

テトラメチルアンモニウム＝ヒドロキシドの有害性情報の整理

1. はじめに

テトラメチルアンモニウム＝ヒドロキシドに係る評価可能な有害性情報が限られていたため、リスク評価Ⅱにおける有害性評価値を導出するにあたり入手可能であった有害性情報を整理する。資料1-2では次の点を前提としている。

- ✓ 入手できた有害性情報は TMAH, TMAC, TMAB, TMAHP の 4 物質 (資料 1-2、82～86 行目¹)
- ✓ 解離して生じる TMA に関する有害性評価を行う (資料 1-2、86～90 行目²)

各評価項目で入手できた有害性情報はいずれも動物試験の結果であり、限られた情報量での有害性評価となった。

一般毒性	慢性毒性試験の情報無く、入手できた 28 日間及び 90 日間の反復経口投与毒性試験の結果で評価
生殖発生毒性	十分に高い用量で実施され、主要な項目について検査が実施されていた生殖発生スクリーニング試験 ³ のみで評価
遺伝毒性 (変異原性)	in vivo 試験情報は無く、in vitro の遺伝毒性試験結果しかないが、すべて陰性であったことから、遺伝毒性 (変異原性) の懸念はないと考えられた
発がん性	発がん性試験情報は無く、変異原性の判断に基づき変異原性の懸念はないと考えられることから、少なくとも変異原性が起因となる発がん性についての懸念はないと考えられた

特に、「2-1 経口の (2) 実験動物」の項における TMAH のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験においてみられた「心重量の低値 (雄のみ)」及び「流涎 (雌雄)」について、毒性影響の考え方を整理する。

¹ 有害性情報が存在したのは、**TMAH** と、表 1 の太字で示した 3 化合物 (テトラメチルアンモニウム＝クロリド (**TMAC**, CAS 番号 75-57-0)、テトラメチルアンモニウム＝ブロミド (**TMAB**, CAS 番号 64-20-0)、及びテトラメチルアンモニウム＝水素＝フタラート (**TMAHP**, CAS 番号 79723-02-7)) であった。その他の物質の有害性情報は見当たらなかった。

² 人健康影響に関する本評価は、表 1 に示した通し番号 17 に含まれる 23 物質が生体中または環境中において解離して生じるテトラメチルアンモニウム (TMA : 第四級アンモニウムカチオン (CH₃)₄N⁺) に関する、入手可能な限られた有害性情報に基づいた有害性評価となるため、TMA 以外の分子に起因した有害性は評価の対象としていないことに留意が必要である。

³ 本スクリーニング試験は、検査項目に限りがあり、催奇形性などの胎児への影響や児動物の生後の発達などについて評価可能な試験ではなかった。(資料 1-2、541～543 行目)

2. 雄のみにみられた心重量の低値

I 毒性影響の考え方

毒性影響であるかどうか	毒性影響ではない	毒性影響である (絶対及び相対重量の低値を毒性影響とする)	
理由	<ul style="list-style-type: none"> 雄のみに発生 同じく TMA を解離する TMAC や TMAHP の試験では、TMA 量が同等あるいはそれ以上にもかかわらず観察されていないため、TMA による影響ではないと考えられる。 	<ul style="list-style-type: none"> 絶対・相対重量がともに低下する稀な現象であるため、有害事象と考える必要がある。 TMAC や TMAHP の試験で同所見がなかったことを理由に、毒性影響ではないとは言えない。 病理所見がないことは、毒性影響ではないことの根拠にならない。 ムスカリン様作用を有する物質なので、毒性影響であることを否定できない。 用量設定範囲が狭いため、雌で生じなかったことが絶対的な理由にならない。 原因を特定できないなら、安全側に立つべき。 	
考えられる機序とその理由	<ul style="list-style-type: none"> 原因は特定できない。 少なくとも、ムスカリン様作用に起因した変化ではない可能性が高い。 	ムスカリン作用 <ul style="list-style-type: none"> TMA がムスカリン作用を有するため、(雌雄差、類似物質の結果があっても) その影響であることを否定できない。 	ムスカリン作用以外 (機序不明、推定困難) <ul style="list-style-type: none"> 雄のみに発生しているため。 TMAC、TMAHP などと同程度の用量でも同所見が認められないため、ムスカリン作用の関与は否定できる。 ムスカリン様作用に起因した変化でなくとも、有害性影響ではないと言い切れない。
本所見の NOAEL	20 mg/kg/day (最高用量)	5 mg/kg/day (用量依存性的かつ絶対・相対重量の両方が低下しているため)	

網掛け：資料 1 - 2 の考え方

II 論点

- (1) 心重量データ (背景データ含む) 及び、皮下投与による薬理学的影響をみた研究 (Wu et al. 2012) **別紙 1** **別紙 3** を踏まえた追加の考え方があるか。
- (2) 機序 (可能性を含む) を推定することは可能か、また、雄のみに発生したこと及び TMAC, TMAHP では発生しないことの事象をどう考察するか。
- (3) 心重量の低値に関する NOAEL の値の設定をどうするか (5 mg/kg/day または 20 mg/kg/day)。

3. 雌雄にみられた流涎

I 毒性影響の考え方

毒性影響と捉える時点	投与後 1 時間以上の流涎	投与直後&投与後 1 時間以上の流涎
理由	<ul style="list-style-type: none"> 持続的な流涎は通常はみられないため無視できない 高用量群で頻発 投与期間の長期化により認めるため 	<ul style="list-style-type: none"> 投与直後の流涎は用量依存的に発生している。 ムスカリン様作用を原因とするなら、一過性の流涎も毒性影響と考えられる可能性がある。
考えられる機序とその理由	<p>a. ムスカリン様作用</p> <ul style="list-style-type: none"> ムスカリン作用を反映した神経症状である可能性が高い。 低用量の濃度でも pH は変わらないため、一過性の流涎はアルカリ性が主な原因とは言い切れない。 経口 LD₅₀ (7.5~125 mg/kg) と大きく変わらない用量で実施されている試験であり、ムスカリン様作用の影響を完全に否定できない。 <p>b. アルカリ性</p> <ul style="list-style-type: none"> 強アルカリ物質なので、刺激による流涎の可能性はある。 <p>c. ムスカリン様作用か、アルカリ性による作用かを明確にすることは難しい。</p>	
本所見の NOAEL	10 mg/kg/day	5 mg/kg/day

網掛け：資料 1 - 2 の考え方

II 論点

- (1) 個体別の流涎の発生状況 **別紙 2** **別紙 3** を踏まえた追加の考え方があるか。
- (2) 機序（可能性を含む）を推定することは可能か。
 - 「2-3 経皮（参考）」の項に示す経皮投与試験（資料 1-2、269~283 行目）では、50 mg/kg/day 投与群で流涎が報告されていない。
 - 投与用量によってアルカリ性の強さは変わらないが、**TMA 濃度が高くなることで口腔内の残留量が多くなり接触時間が長くなることが流涎の原因になる可能性**が考えられる。
- (3) 投与直後の一過性流涎を毒性影響と捉えるか。
- (4) 流涎に関する NOAEL の設定をどうするか（NOAEL 5 or 10 mg/kg/day あるいは LOAEL 5 mg/kg/day）。

4. 一般毒性の有害性評価値

2. 及び3. での議論の結果に基づき、一般毒性の有害性評価値を決定する。

I 論点

(1) TMAH のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験に基づく有害性評価値をどうするか。

➤ 不確実係数 (UF) の設定

(種差 10、個体差 10 以外にどのような追加の不確実係数が必要か)

心重量データ

心臓の絶対重量と相対重量の範囲を比較するため、試験実施機関にて同時期に実施された他の6物質の28日間試験の対照群データを集計した。なお、TMAHのラットを用いた28日間反復経口投与毒性試験の臓器重量を含む全てのデータについては、JECDB⁴において群平均値データのみ公表されている(2023年9月時点)。次ページに、体重および心重量等の個別別データ(2023年12月頃公開予定)及び当該試験結果の背景値データを示す。

平成10年実施試験 対照群 心臓絶対・相対重量(g) mean ± SD 背景データ(6試験)

最大値:赤, 最小値:青

試験番号	化学物質名	CAS No.	動物数 雌雄各群	剖検時 雄体重 (g)	対照群 心臓絶対重量 (mg)	最大値 (mg)	最小値 (mg)	剖検時 雌体重 (g)	対照群 心臓絶対重量 (mg)	最大値 (mg)	最小値 (mg)
評価試験	TMAH 'テトラメチルアンモニウムヒド'ロキシド'	75592	5	348.7	1259.9 ± 78.8	1376.8	1185.3	214.7	771.3 ± 59.3	860.2	705.2
1	2-エチルアントラキノン	84515	5	351.6	1087.9 ± 80.0	1209.4	1023.1	217.1	727.3 ± 54.5	791.7	642.9
2	o-ジクロロベンゼン	95501	5	351.0	1127.8 ± 46.7	1166.5	1047.9	218.6	750.1 ± 78.7	861.8	641.8
3	Propane, 1-bromo-3-chloro-	109706	5	312.7	1064.5 ± 132.6	1227.9	902.0	201.5	702.1 ± 93.4	794.5	545.9
4	N, N, N-トリメチル-2-[(2-メチル-1-オキソ-2-プロパノール)オキシ]エタンアミンクロライド'	5039781	5	367.8	1194.6 ± 104.6	1362.3	1098.4	225.5	822.1 ± 83.7	954.4	735.5
5	ビグメントオレンジ 16	6505288	5	377.8	1220.6 ± 54.6	1302.3	1158.5	225.0	736.2 ± 58.0	809.7	652.9
6	1,1-ビス(tert-ブチル)エチル-3,3,5-トリメチルシクロヘキサ	6731368	5	375.8	1211.3 ± 132.4	1380.9	1033.7	229.5	792.8 ± 53.5	880.4	736.1
使用動物:4週齢SDラット(Crj:CD(SD)IGS、SPF 日本チャールス・リバー社 筑波飼育センター 入荷8~9日後供試				6試験 雄平均心臓絶対重量(mg): 1151.1				6試験 雌平均心臓絶対重量(mg): 755.1			
				6試験 雄平均心臓相対重量: 3.24				6試験 雌平均心臓相対重量: 3.44			

TMAH 28-day Tox 雄の心臓絶対重量(評価データ)			雄相対重量	評価試験	3.62	雌相対重量	評価試験	3.59	TMAH 28-day Tox 雌の心臓絶対重量		
Male	0 mg/kg/day:	1259.9 ± 78.8	100%	1	3.09	1	3.35	Female	0 mg/kg/day:	771.3 ± 59.3	100%
	5 mg/kg/day:	1086.4 ± 77.3*	86%	2	3.21	2	3.43		5 mg/kg/day:	748.4 ± 106.6	97%
	10 mg/kg/day:	1077.0 ± 104.8**	85%	3	3.40	3	3.48		10 mg/kg/day:	724.3 ± 54.3	94%
	20 mg/kg/day:	1043.6 ± 65.4**	83%	4	3.25	4	3.65		20 mg/kg/day:	763.0 ± 100.9	99%
				5	3.23	5	3.27				
				6	3.22	6	3.45				
TMAH 28-day Tox 雄の心臓相対重量(評価データ)						TMAH 28-day Tox 雌の心臓相対重量					
Male	0 mg/kg/day:	3.618 ± 0.257	100%			Female	0 mg/kg/day:	3.594 ± 0.235	100%		
	5 mg/kg/day:	3.336 ± 0.188	92%				5 mg/kg/day:	3.498 ± 0.154	97%		
	10 mg/kg/day:	3.223 ± 0.255*	89%				10 mg/kg/day:	3.409 ± 0.221	95%		
	20 mg/kg/day:	3.207 ± 0.195*	89%				20 mg/kg/day:	3.616 ± 0.324	101%		

6試験の対照群心臓重量の範囲: 1064.5~1220.6

6試験の対照群心臓相対重量の範囲: 3.09~3.40

6試験の対照群心臓重量の範囲: 702.1~822.1

6試験の対照群心臓相対重量の範囲: 3.27~3.65

- ・ TMAH 対照群 雄 絶対・相対ともに背景値を超えている
- ・ 雄 20 mg/kg/dayの絶対は背景値を下回っているが、相対値は範囲内

⁴ 既存化学物質毒性データベース (Japan Existing Chemical Database)

https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPage.jsp

TMAH 28日間試験 雄ラットの体重、心臓、肝臓、腎臓（両側）重量

Group	Animal No.	Final BW (g)	Heart Abs (mg)	Heart Rel. (mg/100g BW)	Liver Abs (mg)	Liver (mg/100g BW)	Kidneys Abs (mg)	Kidneys (mg/100g BW)
Control	1	Recovery animal						
	2	Recovery animal						
	3	Recovery animal						
	4	Recovery animal						
	5	Recovery animal						
	6	366.2	1273.6	3.478	11714.4	31.989	2714.2	7.412
	7	341.9	1276.0	3.732	10405.9	30.436	2375.4	6.948
	8	348.4	1376.8	3.952	10008.3	28.726	2618.8	7.517
	9	362.7	1188.0	3.275	10603.7	29.235	2660.4	7.335
	10	324.3	1185.3	3.655	9971.5	30.748	2749.4	8.478
		348.7 ± 16.9	1259.9 ± 78.8	3.618 ± 0.257	10540.8 ± 708.4	30.227 ± 1.290	2623.6 ± 147.5	7.538 ± 0.568
		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5 mg/kg	11	317.4	1110.4	3.498	9629.8	30.340	2711.5	8.543
	12	330.8	1003.2	3.033	10259.9	31.015	2474.4	7.480
	13	360.2	1199.7	3.331	11249.6	31.232	2451.1	6.805
	14	294.2	1026.9	3.490	8776.2	29.831	2188.8	7.440
	15	328.0	1091.6	3.328	9721.3	29.638	2394.5	7.300
			326.1 ± 23.9	1086.4 ± 77.3*	3.336 ± 0.188	9927.4 ± 910.4	30.411 ± 0.703	2444.1 ± 187.2
	%	93.52	86	92	94	101	93	100
10 mg/kg	16	344.2	1079.8	3.137	10242.7	29.758	2268.3	6.590
	17	312.2	993.7	3.183	9665.4	30.959	2271.4	7.275
	18	340.1	1247.7	3.669	10586.9	31.129	2549.0	7.495
	19	349.5	1075.3	3.077	10175.8	29.115	2633.4	7.535
	20	324.2	988.6	3.049	10341.9	31.900	2526.3	7.792
			334.0 ± 15.4	1077.0 ± 104.8**	3.223 ± 0.255*	10202.5 ± 338.4	30.572 ± 1.119	2449.7 ± 168.9
	%	95.80	85	89	97	101	93	97
20 mg/kg	22	Recovery animal						
	23	Recovery animal						
	24	Recovery animal						
	25	Recovery animal						
	26	324.5	1049.5	3.234	9871.7	30.421	2597.2	8.004
	27	331.5	972.6	2.934	10248.9	30.917	2288.1	6.902
28	338.5	1047.9	3.096	11531.3	34.066	2579.2	7.619	
29	297.3	1002.6	3.372	8259.2	27.781	2245.2	7.552	
30	336.7	1145.2	3.401	9804.4	29.119	2657.1	7.892	
		325.7 ± 16.8	1043.6 ± 65.4**	3.207 ± 0.195*	9943.1 ± 1170.0	30.461 ± 2.355	2473.4 ± 191.5	7.594 ± 0.430
	%	93.40	83	89	94	101	94	101

黄色： < 90%

皮下投与による薬理学的影響をみた研究

Wu et al. 2012 の概要

Title: Tetramethylammonium ion causes respiratory failure related mortality in a rat model

Authors: Chen-Long Wu, Shih-Bin Su, Jin-Luh Chen, Cheng-Ping Chang, How-Ran Guo

Journal: Resuscitation 83 (2012) 119–124. [DOI:10.1016/j.resuscitation.2011.07.006](https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2011.07.006)

目的：TMAH を雄性 Wistar ラット(8-12 週齢) に皮下投与し、心拍数 (HR)、平均動脈圧 (MAP)、動脈 pH、動脈血ガス分圧など (PaO₂、PaCO₂、cHCO₃⁻) に対する影響を評価した。

方法：チオペンタールで麻酔し、大腿動脈カテーテルを挿入した雄ラットに、塩酸で pH 7.4 に調整した TMAH 2.38% 溶液を用いて、0、25、50、100、200 μmol/kg (事務局換算：約 0、2.5、5、10、20 mg/kg 相当、TMAH 分子量 91.15) の用量で単回、皮下投与し、生存状況の確認と投与 15 分後までの上記項目を測定した。

結果：死亡状況：200 μmol/kg (20 mg/kg 相当) 群では 15 分以内に全 8/8 例 (6.1 ± 1.1 分)、100 μmol/kg (10 mg/kg 相当) 群では 2/6 例 (7.3 ± 0.4 分)、50 μmol/kg (5 mg/kg 相当) 群では 1/6 例 (47.4 分) が死亡した。なお、TMA 投与により、投与用量に依存して HR、MAP、pH、PaO₂ の低下、及び、PaCO₂、cHCO₃⁻ の増加がみられた。

(事務局注：雌は用いていない。また、血中 TMA 濃度の測定、反復投与、心臓重量測定・病理検査は実施していない。)

<事務局補足>

- ・上記試験における死亡例の発生状況から、皮下投与による急激な TMA の暴露上昇によって、心循環器系及び呼吸への影響が生じ、急性期の死亡につながったと思われる。これに対して、TMAH ラット 28 日間経口投与試験 (0, 5, 10, 20 mg/kg/day) では、最高用量の 20 mg/kg/day の連日投与でも、死亡例はみられていない。
- ・従って、皮下投与の薬理モデル 50 μmol/kg (5 mg/kg 相当、1/6 例死亡) 以上の群では、暴露 (特に血中ピーク濃度：C_{max}) が、28 日間経口投与試験の最高用量 20 mg/kg/day の C_{max} を超えているために、心循環器系及び呼吸への影響により急性期死亡を惹起した可能性が高く、今回の薬理モデルの皮下投与用量と経口投与用量の単純な比較はできないと思われた。
- ・ただし、TMAH の皮下投与により、心拍数・動脈圧・酸素分圧の低下などが示されたことから、TMAH を反復投与した場合に、心臓への負荷低下による心臓重量の低下が誘発される可能性を否定できない。
- ・また、TMA によるムスカリン様作用の関与を考える際には、TMA 換算にてほぼ同等あるいはやや高い最高用量で経口投与した TMAH ラット 28 日間試験の雌、TMAC 90 日間及び TMAHP 28 日間試験の雌雄 (各試験の最高用量は、TMAH 換算で 20～28.6 mg/kg/day 相当、資料 1-2、482～484 行目) では心臓重量の低下が認められていないことも考慮に入れる必要があると考える。

流涎データ

個体別の流涎の発生状況

(Male)

(○：投与直後の一過性流涎、●：投与後1時間以上みられる持続的流涎、*：動物を保定したとき（投与前）にもみられる流涎）

Group	Animal No.	Days of dosing period																												Total frequency
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
Control	1																													0
	2																													0
	3																													0
	4																													0
	5																													0
	6																													0
	7																													0
	8																													0
	9																													0
	10																													0
5 mg/kg	11																												0	
	12																												0	
	13																												0	
	14																										○*		1	
	15																												0	
10 mg/kg	16							○	○			○	○*	○	○*	●	○*	○*	○*	●*	○*	○*	○	○	○	○	○	●	○*	19
	17																					○							1	
	18																								○	○			2	
	19												○								○								2	
	20											○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	17
20 mg/kg	21																												0	
	22																							○*					1	
	23								○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	17
	24							○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○*	○	○	16
	25					○	○	○	○	○	○	○	○*	●	○	●*	●*	●*	●	●*	●*	●	○*	●	○*	●	○	●*	○*	23
	26															○								○		○			3	
	27					○	○	○	○	○		○	○*	●	○	●	○	○	○	○	○	○*	○*	○*	●*	○	●*	●	●*	22
	28											○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	15
	29													○													○		2	
	30																												0	

(Female)

(○ : 投与直後の一過性流涎、● : 投与後1時間以上みられる持続的流涎、* : 動物を保定したとき (投与前) にもみられる流涎)

Group	Animal No.	Days of dosing period																												Total frequency	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
Control	31																													0	
	32																													0	
	33																													0	
	34																													0	
	35																													0	
	36																													0	
	37																													0	
	38																													0	
	39																													0	
	40																													0	
5 mg/kg	41																												0		
	42																												0		
	43																												0		
	44																												0		
	45																												0		
10 mg/kg	46																											○	1		
	47																												○	1	
	48								○		○	○	○	○	○	○	○	○	○		○		○	○	○	○	○	○	○*	17	
	49													○	○	○									○					4	
	50													○		○											○			3	
20 mg/kg	51																												0		
	52								○							○			○					○						4	
	53							○				○	○			●							○	○	○	○	○	○	○	4	
	54							○	○	○		○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	20
	55							○	○	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	20
	56								○*	○*	○*	○	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	21
	57								○	○			○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	17
	58						○	○	○	○	○	○	○	○*	○*	○	○*	○*	○	○	○	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	23
	59						○	○	○	○		○	○*	○*	○	○*	○*	○	○	○	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	20
	60															○							○							2	

その他の参考情報

予備試験（用量設定試験）の概要

SD ラットに TMAH を 0, 1, 5, 10 mg/kg/day の用量で 7 日間、20 mg/kg の用量で 5 日間、反復投与（強制経口）した結果⁵、20 mg/kg/day 群の雄 1 例で腺胃粘膜の肥厚が観察されたが、10 mg/kg/day 以下では何ら変化はみられなかった。

TMAH の急性経口予備試験では、25 mg/kg/day の単回投与で半眼及び自発運動の減少が散見、雌 1 例で投与翌日に体重の減少がみられたため、本試験の用量設定は、20 mg/kg/day は被験物質による毒性が認められ、かつ、28 日間の試験に耐えうる最高用量として設定され、公比 2 にて、10 及び 5 mg/kg/day を設定した。

なお、「6-2. 急性毒性」の項に示した単回経口急性毒性試験 [TMAH: 35 または 50 mg/kg]（資料 1-2、424～435 行目）では、ムスカリン様作用の特徴とされる流涎、痙攣、振戦、運動麻痺、呼吸異常などがみられている。

参考（各物質の水溶液の pH）

TMAH	1%: pH 12.9、5%: pH 13.6、10%: pH 13.6-13.9（資料 1-2、461 行目）
TMAC	濃度 50 g/L, 25℃の場合、pH 4.6－6.5（富士フィルム和光純薬 Home Page より）
TMAHP	データなし

⁵ TMAH のラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験（回復 14 日間）最終報告書 4. 群及び群分け（5 ページ目）に用量設定試験の記載
https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF75-59-2b.pdf