている。心臓への影響は、試験期間が長くなると、低用量の反復投与毒性試験では認められなくなった。得られたデータに基づくと、マウスよりもラットの方が、MCAA の毒性影響に対する感受性が高いと考えられた。

4.1.2.7 変異原性

Table 4.10 に、変異原性試験の詳細をまとめて示す。

4.1.2.7.1 *In vitro* 試験

細菌を用いた試験

MCAA は、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の菌株 (TA98、TA100、TA102、TA104、TA1535、TA1537 および TA1538) および大腸菌 (*Escherichia coli*) の菌株 (WP2_{uvrA} および WP2_{uvrA}/pKM101) を用いた試験で、代謝活性化系 (S9) の添加の有無にかかわらず、変異原性を示さなかった (Giller, 1997; JETOC, 1996; Hoechst AG, 1979f; Bartsch et al., 1975; Malaveille et al., 1975; McCann et al., 1975; NTP, 1992; Mortelmans et al., 1986; Rannung et al., 1976; Bartsch and Montesano, 1975; Bartsch et al., 1976)。

また、MCAA は、大腸菌 *coli* の DNA 修復能欠損株 (WP100) および野生株 (WP2) を用いた試験で、DNA 修復能欠損株を選択的に致死させることはなかった (NTP, 1992; Mamber et al., 1983)。さらに、大腸菌溶原株 K12 を用いたプロフェージ誘導試験でも、陰性を示した (NTP, 1992)。これらの結果から、このような試験系では、MCAA への曝露により、DNA 損傷は誘発されなかったことが示された。加えて、ネズミチフス菌 TA1535/psK1002 株を用いた試験では、MCAA は *umu* 遺伝子の発現を誘発しなかった (NTP, 1992; Nakamura et al., 1987; Ono et al., 1991)。また、大腸菌 PQ37 株を用いた SOS クロモテスト (代謝活性化非存在下) では、

MCAA による陽性反応は認められなかった (Giller, 1997)。

哺乳類細胞を用いた試験

MCAA は、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いた試験で、S9 活性化の存在下でも非存在下でも、染色体異常や姉妹染色分体交換を誘発しなかった (NTP, 1992; Sawada et al., 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) では、S9 非存在下で姉妹染色分体交換の用量依存性の増加が認められたが、染色体異常の誘発は S9 添加の有無にかかわらず認められなかった (Galloway et al., 1987; NTP, 1992)。チャイニーズハムスター V79 細胞を用いた *in vitro* ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) 試験では、8-アザグアニン耐性変異株およびウアバイン耐性変異株の出現は認められなかった (Huberman et al., 1975)。また、MCAA は、ラットおよびマウスの肝細胞またはヒト CCRF-CEM 細胞の初代培養株において、DNA 鎖切断を誘発しなかった (Chang, 1992)。マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いてトリフルオロチミジン耐性の誘導を検討した試験では、細胞毒性が認められた濃度において、S9 活性化の有無にかかわらず陽性反応が得られた (Amacher and Turner, 1982; McGregor et al., 1987)。しかし、細胞毒性濃度未満では陰性であり、一般に細胞毒性濃度では pH の酸性化が認められている。pH の変化が突然変異頻度の増加をもたらすことはよく知られているが、マウスリンフォーマ細胞を用いたこれらの 2 件の突然変異試験では、いずれにおいても、試験条件下で起こり得る pH 変化による影響に関して、適切な対照が置かれていなかった。したがって、これらの試験で得られた陽性結果の意義を評価することは困難である。

細胞毒性や pH 変化をきたす培養条件下では、遺伝毒性とは無関係の作用が生じ得ることが明らかにされている (Oberly and Garriott, 1996; Clive et al., 1995; Cifone et al., 1987)。したがって、細菌を用いた変異原性試験では陰性であったこと、およびマウスリンフォーマ試験では細胞毒性濃度でのみ陽性であったことを考え合わせると、マウスリンフォーマ試験で観察された MCAA の変異原性は、疑わしいものである。

4.1.2.7.2 In vivo 試験

両生類における試験

MCAA は、イベリアトゲイモリの幼生を用いたイモリ小核試験において、染色体異常誘発性を示さなかった (Giller, 1997)。

キイロシヨウジヨウバエにおける試験

MCAA をキイロシヨウジヨウバエに混餌投与した試験では、雄の胚細胞への伴性劣性致死突然変異誘発は陰性であったが、注射による投与では、陽性/陰性がはっきりしなかった (Foureman, 1994; NTP, 1992)。

哺乳類における試験

Swiss マウスに MCAA を、腹腔内、経口または皮下投与し、骨髄細胞における細胞遺伝学的異常および精子細胞の形態学的異常の誘発を検討した試験が行われており、その要約が得られている (Bhunya and Das, 1987)。Bhunya and Das (1987) は、MCAA により、用量および投与経路によって異なる多様な骨髄染色体異常、および精子頭部の種々の異常が誘発されたと結論している。しかし、試験内容、結果、および異常の分類の記述が非常に限られているため、この試験の結果を評価することはできない。

In vivo で MCAA を経口投与した試験では、マウスの脾臓、十二指腸および胃の細胞、またはマウスおよびラットの肝細胞で、DNA 鎖切断は認められなかった (Chang, 1992)。

4.1.2.7.3 結論

報告に不十分な点はあるが、得られたデータは、変異原性に関する附属書 VIIA の要件を十分に満たすものである。特に示されていない限り、変異原性データの大半は、現行のガイドラインに準拠・整合した、妥当な試験に基づいたものである。

In vitro では、MCAA は、細菌における点突然変異や DNA の一次損傷、もしくは哺乳類細胞における染色体異常や DNA 鎖切断を誘発しない。哺乳類細胞を用いた複数の TK⁺ 試験で陽性結果が示されているが、これは、MCAA の直接的な変異原作用ではなく、pH の影響によるものである可能性が高い。*In vivo* で MCAA を経口投与した試験では、マウスの脾臓、肝臓、胃または十二指腸の細胞、もしくはラットの肝細胞で、DNA 鎖切断は認められなかった。MCAA がマウスにおいて、精子細胞の異常および骨髄細胞の染色体異常を誘発したことが報告されているが、この試験の記述が不十分であるため、これらの結果の意義は明らかではない。MCAA は、がん原性を示唆するような全般的な毒性性状を示しておらず、なおかつ注意すべき構造を有していないことから、追加の変異原性試験は不要であると考えられる。

得られたデータに基づき、MCAA は変異原性化合物ではないと結論される。

Table 4.10 Relevant *in vitro* and *in vivo* mutagenicity tests

I Bacterial tests

Cell type	Protocol	metabolic activation	Concentration	toxic concentration	result	comments	reference
S. typhimurium TA98,TA100, TA1535, TA1537	Ames test (plate incorporation)	with and without (rat liver S9)	0.8-1, 000 µg/plate	not repored	-		Hoechst AG (1979)
S. typhimurium TA1530	Ames test	with and without (rat liver S9)	1.1-108 µmol/plate	10.8 µmol/plate	-		Bartsch et al. (1975)
S. typhimurium TA1530	Ames test	with and without (rat liver S9)	0.4-40 µmol/ml	4 µmol/ml	-		Malaveille et al. (1975)
S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	Ames test	with and without (rat or human liver S9)	not reported	not reported	-		McCann et al. (1975)
S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	Ames test	with and without (rat or hamster liver S9)	10-3,333 µg/plate	>3,333µg/plate	-		NTP (1992)
S. typhimurium TA1535	Ames test	without	0.1-1,000 mM (3 plates/conc.)	>10 - <500 mM	-		Rannung et al. (1976)
S. typhimurium TA1530	Ames test	with and without (mouse liver fraction)	0.4-40 µmol/ml	<4 µmol/ml	-		Bartsch and Montesano (1975)
S. typhimurium TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535, TA1537, and TA1538 / E coli WP2uvrA and WP2uvrA/pKM101	Ames test (pre incubation)	with and without (rat liver S9)	9.77-5,000µg/plate	2,500 µg/plate	-		JETOC (1996)

Table 4.10 continued overleaf

Table 4.10 continued Relevant *in vitro* and *in vivo* mutagenicity tests

Cell type	Protocol	metabolic activation	Concentration	toxic concentration	result	comments	reference
S. typhimurium TA100	Ames fluctuation test	with (rat liver S9) without (rat liver S9)	0.3-300 µg/ml 30-10,000 µg/ml	100 µg/ml 3000 µg/ml	- -		Giller (1997)
S. typhimurium TA1535/pSK10 02	<i>Umu</i> test	with and without (rat liver S9)	≤330 µg/ml	not reported	-	primary DNA damage	Nakamura et al. (1987); NTP (1992)
S. typhimurium TA1535/pSK10 02	<i>Umu</i> test	with and without (rat liver S9)	485.4 µg/ml	not reported	-	primary DNA damage	One et al. (1991)
E coli WP2 (wild type)/WP100 (uvrA ⁻ recA ⁻)	rec assay, qualitative and quantitative spot tests and quantitative suspension	with and without (rat liver S9)	3 conc. (conc not reported)	not applicable	-	primary DNA damage	Mamber et al. (1983); NTP (1992)
E coli PQ 37	SOS-chromotest	with and without (rat liver S9)	1-3,000 µg/ml 3-3,000 µg/ml	300 µg/ml 1000 µg/ml	-	maximum induction factor 1.05 maximum induction factor 1.16	Giller (1997)

II Mammalian cells, *in vitro*

Cell type	Protocol	metabolic activation	Concentration	toxic concentration	result	comments	reference
Chinese hamster lung fibroblast cells	CA	with and without (rat liver S9)	60-500 µg/ml	500 µg/ml	-		NTP (1992); Sawada et al. (1987)
	SCE	with and without (rat liver S9)	60-500 µg/ml	not reported	-		

Table 4.10 continued overleaf

Table 4.10 continued Relevant *in vitro* and *in vivo* mutagenicity tests

Cell type	protocol	metabolic activation	Concentration	toxic concentration	result	comments	reference
CHO cells	CA	with and without (S9)	50-500 µg/ml	not reported	-	A dose related increase in SCE was observed without S9.	Galloway et al. (1987); NTP (1992)
	SCE	with and without (S9)	50-500 µg/ml (-S9) 50-1,600 µg/ml (+S9)	not reported	+ -		
Chinese hamster V79 cells	HPRT assay (8-azaguanine- and ouabain resistance)	without	<2.1mM (ca. 200µg/ml)		*	MCAA did not induce an increase of 8-azaguanine or ouabain-resistant mutants up to the highest concentration tested. The number of mutants was expressed per number of survivors. The highest concentration resulted in a cloning efficiency of 94%. The publication does not give further details on concentrations tested and results obtained with MCAA. The highest concentration tested was not sufficiently high for the assessment of possible mutagenic properties of MCAA in this test system.	Humberman et al. (1975)
Mouse lymphoma L5178Y cells	TK ⁺ /TK ⁻ assay	with (rat liver S9), uninduced 5% in activation mix	<u>exp. 1:</u> 330.0-784.9 µg/ml (dilution factor 0.93) <u>exp. 2:</u> 139.4-1048.2 µg/ml (dilution factor 0.75)	<u>exp. 1:</u> 330.0 µg/ml (=LC50) <u>exp. 2:</u> 139.4 µg/ml (LC50=186.0 µg/ml)	* *	Exposure time: 3 hours. Steep dose response curve in cytotoxic concentration range, i.e., a doubling in mutants was seen at survival ≤ 18% at concentration ≥ 546.7 µg/ml (exp.1) and ≤ 19% at concentrations ≥ 589 µg/ml and above (exp.2). Positive results could be a pH-effect. Inappropriate study design for assessment of this possible effect.	Amach and Turner (1982)

Table 4.10 continued overleaf

Table 4.10 continued Relevant *in vitro* and *in vivo* mutagenicity tests

Cell type	protocol	metabolic activation	Concentration	toxic concentration	result	comments	reference
Mouse lymphoma 5178Y cells	TK ⁺ /TK ⁻ assay	without	31.3-800 µg/ml	125-800 µg/ml	*	Exposure time: 4 hours Lowest observed effect dose: 400 µg/ml The MFtest/MFcontrol ratio's amounted to 2.7 and 3.1, and the relative total growth values to 15 and 8% in experiment 1 and 2, respectively. Positive result may well be a pH-effect as the phenol red indicator in the Fischer's medium changed colour from pink to yellow at 400 µg/ml.	McGregor et al. (1987); NTP (1992)
Rat hepatocytes (Fischer 344, Male) and mouse hepatocytes B6C3F1, male)	DNA strand breaks (alkaline elution)	not applicable	0, 1, 5, and 10 mM for 4 hours	5 mM	1 mM: - ≥ 5 mM: see comments	The results obtained at 5 mM (rat hepatocyte) and 10 mM (rat and mouse hepatocyte) pointed to an increase in DNA strand breaks occurring secondarily to cytotoxicity as demonstrated by the concurrent LDH release in the culture medium.	Chang (1992)
human lymphoblastic cell line (CCRF-CEM)	DNA strand breaks (alkaline elution)	without S9	0, 1, 5, and 10 mM for 2 hours	> 10 mM	-		Chang (1992)

III Amphibia, *in vivo*

Species	Test	metabolic activation	toxic concentration	result	comments	reference
Pleurodeles waltl larvae (blood erythrocytes)	newt micronucleus test (15 larvae/concentration)	10, 20, 40 µg/ml in swimming water	80 µg/ml	Result: -	No increase in the incidence of micronucleated erythrocytes was observed.	Giller (1997)

Table 4.10 continued overleaf

Table 4.10 continued Relevant *in vitro* and *in vivo* mutagenicity testsIV *Drosophila melanogaster, in vivo*

Species	Test	experimental	Result	Comments	reference
<i>Drosophila melanogaster</i>	Sex-linked recessive lethal test	dose: 900 ppm (injection) dose: 400 ppm (feed, 72 hours)	Result: +/- Result: -	MCAA injected induced an equivocal response.	Foureman (1994); NTP (1992)

IV *Drosophila melanogaster, in vivo*

Species	Test	Experimental	Result	Comments	reference
Swiss mice (n and sex not reported)	Chromosome aberrations in bone marrow cells (n = 300 cells/group)	dose i.p. (sacrifice time): 1*12.5 mg/kg (24 hrs after treatment); 1*25 mg/kg (24 hours after treatment); 1*50 mg/kg (6, 24, 48 hours after treatment); 5*10 mg/kg (120 hrs after treatment) dose p.o. (sacrifice time): 1*50 mg/kg (24 hours after treatment) dose s.c. (sacrifice time): 1*50 mg/kg (24 hours after treatment)	*	% of cells with aberrations including "breaks" and "chromatid deletion including rings" (no further details) increased in all treatment groups. Test not suitable for evaluation a.o. due to limited description of the experiment, the results, and the classification of the abnormalities (only abstract available).	Bhunya and Das (1987)
Swiss mice (n= 3 males/dose group)	Sperm abnormality test	dose: 1*12.5 mg/kg ; 1*25 mg/kg; 1*50 mg/kg, route unknown Sacrifice time 35 days after treatment	*	Test not suitable for evaluation a.o. due to limited description of the experiment, the results, and the classification of the abnormalities (only abstract available).	Bhunya and Das (1987)
Charles River mice (B6C3F1, male, n=2)	DNA strand breaks in liver, spleen, duodenum, and stomach	dose p.o. (sacrifice time): a single dose of 1-10 mmole/kg in distilled water (4 hours after treatment)	-		Chang (1992)
rat (Fischer 344, male, n not reported)	DNA strand breaks in liver	dose p.o. (sacrifice time): a single dose of 1, 5, 10 mmole/kg in distilled water (4 hours after treatment)	- (at 1 mmol/kg)	No data were available on mutagenicity at higher doses. The animals of the 5 and 10 mmole/kg dose groups did not survive.	Chang (1992)

* test not suitable for evaluation

4.1.2.8 がん原性

動物における試験

経口投与

F344/N ラット(1 群雌雄各 70 匹)を用いた試験が行われている。脱イオン水に溶解した MCAA を、0、15、ないしは 30 mg/kg 体重/日の用量で、103 週間(週 5 日)強制経口投与した(NTP, 1992; Table 4.9 内の study 6)。中間評価のため、6 ヶ月の時点で 1 群雌雄各 10 匹を、15 ヶ月の時点で 1 群雌雄各 7 匹を屠殺した。

6 ヶ月時の評価(1 群雌雄各 10 匹)では、心臓の相対重量の増加が、高用量群の雌で認められた。腎臓の相対重量の増加が高用量群の雄で、減少が低用量群および高用量群の雌で認められた。脳の絶対重量の減少が、低用量群および高用量群の雌で認められたが、脳の相対重量の減少は低用量群の雌のみで認められた。しかし、このような変化は 15 ヶ月時の評価(1 群雌雄各 7 匹)では認められなかった。また、中間屠殺した動物に、MCAA の投与に関連した腫瘍の発生は認められなかった。高用量群の雄、ならびに低用量群および高用量群の雌で、生存率の低下を認めた(平均生存日数および試験終了時の生存率：0、15 および 30 mg/kg 体重/日投与群の雄でそれぞれ 577 日、570 日および 528 日、53%、40%および 32%、雌では 591 日、544 日および 545 日、70%、38%および 51%)。いずれの死亡例においても、肉眼的検査や顕微鏡的検査で病変はみられず、強制経口投与による外傷も認められなかった。2 年目には、高用量群の雄で平均体重の減少がみられた。子宮内膜間質ポリープの発生率には、統計学的に有意な増加傾向が認められた(0、15 および 30 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 1/53、7/53 および 9/53)。しかし、このような病変はラットで一般的にみられる背景所見であり、この試験の対照群における発生率が異常な低値であったことから、この結果は、がん原性を示す明らかな証拠であるとはみなされない。さらに、ポリープの発生時期が早まることはなく、悪性形質転換を示す証拠も認められなかった。試験群において、高頻度に発生がみられた非腫瘍性病変は、肺うっ血(0、15 および 30 mg/kg 体重/日投与群の雌でそれぞれ 1/53、6/53 および 13/53、雄で 2/53、6/53 および 10/53)、雌にみられた鼻粘膜の急性炎症(0、15 および 30 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 0/52、6/53 および 5/48)、および雄にみられた鼻粘膜の扁平上皮化生(0、15 および 30 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 0/52、0/53 および 6/53)であった。肺および鼻腔にみられたこれらの変化は、強制経口投与した溶液の逆流に起因するものと考えられた。この試験の結果に基づくと、F344/N ラットの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠はないと言える。この試験における NOAEL は、生存率の低下および鼻粘膜の急性炎症の発現に基づき、15 mg/kg 体重/日未満とされる。この試験デザインには、血液学的検査および臨床化学的検査は含まれていなかったが、全臓器の病理組織

学的検査は実施された。

上述のラットの試験と同様の投与計画により、B6C3F1 マウス(1 群雌雄各 60 匹)を用いた試験が行われている。0、50 ないしは 100 mg/kg 体重/日の用量で、MCAA への曝露を実施した(NTP, 1992; Table 4.9 内の study 7)。この結果、2 年目に、高用量群の雌で平均体重の減少がみられた。投与に関連した臨床症状は認められなかったが、統計学的に有意な生存率の低下が高用量群の雄で認められた(平均生存日数および試験終了時の生存率: 0、50 および 100 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 683 日、627 日および 530 日、79%、65%および 38%)。雄では、投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった(全臓器の病理組織学的検査を実施)。雌では、悪性リンパ腫の発生率に用量依存性の低下が認められた(0、50 および 100 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 29/60、18/60 および 13/60)。また、高用量群の雌 2 匹の前胃に扁平上皮乳頭腫が認められ、高用量群の雌雄で、前胃の扁平上皮過形成の発現頻度が統計学的に有意に増加した。急性鼻炎の発現率の増加が、高用量群の雄(0、50 および 100 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 3/60、7/59 および 24/60)、ならびに低用量群および高用量群の雌(0、50 および 100 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 5/60、15/60 および 31/60)で認められた。加えて、高用量群の雌で、鼻粘膜嗅上皮の化生、および肺における血管周囲性リンパ球浸潤の発現率の増加がみられ、高用量群の雄で、肺のうっ血がより高頻度に認められた。鼻粘膜嗅上皮の化生および肺のうっ血は、経口投与による全身作用ではなく、強制経口投与した溶液の逆流に起因するものと考えられた。この試験の結果に基づくと、B6C3F1 マウスの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠はないと言える。その他の影響は認められていないが、この試験デザインには、血液学的検査、臨床化学的検査および臓器重量の測定が含まれていなかったことに注意が必要である。試験デザインは不十分であったが、この試験における局所毒性に対する NOAEL は、前胃の所見に基づき 50 mg/kg 体重/日未満、全身毒性に対する NOAEL は、体重および生存率の低下に基づき 50 mg/kg 体重/日とされる。

DeAngelo et al.(1992)は、F344 雄ラットにおけるクロロ酢酸のがん原性を評価するため、飲水投与試験を行った。この試験における MCAA の投与濃度は、0.05、0.5 および 2 g/L(1 日の時間加重平均投与量 3.6、28 および 69 mg/kg 体重/日に相当)、投与期間は 100~104 週間であった。評価項目は、死亡率、体重増加量、臓器重量、肉眼的病理所見、および選択した組織(詳細は不明)の病理組織学的所見であった。この結果、投与に関連した病理学的変化は認められなかったが、用量依存性の体重増加抑制および高用量群における死亡率の増加が認められた。この試験では、MCAA は雄のラットにおいてがん原性を示さないと結論付けられたが、この試験については要約だけしか入手できていない。

DeAngelo et al.(1997; Table 4.9 内の study 8)は、別の試験でも、ラットを用いて MCAA の飲水投与によるがん原性の有無を検討した。この試験では、F344/N 雄ラット(1 群 50 匹)を 0、0.05、0.5 および 1.1 g/L(1 日の時間加重平均投与量 0、3.5、26.1 および 59.9 mg/kg 体重/日に

相当)の用量で、MCAAに104週間曝露した。第15週、第30週、第45週および第60週の時点で中間屠殺を行って(屠殺した動物数の合計は、0、0.05、0.5および1.1 g/L投与群でそれぞれ21匹、18匹、18匹および21匹)、体躯、肝臓、腎臓、脾臓および膀胱の肉眼的検査、ならびに肝臓、腎臓、脾臓および精巣の顕微鏡的検査を実施した。この結果、104週間後の生存率には、影響が認められなかった。体重および飲水量は、0.5および1.1 g/L投与群で有意に減少した。体重は、両群で対照群に比べそれぞれ13%および38%減少しており、飲水量は、対照群で77 mg/kg体重/日(時間加重平均)であったのに対し、中用量群および高用量群ともに56 mg/kg体重/日であった。肝臓の相対重量および絶対重量、ならびに腎臓の絶対重量の減少が、0.5および1.1 g/L投与群で認められた(用量依存性あり)。また、0.5 g/L投与群および1.1 g/L投与群で、精巣の相対重量に有意な増加が認められたが、両群における精巣の絶対重量には、対照群との統計学的有意差は認められなかった。このように、肝臓、腎臓および精巣の重量に変化がみられたが、これらの臓器には投与に関連した病理組織学的変化は認められなかったことから、両群における成長の抑制による二次的変化であると考えられる(Feron et al., 1973; Oishi et al., 1979)。0.05 g/L投与群で、脾臓の相対重量および絶対重量の平均が統計学的に有意に増加したのに対し、0.5 g/L投与群および1.1 g/L投与群では、脾臓重量の減少(統計学的に有意であったのは1.1 g/L投与群のみ)が認められた。脾臓重量の群間および群内変動と並行して、これらの用量群における単核細胞白血病の発症率にも変動がみられた(単核細胞白血病の発症率は0、0.05、0.5および1.1 g/L投与群でそれぞれ24%、48%、17%および4%)。このことから、0.05 g/L投与群における脾臓の平均重量の増加は、脾臓に対するMCAAの直接的な毒性影響ではなく、白血病を発症した動物の脾臓重量の増加を反映したものであったことが示唆される。また、1.1 g/L投与群における脾臓重量の著しい減少は、この濃度における顕著な成長抑制に起因したものであったと考えられる。病理組織学的検査では、腫瘍性病変の発生率に有意な増加は認められなかった。高用量群では、第104週の時点で、心筋変性および鼻腔の慢性炎症の発現率の増加が観察された。血漿中のASATおよびALAT濃度(第104週に測定)、また、ペルオキシソームおよび肝細胞の増殖(中間屠殺時および最終屠殺時に測定)には、投与に関連した影響は認められなかった。なお、この試験は、肝臓におけるがん原性や毒性に重点を置いており、血液学的検査および臨床化学的検査(ASATおよびALATを除く)が実施されなかったことに注意が必要である。この文献の著者は、肝臓の異常増殖を示す証拠は認められなかったと結論している。104週間の曝露によるNOAELは、成長の抑制および飲水量の減少に基づき、0.05 g/L(3.5 mg/kg体重/日)とされる。中間評価では、腫瘍や投与に関連した変化は認められていない。

吸入投与

吸入曝露によるがん原性については、試験データが得られていない。

経皮投与

Van Duuren et al. (1974) は、雌の ICR/Ha Swiss マウス (6~8 週齢) を用い、皮膚への塗布 (試験 1) および皮下注射 (試験 2) により MCAA への曝露を行って、そのがん原性を検討した。動物の検査を定期的に行った。頭部を除く全臓器の剖検を実施し、異常が認められた組織および臓器のすべてに対し、病理組織学的検査を行った。なお、血液学的検査および臨床化学的検査は行わなかった。この結果、いずれの試験においても、生存率への影響は認められなかった。第 1 の試験では、2.0 mg の MCAA を 1.0 mL のアセトンに溶解した試験液を、50 匹のマウスの肩甲間部に、週 3 日の頻度で 580 日間適用した。その結果、局所の乳頭腫やがんの発生は認められなかった。第 2 の試験では、MCAA (0.5 mg を 0.05 mL のトリカブリンに溶解) を、50 匹のマウスの左側腹部に、週 1 回の頻度で 580 日間注射した。この結果、局所の肉腫の発生率が増加したが (MCAA 投与群で 3/50、対照群で 1/50)、統計学的に有意な増加ではなかった。その他の局所の悪性腫瘍、扁平上皮がんまたは腺がんは、認められなかった。いずれの試験にも、溶媒対照群 (n=50) および無処置対照群 (n=100) を設けていた。さらに詳しい結果は提示されておらず、例えば、実施されたはずの病理組織学的検査の結果は示されていない。なお、第 2 の試験で用いられた投与経路については、リスク総合判定における意義はないと考えられることに留意されたい。

試験 1 の結果に基づくと、雌のマウスに対するがん原性を示す証拠はないと言える。

4.1.2.8.1 ヒトにおける試験

MCAA への曝露によるヒトにおけるがん原性データは得られていない。

その他

いくつかのがん原性化学物質について、ニューカッスル病ウイルスによるマウスの I 型インターフェロンの誘導を阻害することが明らかにされているが、MCAA は、I 型インターフェロンの誘導に対し、有意な影響を及ぼさなかった。(Sonnenfeld et al., 1980)。

4.1.2.8.2 結論

ラットやマウスを用いた強制経口投与試験ならびに雄ラットを用いた飲水投与試験により、MCAA のがん原性が検討されている。これらの試験の結果からは、経口投与による MCAA のがん原性を示す証拠は認められなかった。

経口投与試験の他に、皮膚接触によるがん原性についてのデータが得られている。雌マウスの肩甲間部の皮膚に MCAA を反復適用した試験において、局所の乳頭腫やがんの発生は認められなかった。この試験の結果に基づくと、雌のマウスでは、反復経皮曝露によるがん原性を示す証拠はないと結論付けられる。

4.1.2.9 生殖毒性

4.1.2.9.1 動物における試験

生殖毒性

生殖毒性試験のデータは得られていないが、反復投与毒性試験の結果から、以下の情報が得られている。雌雄の B6C3F1 マウスや F344/N ラットを用いた強制経口投与試験では、16 日間(最高用量はラットで 120 mg/kg 体重/日、マウスで 240 mg/kg 体重/日)、13 週間(最高用量はラットで 150 mg/kg 体重/日、マウスで 200 mg/kg 体重/日)、および 103 週間(ラットで 0、15 または 30 mg/kg 体重/日、マウスで 0、50 または 100 mg/kg 体重/日)のいずれの場合も、生殖器官において、投与に関連した影響は認められなかった。陰核腺または包皮腺(ラット)、乳腺、卵巣、前立腺、精巣と精巣上体、および子宮の検査が行われたが、生物学的に重要な変化は認められなかった。103 週間試験では、雌のラットにおいて、子宮内膜間質ポリープの発生率の増加が、統計学的に有意かつ用量依存性に認められた(2/60、7/57 および 10/60)。しかし、この試験の対照群における同病変の発生率は異常に低く、MCAA の投与を受けた雌における発生率は、背景対照の平均発生率(116/562 または 20.6%、範囲 10~38%)を下回っていた。加えて、1 例のみ認められた悪性内膜間質腫瘍は、対照群で発生していた。これらの理由から、投与群の雌における子宮内膜間質ポリープ発生率のわずかな増加は、MCAA の投与に関連したものではないと考えられた(NTP, 1992)。Bhatet al.(1991)の試験では、ラットに MCAA を 90 日間飲水投与(濃度 1.9 mM、19 mg/kg 体重/日に相当)したが、精巣に形態学的変化は認められなかった。ラットに MCAA を 104 週間飲水投与(0.05、0.5 または 1.1 g/L)した試験でも、精巣重量に毒性学的意義のある変化は認められなかった。この試験における飲水中の最高濃度は、開始時の 2.0 g/L で、毒性徴候が認められた際には、1 g/L まで減量された(時間加重平均用量は 1.1 g/L/日)(DeAngelo et al., 1997)。

発生毒性

胎仔の心臓に対する催奇形性を検討する目的で、試験が行われている。雌の Hsd:Sprague Dawley ラット 10 匹に、妊娠期間中(20 日間)、1.57 ppm(193 mg/kg 体重/日に相当)の濃度で、

MCAA を飲水投与した。この試験では、55 匹の妊娠ラットからなる対照群を設けた。母動物には、投与に関連した死亡例は認められなかった。妊娠中の平均体重増加量には、減少がみられた。着床部位数、胚吸収部位数、生存仔数および死亡胎仔数には、影響は認められなかった。胎仔体重、胎盤重量、胎仔の頭殿長、および胎仔の外部形態を分析した。心臓への影響を含め、いかなる影響も認められなかった。試験デザインは限定的であり、骨格奇形や脳への影響については、検討が行われなかった (Johnson et al., 1998)。

また、別の発生試験について、短報のみが得られている (Smith et al., 1990)。この報告によると、妊娠 Long-Evans ラット (動物数は不明) に、蒸留水に溶解した MCAA が、0、17、35、70 または 140 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 6 から 15 日まで、経口挿管により投与された。この結果、最高用量群で、母動物の体重増加に統計学的に有意な減少が認められたが、投与に関連した母動物の死亡は認められなかった。また、臓器重量、一腹あたりの平均胚吸収率、および生存仔体重についても、投与に関連した影響は報告されていない。要約によると、軟部組織の奇形の発現率が増加したが、用量依存性はなかった。骨格奇形は認められなかった。最高用量群では、心臓血管系の奇形 (主として左胸心) の発現率が、統計学的に有意に増加した。この試験は報告が不十分であったため、リスクの総合判定に使えるような、発生および母体毒性の NOAEL は確定されなかった。この試験の全文は、公表されていない。

CD-1 マウス胚 (3~6 体節期) を、*in vitro* で MCAA に 24~26 時間曝露した試験が報告されている (Hunter et al., 1996)。脱イオン水を媒体として、MCAA 濃度を、0、50、100、175、250、350 および 500 μM に設定した。各濃度における培養胚数は、それぞれ 34 個、5 個、21 個、28 個、34 個、10 個および 10 個であった。この試験では、発生毒性を示す結果が得られた。上位 2 つの高濃度群ではすべての胚が死亡し、250 μM 濃度群では 34 個中 14 個が死亡した。眼への影響および体節の形態異常は認められなかった。175 μM 濃度群および 250 μM 濃度群では、奇形発生率の統計学的に有意な増加 (それぞれ 39.3% および 70%) が認められた。これらの群では、神経管欠損 (それぞれ胚の 39.3% および 50%) や、体節数の統計学的に有意な減少 (それぞれ 19.4 および 19.6) も認められた。また、250 μM 濃度群では、咽頭弓や心臓の欠陥が、それぞれ胚の 40% および 65% に認められた。この試験におけるベンチマーク濃度は、神経管欠損発生率 5% に基づき、90 μM とされる。

Yuan-Tang et al. (1998) は、ヒドラ (*Hydra*) の消化組織再生試験により、塩素処理飲料水の消毒副生成物の催奇形性を検討した。この試験において、被験物質の一つとして MCAA が用いられ、陽性対照および陰性対照も設けられた。曝露 72 時間後において、ポリプに対する 50% 毒性濃度 (T_{50}) および再生に対する 50% 抑制濃度 (I_{50}) は、それぞれ 955 および 155 mg/L であった。また、陰性対照における値はそれぞれ 2,500 および 2,450 mg/L、陽性対照における値はそれぞれ 95 および 35 mg/L であった。この試験の結果、MCAA は、ヒドラ消化組織

に対し、強い再生毒性および催奇形性を示すと結論された。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

ヒトにおける生殖毒性データは得られていない。

4.1.2.9.3 結論

得られたデータは、指令 67/548/EEC の附属書 VIIA に規定された基本要件を満たすものではない。実験動物では、雌雄ともに経口(亜)慢性曝露による生殖器官への影響は認められていない(4.1.2.6 項「反復投与毒性」を参照のこと)。心臓に対する催奇形性を検討する目的で、ラットを 193 mg/kg 体重/日の MCAA に曝露した試験では、観察された影響は、母動物の妊娠中の体重増加平均の減少のみであり、発生毒性は認められなかった。しかし、この試験では、骨格奇形や脳への影響は検討されておらず、MCAA の発生毒性に関して明確な結論を導くことはできない。MCAA への経口曝露による発生毒性(心血管系への影響)についての短報(Smith et al., 1990)が入手できたが、残念ながら、この試験の全文は公開されていない。また、ヒドラの再生試験および CD-1 マウス胚の培養試験において、発生毒性を示唆する結果が得られている。全体的にみて発生毒性の評価項目が十分に網羅されていない。加えて、心臓への影響を示唆する結果が得られている。**結論(i)**として、発生毒性試験を 1 件実施すべきである。その発生毒性試験の結果に基づいて、一世代または二世代試験の実施を考慮することもあり得る。**結論(ii)**は、「保留」することである。上記で必要とされるとした発生毒性試験は、EU のリスク軽減戦略の策定まで「保留」してもよい。

4.1.2.10 その他のデータ

4.1.2.10.1 毒性のメカニズム

MCAA は、少なくとも *in vitro* ではピルビン酸デヒドロゲナーゼや α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼを阻害することから、この両者が阻害されることにより細胞のエネルギー産生が障害され、細胞が嫌気性解糖に移行する結果、乳酸が蓄積すると考えられる。MCAA の分布パターンは、最初に脂肪の少ない組織に急速に分布し、続いて、脳のような脂肪を多く含む組織に取り込まれることが示されている(ECETOC, 2001 ; 4.1.2.1 項も参照のこと)。

ヒトにおける MCAA 中毒の経時的变化およびパターンは、げっ歯類を含む他の動物種に類

似している。ヒトにおいて、偶発的な皮膚接触から最初の中枢神経症状が発現するまでに時間差が認められているが、このことについては、MCAA の分布パターンの特徴および乳酸アシドーシスの発現が緩徐であることで説明される。これまで、臨床医は、脳および全身性の乳酸アシドーシスにより及ぼされ得る影響を知らなかったため、脳脊髄液や血清中の乳酸塩濃度の測定を行ってこなかった。しかし、重度の代謝性アシドーシスに陥った症例が見つかっており、なおかつ *in vitro* においては、MCAA の影響が、ヒトの内皮細胞では他の細胞(肝上皮細胞など)に比べ、強く現れることが報告されている (ECETOC, 2001 中で参照されている)。

全体として、脳の乳酸アシドーシスおよびこれに続く全身性アシドーシスが、死亡の主因であることが示唆される (ECETOC, 2001)。

血液脳関門への影響／解毒剤

Mitroka (1990) は、動物モデル(ラットおよびマウス)を用いて、ヒトが MCAA に曝露された際に有効な解毒剤について検討を行った。ラットにおいては、エタノールやフェニトインは有効ではなく、ジクロロ酢酸 (DCAA) およびフェノバルビタール (PB) が MCAA に対する有効な解毒剤であることが示された。ラットに LD₈₀ 量の MCAA を投与 (80 mg/kg、静注) した 15 分後に DCAA (100 mg/kg、腹腔内投与) を投与したところ、死亡率は一貫して 0% にまで低下した。一方、PB の投与では、20%未満まで低下した。マウスでは、DCAA および PB のいずれも同様の有効性を示した。PB は、MCAA の代謝動態を変化させることにより MCAA 投与ラットの死亡率を低下させるとする仮説が検討されたが、棄却された。著者はまた、MCAA 投与ラットにおける、血液脳関門の透過性と死亡との関連性を検討した。血液脳関門における [¹²⁵I]-BSA の透過性が、MCAA の投与 (80 mg/kg、静注) により、著しく亢進した (50%)。しかしながら、この影響は PB の投与によっても変化しなかったため、血液脳関門の透過性の変化は、ラットにおける MCAA による致死作用に関して、重要な役割を果たしていないことが示唆された。著者はさらに、脳における炭水化物の代謝に及ぼす MCAA の影響を、*in vivo* で検討した。MCAA 投与ラットでは、脳脊髄液 (CSF) 中および血液中の乳酸濃度が上昇し、CSF 中濃度の上昇には用量依存性が認められた。MCAA 投与ラットの各個体で、CSF 中乳酸濃度の変化は運動失調のと進行と相応していたが、死亡に関しては明確な閾値 (18 mmol/L) が認められた。MCAA 投与ラットにおける、脳内の過剰な乳酸と死亡との関連性についてさらに検討を重ねた結果、低酸素症により脳内の乳酸濃度および死亡率が増加することが判明した。また、MCAA 投与ラットの死亡率を低下させる PB および DCAA のいずれも、脳内の乳酸濃度を低下させることが示された。

これらの試験の結果に基づき、著者は、ラットおよびマウスでは、PB および DCAA は MCAA

中毒に対する有効な解毒剤であり、ラットにおける MCAA の致死作用は、主として CSF 中への乳酸の過剰な蓄積に関連していると結論した。また、血液脳関門の機能に関する MCAA の影響と死亡に関する MCAA の影響は、全く別個のものであることを示唆しているが、これは、Berardi (1986 and 1987) が報告した、マウスにおける急性毒性試験の結果と大きく異なっている (4.1.2.2 項を参照のこと)。この急性毒性試験では、マウスの血液脳関門が損傷を受け、それが神経機能障害および死亡のいずれにも関連していると結論されている。

4.1.2.10.2 結論

ラットでは、ジクロロ酢酸(DCAA)およびフェノバルビタール(PB)が MCAA に対する有効な解毒剤であることが明らかにされた。PB を投与しても血液脳関門(BBB)の透過性には変化がみられなかったことから、ラットでは、高用量の MCAA による致死作用において、BBB の透過性の亢進は、重要な役割を果たしていないと考えられた。MCAA 投与ラットにおいて、脳内の過剰な乳酸と死亡との関連性が認められた。いずれの解毒剤(PB および DCAA)も、MCAA 投与ラットにおける脳内乳酸濃度を減少させた。

脳内における乳酸濃度の上昇は、必ずしも MCAA の直接的な影響によらず、酸化活動(ミトコンドリア内でみられるような)の阻害の結果、生じることもある。他の臓器においても乳酸濃度上昇はあり得るが、脳における上昇はより重大な影響をもたらすものと考えられる。