

**European Union**  
**Risk Assessment Report**  
**4'-tert-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'- dinitroacetophenone**  
**(musk ketone)**  
**CAS No: 81-14-1**  
3rd Priority List, Volume 62, 2005

欧州連合  
リスク評価書 (Volume 62, 2005)  
ムスクケトン

European Chemicals Bureau  
Institute for Health and Consumer Protection  
European Chemicals Bureau  
Existing Substances  
CAS No: 81-14-1  
EINECS No: 201-328-9  
4'-tert-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'- dinitroacetophenone (musk ketone)  
European Union Risk Assessment Report  
CAS: 81-14-1  
EINECS: 201-328-9  
PL-3  
62  
3<sup>rd</sup> Priority List  
Volume: 62  
EUROPEAN COMMISSION  
Joint Research Centre  
EUR 21507 EN

国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部  
2009年3月

本部分訳文書は、4'-tert-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'- dinitroacetophenone (musk ketone, CAS No: 81-14-1)に関する EU Risk Assessment Report (Vol. 62, 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(濃度)- 反応(影響)評価」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、  
[http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK\\_ASSESSMENT/REPORT/muskketonereport321.pdf](http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/muskketonereport321.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、代謝及び分布

###### 4.1.2.1.1 動物実験

###### 経口 / 吸入

利用できるデータはない。

###### 経皮投与

21匹の雄ラット（16匹のCD Sprague- Dawley及び5匹のLong-Evans）の剃毛した背中にベンゼン環を標識した<sup>14</sup>C-ムスクケトン（フェニルエチルアルコールとエタノールの混合液中）0.5 mg/kg体重を塗布し、その6時間後に放射活性の吸収、分布及び排泄を測定した。被験物質は9 cm<sup>2</sup>の広さに均一に塗布した。単位面積あたりの塗布量は0.01 mg/cm<sup>2</sup>であった。塗布部位をアルミホイルと防水包帯で覆った。塗布6時間後にアルミホイルと防水包帯を取り除き、塗布部位に残存する被験物質を拭き取った。塗布後6時間又はそれ以降にラットを安楽死させ、採取した尿、糞及び呼気について放射活性を測定し、代謝物の分析を行った。CDラットは2匹を1群として塗布後1、3、6、8、24、48、96及び120時間に、Long-Evansラットは6、24、48、96及び120時間に安楽死させた。安楽死の前に採取した血液を分析に用いた。安楽死後の器官及び組織（塗布部位及び非塗布部位の皮膚を含む）を摘出し、放射活性を測定した。別の2匹のCDラット（1匹は胆管カニューレを装着）の剃毛した皮膚（16 cm<sup>2</sup>の面積）に2.5 mg/kg体重の<sup>14</sup>C-ムスクケトン（フェニルエチルアルコール/エタノール中）を48時間閉塞塗布し、尿及び胆汁を24及び48時間に採取した。

結果：CD及びLong-Evansラットでは、塗布した放射活性のそれぞれ14.6～26.3%及び13.3%が剃毛した皮膚から6時間で吸収された。塗布した<sup>14</sup>C-ムスクケトンを6時間後に除去した後も塗布量の16%が皮膚上に残存した。それはその後も吸収されつづけた。このことはその後安楽死させて測定した動物のデータで裏付けられた。すなわち、塗布部位の皮膚から回収されたムスクケトン量は8時間後では塗布量の7.2～9.85%、24時間後では3.1～4.1%、48時間後では2.0～3.4%であり一貫して減少した。実際の吸収量は8時間後ではおよそ19%で

あり、24時間後は25.1～28.3%、48時間後は26.2～32.7%であった。吸収は48時間でほぼ終了し、およそ3%が吸収されずに皮膚に残留した。Long-Evansラットにおける放射活性の消長は<sup>14</sup>C-ムスクケトンの吸収と類似しており、48時間から120時間の間に29.3～40.2%増加した。24時間後の塗布部位の平均残存量は塗布量の3%であった。

CDラットにおける120時間後の尿及び糞中排泄はそれぞれ塗布量の平均7.3%及び17.2%であった。一方、Long-Evansラットにおける5日間の尿及び糞中排泄はそれぞれ10.8%及び27.2%であり、類似するものであった。放射活性の大部分は最初の48時間に排泄された。呼気中に放射活性は認められなかった。

胆管カニューレを装着したCDラットでは48時間の尿中排泄はわずかに1.8%であり、胆汁中には25.3%が回収された（そのうち24時間で15.8%）。胆管カニューレを装着しないラットの48時間の尿中排泄は8%であった。この結果は<sup>14</sup>C-ムスクケトンの主要な排泄経路は胆汁であることを示しており、そのためにカニューレ装着ラットの尿中放射活性の大部分は消化管から再吸収されたものによると思われる。胆汁中には少なくとも6種類のムスクケトン関連化合物がβ-グルクロン酸抱合体で存在し、それらはおそらく消化管内で脱抱合及びさらに代謝されてより極性の高い化合物になり、少なくともそれらの一部は再吸収され、複雑なプロフィールの尿中代謝物となったものと思われる。

塗布後1～120時間に安楽死させた動物のほとんどすべての組織から放射活性が検出された。塗布後およそ6時間の放射活性がすべての組織で最も高かった。8～120時間の間では放射活性がすべての組織で一貫して減少し、120時間後のそれぞれの組織の放射活性はピーク値の20%以下になった。実験期間を通して放射活性は消化管、肝臓、脂肪組織、副腎、甲状腺及び腎臓で最も高く、CDラットでは塗布後6時間の平均ムスクケトン含量はそれぞれ0.645、0.32、0.19、0.12、0.10及び0.08μg相当/gであった。Long-Evansラットにおける放射活性の組織分布は類似しており、塗布後6時間では消化管（0.47μg相当/g）、肝臓（0.26μg相当/g）、副腎（0.1μg相当/g）、甲状腺（0.18μg相当/g）及び脂肪（0.16μg相当/g）で最高値を示した（Hawkins et al., 1984 ; Hawkins and Ford, 1999）。

10匹の雄Sprague-Dawley CDラットの背部の剃毛部分（面積はおおよそ9 cm<sup>2</sup>）にベンゼン環標識<sup>14</sup>C-ムスクケトン（フェニルエチルアルコールとエタノールの混合液中）0.5 mg/kg体重/日を14日間（1日24時間）毎日閉塞塗布した。毎日の塗布時に塗布部位の洗浄はしなかった。2匹について全身オートラジオグラフィー検査を行い、内1匹は初回の塗布の24時間後、別の1匹は14回目の塗布後24時間に屠殺した。残りの8匹はいくつかの時点で尿及び糞を採取し、屠殺時に採血及び塗布部の皮膚、脳、腎臓、肝臓、甲状腺及び脂肪を摘出した。

初回塗布24時間後の全身オートラジオグラフィーでは、放射活性は全身に広く分布してはいなかった。塗布部、盲腸内容物、大腸内容物及び胆管に比較的高濃度の放射活性が認められた。小腸内容物及び肝臓の放射活性濃度は低かった。14回目塗布後24時間の放射活性

の組織内分布は全体的にはやや高い放射活性が認められ、塗布部及び消化管で最も高く、肝臓、血液及び甲状腺では低かった。このように、塗布部に大量の放射活性が残留していたことを考慮すると、放射活性の吸収は十分ではなかった。

初回塗布後24時間の尿及び糞中に平均1.48及び2.34  $\mu\text{g}$ 相当量の放射活性が排泄された。14回目の塗布後24時間の尿中平均排泄量は6.54  $\mu\text{g}$ 相当量に増加した。12回及び14回塗布後24時間の糞中平均排泄量も最大でおよそ14.8  $\mu\text{g}$ 相当量に増加した。

屠殺時の塗布部位の皮膚の放射活性は高かったが、血中及び組織中の総放射活性は14回塗布した総量のほんの一部でしかなかった（肝臓では0.22-0.37%で、脂肪、血液、腎臓、脳及び甲状腺ではさらに低かった）（Hawkins et al., 1989 ; Hawkins and Ford, 1999）。

胆管カニューレを装着したラットの背部の剃毛した皮膚にベンゼン環標識 $^{14}\text{C}$ -ムスクケトン（フェニルエチルアルコールとエタノールの混合液中）4.63 mg/kg体重を単回塗布した。胆汁を採取し、 $\beta$ -グルクロニダーゼで処理し、酢酸エチルで抽出した。 $\beta$ -グルクロニダーゼ処理した胆汁の抽出物では複雑な（未知の）代謝パターンが認められた（Hawkins et al., 1989）。

#### 静脈内投与

4匹の雄Sprague-Dawley CDラットにベンゼン環標識 $^{14}\text{C}$ -ムスクケトン（0.5 mg/kg 体重、ポリエチレングリコール、塩化ナトリウム水溶液及びエタノールの混合液中）を単回静脈内投与した。血液サンプルを投与後5、30及び90分、3、6、24、48、72、96、120、168及び240時間に採取した。血漿中放射活性濃度は投与後1.5～6時間の間におよそ0.57 $\mu\text{g}$ 相当/mLの単一のピークを示し、そのピークの時間は個体によってばらついた。血漿中の放射活性は平均消失半減期が60時間で減少した。平均曲線下面積（AUC）は45  $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ であった（Hawkins et al., 1989）。

#### 特殊な試験

2.5及び25 mg/kg体重のムスクケトンをコーンオイルに溶解して妊娠CDラット（n=18匹/群）に妊娠14日から分娩後7日まで毎日経口強制投与した。分娩後3及び7日の投与後時間4、8及び24時間におよそ0.5 mLの母乳を1群あたり及び1測定時間あたり3匹の母動物から手作業で採取した（オキシトシン処置後）。ムスクケトンの最高平均濃度は投与後4時間にみられ、24時間後には1/20以下にまで減少した（Table 4.7）。ムスクケトンが完全に脂肪と結合しており、ラットの乳汁中の総脂肪濃度を134 g/Lと仮定すると、乳脂肪中のムスクケトンの平均濃度はTable 4.8に示したようになる（Ford and Hawkins, 1996 ; Hawkins et al., 1996）。

Table 4.7 Mean (n=3) concentrations in milk (in µg/ml).

Sample time (hour)	Day 3 - Dose level (mg/kg bw)		Day 7 - Dose level (mg/kg bw)	
	2.5	25	2.5	25
4	0.72	4.21	0.98	20.90
8	0.07	1.84	0.34	9.29
24	<0.05	0.16	<0.05	0.71

Table 4.8 Corresponding mean (n=3) concentrations in milk fat (in µg/g).

Sample time (hour)	Day 3 - Dose level (mg/kg bw)		Day 7 - Dose level (mg/kg bw)	
	2.5	25	2.5	25
4	5.37	31.4	7.31	156
8	0.52	13.7	2.54	69.3
24	<0.37	1.19	<0.37	5.30

### In vitro試験

雄F344ラットの背部から新鮮な皮膚の全層を円形（直径1.7 cm）に摘出し、それを*in vitro*経皮吸収モデルであるフロースルー型拡散セルに入れた。皮膚表面の温度は温水循環装置を用いて32℃に維持し、50% v/vエタノール水のレセプター液を皮膚の下側を1.5 mL/hの速度で流した。エタノール：フタル酸ジエチル（75:25）混合液に0.1%及び0.5%の濃度で溶解した<sup>14</sup>C-ムスクケトン（標識位置の記載なし）溶液を皮膚表面に塗布し（それぞれ5及び78 µg/cm<sup>2</sup>）、皮膚はテフロンキャップで閉塞するか又は開放したままとした（非閉塞）。レセプター液を2時間ごとに72時間まで採取した。実験の最後に皮膚の表面を洗浄し、拭き取り、その後に皮膚を水酸化ナトリウムのメタノール溶液に溶解した。レセプター液、皮膚洗浄液及び皮膚の中の放射活性を液体シンチレーション分光法で測定した。

放射活性の総回収率は>80%であった。非閉塞の場合のレセプター液中の平均濃度が3.28 ± 2.35%であったことから、ムスクケトンの非閉塞皮膚からの24時間の吸収はわずかであった。皮膚吸収に対する被覆の効果は24時間ではほとんどなかった（平均5.68 ± 6.47%）。皮膚から多量の放射活性が回収された（閉塞及び非閉塞皮膚の両者とも24時間で47%）。48時間にわたってムスクケトンはレセプター液に吸収され、48時間における総吸収量は閉塞した方が多かった（Ashcroft and Hotchkiss, 1996）。

注意：どの溶液で結果が得られたのかが不明確である。48～72時間のデータは示されていない。

皮膚中への浸透率及び皮膚の透過率を測定するために、3%及び10%の<sup>14</sup>C-ムスクケトンエタノール/アセトン（1：1）溶液（用量はそれぞれ180及び600 µg/cm<sup>2</sup>に相当）及び10%の<sup>14</sup>C-ムスクケトン benzoic acid benzyl ester溶液（用量は600 µg/cm<sup>2</sup>に相当）をミニブタの無傷の移植皮膚（面積は5 cm<sup>2</sup>）に最長16時間塗布した。角質層中及び生存真皮層、すなわち真皮及

び皮下組織、に分けて算出した総浸透率はすべての被験溶液で非常に低かった。角質層の透過を規制する膜としての作用は非常に有効であった。生存真皮層への浸透は接触時間及び媒体の種類よりはむしろ用量に依存するように思われた (Table 4.9) (Klecak, 1982)。

Table 4.9 Penetration rate into and through intact explanted mini pig skin.

Contact time	30 mg/ml in ethanol / acetone (1/1, v/v)		100 mg/ml in ethanol / acetone (1/1, v/v)		100 mg/ml in benzoic acid benzyl ester	
	Stratum corneum	Living skin layers	Stratum corneum	Living skin layers	Stratum corneum	Living skin layers
1 h	3.1%	0.6%	1.2%	0.3%	2.3%	0.2%
6 h	3.7%	0.7%	1.6%	0.4%	2.9%	0.3%
16 h	3.8%	0.8%	2.1%	0.5%	3.1%	0.5%

Percentages in this table refer to the applied dose.

#### 4.1.2.1.2 ヒトにおける実験

健常男子2名に2.2 mgのベンゼン環標識<sup>14</sup>C-ムスクeton (フェニルエチルアルコールとエタノールの混合液中) を胸の左側上部の非剃毛皮膚に6時間塗布した。塗布部位の面積は等しく100 cm<sup>2</sup>とした。したがって、塗布量は0.02 mg/cm<sup>2</sup>であった。塗布部を保護ガーゼで覆い、絆創膏で留めた。6時間後に塗布部のガーゼを取り除き、塗布部を拭き取った。血液、尿及び糞の採取を塗布後120時間まで行った。120時間後に塗布部の皮膚を粘着テープで剥離した。すべての試料 (剥離した皮膚、ガーゼ及び拭き取りに用いた綿棒も含む) について放射活性を測定した。

120時間採取した尿中及び糞中に塗布量の0.5%のみが排泄され、およそ86%が塗布部位から回収され、6時間の塗布による<sup>14</sup>C-ムスクetonの経皮吸収はわずかであった。さらに、血漿、全血及び剥離した皮膚からは放射活性は検出されなかった (Hawkins et al., 1984; Hawkins et al., 2002)。

1名の尿試料からの酢酸エチルによる抽出では放射活性の回収率は低かった (およそ12%)。尿試料をβ-グルコニダーゼで処理してから酢酸エチルで抽出した場合は、回収率は5倍に増加し、ヒトの尿中代謝物の大部分はグルクロン酸抱合の状態が存在することが示唆された。β-グルコニダーゼ処理したヒトの尿からの抽出物の中には1種類の主要な (未知の) 代謝物が存在しており、それはラットの胆汁中にも微量成分として存在していた代謝物と思われた (Hawkins et al., 1989; Hawkins et al., 2002)。

いくつかの実験で、ヒトの乳汁中及び脂肪組織中にムスクetonが存在することが認められている (詳細は4.1.1.42.2項)。Sönnichsen et al (1999) はヒトの乳汁中の合成ジャ香香料に関する結果を示しており、彼らは108人の婦人から乳汁を採取し、数種類の多環ムスク (polycyclic musks、多環ジャ香) 及びニトロムスク (nitromusks、ニトロジャ香) について

分析した。乳汁中のムスクケトンの平均濃度は3.49 µg/kg乳脂肪であり、最大値は82.9 µg/kg乳脂肪であった。初期の実験（90年代の初期から中期）ではやや高い値が得られており、ムスクケトンの平均及び最大濃度はそれぞれ40及び240 µg/kg乳脂肪であった。

ヒトの脂肪組織については、ムスクケトンの濃度が一人の女性（0.22 mg/kg脂肪）を除き0.01～0.05 mg/kg脂肪であったことをRimkus et al.（1994）が報告している。Müller et al.（1996）はムスクケトンの濃度として<1～11µg/kg脂肪（例外として173及び40µg/kg）を報告している。

#### 4.1.2.1.3 トキシコキネティクス、代謝及び分布の要約

経口投与及び吸入暴露によるムスクケトンのトキシコキネティクスに関する利用できるデータはない。関連化合物であるムスクキシレンについては経口投与によるトキシコキネティクスのデータがある。それに基づいてラット及びヒトにおいて50%という経口吸収率がムスクキシレンのリスク判定に使用されている。ムスクケトンはムスクキシレンと物理化学的性質がまったく同じである。この二つの化合物の皮膚吸収率及び透過率は大きな違いは認められない（Table 4.10）。ムスクケトンとムスクキシレンの類似性から、ムスクキシレンのデータにしたがってムスクケトンの経口吸収率を50%と推定し、これがリスク判定に使用されるであろう。

Table 4.10 Comparison of characteristics of musk ketone versus musk xylene.

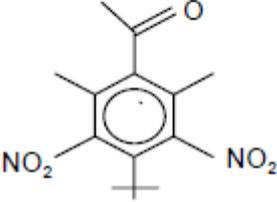
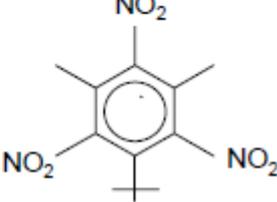
	Musk ketone <sup>1</sup>	Musk xylene <sup>1,2</sup>
<b>Molecular properties</b>		
IUPAC name:	4'-tert-butyl-2', 6'-dimethyl-3',5'-dinitroacetophenone	5-tert-butyl-2,4,6-trinitro-mxylene
Structural formula:		
Physical state	solid, powder	solid, powder
Melting point	135-137 °C	112-114°C
Molecular weight	294.3 D	297.3 D
Relative density	0.73 g/cm <sup>3</sup>	0.77 g/cm <sup>3</sup>
Vapour pressure	0.00004 Pa	0.00003 Pa
Water solubility	0.46 mg/l	0.15 mg/l
Partition coefficient n-octanol/water (log value)	4.3	4.9

Table 4.10 continued Comparison of characteristics of musk ketone versus musk xylene.

	Musk ketone <sup>1</sup>	Musk xylene <sup>1,2</sup>
<b>Molecular properties</b>		
<i>In vitro</i> dermal studies		
Ashcroft and Hotchkiss, 1996	< 6% absorption after 24 hours in rat skin disks, but depot in skin (47% at 24 hours).	< 2% absorption after 24 hours in rat skin disks, but depot in skin (30-43% at 24 hours).
Klecak, 1982	2.6-4.6% penetration in intact mini-pig skin explants after 16 hours	4.4-4.5% penetration in intact mini-pig skin explants after 16 hours
<i>In vivo</i> dermal studies		
Hawkins et al, 1984, Hawkins and Ford, 1999	40% absorption in rats and 14% in humans	20% absorption in rats and 10% in humans

1) Physico-chemical data in this table have been taken from Section 1, Table 1.1.

2) Data from the Risk Assessment Report on Musk Xylene (version of 2005).

ラットの皮膚に<sup>14</sup>C-ムスクケトン<sup>14</sup>C-ムスクケトンを6時間塗布（閉塞）した場合、合計で塗布量のおよそ40%が48時間以内に吸収され、2~3.5%が皮膚に残存した。6~48時間の間に皮膚は貯留槽としての役割をはたし、そこからムスクケトンが吸収され続けた。尿及び糞中排泄（大部分は胆汁経由）は最初の48時間で最も高く、少量が48~120時間に排泄された。120時間以降は塗布量のおよそ7~11%が尿中に、17~27%が糞中に排泄された。放射活性はほとんどすべての組織で検出された。6時間後に消化管内で最高濃度が認められ、次いで肝臓、脂肪組織、副腎、甲状腺、脂肪及び腎臓であった。

<sup>14</sup>C-ムスクケトンをヒトの皮膚に6時間塗布したときの吸収はわずかであり、120時間で塗布量の0.5%のみが尿及び糞中に排泄され、>86%が塗布部位から回収された。

ラットの皮膚に非閉塞で塗布した*in vitro*実験では、ムスクケトンの経皮吸収はわずかであり、皮膚は吸収されるムスクケトンの貯留槽としての役割を果たしていることが示された。

ラット及びヒトにおけるムスクケトンの代謝物にはグルクロン酸抱合反応が関与している。

ラット及びヒトにおけるムスクケトンの経皮吸収について、それぞれ40%及び14%という吸収率がリスク判定に使用されている。

ムスクケトンをラットに静脈内投与したときの血漿消失半減期はおよそ60時間であった。ムスクケトンのヒトの血漿半減期についてのデータはない。

ラットに妊娠14日から分娩後7日まで毎日経口投与した場合、ムスクケトンは乳汁中及び乳脂肪中に検出された。ムスクケトンはヒトの乳脂肪中及び脂肪組織中でも検出されている。

#### 4.1.2.2 急性毒性

##### 4.1.2.2.1 動物実験

経口投与

限定的な報告ではあるが、2,500、5,000又は10,000 mg/kg体重のムスクケトン（コーンオイル中）を1群6匹の雄ラット（系統は記載なし）に強制経口投与した実験がある。この実験では2,500及び5,000 mg/kgでは死亡はなかったが、10,000 mg/kgでは6匹中3匹が死亡した。観察された所見は鼻周囲の血性分泌物、興奮性亢進、抑うつ、昏睡及び死亡であった。この報告書の記載からはどの用量で非致死性の作用が認められたかが不明確である（Bukva et al., 1970 ; Opdyke, 1975）。

注意：この所見と対照的に、雄のF344ラットにムスクケトンを反復経口投与した実験（Lehmann-McKeeman et al., 1999、Section 4.1.2.5）でははるかに低い用量（500 mg /kg 体重）で重篤な中毒症状及び死亡が投与開始後2日以内に発現している。この急性試験と反復投与試験の食い違いに関する説明はない。

経皮投与

限定的な報告ではあるが、1群3匹のアルビノウサギの損傷皮膚に2,000又は10,000 mg/kg 体重のムスクケトン塗布した経皮投与急性毒性試験がある。ムスクケトンは40%コーンオイル懸濁液として24時間の閉塞塗布を行っている。7日間の観察期間中に死亡はなく、皮膚刺激性も全身作用も観察されなかった（Fogleman and Margolin, 1970 ; Opdyke, 1975）。

吸入暴露

利用できるデータはない。

**4.1.2.2.2 ヒトにおける試験**

利用できるデータはない。

**4.1.2.2.3 急性毒性の要約**

OECDのガイドラインにしたがって実施したムスクケトンの急性毒性試験はないが、ラットに対する経口投与のLD<sub>50</sub>及びウサギに対する経皮投与のLD<sub>50</sub>はともに2,000 mg/kg 体重以上と推定できる。急性吸入暴露毒性試験の利用できるデータはない。

ECの基準によれば、報告されているLD<sub>50</sub>値からはムスクケトンは急性経口及び経皮毒性について分類する必要はない。

**4.1.2.3 刺激性/腐食性****4.1.2.3.1 動物実験**皮膚

ウサギを用いた経皮投与LD<sub>50</sub>試験ではムスケトン<sup>1</sup>を40%コーンオイル懸濁液で24時間閉塞塗布したが、皮膚刺激性は認められなかった (Fogleman and Margolin, 1970; Opdyke, 1975)。

## 眼

OECD 405のガイドラインにしたがった実験では、6匹のNew Zealand Whiteウサギの一方の眼に0.1 mLのムスケトン (0.07 g) を滴下した。滴下後30秒に3匹のウサギの両眼を生理食塩液で洗浄した。残りの3匹のウサギでは洗浄しなかった。いずれのウサギでもムスケトンを滴下しなかった眼を対照とした。観察は滴下後72時間まで行った。

角膜及び虹彩に影響は認められなかった。洗浄しなかったウサギの眼では滴下後1～24時間に軽度から中等度の発赤 (スコアは1～2) 及び軽度な腫脹 (スコアは1) が認められた。スコア2の発赤がみられたウサギ1匹では1時間後にスコア1の分泌物も認められた。すべての症状は48時間後には消失した。洗浄した眼では、軽度な発赤 (スコア1) 及び腫脹 (スコア1) が1時間後に認められた。この症状は2匹のウサギでは24時間後に完全に消失したが、残りの1匹では軽度な発赤 (スコア1) が48時間後まで持続した (Merriman, 1997)。

## 気道

利用できるデータはない。

### 4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

利用できるデータはない。

### 4.1.2.3.3 刺激性/腐食性の要約

適切な皮膚刺激性試験がないために、皮膚刺激性試験に対する基本的な要求事項が満たされていない。しかし、最新のガイドラインにしたがって実施された皮膚刺激性試験を要求するのは適切とは思われない。その理由は次のようなものである：

- ムスケトンに関する利用できるデータでは皮膚刺激性の可能性を指摘していない。すなわち、非常に高い用量 (40%コーンオイル懸濁液として) のムスケトンをウサギの皮膚に単回24時間閉塞塗布しても刺激性は認められなかった。ラットに対する反復塗布 (4.1.2.5を参照) で皮膚刺激性を示す所見は認められず、ウサギでは高用量で軽度な刺激性が認められたものの、使用した媒体の影響の可能性もあった。感作性試験 (4.1.2.4を参照) では、モルモット及びヒトでそれぞれ75%及び5%までの濃度で刺激性は認められなかった。
- はるかに高い用量をより長時間処置した急性経皮投与試験の結果を考慮すると、ウサギ試験をガイドラインにしたがった実験条件 (0.5 gの4時間閉塞塗布) で実施しても皮膚刺激性があるとの結果を得ることは期待できない。

十分な条件で実施された実験から、ムスクケトンには眼刺激性はないと結論できる。ECの基準に基づけば、ムスクケトンは皮膚及び眼刺激性について分類する必要はない。

気道刺激性に関して利用できるデータはない。

#### 4.1.2.4 感作性及び光アレルギー

##### 4.1.2.4.1 動物実験

Klecak (1979) はモルモットを用いてOpen Epicutaneous Testを行った。この条件ではムスクケトンに感作性は認められなかったが、報告書では動物数、群数、用量及び媒体について不明確であった。したがって、この結果の妥当性は確認できない。

ムスクケトンの光毒性、光アレルギー性及び接触感作性を検討するために、1群10匹のモルモットに対してムスクケトンの10%w/vアセトン溶液を4時間/日、3回/週間にの閉塞パッチを3週間行って感作した。このムスクケトンの用量はMusk ambrette (ムスクアンブレット) が光アレルギーを惹起した濃度 (アセトン中で10%) と同じであった。肩付近の背部正中線部分の皮膚に毛刈り及び脱毛した後でパッチを貼布した。光照射群のモルモットに対しては、それぞれの処置毎にパッチを除去した後で皮膚にライトホイールを用いて12本のバックライトランプ (UVA、320-400 nm) を2時間照射した。脱毛、粘着テープによるストリッピング及び光照射の組み合わせで生ずる皮膚のダメージを避けるために特殊なパッチを用いた。惹起は、最終の感作処置後10~14日に処置動物及び未処置動物の脱毛した未処置部分に10%ムスクケトンアセトン溶液を1回4時間閉塞塗布して行った。光照射感作群についてはパッチ除去後にライトホイールを用いて12本のバックライトランプ (UVA、320-400 nm) を2時間照射した。皮膚の状態を評価するために光照射後18~20時間に惹起部位を再び脱毛した。惹起操作後24及び48時間に惹起部位を観察し、皮膚の所見をスコア化した。その結果をTable 4.11に示す。未処置対照群 (レジメ5、6) との比較でムスクケトンは弱い光毒性を有すること (レジメ5) 及びレジメ1、2及び4の陽性反応からムスクケトンが弱い感作性も持つことが示唆された。この接触感作性の反応はUVA照射で顕著になることはなかった (レジメ1、3)。したがって、ムスクアンブレットとは異なり、ムスクケトンは光アレルギー性を持たないと結論される (Parker et al., 1986)。

Table 4.11 Results of photoallergy testing with musk ketone.

Test regimen	Induction conditions	Challenge conditions	Incidence
1	MK+UVA*	MK+UVA	2/10
2	MK+UVA	MK	2/10
3	MK	MK+UVA	0/9
4	MK	MK	2/10
5	naïve	MK+UVA	1/10
6	naïve	MK	0/10

\* MK=musk ketone, UVA= 2 h UVA exposure

注意：このアジュバントを使用しない実験としては使用動物数が少なすぎる（ガイドラインによれば少なくとも20匹は必要）。このことがグループ6の反応（0/10、惹起のみ）との比較でグループ4（感作及び惹起）の2/10の反応の解釈を困難にしている。それはガイドラインによれば、アジュバントを使用しない実験では少なくとも15%（3/20）というスコアから陽性と考えるためである。さらに、感作に使用した濃度における一次刺激性について報告がない。そのために、ムスケトンでは中等度の刺激性を示す濃度で実験されていないと考えざるを得ない。ムスケトンの場合それは10%以上の濃度で発現すると思われる。アジュバントを使用した実験の方が適切と思われる。

1群12匹の雌Dunkin-Hartleyモルモットを用いた光アレルギー性試験が行われている。感作として、毛刈り及び剃毛した肩甲骨間の皮膚900 mm<sup>2</sup>に0.1 mLの10%ムスケトン溶液（媒体はジメチルアセトアミド/アセトン/エタノールが4：3：3の混液）を25分間塗布し、その周囲の4か所に0.1 mLのFCA（Freund's Complete Adjuvant）を投与した。25分後に過剰な被験物質を除去し、100 kJ.m<sup>-2</sup>のUVを照射した。アジュバント投与以外のこの操作を24時間後に繰り返した。感作後10～14日に腰部の毛刈り及び剃毛した皮膚を用いて0.1、1又は10%ムスケトン溶液で惹起した。30分後に100 kJ.m<sup>-2</sup>のUVを照射した。接触感作性を調べるために、照射後に未処置の皮膚に被験物質を塗布した。皮膚反応を72時間観察した。確認のために2回目の惹起を1週間後に行った。光アレルゲンとして知られているムスクアンブレットとの光交叉反応を検討するために行った3回目の惹起ではそれぞれの被験物質の濃度を1%とした。

最初の惹起では10%の濃度まで反応は認められなかった。2回目の惹起で10及び1%処置群でそれぞれ1匹のみが光アレルギー性を示したが、0.1%処置群では認められなかった。ムスケトンに接触感作性は認められず、ムスクアンブレットとの光交叉性も認められなかった（Lovell and Sanders, 1988）。

注意：光一次刺激性試験の結果から光刺激性を示さない最高濃度が感作濃度及び惹起における最高濃度として選択されている。ムスケトンは使用した濃度（任意に選定した上限の10%まで）では（光）刺激性を示さないために、10%を選択している。このことは、ム

スクケトン<sup>1</sup>は10%以上の濃度で発現すると思われる中等度の刺激性を示す濃度で実験されていないことを意味している。接触感作性は認められなかったと述べているが、感作時にはムスクケトン処置後に常にUV照射を行ったことは重要であり、このことはムスクケトンを非照射の条件で試験していないことを意味している。

GLP及びOECDガイドライン406 (GPMT) にしたがって実施した皮膚感作性試験があり、その実験では1群20匹の雌モルモット (Albino Dunkin Hartley、体重280～350 g) に1:9のアセトン/オリーブオイル (純度は最低98%) に溶解したムスクケトンを処置している。対照群の10匹には媒体のみを処置した。感作処置では動物に3% w/vのムスクケトンを単独又はFCAとともに皮内投与した。7日目には75% w/vのムスクケトン溶液を塗布した。21日目に7.5、25及び75 % w/vのムスクケトン溶液で惹起した。すべての惹起濃度において一部の動物 (対照群の1/10、75%で5/20、25%及び7.5%で3/20) に軽度の散在性発赤 (スコア: グレード1) が24時間で認められた。しかし、48時間では認められなかった (Johnson, 2001)。この試験ではムスクケトンに弱い感作性が認められた。

注意: 感作及び惹起に使用した濃度は予備試験の結果から選択されており、皮内投与した3%溶液は軽度な刺激を発現する最高の濃度であったが、塗布した75%の濃度では刺激性は認められていない。塗布による感作ではラウリル硫酸ナトリウムは使用されていないが、試験に使用した高い濃度を考えるとこのことはほとんど結果に関与しないと思われる。

#### 4.1.2.4.2 ヒトにおける試験

25人の健常成人においてmaximisation testが行われている。ムスクケトンをワセリンに5%の濃度で溶解し、前腕に隔日で合計5回48時間閉塞塗布を行った。ムスクケトン塗布の前に塗布を行う部位に対して毎回5%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液を24時間閉塞塗布した。10日間の休薬後、それぞれの被験者の肩甲骨付近の背中<sup>2</sup>の未処置皮膚に48時間の閉塞塗布 (5%ムスクケトンワセリン溶液) を行って惹起した。惹起の前に惹起部位を10%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液で1時間処理した。この実験条件下では48及び72時間後の観察でムスクケトンの感作性は認められなかった (Kligman, 1970 ; Opdyke, 1975)。別のmaximisation testでは25人の被験者に対して同じ方法で3.2%のムスクケトンを用いて感作性を検討したが、ムスクケトンの感作性は認められなかった (Greif, 1967 ; Opdyke, 1975)。

注意: 上記の二つの試験ともKligman (1966) の記載した原則にしたがって実施したと述べている。しかし、その原則は非刺激性物質 (ムスクケトンのような) についてはラウリル硫酸ナトリウムを併用して25%までの濃度で実験するように求めていることから、これらの実験はその原則から逸脱している。したがって、この二つのヒトにおける試験では5%以上の濃度に関しては結論が得られていない。なお、最近の情報では、ワセリンにムスクケトンを5%以上で完全に溶かすことはできないことが示されている (Rudio, 2000)。

一般に使用される一連の香料（とくにムスクケトン）に対する反応性を皮膚疾患患者で検討した試験がある。11センターの合計1,069人の患者を用いた予備試験では、それぞれの香料について適切な濃度及び媒体を検討した。本試験では、5～10種類の香料の2種類の濃度について各センターでパッチテストクリニック（patch test clinic）に来院した少なくとも100人の患者においてパッチテストを行った。ムスクケトンについてはストックホルムのウォルバーグテストセンターでワセリンに1%及び5%の濃度で溶解して100人の患者（女性48人、男性52人）でパッチテストが行われた。パッチは背中に2日間塗布した。ムスクケトンでは両方の濃度とも刺激性及びアレルギー性の反応を示さなかった（Frosch et al., 1995）。

Bruze et al.（1985）はムスクケトンの過敏性をScandinavian Photodermatitis Research Group（Jansén et al., 1982）が作成したプロトコールにしたがって光パッチ法で検討した。光接触アレルギー性皮膚炎と疑われる患者13人に対して問診と臨床検査でスクリーニングを行った。ニトロムスク（量及び媒体は不明）を皮膚に閉塞パッチ（一人あたり2箇所）した後にUV照射に対する皮膚過敏性を予め検査した。パッチ24時間後に暗い場所でパッチを除去し、接触皮膚炎について検査した。処置部位の半分を再びカバーし、他の半分に紫外線照射した。すべての被験者がムスクアンブレットに対する光アレルギー反応を示した。1名の被験者がムスクケトンに対しても光アレルギー反応を示した。UV非照射部には反応は認められなかった。この実験は、この患者がムスクアンブレットとムスクケトンに交叉光アレルギー反応を示したのか、又はこの患者が2種類のニトロムスクに対する別々の光アレルギーを同時に示したのか明確ではない。この実験は症状の発現率についても結論が不明確なものであった。

#### 4.1.2.4.3 感作性及び光アレルギー性のまとめ

最近行われたモルモットを用いたmaximisation testの結果によれば、ムスクケトンは弱い感作性を持っていると結論される。ヒトにおける2種類のmaximisation testの結果からは、ムスクケトンは5%の濃度まではヒトに感作性は示さないと結論できる。そのために、EUのガイドラインにしたがえば分類する必要はない。

気道に対する感作性や職業性ぜんそくに関して利用できるデータはない。

#### 4.1.2.5 反復投与毒性

##### 4.1.2.5.1 動物実験

###### 経口投与

経口投与毒性試験として利用できるものは比較的短期間投与の酵素誘導（本項の最後を参照のこと）の実験で得られた観察に限られている。完全を期すために、以下にその一般的な性質に関する観察所見を示した。

雄のB6C3F1マウスに10及び200 mg/kg体重のムスケトン（コーンオイルに溶解）して7日間経口投与した。高用量群では肝臓の相対重量が増加した（14%）が、低用量群では肝臓への影響は認められなかった（Stuard et al., 1996）。

雄のB6C3F1マウスに0、5、10、20、50、100、200又は500 mg/kg体重のムスケトン（コーンオイルに溶解）して7日間毎日強制経口投与した。ムスケトンの投与により50 mg/kg体重以上で肝臓の相対重量の用量に依存した増加が認められ、500 mg/kg体重群では50%の増加であった。ムスケトン投与によりすなわち主に小葉中心性肝細胞肥大の肝臓の組織学的変化がみられ、最高用量群では汎小葉性肝細胞肥大が認められた（Stuard et al., 1997）。

注意：肝臓の組織学的な変化の用量相関についてこれ以上に詳細なデータはない。

雄のF344ラットに0、20、100又は200 mg/kg体重のムスケトン（コーンオイルに溶解）を7日間毎日経口投与した。ムスケトンの投与によって用量に依存する肝臓の絶対重量の増加が認められ、100及び200 mg/kg群では統計学的に有意であった（Lehmann-McKeeman et al., 1999）。最高用量群の肝重量は対照群より52%も増加した。

注意：マウスではムスケトンに対して500 mg/kg体重まで耐容性がみられたが、ラットでは500 mg/kg体重で2日以内に顕著な中毒症状及び死亡が認められた。したがって、200 mg/kg体重を最高用量として選択している。

### 経皮投与

1群雌雄各15匹のSprague-Dawleyラットに7.5、24、75又は240 mg/kg 体重/日のムスケトン（フェニルエチルアルコールに溶解）を90日間経皮投与した。被験物質を体表面のおよそ25%に対して連続投与シリンジを用いて塗布した。ラットの背中中の毛刈りした部分に被験物質を塗布し、閉塞しなかった。経口摂取を避けるためにラットの首にカラーを装着した。この実験のデザインはOECDガイドライン411から一部逸脱していた。すなわち、使用した体表面は10%ではなくておよそ25%であり、閉塞処置も行われていない。この実験では比較のために（注意を参照）240 mg/kg体重/日のムスクアンブレット（フェニルエチルアルコール溶液）陽性対照群を2つ設けている。ひとつの群ではカラーを装着し、他の群には装着しなかった。媒体対照群（雌雄各30匹/群）にはフェニルエチルアルコールのみを処置した。観察はOECDガイドライン411にしたがって行い、皮膚の炎症及び生殖器の観察を追加した。処置期間の終わりには神経病理学的検査を行った。少なくとも雌雄各群3匹のラットについて神経系の次の部分の病理組織学的検査を行った。中枢神経系としては腰髄、胸髄中間質、頸髄、延髄、小脳虫部、外側膝状体、大脳皮質及び視神経であり、末梢神経系としては大腿中間部及び坐骨切痕部の坐骨神経、腰部後根及び後根神経節、腰部前根、頸部神経根、ヒラメ筋及び腓腹筋を支配する脛骨神経枝である。

処置に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。様々な落屑及びときどき発

現する皮膚の緊張減退症<sup>1</sup>以外には処置に関連した明らかな皮膚の変化は認められなかった。雌雄の240 mg/kg/日群及び雌の75 mg/kg/日群には実験期間中体重増加量の低下がみられ、実験終了時の240 mg/kg/日群の体重は雄及び雌でそれぞれおよそ10%及び20%低く、75 mg/kg/日群の雌では10%低かった。一方、摂餌量は対照群と同じか又はそれよりも多かった。雌雄の240 mg/kg/日群では、血液学的パラメータの変動がみられ、とくにヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数及びMCVの減少が認められた。著者はヒストリカルコントロール範囲内にあるとして生物学的意義を認めておらず、それらの数値を示していない。肝臓の絶対重量が240 mg/kg/日群の雄で19%（統計学的に有意ではない）、雌で20%（統計学的に有意）増加した。肝臓の相対重量は240 mg/kg/日群の雄で37%（統計学的に有意ではない）、雌で50%（統計学的に有意）増加した。肉眼的及び顕微鏡的变化は生殖器、肝臓及び皮膚を含む検査したいずれの臓器及び組織に認められなかった。神経病理学的パラメータにも影響は認められなかった。75 mg/kg/日群における体重の変化に基づいて、この実験でのNOELは24 mg/kg体重/日であると結論された（Ford et al., 1990）。

注意：化学構造的に関連するムスクアンブレットの高用量をラットに混餌投与又は経皮投与したとき神経毒性及び精巣萎縮が惹起されることが知られているために、この実験ではムスクアンブレットを陽性対照として用いている。この実験ではカラー装着の有無に関係なく、ムスクアンブレットによる神経毒性は明らかにみられており、精巣萎縮も認められている。

New Zealand Whiteウサギを1群3匹とし、0（媒体対照）、175又は750 mg/kg体重/日のムスクケトン<sup>1</sup>を腹部の正常皮膚及び擦過皮膚に1週間に5日、3週間塗布した。ムスクケトンはフタル酸ジメチル（DMP）に溶解した。ムスクケトンの摂取を防ぐためにウサギの首にプラスチックカラーを装着し、胴体をガーゼで緩く巻いた。

3週間の処置期間に対照群も含めた全群で症状（腹部の鼓脹、下痢、食欲不振、かすれた呼吸音及び一部のウサギで後肢虚弱）が観察された。対照群も含めた全群で死亡例がみられたが、ムスクケトン処置とは関連しないと思われた。対照群及び低用量群では軽度から中等度の紅斑、次いで軽度な落屑が擦過皮膚で認められたが、それは最初の週だけであった。高用量群ではそれらの変化は擦過及び正常皮膚の両者にみられ、2週又は3週まで持続した。高用量群の3匹にみられた骨髓の造血活性及び主に高用量群にみられた肝細胞の空胞化のわずかな増加を除いて、臨床検査値、肉眼観察又は病理組織学的検査（肝臓、腎臓及び骨髓のみを検査）に一定した変化は認められなかった（Rutter and Ferrell, 1971 ; Opdyke, 1975）。

注意：対照群でも皮膚刺激性が観察されているために、ムスクケトン処置群でみられた皮膚反応に媒体のDMPが関与したと考えられる。その他の低用量群及び高用量群にみられた

---

<sup>1</sup> この報告書ではどの化合物（ムスクケトン、ムスクアンブレット又はその両者）でその作用が発現したのか不明確である。

処置に関連する所見は明確なものではなかった。高用量群に処置したDMPは3 mLであるのに対して対照群及び低用量群に対しては2 mLであったので、ムスケトンの毒性に関連する所見とする結論の妥当性には疑問が残る。

上記の実験とほとんど同じ実験がPowers and Ferrell (1972) によって行われた。違いは1群4匹のウサギの擦過皮膚、1群2匹の正常皮膚を用いたことと塗布を20日間連続したことであった。この実験でもDMPをムスケトンの懸濁液に用いた。ムスケトンの処置に関連した死亡はなかった。実験終了時にみられた体重減少、一般状態及び行動の変化は3群間で同じであった。刺激性の反応は全群で軽度であった（対照群及び低用量群では軽度な一過性の紅斑及び/又は落屑、高用量群では軽度から中等度の紅斑及び軽度な落屑）。実験終了時の血液化学的検査では、被験物質処置に関連したALAの増加が750 mg/kg体重群の5匹、175 mg/kg体重群の1匹にみられた。剖検では750 mg/kg体重群に肝臓の退色（‘ニクズク’様又は‘白色’小葉）が認められた。病理組織学的検査（肝臓、腎臓及び骨髄のみを検査）では、750 mg/kg体重群の6匹中5匹に肝細胞空胞化及び別の1匹に壊死が認められた。骨髄の造血活性の低下が750 mg/kg体重群の2匹及び対照群の1匹にみられた。著者によれば、骨髄への影響の程度は軽いものであり、対照群でもみられていることから、明らかに被験物質処置に基づくものではないとしている（Powers and Ferrel, 1972）。

注意：この実験では高用量群の動物には1.5 mLのDMPを塗布しているが、対照群及び低用量群ではそれぞれ1.5 mL及び0.35 mLであった。高用量群及び対照群の間にはDMPの用量に差がなく、総DMP用量がそれより低い低用量群には上記のRutter and Ferrel (1971) の実験のように骨髄及び肝細胞に同じ影響がみられている。このことは、少なくとも骨髄及び肝細胞への影響の一部はムスケトンによるものであることを示していると考えられる。

## 吸入

1群20匹の雌CDラットに予定濃度を5 mg/m<sup>3</sup>とした香料混合物を1日4時間、1週5日間、合計6週間吸入暴露した（混合物A）。また、1群12匹の雌CDラット及び1群12匹の雌Syrian golden ハムスターを50 mg/m<sup>3</sup>の濃度に1日4時間、1週5日間、合計13週間暴露した（混合物D）。ムスケトンは香料混合物の一部として含まれており、動物が暴露されたムスケトン量は混合物Aでは7.2 µg/m<sup>3</sup>、混合物Dでは170.5 µg/m<sup>3</sup>であった。実験結果をそれぞれの対照群と比較した。混合物A及び混合物Dへの暴露の両者とも死亡、皮膚刺激性、体重、行動又は外観、血液学的及び血液生化学的検査、臓器重量、肉眼観察（子宮及び卵巣を含む）又は病理組織学的検査（子宮は含むが卵巣は含まない）に影響は認められなかった（Fukayama et al., 1999）。

注意：この実験は動物を香料混合物に暴露したのであって、単独のムスケトンに暴露したのではないために、この実験の意義は限定的なものである。この混合物中のムスケトン濃度はどちらかといえば低い方であった。

### 酵素誘導に関する特殊試験

雄のB6C3F1マウスに10及び200 mg/kg体重のムスクケトン（Musk ketone）をコーンオイルに溶解して7日間経口投与した。高用量群では肝臓相対重量の増加（14%）、ミクロゾーム蛋白の増加（49%）、総P450含量の増加（64%）及びチトクロームP450-2B（CYP2B）蛋白量の増加（およそ7倍）が認められた。ムスクケトンの投与でCYP2B蛋白量の増加に一致してCYP2Bの酵素活性（pentoxyresorufin-O-dealkylase（PROD）活性として測定）も6倍に増加した。低用量群ではチトクロームP450の誘導に関連した肝臓への影響は認められなかった。5～500 mg/kg体重のムスクケトン（Musk ketone）を7日間連続投与した場合は、20 mg/kg体重以上の群で用量に依存した免疫学的に活性なCYP2B蛋白量の増加（最高用量で対照群のおよそ10倍）がCYP2Bの酵素活性（PROD）と同様に認められた（Stuard et al., 1996）。

ムスクケトンによるチトクロームP450の誘導を検討するために、雄B6C3F1マウスに0, 5, 10, 20, 50, 100, 200又は500 mg/kg体重のムスクケトン（Musk ketone）をコーンオイルに溶解して7日間連続強制経口投与した。ムスクケトン投与により用量に依存した肝臓相対重量及びミクロゾーム蛋白量の増加（50 mg/kg体重及びそれ以上の用量群で；500 mg/kg体重群では対照群に比べてそれぞれ50%及び75%の増加）及び総P450含量の増加（10 mg/kg体重及びそれ以上で；最高用量では75%の増加）がみられた。さらに肝臓の組織学的変化、主に小葉中心性肝細胞肥大及び最高用量群では汎小葉性肝細胞肥大も惹起された。ムスクケトンの投与で用量に依存したCYP2B（PRODとして測定；最高用量群で28倍の増加；NOELは20 mg/kg体重）、CYP1A（ethoxyresorufin-O-dealkylation（EROD）及びmethoxyresorufin-O-dealkylation（MROD）として測定；500 mg/kg体重群ではそれぞれ2倍及び4倍の増加；NOELはそれぞれ100及び20 mg/kg体重）及びCYP3A（erythromycin-n-demethylation（ERND）として測定；最高用量群で2倍の増加；NOELは10 mg/kg体重）の酵素活性の増加が認められた。プロットィングでは用量に依存した免疫学的に活性なCYP2B、CYP2A及びCYP3A蛋白量の増加（CYP2Bで最大の増加）及びCYP2B10、CYP1A2及びCYP3A11/13のmRNA量の増加がみられた（Stuard et al., 1997）。

2回目の実験では、ムスクケトンによるフェノバルビタール（PB）誘導CYP2B活性の阻害について検討し、ムスクキシレンと比較した。CYP2Bアイソザイムを誘導するために、雄B6C3F1マウスに500 ppmのPB水溶液を飲料水として自由に摂取させた。4日目にコーンオイル（対照）、ムスクキシレンまたはムスクケトン（それぞれ0.67 mmol/kg体重、200又は198 mg/kg体重に相当）を強制経口投与した。ムスクキシレンはPB誘導CYP2B活性を90%以上阻害したが、ムスクケトンによる阻害は20%のみであった。ムスクキシレン及びムスクケトンともCYP2B活性を阻害したにもかかわらず、免疫学的に活性なCYP2B蛋白量の減少は認められなかった（Stuard et al., 1997）。

上記の実験に似た実験が雄F344ラットを用いて0, 20, 100又は200 mg/kg体重のムスクケトン（コーンオイルに溶解）の7日間連続経口投与で行われた。別の1群には500 ppmのPBを飲料

水として7日間与えた。動物を安楽死させ、肝臓マイクロゾーム酵素の誘導について酵素活性（CYP1A1/2、CYP2B1/2及びCYP3A）及び蛋白量並びにCYP2B1/2に対するmRNAの発現を検討した。

ムスクケトンはいずれの用量でもPBと非常に似た一般的な肝臓の変化を惹起したが、その程度はやや低かった。その変化とは、肝臓絶対重量（対照群に比べて42%までの増加；100及び200 mg/kg体重群で統計学的に有意）、NADPH-チトクロームP450還元酵素活性、総マイクロゾームチトクロームP450含量及びチトクロームb5量（この3項目すべてがいずれの用量でも統計学的に有意）の用量に依存した増加であった（ただし、総マイクロゾームチトクロームP450含量及びチトクロームb5量の変化は用量に依存しなかった）。PRODで測定したCYP2B活性はいずれの用量でも有意に増加し、100及び200 mg/kg体重群では最大8倍となった（PBでは50倍）。これと同様に、CYP2B1/2蛋白量もおおよそ10倍に増加し（PBでは20倍）、定常状態でのCYP2B1 mRNA量は3倍に達した（PBでは15倍）。ムスクケトン投与ではまた全用量でERODによるCYP1A酵素活性が増加し（20 mg/kg体重群で10倍、100及び200 mg/kg体重群で30倍）、MRODによるCYP1A酵素活性も増加した（20 mg/kg体重群で7倍、100及び200 mg/kg体重群で20倍）。この酵素活性の誘導はPB（それぞれ5倍及び2倍）よりもはるかに強かった。一方、100及び200 mg/kg体重ムスクケトンの投与でCYP3A活性（testosterone 6 $\beta$ -水酸化として測定）が減少し、それぞれ対照群の70%及び50%であった。この変化は、CYP3Aの増加が2倍であったPBとは対照的であった。蛋白量については、ムスクケトンはCYP1A2及びとくにCYP1A1の増加（両者とも少なくとも10倍）を誘導したが、CYP3Aには変化はみられなかった（Lehman-McKeeman et al., 1999）。

注意：マウスでは500 mg/kg体重までのムスクケトン投与で変化が認められなかったが、ラットでは500 mg/kg体重で顕著な中毒症状及び2日以内の死亡が認められた。したがって、200 mg/kg体重が最高用量として選択された。

肝臓、肺、前胃、小腸粘膜及び大腸粘膜におけるグルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）活性の誘導能を調べるために、20mgのムスクケトンを雌A/Jマウスに隔日に合計3回強制経口投与した。媒体のコットンオイルのみを投与した対照群に比べて、ムスクケトン投与群では肝臓、小腸粘膜及び結腸のGST活性が増加（結腸では有意ではない）したが、肺及び前胃では増加はみられなかった。ムスクケトン投与で小腸粘膜のグルタチオン量（酸溶解性sulfhydrylの測定）も増加したが、その他の組織では減少した（Zheng et al., 1992）。

ムスクケトンによる生体内変換酵素誘導能を *in vivo/in vitro* の系で検討した。In vivo の試験では雄 Sprague Dawley ラットに 10, 20 又は 40 mg/日のムスクケトン（コーンオイルに溶解）を 5 日間腹腔内投与した。初回投与後 6 日目にラットを殺し、肝臓を摘出してホモジナイズし、遠心分離で得た S9 分画を大腸菌 PQ37 *sfIA::lacZ* を用いた *in vitro* での SOS クロモテストに使用した。このアッセイ系では、ムスクケトンはラットの肝臓で酵素誘導を惹起し、

すべての用量で遺伝毒性物質前駆体である benzo[a]pyrene (B(a)P)、2-aminoanthracene 及び aflatoxin B1 の毒性発現を増強した (Mersch-Sundermann et al., 1996a/b)。

ヒトの肝癌 (Hep G2) 細胞 (すなわち、フェーズ I 及び II の酵素活性を維持する細胞) のミクロゾーム標本における酵素活性 (EROD) の測定で、500, 1,000 又は 5,000 ng/mL のムスクケトン処理による CYP1A 活性の増加が示された (Mersch-Sundermann et al., 2001)。

#### 4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

利用できるデータはない。

#### 4.1.2.5.3 反復投与毒性試験の要約

利用できるムスクケトンの反復経口投与毒性試験は比較的短期の生体内変換酵素誘導に関する特殊な試験に限られている。それらの実験で報告されている毒性反応 (酵素誘導とは別に) は、20 mg/kg体重/日以上を7日間マウスに投与したとき (NEOL) 又は20 mg/kg体重/日及びそれ以上をラットに投与したとき (LOEL) の肝臓の腫脹であった。マウスではムスクケトン投与で肝臓の組織学的変化 (主に小葉中心性肝細胞肥大、200 mg/kg体重/日では汎小葉性肝細胞肥大) が惹起された。肝臓にみられた組織学的変化の用量-反応相関性に関する詳細については不明である。ラットの肝臓の組織学的変化については検討されていない。反復経口投与毒性試験におけるNOAELを推定するには、これらの実験だけでは不十分である。

ラットを用いた90日間経皮投与毒性試験では、最高用量の240 mg/kg体重で摂餌量の減少を伴わない体重増加量の減少、赤血球パラメータの減少及び病理組織学的変化を伴わない肝臓の絶対及び相対重量の増加が惹起された。雌ではこの体重増加量の減少がそれより低い75 mg/kgでも認められた。この実験では神経病理学的影響も生殖器官への影響も認められなかった。この実験で示された24 mg/kg体重/日というNOELについては、それよりひとつ高い用量における体重変化の程度がわずかでしかなく、その生物学的な意義にも疑問があるが、NOAELとも考えられる。この24 mg/kg体重/日という値はリスク評価に使用できる。

ウサギに750 mg/kg体重までの用量のムスクケトンを20日間経皮投与した実験では、病理組織学的検査で肝細胞空胞化及び骨髄の造血活性の低下が認められたが、それらの少なくとも一部は媒体 (フタル酸ジメチル) によって惹起されたものと思われる。

香料混合物として最大170.5 µg/m<sup>3</sup>のムスクケトンに1日4時間、1週間に5日、13週間吸入暴露した実験では毒性所見は認められなかった。動物は単独のムスクケトンに暴露されてはならず、ムスクケトンは混合物の中ではむしろ少ない成分であったために、この実験の意義は限られたものでしかない。

酵素誘導に関する特殊な実験では、マウスには500 mg/kg体重まで、ラットには200 mg/kg体

重までのムスクケトン<sup>1</sup>を7日間連続経口投与して、PB様ミクロゾーム酵素誘導化合物に一致した肝臓の変化が認められた。マウスではムスクケトン投与でCYP2B蛋白量及びmRNA量の増加とともにCYP2B酵素活性の著しい増加が認められた。CYP1A及びCYP3A酵素活性のわずかな変化も認められ、同時に蛋白量及びmRNA量の増加も認められた。その程度は低かったが、ムスクケトンはラットでもCYP2Bに対して同じ作用を示した。しかし、マウスに比べてラットではムスクケトンはCYP2B酵素活性よりもCYP1A酵素活性を誘導し、一方でCYP3A酵素活性は減少した。マウス及びラットの両者とも20 mg/kg体重が酵素誘導のLOELであった。

マウスに対する20 mgのムスクケトンの3回経口投与で、肝臓、小腸粘膜及び結腸のGST酵素活性の増加が認められた。ラットに対する10~40 mg/kg体重のムスクケトンの腹腔内投与によって、肝臓の生体内変換酵素の強い誘導剤であることが証明された。

関連化合物であるムスクキシレンの情報 (RAR musk xylene, 2003参照) から、ムスクケトンの酵素誘導能はその活性が高いムスクキシレンときわめて類似していることは明らかであり、マウスにおけるNOELは10 mg/kg体重、ラットにおけるLOELは10 mg/kg体重である。しかし、ムスクキシレンのCYP2B酵素誘導はCYP2B酵素に対するmRNA及び免疫的に活性化蛋白の明らかな増加が特徴的であるが、ムスクケトンによるCYP2B酵素活性の増加はムスクキシレンと同じではなかった。誘導されたCYP2B酵素活性がムスクキシレンのニトロ基の還元で生ずる*p*-NH<sub>2</sub>-代謝物で阻害される。ムスクケトンは*t*-butyl基に対するパラ位にニトロ基ではなくアセチル基を持っているために、ムスクケトンではCYP2B酵素活性の低下の原因となるニトロ基の還元は起こらない。

肝毒性に関する指標の変化がないために、生体内変換酵素活性の変化は有害作用というよりは適応反応と考えられるものである。したがって、そのような作用及びそれに対するLOELはリスク評価に使用しない。

#### 4.1.2.6 遺伝毒性

利用可能な*in vitro*及び*in vivo*実験をTable 4.12にまとめた。それらの実験は最新のガイドライン又はそれに類似するものに従ったものである。

Table 4.12 Genotoxicity studies with musk ketone.

Assay	Species	Protocol	Result	Reference
<i>In vitro</i>				
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (TA 98, 100, 1535, 1537, 1538)	Other; Ames et al., 1975	negative (-/+ S9)	McConville, 1980
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (TA 97, 98, 100, 1535)	Other; Ames et al., 1975	negative (-/+ S9)	Zeiger et al., 1988
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (TA 97, 98, 100, 102)	Other; modified Ames-test	negative (-/+ S9)	Mersch-Sundermann et al., 1996a; Emig et al., 1996
SOS chromotest	<i>E. coli</i> PQ37 <i>sfia::lacZ</i>	Other	negative (-/+ S9)	Mersch-Sundermann et al., 1996a; Emig et al., 1996; Kevekordes et al., 1996
Gene mutation test	mouse lymphoma L5178Y TK+/- cells	OECD 476	negative (-/+ S9)	Bigger and Clarke, 1993; Api et al., 1996
SCE test	human lymphocytes	OECD-like	negative (-/+ S9)	Kevekordes <i>et al.</i> , 1996
Chromosome aberration test	CHO-cells	OECD 473	equivocal (-/+ S9)	Putman et al., 1994; Api et al., 1996
Micronucleus test	human lymphocytes; human hepatoma cell line Hep G2	Other	negative; negative	Kevekordes et al., 1997
Micronucleus test	human hepatoma cell line Hep G2	Other	negative	Mersch-Sundermann et al., 2001
Unscheduled DNA synthesis test	rat hepatocytes	OECD 482	negative	San, 1994; Api et al., 1996
<i>In vivo</i>				
Micronucleus test	ICR mice	Other; OECD-like	negative	Gudi, 1996; Api and Gudi, 2000

#### 4.1.2.6.1 *In vitro* 試験

細菌を用いた実験がいくつか行われており、代謝活性化系の有無にかかわらずそのすべてで結果は陰性であった (McConville, 1980; Zeiger et al., 1988; Mersch-Sundermann et al., 1996a; Emig et al., 1996; Kevekordes et al., 1996)。McConville (1980) による実験では、*Salmonella typhimurium* の5株を用いてDMSOに溶解したムスクケトンの10 mg /plateまでの濃度について検討している。なお、1.0 mg/plate以上の濃度では沈殿が認められた。Zeiger *et al.* (1988) も10 mg /plateまでの濃度で検討したが、溶媒はアセトンであり、用いた*Salmonella typhimurium* の株数は4株であった。Mersch-Sundermann et al. (1996a) は*Salmonella typhimurium* の4株を用いてムスクケトン (DMSOに溶解) の5 mg /plateまでの濃度について、また *Escherichia coli* PQ37 *sfia::lacZ* を用いたSOSクロモテストでは1.6 mg /アッセイまで検討した。Emig et al. (1996) はやや異なる濃度による実験を報告している：すなわち、*Salmonella* を用いた変異原性試験についてはムスクケトンのDMSO溶解上限の濃度まで、SOSクロモテストについては100 µg/assayまで検討している。Kevekordes et al. (1996) はSOSクロモテス

トを水溶液での上限の濃度まで検討している。

Bigger and Clarke (1993) はマウスリンパ腫細胞L5178Y TK+/-を用いたマウスリンフォーマ試験でムスクケトンの作用をS9の有り (35 µg/mLまで) 及び無し (4 mg/mLまで) の条件下で検討した。実験方法はOECD 476に従っている。代謝活性化系の有無にかかわらず結果は陰性であった。

0.068~68 µMのムスクケトン (DMSO中) は、S9の有無にかかわらずヒトリンパ球を用いた試験でSCEを誘発しなかった。高濃度では100%の細胞毒性を示した (Kevekordes et al., 1996)。

OECD 473に従った染色体異常試験では、CHO細胞を用いてムスクケトン (アセトン中) 濃度を代謝活性化系無しでは34 µg/mLまで、有りでは10 µg/mLまで検討した。最高濃度では細胞毒性が認められた。代謝活性化系有りの条件下の10 µg/mLでは構造異常の有意な増加がみられたが、数的異常は24時間では認められなかった。確認試験では14 µg/mLまでの代謝活性化系有りでは反対に構造異常は認められなかったが、14 µg/mLでは数的異常が認められた。この確認試験は24時間のみで評価している。最高濃度で細胞毒性が認められたが、低濃度では認められなかった。この実験はequivocal (あいまい、陰性陽性両意に取れる) と考えられる (Putman et al., 1994)。

ラット初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験 (OECD method 482に従った実験) でムスクケトン (アセトン中) は50 µg/mLまで陰性であった。最高濃度では細胞毒性が認められた (San, 1994)。

ヒトリンパ球及びヒト肝癌細胞Hep G2を用いた*in vitro*小核試験では、それぞれ136及び250 µMまでのムスクケトン (DMSO中) で小核 (ほぼ同じサイズの二つの核を持つ1000個の二核性細胞について計数) の誘発頻度の増加は認められなかった。この試験ではムスクケトンの細胞毒性がみられる濃度まで検討されている (それぞれ272及び340 µM)。[注意: 小核の頻度は、小核を持つ細胞の出現頻度ではなくて細胞1000個あたりの小核の総数で表している。しかし、小核の総数に影響が認められないことから、この特殊な実験方法でも実験結果に影響しなかった。]

ヒトHep G2細胞を用いた別の*in vitro*小核試験でも、ムスクケトン (DMSO中、5~5,000 ng/mLの濃度) は小核の出現頻度に影響しなかった (Mersch-Sundermann et al., 2001)。

#### 4.1.2.6.2 *In vivo*試験

雌雄のICRマウスを用いた小核試験では、250, 500又は1,000 mg/kg体重のムスクケトンをコーンオイルに溶解して単回腹腔内投与した。死亡率は1,000 mg/kg体重群の雄では2/20、雌では1/20あった。投与後の一般状態として全群に不活発、1,000 mg/kg体重群の雌雄に振戦及び下痢が認められた。ムスクケトンを投与した動物における多染性赤血球1000個中の小核

を持つ多染性赤血球数に24, 48又は72時間では有意な増加は認められなかった。すべての群のすべての測定ポイントにおいて多染性赤血球数の総赤血球数に対する割合がわずかに減少した（28%まで）。（Gudi, 1996; Api and Gudi, 2000）。

#### 4.1.2.6.3 共遺伝毒性活性

*Escherichia coli* PQ37 *sfIA::lacZ*を用いたSOSクロモテストにおいて、無処置のラットから得た肝S9分画に比べてムスケトン処置したラットから得た肝S9分画で遺伝毒性物質前駆体であるB(a)P, 2-aminoanthracene 及びaflatoxin B1の毒性化作用が強く発現した。そのため、ムスケトンは毒性化酵素を誘導する共遺伝毒性物質（cogenotoxicant）と言える（4.1.2.5.1項の酵素誘導に関する特殊試験も参照）（Mersch-Sundermann et al., 1996a/b）。

代謝能をもつヒトの肝癌細胞（Hep G2系）を用いた*in vitro*小核試験で検討した場合、細胞をムスケトンで28時間前処理してからB(a)Pを添加したときにムスケトンの共遺伝毒性作用が認められた。しかし、細胞にムスケトンとB(a)Pを同時に添加したときにはそのような作用は認められなかった。ムスケトンの前処置はB(a)Pによる小核を有意に誘発させた。このようなB(a)Pの遺伝毒性の増強はムスケトンの500～5,000 ng/mLで見られ、この濃度はCYP1A活性を効果的に誘導する濃度であり（Hep G2細胞中のERODの測定で）、代謝酵素がB(a)Pの活性化に重要な役割を持つことが示唆される。

#### 4.1.2.6.4 遺伝毒性の要約

いくつかの*in vitro*試験（細菌を用いる遺伝子変異試験、SOSクロモテスト、動物細胞を用いる遺伝子変異試験、動物細胞を用いる小核試験及びSCEs試験及びUDS試験）でムスケトンは陰性であった。動物細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験ではequivocalな結果であったが、マウスにおける*in vivo*小核試験では陰性であり、ムスケトンは非遺伝毒性物質と結論できる。なお、ムスケトンはその酵素誘導能により共遺伝毒性活性を示す。

#### 4.1.2.7 がん原性

ムスケトンのがん原性試験について利用できるデータはない。しかし、関連化合物であるムスクキシレンについてはマウスを用いたがん原性試験が行われている。その試験では、ムスクキシレンにはマウスに対してがん原性があり、非遺伝毒性的な作用機序を持ち、統計学的に有意に増加した最も重篤なタイプの腫瘍（すなわち、雄マウスの肝癌）は機序的にはミクロゾーム酵素誘導に関連するものと結論されている（RAR musk xylene, 2005参照）。したがって、ヒトに対するムスクキシレンのがん原性リスクの解析には閾値法が採用され、その中で腫瘍（とくに肝癌）発現に対する70 mg/kg体重/日という（経口投与）LOAELが開始点として使用されて、酵素誘導に対するNOELが安全域（MOS）の解釈の中で考慮されている。

次のことを考えればムスクケトンもマウスに肝臓癌を誘発するかもしれないという懸念が生ずる。

- ムスクケトンはムスクキシレンと物理化学的及びトキシコキネティクスの性質がほとんど同じで、そしてとくに
- ムスクケトンとムスクキシレンの両者はラット及びマウスにおいてフェノバルビタール様肝酵素誘導能を持っている（両動物種でムスクケトンのLOELは20 mg/kg体重であり、一方ムスクキシレンの10 mg/kg体重はマウスではNOEL、ラットではLOELである）

ムスクケトンはムスクキシレンのようなフェノバルビタール様肝酵素誘導剤であるが、ムスクキシレンより作用がやや弱い。ムスクキシレンのリスク分析と同じように、またムスクケトンも非遺伝毒性物質であるために、ムスクケトンのヒトに対するがん原性リスク分析においても閾値法が妥当と思われる。これらのすべてを考慮すると、ムスクケトンそれ自体のがん原性試験データはないものの、上記の情報からムスクキシレンに関するデータがムスクケトンのリスク分析でも十分に使用できるとと思われる。そのために、ムスクケトンに関するこれ以上の実験は不要と結論できる。

分類については、どちらとも決めにくいケース（ムスクキシレンではラットでがん原性試験が実施されておらず、がん原性試験に使用したマウスの系統はとくに肝臓のような特定のタイプの腫瘍を惹起する傾向がある）ではあるが、それでも非遺伝毒性化合物であるムスクキシレンは発がん性カテゴリー3（R40）に分類すべきと結論された（RAR musk xylene, 2005参照）。さらに、ムスクキシレンによる肝臓への影響はフェノバルビタールをラット及びマウスに投与したときにみられる変化に似ている。そのフェノバルビタールはげっ歯類に対する（肝臓）発がん性物質であり、IARC（IARC, 2001）は最近グループ2B（“ヒトに対しておそらく発がん性がある”）に分類した。ムスクケトンについては、それ自体のがん原性試験が存在しないので依然としてどちらとも決めにくいケースである。しかし、ムスクキシレンとの類似性に基づいて、ムスクケトンも発がん性カテゴリー3（R40）に分類すべきであろう。この結論はCMR Working Groupの2003年1月の会議で合意されている。

#### 4.1.2.8 生殖発生毒性

##### 4.1.2.8.1 受胎能力に及ぼす影響

###### 動物実験

利用できる多世代生殖発生毒性試験はない。ラットを用いた90日間経皮投与毒性試験でムスクケトンは生殖器に影響を及ぼさなかった。この結果は、その実験で陽性対照として用いた構造類似物質のムスクアンブレットと異なっていた。ムスクアンブレットは精巣萎縮を惹起することが知られており、実際に90日間経皮投与毒性試験でこの作用が認められた。

さらに、児動物を子宮内及び授乳期に暴露し、その後に交配試験を行った出生前及び出生後の発生に及ぼす試験（4.1.2.9項）では生殖行動に影響は認められなかった。

#### ヒトにおける試験

利用できる試験はない。

ハイデルベルグ（ドイツ）のある病院で1994年から1996年にかけて婦人科的な問題で相談に来た152人の女性（平均35±7歳）について、合成香料、とくにムスクケトンの血液中の有無を検査した。さらに、様々な下垂体、副腎及び卵巣ホルモンについても測定し、一連の婦人科的検査を実施するとともに、化粧品及び合成洗剤の使用や摂取した魚の種類や頻度のような総合的な経歴も調査した。152人中106人が不妊に関する問題を持っていた。残りの46人の中で28人は月経異常、7人は脱毛症及び多毛症、11人は子宮、卵管又は卵巣の病気であった。152人中130人の血液中でムスクケトンが検出され（検出限界は20 ng/L）、その濃度の中央値、平均値及び最大値はそれぞれ55.5、79.4 及び518 ng/Lであった。その論文の著者は、血液中ムスクケトン濃度と年齢、体格指数（body mass index）、職業、国籍、魚の摂取、合成洗剤の使用、卵胞及び黄体ホルモン及び出産経験（過去の妊娠及び出産との比較での原発性不妊症、1回又はそれ以上の出産経験との比較での未経産、流産経験なしとの比較での1回又はそれ以上の流産経験）との間に有意な関連はないと報告している。しかし、血液中ムスクケトン濃度と化粧品（とくに香料）の使用頻度、アンドロステンジオン及びアンドロステンジオール-グルクロニド（その他の副腎ホルモンは有意差なし）の濃度及び特定の病気（月経前症候群、多毛症）との間に有意な関連が認められている（Eisenhardt et al., 2001）。

注意：適切な対照群（例えば婦人科の病気のない女性）が設定されていないこと及び交絡因子について検討されていないことから、この試験では血液中ムスクケトン濃度と生殖器又は内分泌に対する影響の間の因果関係は明らかではない。

### **4.1.2.9 発生毒性**

#### **4.1.2.9.1 動物実験**

##### 経口投与

1群8匹の妊娠Sprague-Dawleyラットを用いた用量設定実験で、0、60、200、600又は2,000 mg/kg体重/日のムスクケトン（コーンオイルに溶解）を妊娠7～17日に強制経口投与した。妊娠20日に動物を屠殺した。実験期間中に2,000 mg/kg体重群で2匹、600 mg/kg体重群で3匹のラットが母動物に対する毒性により死亡した。死亡例の子宮の検査ではその発生段階としては正常と思われる受胎産物が認められた。投与に関連した症状（尿で汚染した腹部被毛、過度な流ぜん、脱毛、汚れた被毛、低体温、衰弱、口の周囲及び膈周囲の赤色物質、着色涙、

着色鼻汁又は運動量の減少)が200 mg/kg体重以上の群で認められた。200 mg/kg体重群では、投与に依存した振戦発現頻度の増加が認められたが、それは妊娠7～9日にのみ認められたものであった。ムスクケトン投与したすべての群で体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。帝王切開後の観察では、200 mg/kg体重以上の群で胎児体重、リッターサイズ(同腹児数)及び生存胎児数の減少、早期及び後期吸収胚及び吸収胚数の増加が認められた。胎児の外形に変化は認められなかった(Parker, 1997)。

この用量設定実験の結果に基づき、本試験では0、15、45及び150 mg/kg体重/日の用量を選択した。本試験は最新のガイドラインにしたがって、妊娠Sprague-Dawleyラットを1群25匹として、妊娠7～17日にムスクケトン(コーンオイルに溶解)を投与した。妊娠20日に母動物を殺して検査した。流産、早産及び死亡は認められなかった。用量に依存した乾燥糞及び口周囲に物質の付着の発現頻度の増加が45及び150 mg/kg体重群で認められた。最高用量群ではさらに尿で汚染した腹部の被毛、過度な流涎、脱水症、赤色物質の前肢への付着及び振戦が有意に増加した。また最高用量群では1～2匹のラットに着色鼻汁又は着色涙も認められた。これらの所見が最初にみられたのは45及び150 mg/kg体重群でそれぞれ妊娠13及び7日であった。体重増加量及び摂餌量の用量に依存した有意な減少が45及び150 mg/kg体重群で全投与期間にみられ、妊娠18～20日にはそれらのリバウンドが認められた。150 mg/kg体重群では妊娠7～10日に有意な体重減少が認められた。妊娠率は全群で同等であった。150 mg/kg体重群で着床後死亡率(総吸収胚及び早期吸収胚のリッター平均の有意な増加、リッターあたりの後期吸収胚数及び吸収率のわずかな増加傾向、早期あるいは後期吸収胚がみられた母動物数又はすべての胚が死亡又は吸収された母動物数の増加として)の増加がみられた。150 mg/kg体重群の2匹の母動物ではすべてが吸収胚であった。死亡胎児は認められなかった。150 mg/kg体重群で胎児体重の有意な減少がみられた。催奇形性は認められなかった。母動物に対するNOAELは15 mg/kg体重/日であり、生殖発生毒性のNOAELは45 mg/kg体重/日であった(Christian et al., 1997; Christian et al., 1999)。

#### 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

1群28匹の妊娠Charles River CDラットに0、2.5、7.5及び25 mg/kg体重/日のムスクケトン(コーンオイルに溶解)を妊娠14日から離乳、すなわち出産後21日まで強制経口投与した(Makin and Bottomley, 1997)。妊娠動物はすべて出産させて児動物を離乳まで哺育させた(生後6日に1群8匹に間引き)。すべての児動物について、平面正向反射、驚愕反射、空中立ち直り反射及び瞳孔反射の成立日令について検査した。各リッターから選別した児動物(各群雌雄各24匹)を成熟するまで飼育し、行動変化(運動協調性及び平衡、行動及び回避行動)及び生殖能(1対1の交配及び母動物を妊娠期間、出産期を通して次世代が離乳するまで)を検査した。この実験でF1世代は、出生前は子宮内で、また授乳期には乳汁を介して被験物質に暴露されたのみである。

25 mg/kg体重群で統計学的に有意な体重増加量の低下が投与期間の最初の2日間に認められた（対照群の74.6%）。これによってこの群の母動物の絶対体重は妊娠中期以降低い値を示し、授乳期間ではわずかではあるがさらに低い値を示した。25 mg/kg体重群で授乳期間中の摂餌量はわずかではあるが有意な減少が認められた（対照群の90%）。この群の児動物の出生時の体重も低く（4.8%）、離乳時（11.8%）まで継続して低かった。この児動物の低体重と関連して、平面及び空中正向反射の成立日にわずかな遅延がみられ、性成熟の遅延もみられたが生殖行動に変化は認められなかった。7.5及び25 mg/kg体重群のF<sub>0</sub>母動物から生まれたF<sub>1</sub>雄動物の体重増加量が交配前及び交配期間中低かった（それぞれ6.5-7.6%及び11.5-12.9%）。

F<sub>1</sub>動物が授乳期間中（3週間）に乳汁を介して暴露されたムスクケトン量は最大で20,900 µg/Lであった（Hawkins et al., 1996からのデータ； 4.1.2.1.1項 - 特殊な試験参照）。このような暴露による特殊行動試験及び性成熟への影響はみられなかった。

生後6及び22日に殺した余剰動物の脂肪組織におけるムスクケトン濃度に性差は認められなかった。生後6日目の動物で脂肪濃度が用量に依存して増加したが、脂肪中のムスクケトン濃度は用量に比例しなかった。生後22日の動物では、脂肪組織中のムスクケトン濃度は用量に比例した（Makin and Bottomley, 1997）。

この実験における母動物に対するNOAELは7.5 mg/kg体重/日で、生殖機能に対するNOAELは2.5 mg/kg体重/日であった。7.5 mg/kg体重群にみられた変化（乳汁を介したムスクケトン暴露がなくなった時期に雄のF<sub>1</sub>動物にみられたわずかではあるが統計学的に有意な体重増加量の減少）の生物学的意義は不明であるとされている。しかし、その原因を測定したパラメータから推定することはできず（可能性としては乳汁を介した暴露露、母動物の乳汁量減少、母動物の哺育不足）、またそれより高用量の25 mg/kg体重群でも同じではあるがやや強い影響がみられているために、その変化の生物学的意義及びF<sub>0</sub>動物に対するムスクケトン投与との関連性を否定することはできない。そのために、NOAELは2.5 mg/kg体重/日と（安全をみて）推定された。

#### 経皮投与/吸入暴露

利用できるデータはない。

#### **4.1.2.9.2 ヒトにおける試験**

利用できるデータはない。

#### **4.1.2.9.3 内分泌相互作用**

##### レセプター結合

Chou and Dietrich (1999) は、ムスクケトン及びその代謝物についてマス (*Oncorhynchus mykiss*) 及びアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) のエストロゲンレセプターとの競合的結合について検討した。未変化体であるムスクケトンのER (エストロゲンレセプター) への結合は認められなかったが、2-アミノムスクケトンの結合は両動物種で認められた (マス及びアフリカツメガエルに対するIC<sub>50</sub>はそれぞれ>1 mM及び70.1 ± 88.3 µM)。

#### E-Screen試験

非GLP下で行った試験において、ムスクケトン (純度99.5%) 及び2-アミノムスクケトン (純度99.9%) をエタノールに溶解してエストロゲンレセプター陽性のヒト乳癌細胞 (MCF-7) に添加し、Soto et al. (1995) のE-screen法にしたがって6日間インキュベートした。10 µmol/Lまでの5種類の濃度についてエタノールの最高濃度を0.1%として検討した。固定した細胞の総蛋白質量の分光光度法で細胞分裂の速度を測定し、ホルモンフリーの対照と比較した。細胞分裂の相対速度 (被験物質対対照) をさらに17 β-エストラジオールの相対速度と比較した。ムスクケトンによる分裂速度はホルモンフリーの対照に比べてわずかに高かったが、17 β-エストラジオールよりは10<sup>-5</sup>も低かった。2-アミノムスクケトンでは増加はまったく認められなかった (Bitsch et al., 2002)。ムスクケトンの結果は統計学的に有意ではあるが、この実験結果は大きくばらついており、対照 (0.1%エタノール) の結果は示されていないことに注意しなければならない。

#### **4.1.2.9.4 生殖発生毒性の要約**

受胎能に関してはいずれの投与経路についても多世代生殖発生毒性試験の利用できるデータはない。ラットを用いた90日間経皮投与毒性試験では、ムスクケトンは生殖器には影響しなかった。しかし、構造的に関連する化合物であるムスクアンブレットでは同じ実験で精巣萎縮が認められている。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、ムスクケトンに子宮内又は乳汁を介して暴露された児動物の生殖行動に影響は認められなかった。

そのラットを用いた経口投与による生殖発生毒性試験では、母動物に対する毒性が45及び150 mg/kg体重/日群で用量に依存して認められた。認められた毒性所見は体重増加量及び摂餌量の減少であった。着床後死亡率及び胎児体重の減少のような生殖発生毒性は150 mg/kg体重/日群のみで認められた。催奇形性は認められなかった。母動物に対するNOAELは15 mg/kg体重、生殖発生に対するNOAELは45 mg/kg体重であった。経皮投与及び吸入暴露による生殖発生毒性試験に関する利用できるデータはない。

経口投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、最高用量の25 mg/kg体重投与群の母動物にわずかな毒性 (体重増加量及び摂餌量の減少) が認められた (母動物に対するNOAELは7.5 mg/kg体重/日)。この用量の児動物で認められた毒性は低体

重（出生時及び離乳までの間）及び平面及び空中正向反射成立日及び性成熟の遅延であった。出生後20週までの体重増加量の減少が7.5及び25 mg/kg体重/日群のF<sub>1</sub>の雄にみられた。このF<sub>1</sub>世代のムスクケトンに対する暴露は周産期の子宮内及び授乳期の乳汁を介したものであることは注目される。ムスクケトンの直接的な作用に続く作用である乳汁量の減少あるいは消耗もこの体重増加量に対する作用の（間接的な）原因として除外できない。25 mg/kg体重までの用量では行動の変化又は生殖能力の減少に影響しなかった。検討した最少用量の2.5 mg/kg体重/日がこの実験におけるNOAELと推定された。慎重なアプローチであるが、それより高い用量における影響が非常に小さく、雄に限定されたものであり、生物学的な意義が不明であるという事実をこのエンドポイントであるMOS値の解釈において考慮しなければならない。

この出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で得られたデータは、ムスクケトンについて生殖発生毒性を惹起する物質に分類する必要はないことを示している。この実験で児動物への影響はわずかであったこと及びその影響の生物学的意義が不明であることを考えると、ムスクケトンにR64（“母乳で育てられる乳児に有害であるおそれがある”）と表示する必要もない。このことは2002年5月のCMR Working Groupの会議で確認されている。

2-アミノムスクケトンでは認められなかったが、ムスクケトンはE-screen法で非常に弱いアゴニストであることが示された。マス又はアフリカツメガエルのエストロゲンレセプターに対する結合実験では、2-アミノムスクケトンは結合したが、ムスクケトンは結合しなかった。

これらの結果は互いに矛盾している。さらに、その弱いエストロゲン活性は*in vitro*のみでみられたものであり、90日間経皮投与毒性試験における生殖器にムスクケトンの影響は認められず、また児動物が子宮内で暴露された生殖行動に関する出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験でも影響は認められていない。