

20020922

厚生労働科学研究費補助金

食品・化学物質安全総合研究事業

反復投与毒性や発がん性試験等の実施による

既存添加物の安全性評価に関する研究

平成 14 年度総括・分担研究報告書

主任研究者 西川秋佳

平成 15 年 4 月 10 日

目次

I. 総括研究報告書	
反復投与毒性や発がん性試験等の実施による 既存添加物の安全性評価に関する研究 西川秋佳	1
II. 分担研究報告書	
1. 苦味料等の安全性評価に関する研究 (ヒメマツタケ抽出物) 西川秋佳	26
2. ガムベース等の安全性評価に関する研究 (コーパル樹脂、ホホバロウ) 田中卓二	40
3. 増粘安定剤等の安全性評価に関する研究 (アウレオバジウム培養液、マスチック) 鰐淵英機	64
4. 着色料等の安全性評価に関する研究 (アルカネット色素) 廣瀬善信	88
5. 酸化防止剤等の安全性評価に関する研究 ガムベース (モンタンロウ) 今井田克己	99
6. 保存料等の安全性評価に関する研究 製造用剤 (メバロン酸) 中江 大	116
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	139
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
平成 14 年度総括研究報告書

反復投与毒性や発がん性試験等の実施による既存添加物の安全性評価に関する研究
主任研究者 西川秋佳 国立医薬品食品衛生研究所病理部室長

研究要旨：既存添加物は、安全性の面からみれば収載品の多くはそれ自体もしくはその基源が長年食用に供されていたなどの経験はあるものの、動物実験などによる毒性試験などの科学的な安全性データに欠けるものも少なくない。安全性を評価するために必要な資料がないことから、基本的な安全性を確認するためには反復投与毒性試験などの実施による安全性の検討が必要 109 品目のうち、流通実態の確認が困難なもの及び規格の明らかでないものを除いた 30 品目程度について、平成 14 年度から 16 年度の 3 年間で、ヒトでの長期摂取による影響を視野においた基本的安全性の評価を目的に、複数の分担研究者と協力し、複数の検体に係る 90 日間反復投与毒性試験等を実施し、データを相互に比較考察することにより、横断的に既存添加物の安全性について検討した。

平成 14 年度には、苦味料（ヒメマツタケ抽出物）、ガムベース・光沢剤（コーパル樹脂、ホホバロウ、マスチック、モンタンロウ）、増粘安定剤（アウレオバシジウム培養液）、着色料（アルカネット色素）、製造用剤（メバロン酸）を対象として、ラットを用いる 90 日間反復投与毒性試験を実施した。その結果、無毒性量は、ヒメマツタケ抽出物 5%、コーパル樹脂 1.25%、ホホバロウ 1.25%、アウレオバシジウム培養液 5%、マスチック 0.22%、アルカネット色素 5%、ホホバロウ 0.56%未満及びメバロン酸 0.2%と考えられた。

分担研究者

田中卓二 金沢医科大学・教授
鰐淵英機 大阪市立大学医学部・助教授
廣瀬善信 岐阜大学医学部・講師
今井田克己 香川医科大学・教授
中江 大 佐々木研究所・部長

A. 研究目的

ヒメマツタケ (*Agaricus blazei* Murrill) はハラタケ科に属する食用キノコで、現在は食用としてよりも主に食薬キノコおよび機能性食品として広く用いられている。その抽出物は苦味料として食品添加物に使用されている。既存の食品添加物ではあるが、マウス Sarcoma-180 固形癌および線維肉腫に対する抗腫瘍活性、ヒトリンパ性白血病細胞の増殖阻害作用、急性肝障害モデルラットにおける肝機能改善効果を有することが報告されている。また、ヒメマツタケ抽出物は変異原性が陰性であり、さらに変異原物質 methyl methanesulfonate を処置したハムスター V79 細胞において comet assay で

抗変異原作用を有することも確認されている。

コーパル樹脂 copal resin は、ナンヨウスギ科アガティクスロランティフォリア (*Agathis loranthifolia* SALISB.) の幹の分泌液から、低沸点部を蒸留により除去後、室温にてエタノールで抽出し、ろ液からエタノールを留去して得られたもので、アガテンジカルボン酸を主構成成分とする。なお、ナンヨウナギ (*Agathis*) 属樹木の樹脂は一般にコーパルと称される。コーパル樹脂の性状は、黄～黄褐色の貝殻状断面を呈する塊状固体で、芳香があり、水に不溶で、一部エタノールに可溶である。その主な使用対象食品にはチューインガムがあり、米国では接着剤に使用されている。また、速乾性で、硬質の塗膜を作る油絵具のペインティングオイルの原料や箔下パニスの原料として使用されている。

ホホバロウはツゲ科ホホバ (*Simmondsia californica* NUTT.) の果実から採油したホホバ脂より分離して得られる高融点ロウ物質で、その主成分はイコセン酸イコセニルで

ある。その性状は無色～淡金色の粘性液体で、わずかに特有のにおいを発する。水に不溶、冷エタノールに難溶、熱エタノールに可溶、油脂に可溶で、その主な使用対象食品はチューインガムである。また、化粧品（口紅）、クレヨン、美容、医薬品等にも使用されている。

アウレオバジウム培養液は既存添加物で、アウレオバジウム菌（黒酵母）の培養液を滅菌して得られる粘稠な液体で、 β -1,3-1,6-グルカンを主成分としており、食品の増粘安定剤として用いられている。また、本多糖類は茸類やその抽出液中に含まれており、近年健康食品としても注目されている。

マスチックは天然物由来の既存添加物で、マスチカジエノン酸を主成分としており、ガムベースとして用いられている。特性として、加熱すると粘性のある流動体となるが、主に、チューインガムベースを可塑化し、樹脂的なテクスチャを付与する。

アルカネット色素はムラサキ科アルカネット (*Anchusa officinalis*) の根よりエタノール抽出を施して得られたものである。その主成分はキノン系ナフトキノンのアルカニン (alkanin, dioxymethylanthraquinone) であり、この他に alkanin isovalerate、alkanin acetate、デキストリンまたは乳糖を含むことがある。本色素は、北アフリカ・東インド原産でアルカナとも呼ばれ、同じくナフトキノンであるシコニンの異性体 enantiomers である。従来から、本色素は染め物用として使用され、その根を煎じたものには鎮咳・去痰作用があるとされてかつては薬草として栽培されていたことがあった。食用としては、国産品には現在は使われていないようだが、輸入品で本色素が使用されている該当食品としてはソーセイジケーシング、マーガリン、ショートニング、菓子及びワインなどが挙げられている。

モンタンロウ (Montan wax) は褐炭またはリグナイトから有機溶剤で抽出して得られたもので、主成分は脂肪酸とテトラコシルトリアコンタニルアルコールまたは脂肪酸とヘキサコシルトリアコンタニルアルコールのエステルである。モンタンロウはガムベースや菓子、糖衣食品、果実などの表面に光

沢性、防湿性等を付与するコーティング剤としての用途があり、既存食品添加物として登録されているものの、これまでに混餌による反復投与毒性に関する報告はほとんどない。

化粧品材料として使用されているメバロン酸は、サルモネラ菌による変異原性試験は陰性であり、ラットの経口および皮下投与による LD₅₀ は 2 g/kg 以上と報告されているが、反復投与毒性などの安全性情報は報告されていない。

B. 研究方法

<被験物質並びに投与方法>

ヒメマツタケ抽出物 (ABM-EG3)、コーパル樹脂、ホホバロウ、アウレオバジウム培養液、アルカネット色素及びメバロン酸は、それぞれ岩出菌学研究所株式会社 (三重)、日本シセラック工業株式会社 (大阪)、ミツバ貿易株式会社 (商品名ホホパール、東京)、株式会社ソフィー (高知)、大阪化学合金株式会社 (神戸) 及び旭電化工業株式会社基礎研究所 (東京) から供与された。マスチック及びモンタンロウは、株式会社ロッテ (埼玉) から提供された。

予備試験の結果に基づいて、ヒメマツタケ抽出物、コーパル樹脂或いはホホバロウの用量を 5%、2.5%、1.25%、0.63% 及び 0% に設定し、混餌投与した。同様に、アルカネット色素或いはモンタンロウを 5%、1.67%、0.56% 及び 0% の用量に設定し、混餌投与した。マスチックは、2%、0.67%、0.22% 及び 0% の用量に設定し、混餌投与した。メバロン酸は、1%、0.2%、0.04% 及び 0% の用量に設定し、混餌投与した。各原体を基礎粉末飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業株式会社、東京) に規定量混じたものを検体として使用した。粉末 CRF-1 基礎飼料への添加は、オリエンタル酵母工業株式会社に依頼した。それぞれの濃度の CRF-1 粉末飼料を 90 日間自由に摂取させ、対照群 (0% 群) には CRF-1 粉末飼料のみを同様に摂取させた。飼料は毎週 1 回交換し、同時に体重および摂餌量を測定した。アウレオバジウム培養液は、乾燥し長期の安定性を確認する分析が困難なため、飲料水に混じり投与することとした。予備試験より、投与最高用量を 5% とし、公比 3 で除して以下 1.67% 及び 0.56% の用量

に設定した。検体は週に2回交換し、それぞれの濃度の飲料水を90日間自由に摂取させ、対照群には水道水のみを摂取させた。

<動物並びに飼育条件>

5週齢のF344ラット(F344/DuCrj)雌雄各50匹を日本チャールス・リバー社(神奈川)より購入し、約1週間の馴化飼育の後、雌雄とも各群10匹ずつ5群に配した。動物の飼育はバリエーションシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数18回/時間、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は、ポリカーボネート製箱形ケージに5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス社(東京)のソフトチップを用い、週2回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

<観察並びに検索方法>

投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は毎週1回測定した。動物は剖検日前日より絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺・剖検した。

血液学的検査として、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)及び血小板数(PLT)について測定した。さらに、白血球の型別分類を行った。

血清生化学的検査として、総蛋白(TP)、A/G比、アルブミン(ALB)、ビリルビン(BIL)、総コレステロール(TC)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRN)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ(AST)、アラニントランスアミナーゼ(ALT)、アルカリフォスファターゼ(ALP)及び γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GT)について測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓および精巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、鼻腔を含む頭蓋、下垂体、眼球、ハーダー腺、脊髄、唾液腺、胸腺、胃、小腸、大腸、盲腸、膵臓、

膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、胸骨、大腿骨、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、三叉神経、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、凝固腺、子宮、卵巣および膈を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。臓器は常法に従い、パラフィン包埋後、薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。病理組織学的検索は原則として雌雄の各5%群と対照群のみ実施し、変化の認められた場合にはその他の群の検索も行った。

<統計学的処理法>

血液学的検査、血清生化学的検査及び臓器の相対重量については、原則として、各群の分散比をBartlettの方法で検定し、等分散の場合は、一元配置分散分析を行い、不等分散の場合はKruskal-Wallisの方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合の多重比較はDunnettの方法で対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。その他の方法も適宜併せ実施した。

C. 研究結果

<ヒメマツタケ抽出物>

試験期間中の動物の一般状態については、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、全ての動物が試験終了時まで生存した。体重推移は雌雄とも被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。ラット一日当りの平均摂餌量は、雄では各群とも約14g前後、雌では各群とも約9g前後で、雌雄ともに摂餌量の有意な群間差は認められなかった。ヒメマツタケ抽出物のラット当たりの一日平均摂取量(mg/rat/day)は、雄の0.63%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ89、172、354および711、雌ではそれぞれ58、113、223および450であった。また、ヒメマツタケ抽出物の体重当たりの一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄の0.63%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ340、669、1346および2654、雌ではそれぞれ376、744、1491および2965であった。ヒメマツタケ抽出物の90日間の総摂取量は、雄の0.63%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ8.0g、15.5g、31.9gおよび64.0g、雌ではそれぞれ5.2g、10.2g、20.1gおよび40.5gであり、雌雄ともに用量にほ

ば依存していた。血液学的検査について、雄では全投与群でいずれの項目においても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。雌では5%投与群でMCVの有意な増加がみられたが、他の項目では有意差は認められなかった。血清生化学的検査について、雄では対照群と比較してALBが1.25%投与群で、TCが0.63%および1.25%投与群で、BUNが2.5%以上の投与群で、Clが1.25%および2.5%投与群でそれぞれ有意な増加を示した。一方、CRNは0.63%以上投与群で対照群と比較して有意な減少を示した。雌ではBUNが1.25%投与群で有意な増加を示したが、他の項目では有意差は認められなかった。臓器重量に関しては、雌雄とも最終体重および各臓器の実重量において対照群と比較して各投与群とも有意差は認められなかった。相対重量において雄では対照群と比較して肝重量が1.25%および2.5%投与群で、雌では脳重量が2.5%投与群で有意な増加を示した。病理組織学的検索の結果、雌雄ともに肝に小肉芽腫および髄外造血、心筋に軽度の炎症性細胞浸潤などが散見されたが、対照群および5%投与群に同程度に観察された。雄のみに観察された変化として、腎に好塩基性尿細管および近位尿細管上皮細胞の軽度の硝子滴沈着が観察されたが、対照群および5%投与群に同程度であった。また、雌では腎髄質に鉍質沈着が散見されたが、両群間に程度の差は認められなかった。雌雄ともにヒメマツタケ抽出物の投与に起因すると思われる病変は認められなかった。

<コーパル樹脂>

試験期間中の動物の一般状態については、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、全ての動物が試験終了時まで生存した。体重推移は、雌雄とも被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。ラット一日当りの平均摂餌量は、雄では各群とも約15g前後、雌では各群とも約9g前後で、雌雄ともに摂餌量の有意な群間差は認められなかった。コーパル樹脂のラット当たり一日平均摂取量(mg/rat/day)は、雄の0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ93、188、382および782、雌ではそれぞれ59、119、246および492であった。

また、コーパル樹脂の体重当たりの一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄の0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ296、596、1272および2596、雌ではそれぞれ371、760、1572および3223であった。コーパル樹脂の90日間の総摂取量は、雄の0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ8.3g、16.9g、34.3gおよび70.3g、雌ではそれぞれ5.3g、10.7g、22.2gおよび44.3gであり、雌雄ともに用量にほぼ依存していた。血液学的検査について、雄では対照群と比較してMCVが2.5%投与群および5%投与群で有意な増加を、MCHCが5%投与群で有意な低下を示したが、他の項目では有意差は認められなかった。雌ではWBCが2.5%投与群で、RBCが1.25%投与群で、Hbが1.25%投与群および2.5%投与群で、Htが1.25%投与群で、MCVが5%投与群で、MCHが1.25%以上の投与群で、MCHCが1.25%投与群および5%投与群で、PLTが5%投与群でいずれも有意な低下を認めた。白血球の型別分類では、2.5%投与群で好酸球および単球の比率が対照群と比較して有意に減少していた。血清生化学的検査について、雄では対照群と比較してTPが2.5%投与群および5%投与群で、Albが2.5%投与群および5%投与群で、A/G比が2.5%投与群で、TCが2.5%投与群および5%投与群で、Naが2.5%投与群で、Caが2.5%投与群それぞれ有意な増加を示した。一方、ALPは5%投与群で対照群と比較して有意な減少を示した。雌では対照群と比較してTPが2.5%投与群および5%投与群で、Albが5%投与群で、A/G比が5%投与群で、TCが2.5%投与群および5%投与群で、Kが2.5%投与群でそれぞれ有意な増加を示した。一方、NaおよびClは2.5%投与群で対照群と比較して有意な減少を示したが、他の項目では有意差は認められなかった。臓器重量に関しては、雄では対照群と比較して肝重量が0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群で有意な増加を示し、脳重量が5%投与群で有意な低下を示した。雌では対照群と比較して最終体重が2.5%投与群および5%投与群で有意な低下を示し、肝重量が1.25%、2.5%および5%投与群で有意な増加を示した。一方、心重量は2.5%および5%投与群で、腎重量は

5%投与群で、卵巣重量は0.625%および2.5%投与群で対照群に比べ有意な低下を示した。相対重量においては雄では肝重量が0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群で、脾重量および精巣重量が5%投与群でいずれも対照群と比較して有意な増加を示した。雌では対照群と比較して肝重量が1.25%、2.5%および5%投与群で有意に増加し、卵巣重量は0.625%投与群および5%投与群で有意な低下を示した。病理組織学的検索では、雌雄ともに肝に軽度の脂肪変性が散見されたが、対照群およびコーパル樹脂投与群に同程度に観察された。その他の臓器では雌雄とも腎尿管上皮細胞に軽度の硝子滴沈着や腎髄質の鉍質沈着が散見されたが、対照群およびコーパル樹脂投与群に同程度であり、雌雄差も認められなかった。雌雄ともにコーパル樹脂投与に起因すると思われる病変は認められなかった。

<ホホバロウ>

試験期間中の動物の一般状態に関しては、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、全ての動物が試験終了時まで生存した。体重推移は、雄では対照群に比較して0.625%投与群および1.25%投与群で体重増加増強傾向が、2.5%投与群および5%投与群で体重増加抑制傾向がみられた。雌では被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。ラット一日当りの平均摂餌量は、雄では各群とも約14g前後、雌では各群とも約9g前後で、雌雄ともに摂餌量の有意な群間差は認められなかった。ホホバロウのラット当たり一日平均摂取量(mg/rat/day)は、雄の0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ93、183、340および657、雌ではそれぞれ59、119、217および414であった。また、ホホバロウの体重当たり一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄の0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ294、581、1176および2351、雌ではそれぞれ361、722、1401および2741であった。ホホバロウの90日間の総摂取量は、雄0.625%、1.25%、2.5%および5%投与群でそれぞれ8.4g、16.4g、30.6gおよび59.1g、雌ではそれぞれ5.3g、10.7g、19.5gおよび37.2gであり、雌雄ともに用量にほぼ依

存していた。

血液学的検査について、雄では対照群と比較してRBCが0.625%投与群、1.25%投与群および2.5%投与群で有意な増加を、Htが0.625%投与群および5%投与群で有意な増加を、MCVが1.25%投与群で有意な低下と5%投与群で有意な増加を、MCHが0.625%投与群、1.25%投与群および2.5%投与群で有意な低下を、MCHCが5%投与群で有意な低下を、PLTが5%投与群で有意な増加を示した。また、白血球の型別分類では、対照群に比較して好中球が0.625%投与群および5%投与群で有意な低下を、リンパ球が5%投与群で有意な増加を、単球が0.625%投与群で有意な増加を認めた。雌ではRBCが2.5%投与群で、Hbが2.5%投与群で、Htが2.5%投与群で、MCVが2.5%投与群および5%投与群で対照群に比較して有意な低下を示し、MCHが1.25%投与群で、MCHCが2.5%投与群で有意な増加を示したが、他の項目に差はなかった。血清生化学的検査について、雄では対照群と比較してTPが0.625%投与群で、ALPが5%投与群で、TCが0.625%投与群、2.5%投与群および5%投与群で、Crが5%投与群で、Naが2.5%投与群でそれぞれ有意な増加を示した。一方、A/Gは0.625%投与群で、BUNは1.25%投与群および2.5%投与群で対照群と比較して有意な減少を示した。雌では対照群と比較してASTが5%投与群で、ALTが5%投与群で、ALPが5%投与群で、BUNが2.5%投与群および5%投与群で、Crが1.25%投与群および2.5%投与群でそれぞれ有意な増加を示した。一方、A/GおよびIPは1.25%投与群で対照群と比較して有意な減少を示し、0.625%投与群のALTは有意な低下を示した。臓器重量に関しては、雄では対照群に比較して最終体重が2.5%投与群及び5%投与群で低値であったが、有意差はなかった。脾重量は0.625%および1.25%投与群で、腎重量は0.625%投与群で有意な増加を示したが、脳重量は0.625%投与群で有意な低下を示した。雌では対照群に比較して最終体重が5%投与群で有意な低下を示し、腎重量が5%投与群で有意な低下を示した。相対重量においては雄では脳重量、肺重量、脾重量、腎重量、精巣重

量が5%投与群でいずれも対照群と比較して有意な増加を示したが、脳重量は0.625%投与群で有意な低下を示した。雌では対照群と比較して脳重量が5%投与群で有意な増加を示した。病理組織学的検索の結果、雌雄ともに肝においては極く軽度の脂肪変性が、腎尿細管上皮細胞に極く軽度の硝子滴沈着や腎髓質の鉍質沈着を散見したが、対照群およびホホバロウ投与群に同程度に観察され、雌雄差もみられなかった。雌雄ともにホホバロウ投与に起因すると思われる病変は認められなかった。

<アルカネット色素>

実験期間を通じて、すべての動物において一般状態（外観・体位・反応性・行動・神経系・呼吸状態・排泄状態など）に著変は見られなかった。また、アルカネット色素混餌投与により体重増加において各群間に統計学的有意差は認められず、摂餌量の増減にはすべての実験各群で一定の傾向はなかった。解剖時に測定した諸臓器の重量には有意な群間差を認めなかった。血液学的検査により、0.56%あるいは5%アルカネット色素投与群雄ラットにおいて白血球減少、5%アルカネット色素投与群雄ラットで貧血、1.67%あるいは5%アルカネット色素投与群雌ラットで血小板増加、アルカネット色素投与群雌ラット全群で白血球分画の変化（好中球増加とリンパ球減少）がみられた。また、血液生化学的検査において、5%アルカネット色素投与群雌ラットでアルブミン増加、0.56%あるいは5%アルカネット色素投与群雌ラット及びアルカネット色素投与雄ラット全群でBUN減少、1.67%あるいは5%アルカネット色素投与群雌ラットでクレアチニン減少、5%アルカネット色素投与群雄ラットでトリクリセリド減少、5%アルカネット色素投与群雌雄ラットでGOT減少、0.56%あるいは5%アルカネット色素投与群雌ラットでGPT減少、アルカネット色素投与雌雄ラット全群でALP減少がみられた。病理組織学的検索の結果、いずれの臓器にもアルカネット色素の投与に起因すると考えられる毒性変化は観察されなかった。

<モンタンロウ>

試験期間中の動物の一般状態については、いずれの群においても特記すべき変化は認められず、全ての動物が試験終了時まで生存した。体重推移は、雌雄とも被験物質投与群と対照群との間に差は認められなかった。ラット一日当りの平均摂餌量は、雄では各群とも約16g前後、雌では各群とも約11g前後で、雌雄ともに摂餌量の有意な群間差は認められなかった。モンタンロウのラット当たり一日平均摂取量(mg/rat/day)は、雄の0.56%、1.67%および5%投与群でそれぞれ86、257、および813、雌ではそれぞれ59、169および560であった。また、体重(kg)当たりの一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄の0.56%、1.67%および5%投与群でそれぞれ401、1159および3837、雌ではそれぞれ414、1200および3868であった。モンタンロウの90日間の総摂取量は、雄の0.56%、1.67%および5%投与群でそれぞれ7.7g、23.1gおよび73.2g、雌ではそれぞれ5.3g、15.2gおよび50.4gであり、雌雄ともに用量にほぼ依存していた。血液学的検査について、雄では対照群と比較して、被験物質投与の全群にRBC、Hb、Ht、MCV及びMCHの有意な減少がみられ、0.56%および1.67%投与群でMCHCに、5%投与群でPLTに有意な減少がみられた。また、全投与群にWBCの有意な増加がみられた。雌では対照群と比較して、全投与群にHb、Ht、MCV、MCH、MCHC及びPLTの有意な減少がみられ、0.56%および1.67%投与群でRBCに有意な減少がみられた。また、全投与群にWBCの有意な増加がみられた。血清生化学的検査について、雄では対照群と比較して、全投与群にTC、PL、BUN、K、AST、ALT、ALPの有意な上昇がみられ、0.56%および1.67%投与群でBILに、1.67%投与群でClに有意な上昇がみられた。一方、全投与群にTGの減少が、1.67%および5%投与群でALB、5%投与群でA/Gに有意な減少がみられた。雌では全投与群にBIL、TC、PL、K、AST、ALT、ALP、 γ -GTPの有意な上昇がみられ、1.67%および5%投与群でBUN、CRNに有意な上昇がみられた。一方、全投与群にA/G、ALB、Naの有意な減少が、5%投与群でClに有意な減少がみられた。臓器重量に関して

は、雄は最終体重が対照群と比較して0.56%投与群で有意な減少を示した。また各臓器の実重量において、対照群と比較して全投与群で肺、脾臓、肝臓が有意な増加を示した。また、対照群と比較して、全投与群で唾液腺、0.56%および1.67%投与群で心臓、0.56%投与群で精巣上体に有意な減少が認められた。相対重量において、対照群と比較して、全投与群で肺、脾臓、肝臓が、0.56%および1.67%投与群で精巣が、0.56%投与群で腎臓が有意な増加を示した。雌の最終体重は対照群と比較して各投与群とも有意差は認められなかったが、各臓器の実重量において、対照群と比較して全投与群で肺、脾臓、肝臓、腎臓、0.56%および5%投与群で卵巣が有意な増加を示した。相対重量において、対照群と比較して、全投与群で肺、脾臓、肝臓が有意な増加を示した。また、対照群と比較して、5%投与群で下垂体および唾液腺、0.56%および1.67%投与群で心臓、0.56%投与群で子宮に有意な減少が認められた。病理組織学的検索の結果、雌雄とも被験物質投与の全群の肝臓に多発性の肉芽腫様炎症像 (granulomatous inflammation) が認められた。肝全体にびまん性に見られる多発性の結節性病変で一部では多核巨細胞を含む線維性細胞の結節性増殖と、それを中心とするリンパ球浸潤が認められた。また、肝小葉内でもリンパ球浸潤が見られ、肝細胞の壊死も確認され、血中のAST, ALTなどの異常高値を反映した組織像を示していた。肺では巣状に白血球浸潤を伴う微小病変がびまん性に見られ、腸間膜リンパ節に granulation が雌雄の被験物質投与の全群に観察された。

<メバロン酸>

試験期間中および休薬期間中の一般状態について、いずれの群にも投与に関連した変化は観察されず、死亡動物も認められなかった。体重推移は、雌雄とも1%群で有意な体重増加抑制(雄で9週、雌で3,4,5および10週時)あるいは抑制傾向が散見されたが、休薬期間は対照群との間に有意な差異は雌雄とも観察されなかった。0.2%群以下の投与群の体重は投与および休薬期間ともに対照群と同様の値で推移した。試験期間中の摂餌量は、投与期間および回復期間ともに雌雄の

いずれの投与群においても対照群との間に有意な差異は観察されなかった。メバロン酸の体重当たりの一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄0.04%、0.2%、1%群で29.50、149.54、709.94 mg/kg、雌の雄0.04%、0.2%、1%群で31.29、155.46、750.47 mg/kgと算出した。メバロン酸の90日間の総摂取量は雄の雄0.04%、0.2%、1%群で0.48、2.5、11.89 g/rat、雌の雄0.04%、0.2%、1%群で0.35、1.75、8.43 g/ratであり、雌雄ともに用量にほぼ依存していた。血液学検査について、投与終了後の1%群において、雄で赤血球数が、雌でヘモグロビンおよびヘマトクリット値が有意に減少し、それぞれ軽度な貧血傾向が観察された。0.2%以下の投与群および全ての群の休薬期間終了後において、対照群との間で有意差は観察されず、貧血傾向も認められなかった。血液化学学検査について、90日間の投与終了後の1%群において、雌雄でALTの上昇、雄でASTの上昇、雌でA/G比の低下、総コレステロールおよび中性脂肪値の有意な増加が認められた。0.2%以下の投与群および全ての群の回復試験群において、対照群との間で有意差は観察されなかった。白血球百分比は、全ての投与群において、対照群との間に有意差は観察されなかった。臓器重量では、90日間の投与終了後の1%群において、雌雄とも肝臓の絶対および相対重量が増加したが、0.2%以下の投与群では同様の変動は観察されず、全ての群の休薬群において、対照群との間で臓器重量の有意な差異は観察されなかった。肉眼的に、1%群の雌雄の肝臓が脂肪肝様を呈した。0.2%以下の群にはこのような変化は認められなかった。病理組織学的検索においても1%群の肝臓で投与に関連した変化が観察された。小葉中心性の肝細胞脂肪化が同群の雌雄全例に観察され、一部では小葉中心部だけでなく全域に微細な肝細胞脂肪化が認められた。程度は雄で中等度を示す個体が多く、雌では軽度であり、雄でより強く認められた。また、同群の雌雄全例に軽度な炎症細胞の集簇巣が肝実質内に散見された。同様の変化は0.2%以下の群では認められなかった。そのほか雄で心筋炎、腎尿細管の好酸性小体あるいは雌の腎臓で石灰沈着が散見された。これらはいずれも

本系統のこの時期の動物に観察される変化であり、程度・頻度ともに投与に関連した変動は認められなかった。休薬期間終了後の検査では、肝臓に肉眼的異常はいずれの群においても観察されず、病理組織学的検査では1%群の肝細胞脂肪化は著しく減少していた。同群の雄では軽度な脂肪化が残るものの、雌では数例に軽微な脂肪化が観察されるのみであった。また、肝細胞に脂肪化が残る個体ではリンパ球集積および小肉芽腫など炎症が慢性化した組織像が散見された。腎臓、脾臓、骨髄など造血器系の臓器には投与に関連した異常は認められなかった。

D. 考察

<ヒメマツタケ抽出物>

F344 ラットを用いてヒメマツタケ抽出物の混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を実施した結果、雌雄とも一般状態に変化は認められず、死亡動物もなかった。また、摂餌量に群間でほとんど差がなく、体重増加抑制も認められなかった。血液学的検査では、雄ではいずれの項目においても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。雌でも5%投与群でMCVの有意な増加がみられたのみで、用量相関性は認められず、正常範囲内の軽度の増加であることから、被験物質の影響ではないものと考えられた。血清生化学的検査においては、雄ではBUNが2.5%以上の投与群で有意な増加を示したが、CRNは0.63%以上投与群で逆に有意な低下を示し、腎重量や腎組織変化との相関はなく、また過去に当部で実施した亜慢性毒性試験の対照群のデータと比較しても変動の範囲内にあり、毒性学的意義は低いものと考えられた。そのほか、雄のALB、TCおよびClなどいくつかの項目で有意差が散見されたが、用量相関性は認められず、変動幅も小さなものであった。一方、雌では1.25%投与群でBUNのみが有意な増加を示したが、高用量群では差がみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。また、他の項目では投与群全てにおいて有意差は認められなかったことから、雌においては被験物質摂取による影響はないものと考えられた。最終体重および各臓器の実重量において雌雄とも有意差は認められなかったが、雄では相対肝

重量が1.25%および2.5%投与群で、雌では相対脳重量が2.5%投与群で有意な増加を示した。しかし、いずれも高用量群では差がみられず、用量相関性は認められなかったことから偶発的な変動と考えられた。病理組織学的検査の結果、観察された変化はいずれもF344ラットに自然発生することが知られており、群間にも程度の差は認められなかったことから毒性学的意義の乏しい病変であると考えられた。

<コーパル樹脂>

実験期間を通じ死亡動物および被験物質投与に起因すると思われる異常な一般所見は認められなかった。実験期間中の体重増加では雌雄とも群間に差がなかった。実験終了時の体重は、雄では2.5%投与群および5%投与群で、雌では0.625%、1.25%投与群、2.5%投与群および5%投与群で減少する傾向を認めたが、雄では群間の差がなく、用量との関連性はみられなかった。一方、雌では2.5%投与群および5%投与群で有意な減少をみ、用量相関がうかがえた。なお、コーパル樹脂投与による摂餌量の減少はみられなかった。血液学的検査では、雄の2.5%投与群および5%投与群でMCVの増加、5%投与群でMCHCの低下がみられたが、いずれも軽度な変化であった。雌では1.25%以上の投与群で貧血傾向を示す変化、0.625%以上の投与群でWBCの減少傾向、2.5%投与群で好酸球と単球の減少がみられたが、用量相関はみられなかった。血清の生化学検査では、雄の5%投与群でALPの減少がみられたがAST、ALT、 γ -GTPに変化はなかった。雌ではこれらの項目に変化はなかった。また、雌雄とも2.5%投与群と5%投与群でTP、Alb、TCの増加が、2.5%投与群でNa、Ca、ClあるいはKの変化がみられた。臓器重量においても雄の0.625%以上の投与群で、雌の1.25%以上の投与群でいずれも肝臓の絶対及び相対重量の増加がみられ、5%投与群で腎の絶対重量の低下を認めたが、肝や腎などにおける有意な形態学的変化は認めなかった。臓器重量では、その他、雄の5%投与群で脳の前重量の減少と脾と精巣の相対重量の増加が認められ、雌では2.5%投与群および5%投与群で心臓の絶対重量の低下が、

0.625%、2.5%投与群で卵巣の絶対重量の低下が、0.625%、5%投与群で卵巣の相対重量の低下がみられたが、病理組織学的にこれらの臓器に異常は認められなかった。他にも病理組織学的にいくつかの変化が散見されたが、雌雄共通して認められた病変や用量依存的なものは認められず、毒性学的異議は乏しいものと考えられた。今回の実験では特に肝臓の臓器重量が増加する所見が認められた。しかし、それらに対応する組織学的変化が伴わないことから適応と考えられるが、その詳細に関しては本実験結果からだけでは不明である。肝臓に対する影響に関しては今後の更なる詳細な検討が必要と考える。本実験条件下でのコーパル樹脂の無影響量(NOEL)と無毒性量(NOEL)は雄では肝重量増加と TP や Alb の上昇から、それぞれ 0.625% (296 mg/kg/day)未満、2.5% (1272 mg/kg/day)未満であり、雌では肝重量増加と A/G の増加から、それぞれ 0.625% (371 mg/kg/day)未満、2.5% (1572 mg/kg/day)未満、5% (3223 mg/kg/day)未満であると考えられた。

<ホホバロウ>

実験期間を通じ死亡動物および披験物質投与に起因すると思われる異常な一般所見は認められなかった。実験期間中の体重増加では雄では 0.625%および 1.25%投与群で増加傾向が 2.5%および 5%投与群で抑制傾向がみられたが、雌では群間に差がなかった。実験終了時の体重は、雌雄とも 2.5%投与群および 5%投与群で、減少する傾向を認め、用量相関がうかがえた。摂餌量は、雄で 2.5%以上の投与群で、雌では 0.625%以上の投与群で減少傾向がみられ、観察された体重減少は摂餌量の減少に起因するものと考えられた。血液学的検査では、雄の 0.625%以上の投与群で WBC の減少傾向や RBC の増加傾向、Ht の増加傾向、MCH の減少傾向、PLT の増加傾向などがみられたが、いずれも軽度な変化であった。雌では 1.25%以上の投与群で RBC、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC に増加傾向や減少傾向がみられたが、用量相関は見られずそれらの毒性学的意義は乏しいと考えられた。血清の生化学検査では、雄の 0.625%投与群で Tp と TC に増加傾向と A/G に減少傾向が、1.25%投与群で BUN の

減少傾向が、2.5%投与群で TC と Na に増加傾向と BUN に減少傾向が、5%投与群で ALP、TC、Cr の増加傾向がみられたが、AST や ALT に変化はなかった。雌では、0.625%投与群で ALT の減少傾向が、1.25%投与群で A/G と IP の減少傾向および Cr の増加傾向が、2.5%投与群で BUN と Cr に増加傾向が、5%投与群で AST、ALT、ALP、BUN の増加傾向がみられた。しかし、雌雄とも肝臓の絶対重量や相対重量に変化はなく、雄では 0.625%投与群に腎の絶対重量の増加、5%投与群で腎の相対重量の増加が、雌では 5%投与群で腎の絶対重量の減少がみられたのみで、用量相関はなかった。また、肝や腎などにおける病理組織学的変化も認めなかった。その他の臓器重量では、雄の 0.625%投与群で脳の前重量および相対重量の低下傾向と脾の前重量の増加が、1.25%投与群で脾の前重量の増加が、5%投与群で脳、肺、脾、腎、精巣の相対重量の増加が認められ、雌では 5%投与群で脳の前重量の増加がみられたが、いずれも軽微な変化であった。病理組織学的にもこれらの臓器に何ら異常は認められなかった。今回の実験では雌雄とも摂餌量の減少によると思われる体重増加抑制傾向が認められた、しかし、組織学的変化が伴わないことから、その詳細に関しては本実験結果からだけでは不明である。本実験条件下でのホホバロウの無影響量(NOEL)と無毒性量(NOEL)は、雄では摂餌量の減少や TC と PLT の上昇とから、それぞれ 0.625% (294 mg/kg/day)未満、5% (2351 mg/kg/day)未満、雌では摂餌量の減少と BUN の上昇から、それぞれ 0.625% (361 mg/kg/day)未満、2.5% (1401 mg/kg/day)未満であると考えられた。

<アウレオバジウム培養液>

ラットを用いてアウレオバジウム培養液の飲料水に混じた投与による 90 日間亜慢性毒性試験を実施した結果、雌雄とも一般状態に変化は認められず、死亡動物もなかった。また、摂餌量に群間でほとんど差がなく、体重の推移も各群間で差異は認めなかった。最終体重、各臓器の実重量および相対重量において雌雄とも対照群と比較して各投与群で有意差は認められなかった。血液学的検査で

は、雄では赤血球数とHbが0.57%投与群で、またMCVは1.67%と5%投与群で、対照群と比較して有意に減少を示す一方、血小板数が1.67%投与群で、有意に増加を示した。また、雌ではMCHCが1.67%投与群で有意に増加を示した。しかし、これらはいずれも用量相関性は認められず、正常範囲内の軽度の変化であるため、被験物質による影響ではないものと考えられた。他の項目では有意差は認められなかった。血清生化学的検査においては、雄では対照群と比較してTgおよびBUNが5%投与群で有意に増加を示した。一方、ASTおよびTCは5%投与群で、CRNおよびNaは1.67%以上の投与群で、ALPは1.67%投与群で、有意に減少を示した。また、雌ではPが0.57%および5%で有意な減少を示した。しかし、これらの変化はいずれも用量相関性は認められず、正常範囲内の軽度の変化であるため、被験物質による影響ではないものと考えられた。他の項目では有意差は認められなかった。病理組織学的検索の結果、観察された変化はいずれもF344ラットに自然発生することが知られており、群間にも程度の差は認められなかったことから毒性学的意義の乏しい病変であると考えられた。これらのことを総合的に判断すると、5%が無毒性量と考えられた。

<マスチック>

ラットを用いて混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を実施した結果、雌雄とも一般状態に変化は認められず、死亡動物もなかった。また、摂餌量に群間でほとんど差がなかったが、体重増加抑制が、雄では2%投与群で、雌では0.67%以上投与群で、対照群と比較し有意差をもって認められた。血液学的検査では、雄では白血球数が2%投与群で、対照群と比較して有意に増加していた。また、血小板数は0.67%、2%投与群で対照群と比較して有意に増加していた。これはある程度用量相関性をもっての変化で、マスチックによる変化と考えてよいと思われた。しかし、雌では明らかな差異は認めなかった。血清生化学的検査においては、雄では対照群と比較してTP、ALBが、0.67%以上の投与群で、TCが2%投与群で、Caが2%投与群で、ALPが2%投与群で、それぞれ有意な増加

を示した。一方、CRNは0.67%以上投与群で、TGは2%投与群で、対照群と比較して有意な減少を示した。これらのデータもある程度、用量相関性がみられることより、マスチックによる変化と考えてよいと思われた。これらから、雄では0.67%以上で毒性変化が見られると判断された。一方、雌ではTPが2%投与群で、TCが0.67%以上の投与群で、BUNが2%投与群で、 γ -GTが2%投与群で、有意な増加を示したが、Pは0.22%以上の投与群で有意な減少を示した。これらはいずれもある程度用量相関性を示し、マスチックによる変化と考えてよいと思われた。しかし、ALPは2%投与群で、有意に増加したが、0.22%および0.67%では逆に減少を示した。これらから、雌では最低用量の0.22%で既に多少の毒性変化が見られると判断された。最終体重では、雄では2%投与群で、雌では0.67%以上投与群で、対照群と比較して有意に減少していた。さらに、臓器重量は肝臓は実重量では、雌雄とも、0.67%以上投与群で有意に増加を示したが、相対重量では雄が0.22%以上の投与群で、雌は0.67%以上投与群で有意に増加を示した。これらのことから、雄では少なくとも0.22%からで、雌では0.67%投与群から毒性変化が見られると判断された。病理組織学的検索の結果、観察された変化はいずれもF344ラットに自然発生することが知られており、群間にも程度の差は認められなかったことから毒性学的意義の乏しい病変であると考えられた。これらのことを総合的に判断すると、雄では、0.22%からマスチックによる毒性変化が見られ、雌では0.67%投与群から毒性変化が見られると判断された。

<アルカネット色素>

90日間連続混餌投与により、外観・体位・反応性・行動・神経系・呼吸状態・排泄状態など一般状態に著変はなかった。アルカネット色素の摂餌量や体重増加にも実験群間で一定の有意な差は見られず、アルカネット色素投与による栄養障害はおこらなかったものと考えられる。血液学的検査において、5%アルカネット色素投与群雄ラットにおいて白血球減少と貧血の傾向を示唆する結果が得られた。これらは骨髄造血に対するアルカ

ネット色素の抑制作用を疑う検査値であるが、骨髓の病理学的検索では cellularity の減少などの特異的な変化は確認されず、また雌での赤血球・白血球値及び骨髓組織には著変はなかった。この点に関しては長期的な観察の必要性はあるものの、骨髓に対する毒性は本試験結果からは否定的と考える。また、1.67%あるいは投与群雌ラットで血小板増加、投与群雌ラット全群で白血球分画の変化（好中球増加とリンパ球減少）がみられたが、それを裏付けするような病理組織学的変化はみられず、毒性を裏付ける有意な変化であるとは結論できなかつた。血液生化学的検査においては、アルブミン増加・BUN 減少・クレアチニン減少・トリクリセリド減少・GOT 減少・GPT 減少・ALP 減少がみられたが、それらの変化のなかには濃度依存的な一定の増減傾向を持つものではないものがあつた。また、上記の血液生化学的検査で変化した項目からは一般に肝や腎などに対する影響が考えられるが、変化の方向性からすると毒性というよりもむしろ beneficial な変動であり、血液生化学的変化からは肝腎に対する毒性を示すとは言えなかつた。病理組織学的検索において、肝や腎をはじめとする諸臓器に毒性を示す所見は見られなかつたことも、上記を裏付けるものと考えられる。病理学的検索においては、心臓・肝臓・脾臓・腎臓・副腎・精巣・脳・胸腺・肺の諸臓器重量に有意差がなかつたこと、またいずれの臓器にも有意な組織学的変化がなかつたことより、本試験での条件下では毒性を疑わせる結果は得られなかつた。

<モンタンロウ>

ラットを用いて 90 日間反復投与毒性試験を実施した結果、最終体重は雄 0.56% 投与群で減少したものの、その他の投与群では雌雄各々の対照群と有意差はなかつたが、雌雄とも被験物質の投与に起因すると思われる毒性病変が認められた。血液学的検索では雌雄とも赤血球系の項目では減少、もしくは減少傾向を示し、逆に白血球数は対照群の値のほぼ 2 倍の高値を示した。血液生化学的検査においては、雌雄とも多くの項目で被験物質投与による変化が認められ、特に AST、ALT などでは対照群より 5 倍前後の高値を示し、

強い肝障害を示す結果となつた。最終体重及び各臓器重量においては 0.56% 投与群の雄でのみ、対照群より有意に減少していたもののその他の群ではすべて群間の差は見られなかつた。多くの臓器、特に肝、脾、肺では雌雄ともすべての被験物質投与群で有意な臓器重量の増加を実重量、相対重量ともに認めた。病理組織学的検索の結果、雌雄とも肝に多発性、びまん性の肉芽腫様炎症像が高度に認められ、肝細胞の壊死を伴い、血中の AST、ALT の上昇を裏づける結果であつた。また、肺ではびまん性にリンパ球浸潤を伴う微小な結節性病変が見られ、肺重量の増加の原因と考えられた。また、腸間膜リンパ節には投与濃度に依存した小肉芽腫の発生が見られた。これら、一連の病変は被験物質の投与に起因した結果と考えられ、0.56% 以上ではモンタンロウは比較的強い毒性を示すと考えられた。

<メバロン酸>

雌雄の F344 ラットに混餌投与し、90 日間反復投与毒性試験および 4 週間の回復性試験を実施した。メバロン酸投与に一般状態の変化など毒性兆候は観察されなかつたが、最高用量群の 1% 群の雌雄において投与期間の後半に有意な体重増加抑制が散見された。摂餌量は投与期間中、対照群を含む全ての群で同様であつたことから、1% 群で観察された体重増加抑制はメバロン酸投与による影響であると考えられた。0.2% 以下の投与群の体重では投与による影響は観察されなかつた。本試験の血液化学的検査および病理学検査結果より、メバロン酸の 90 日間混餌投与は 1% 群で小葉中心性肝細胞脂肪化とそれに関連した変化が認められることが明らかとなつた。同群での肝臓の変化は肉眼的にも脂肪肝様に観察され、雄でより強い変化として認められた。同群の雌で認められた総コレステロール値および中性脂肪の有意な増加は、肝細胞脂肪化に関連した脂肪代謝異常の結果と考えられるが、病理学的変化がより強かつた雄に同様の変化が観察されなかつた原因については不明である。また、1% 群の雌雄で炎症性細胞の集積が肝臓で認められたが、この原因として肝細胞脂肪化が進行し肝細胞質中の脂肪滴が大きくなり肝細

胞を破壊したことによる反応性変化と考えられ、同群の雌雄で観察された軽度な ALT の上昇も、肝細胞の軽度の破壊を示唆する所見であると考えられた。回復期間終了後の検査では、肝細胞脂肪化は雌雄とも明らかに減少しており、雌では異常が全く認められない個体も存在した。また、炎症細胞の出現も減少し、より慢性化する方向を示したことから、メバロン酸投与による肝細胞脂肪化は、4週間の休薬では完全に回復しないものの、投与を中止することにより回復する可能性の高い可逆性の変化であることが明らかとなった。0.2%以下の投与群では投与に関連する異常は認められなかった。血液学的検査では、1%群の雌雄で軽度ながら貧血傾向が認められたが、造血器系臓器に対応する組織学的変化は認められなかった。この軽度な貧血傾向は予備試験においても同用量を投与した動物で観察されたことから、メバロン酸投与に関連した変化であると考えられた。この貧血の原因については不明であるが、造血器系臓器に異常が観察されなかったことから、造血器系への直接障害であるとは考え難く、むしろ肝細胞障害に伴いヘム蛋白の合成異常が報告されていることから、この貧血傾向は同群で観察された肝代謝障害に関連した二次的な変化である可能性が示唆された。休薬後は、貧血を示唆する所見は認められず、貧血傾向は投与中止により回復すると考えられた。0.2%以下の投与群では、上述の変化を始め投与に関連する有意な差異は対照群との間に認められなかった。以上の結果より、メバロン酸の混餌投与による90日間反復投与により、1%群の雌雄で肝細胞脂肪化とそれに伴う炎症性変化が認められ、脂肪化による肝細胞破壊により雌雄で血清中 ALT が上昇した。これらの肝臓の変化は、雄でより強く認められたが、雌では血清中の総コレステロールおよび中性脂肪値の上昇も観察された。これらの変化はいずれも4週間の休薬期間により回復傾向を示した。また、肝代謝障害に関連したと考えられる軽度な貧血傾向が1%群の雌雄で観察されたが、この傾向は休薬により回復した。0.2%以下の投与群ではメバロン酸投与による毒性影響はいずれの項目においても観察されなかった。

E. 結論

苦味料（ヒメマツタケ抽出物）、ガムベース・光沢剤（コーパル樹脂、ホホバロウ、マスチック、モンタンロウ）、増粘安定剤（アウレオバシジウム培養液）、着色料（アルカネット色素）、製造用剤（メバロン酸）を対象として、ラットを用いる90日間反復投与毒性試験を実施した。その結果、無毒性量は、ヒメマツタケ抽出物5%、コーパル樹脂1.25%、ホホバロウ1.25%、アウレオバシジウム培養液5%、マスチック0.22%未満、アルカネット色素5%、ホホバロウ0.56%未満及びメバロン酸0.2%と考えられた。

F. 健康危険情報

重大な危険情報はないが、マスチックとホホバロウは無毒性量を推定するための低用量での追加試験が必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishikawa, A., Furukawa, F., Miyauchi, M., Son, H-Y., Okazaki, K., Koide, A., Mori, Y., Hirose, M.: Enhancement by cigarette smoke exposure of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline-induced rat hepatocarcinogenesis in close association with elevation of hepatic CYP1A2. *Jpn. J. Cancer Res.* 93: 24-31, 2002.
- 2) Furukawa, F., Nishikawa, A., Chihara, T., Shimpo, K., Beppu, H., Kuzuya, H., Lee, I-S., Hirose M.: Chemopreventive effects of *Aloe arborescens* on *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters. *Cancer Lett.* 178: 117-122, 2002.
- 3) Miyauchi, M., Nakamura, H., Furukawa, F., Son, H-Y., Nishikawa, A., Hirose, M.: Promoting effects of combined treatment of antioxidants with sodium nitrite on forestomach carcinogenesis in rats after initiation with *N*-methyl-*N*²-nitro-*N*⁴-nitrosoguanidine. *Cancer Lett.* 178: 19-24, 2002.

- 4) Okazaki, K., Imazawa, T., Nakamura, H., Furukawa, F., Nishikawa, A., Hirose, M.: A repeated 28 days oral dose toxicity study of 17 α -methyltestosterone in rats, based on the 'enhanced OECD test guideline 407' for screening the endocrine-disrupting chemicals. Arch. Toxicol. 75: 635-642, 2002.
- 5) Nakamura, H., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Miyauchi, M., Okazaki, K., Imazawa, T., Uchida, K., Hirose, M.: Enhancing effects of oltipraz on the development of spontaneous hepatic lesions in LEC rats. Toxicol. Pathol. 30: 173-177, 2002.
- 6) Hirose, M., Nishikawa, A., Shibutani, M., Imai, T., Shirai, T. Chemoprevention of heterocyclic amine-induced mammary carcinogenesis in rats. Environ. Mol. Mutagen. 39: 271-278, 2002.
- 7) Kasahara, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Lee, I-S., Imazawa, T., Hirose, M.: A chronic toxicity study of josamycin in F344 rats. Food Chem. Toxicol., 40: 1017-1022, 2002.
- 8) Furukawa, F., Nishikawa, A., Kitahori, Y., Tanakamaru, Z., Son, H-Y., Hirose, M.: Spontaneous development of aberrant crypt foci in F344 rats. J. Exp. Clin. Cancer Res., 21: 197-201, 2002.
- 9) Okazaki, K., Yamagishi, M., Son, H-Y., Imazawa, T., Furukawa, F., Nakamura, H., Nishikawa, A., Masegi, T., Hirose, M.: Simultaneous treatment with benzyl isothiocyanate, a bladder promoter, inhibits rat urinary bladder carcinogenesis by *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. Nutr. Cancer, 42: 211-216, 2002.
- 10) Shibutani, M., Takahashi, N., Kobayashi, T., Uneyama, C., Masutomi, N., Nishikawa, A., Hirose, M.: Molecular profiling of genes up-regulated during promotion by phenobarbital-treatment in a medium-term rat liver bioassay. Carcinogenesis, 23: 1047-1055, 2002.
- 11) Okazaki, K., Okazaki, S., Nakamura, H., Kitamura, Y., Hatayama, K., Wakabayashi, S., Tsuda, T., Katsumata, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: A repeated 28-day oral dose toxicity study of genistein in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening endocrine-disrupting chemicals. Arch Toxicol., 76: 553-559, 2002.
- 12) Yamagishi, M., Natsume, M., Osakabe, N., Nakamura, H., Furukawa, F., Imazawa, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: Effects of cacao liquor proanthocyanidins on PhIP-induced mutagenesis *in vitro*, and *in vivo* mammary and pancreatic tumorigenesis in female Sprague-Dawley rats. Cancer Lett., 185: 123-130, 2002.
- 13) Umemura, T., Kodama, Y., Hioki, K., Nomura, T., Nishikawa, A., Hirose, M., Kurokawa, Y.: The mouse rasH2/BHT model as an *in vivo* rapid assay for lung carcinogens. Jpn. J. Cancer Res., 93: 861-866, 2002.
- 14) Mori, Y., Koide, A., Kobayashi, Y., Furukawa, F., Hirose, M., Nishikawa, A.: Effects of cigarette smoke and a heterocyclic amine, MeIQx on cytochrome P-450, mutagenic activation of various carcinogens and glucuronidation in rat liver. Mutagenesis, 18: 87-93, 2003.
- 15) Son, H-Y., Nishikawa, A., Okazaki, K., Kanki, K., Yamagishi, M., Imazawa, T., Umemura, T., Hirose, M.: Prolonged effects of β -estradiol 3-benzoate on thyroid tumorigenesis in gonadectomized rats pretreated with *N*-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine. Cancer Lett., 190: 21-29, 2003.
- 16) Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I-S., Kanki, K., Umemura, T., Okazaki, K., Kawamori, T., Wakabayashi, K., Hirose, M.: A COX-2 inhibitor, nimesulide, inhibits post-initiation

- phase of *N*-nitrosobis(2-oxopropyl) amine-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters. *Int. J. Cancer*, 104: 269-273, 2003.
- 17) Umemura, T., Kodama, Y., Kanki, K., Iatropoulos, M., Nishikawa, A., Hirose, M., Williams, G.M.: Pentachlorophenol (but not phenobarbital) promotes intrahepatic biliary cysts induced by diethylnitrosamine to cholangio cystic neoplasms in B6C3F1 mice possibly due to oxidative stress. *Toxicol. Pathol.*, 31: 10-13, 2003.
 - 18) Yamagishi, M., Natsume, M., Osakabe, N., Okazaki, K., Furukawa, F., Imazawa, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: Chemoprevention of lung carcinogenesis by cacao liquor proanthocyanidins in a male rat multi-organ carcinogenesis model. *Cancer Lett.*, 191:49-57, 2003.
 - 19) Nishikawa, A., Morse, M.A., Chung, F.-L.: Inhibitory effects of 2-mercaptoethane sulfonate and 6-phenylhexyl isothiocyanate on urinary bladder tumorigenesis in rats induced by *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Cancer Lett.*, 193: 11-16, 2003.
 - 20) Narama, I., Imaida, K., Iwata, H., Nakae, D., Nishikawa, A., Harada, T.: A review of nomenclature and diagnostic criteria for proliferative lesions in the liver of rats by a working group of the Japanese Society of Toxicologic Pathology. *J. Toxicol. Pathol.*, 16: 1-17, 2003.
 - 21) Son, H-Y., Nishikawa, A., Kanki, K., Okazaki, K., Kitamura, Y., Lee, K-Y., Umemura, T., Hirose, M.: Synergistic interaction between excess caffeine and deficient iodine on the promotion of thyroid carcinogenesis in rats pretreated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Science*, 94: 334-337, 2003.
 - 22) Umemura, T., Kai, S., Hasegawa, R., Kanki, K., Kitamura, Y., Nishikawa, A., Hirose, M.: Prevention of dual promoting effects of pentachlorophenol, an environmental pollutant, on diethylnitrosamine-induced hepato- and cholangiocarcinogenesis in mice by green tea infusion. *Carcinogenesis*, 24: 1105-1109, 2003.
 - 23) Kanki, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kitamura, Y., Imazawa, T., Umemura, T., Hirose, M.: A 13-week subchronic toxicity study of paprika color in F344 rats. *Food Chem. Toxic.*, 41: 1337-1343, 2003.
 - 24) Vinh, P.Q., Sugie, S., Tanaka, T., Hara, A., Yamada, Y., Katayama, M., Deguchi, T. and Mori, H. Chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin on *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 42-49, 2002.
 - 25) Sasaki, K., Hatta, S., Wada, K., Ueda, N., Yoshimura, T., Endo, T., Sakata, M., Tanaka, T. and Haga, M. Effects of extract of *Ginkgo biloba* leaves and its constituents on carcinogen-metabolizing enzyme activities and glutathione levels in mouse liver. *Life Sci.*, 70: 1657-1667, 2002.
 - 26) Yanaida, Y., Kohno, H., Yoshida, K., Hirose, Y., Yamada, Y., Mori, H. and Tanaka, T. Dietary silymarin suppresses 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinogenesis in male F344 rats. *Carcinogenesis*, 23: 787-794, 2002.
 - 27) Kohno, H., Suzuki, R., Noguchi, R., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T. Dietary conjugated linolenic acid inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 133-142, 2002.
 - 28) Kohno, H., Maeda, M., Tanino, M., Tsukio, Y., Ueda, N., Wada, K., Sugie, S., Mori, H. and Tanaka, T. A bitter diterpenoid furanolactone columbin from *Calumbae Radix* inhibits azoxymethane-induced rat colon

- carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 183: 131-139, 2002.
- 29) Kohno, H., Tsukio, Y., Yanaida, Y., Tanino, M. and Tanaka, T. Lack of modifying effects of 4-n-octylphenol on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced prostate carcinogenesis in rats. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 51: 210-215, 2002.
 - 30) Tanaka, T., Kohno, H., Tanino, M. and Yanaida, Y. Inhibitory effects of estrogenic compounds, 4-nonylphenol and genistein, on 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene-induced ovarian carcinogenesis in rats. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 52: 38-45, 2002.
 - 31) Suzui, M., Okuno, M., Tanaka, T., Nakagama, H. and Moriwaki, H. Enhanced colon carcinogenesis induced by azoxymethane in min mice occurs via a mechanism independent of β -catenin mutation. *Cancer Lett.*, 183: 31-41, 2002.
 - 32) Tanaka, T., Kohno, H., Yamada, Y., Hirose, Y., Sugie, S. and Mori, H. Modifying effects of dietary capsaicin and rotenone on 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 23: 1361-1367, 2002.
 - 33) Kohno, H., Tanaka, T., Kawabata, K., Hirose, Y., Sugie, S., Tsuda, H. and Mori, H. Silymarin, a naturally occurring polyphenolic antioxidant flavonoid, inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Int. J. Cancer*, 101: 461-468, 2002.
 - 34) Yamada, Y., Hata, K., Hirose, Y., Hara, A., Sugie, S., Kuno, T., Yoshimi, N., Tanaka, T. and Mori, H. Microadenomatous lesions involving loss of *Apc* heterozygosity in the colon of adult *Apc^{Min/+}* mice. *Cancer Res.*, 62: 6367-6370, 2002.
 - 35) Kohno, H., Yamaguchi, K., Taima, M. and Tanaka, T. Prevention of colonic aberrant crypt foci by dietary feeding of chalcone and 2-hydroxychalcone in male F344 rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 15: 137-143, 2002.
 - 36) Yoshida, K., Tanaka, T., Kohno, H., Yanaida, Y., Yamada, Y., Hirose, Y., Sugie, S., Kawamori, T., Wakabayashi, K. and Mori, H. A COX-2 inhibitor, nimesulide, inhibits chemically-induced rat tongue carcinogenesis through suppression of cell proliferation activity and COX-2 and iNOS expression. *Histol. Histopathol.*, 18: 39-48, 2003.
 - 37) Tanaka, T., Kohno, H., Nomura, E., Taniguchi, H., Tsuno, T. and Tsuda, H. A novel geranylated derivative, ethyl 3(4'-geranyloxy-3'-methoxyphenyl)-2-propenoate, synthesized from ferulic acid suppresses carcinogenesis and inducible nitric oxide synthase in rat tongue. *Oncology*, 64: 166-175, 2003.
 - 38) Kohno, H., Sugie, S., Vinh, P.Q., Mori, H., Tanaka, T.: Cancer chemoprevention by silymarin. *Res. Adv. Cancer*, 3: 55-66, 2003.
 - 39) Yoshida, K., Hirose, Y., Tanaka, T., Yamada, Y., Kuno, T., Kohno, H., Katayama, M., Qiao, Z., Sakata, K., Sugie, S., Shibata, T., Mori, H.: Inhibitory effects of troglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand, in rat tongue carcinogenesis initiated with 4-nitroquinoline 1-oxide. *Cancer Sci.*, 94: 365-371, 2003.
 - 40) Cohen, S. M., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Lower Urinary Tract. In: *Handbook of Toxicologic Pathology. Second Edition.* (eds.) Haschek, W. M., Rousseaux, C. G., Wallig, M. A., Academic press, Vol. 2, pp. 337-362, 2002.
 - 41) Seike N., Wanibuchi, H., Morimura, K., Nishikawa, T., Kishida, H., Nakae, D., Hirata, K. and Fukushima, S.: Lack of promoting effect due to oral administration of dimethylarsinic acid on rat lung carcinogenesis initiated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Lett.*, 175, 113-119, 2002.
 - 42) Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Imaoka,

- S., Ogawa, M., Masuda, C., Morimura, K., Funae, Y. and Fukushima, S.: Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell-cycle arrest in the rat liver via generation of oxidative stress by Phenobarbital: association with expression profiles of p21^{WAF1/Cip1}, cyclin D1 and Ogg1. *Carcinogenesis*, 23, 341-349, 2002.
- 43) Iwai, S., Karim, R., Kitano, M., Sukata, T., Wei, M., Morimura, K., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Role of oxidative DNA damage caused by carbon tetrachloride-induced liver injury – enhancement of MeIQx-induced glutathione S-transferase placental form-positive foci in rats. *Cancer Lett.*, 179, 15-24, 2002.
- 44) Kakuni, M., Morimura, K., Wanibuchi, H., Ogawa, M., Min, W., Hayashi, S. and Fukushima, S.: Food restriction inhibits the growth of intestinal polyps in multiple intestinal neoplasia mouse. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93, 236-241, 2002.
- 45) Sukata, T., Uwagawa, S., Ozaki, K., Ogawa, M., Nishikawa, T., Iwai, S., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Imaoka, S., Funae, Y., Okuno, Y. and Fukushima, S.: Detailed low-dose study of 1,1-bis(*p*-chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethane carcinogenesis suggests the possibility of a hormetic effect. *Int. J. Cancer*, 99, 112-118, 2002.
- 46) Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Ogawa, M., Kinoshita, A., Morimura, K., Hiroi, T., Funae, Y., Kishida, H., Nakae, D. and Fukushima, S.: Promoting effects of monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide on induction of rat liver preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive foci: a possible reactive species mechanism. *Int. J. cancer*, 100, 136-139, 2002.
- 47) Karim, R., Iwai, S., Morimura, K., Wanibuchi, H., Tanaka, R., Matsunaga, S., Yoshitake, A. and Fukushima, S.: Lack of modification of rat hepatocarcinogenesis by fernane-type triterpenoids, isolated from a euphorbia genus. *Teratoge. Carcinoge. Mutage.*, 22, 293-299, 2002.
- 48) Wei, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Iwai, S., Yoshida, K., Endo, G., Nakae, D. and Fukushima, S.: Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in induced urinary bladder tumors. *Carcinogenesis*, 23, 1387-1397, 2002.
- 49) Kaneko, M., Morimura, K., Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Osugi, H., Kinoshita, H., Koide, A., Mori, Y. and Fukushima, S.: Weak enhancing effects of simultaneous ethanol administration on chemically induced rat esophageal tumorigenesis. *Oncology Reports*, 9, 1069-1073, 2002.
- 50) Salim, E. I., Wanibuchi, H., Morimura, K., Murai, T., Makino, S., Nomura, T. and Fukushima, S.: Induction of tumors in the colon and liver of the immunodeficient (SCID) mouse by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)- modulation by long-chain fatty acids. *Carcinogenesis*, 23, 1519-1529, 2002.
- 51) Kaneko, M., Morimura, K., Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Takada, N., Osugi, H., Kinoshita, H. and Fukushima, S.: Different genetic alterations in rat forestomach tumors induced by genotoxic and non-genotoxic carcinogens. *Carcinogenesis*, 23, 1729-1735, 2002.
- 52) Wanibuchi, H., Ichihara, T., Morimura, K. and Fukushima, S.: Chemopreventive effects of ginseng on rat carcinogenesis. In: *Advances in Ginseng Research 2002- Proceedings of the 8th International Symposium on Ginseng* (ed.) Han, Y.N., The Korean Society of Ginseng, pp.277-287, 2002.

- 53) Ichihara, T., Wanibuchi, H., Iwai, S., Kaneko, M., Tamano, S., Nishino, H. and Fukushima, S.: White, but not red, ginseng inhibits progression of intestinal carcinogenesis in rats. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 3, 243-250, 2002.
- 54) Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nakae, D., Konishi, Y., Tsuda, H., Uehara, N., Imaida, K., Shirai, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T., Hirose, M., Furukawa, F., Wakabayashi, K. and Totsuka, Y.: Lack of a dose-response relationship for carcinogenicity in the rat liver with low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline or N-nitrosodiethylamine. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93, 1076-1082, 2002.
- 55) Wanibuchi, H., Morimura, K., Min, W., Ichihara, T., Yano, Y., Otani, S. and Fukushima, S.: Lack of Inhibitory effects of an anti-angiogenesis drug, TNP-470, on rat urinary bladder papillomatosis induced by mechanical stimulation. *J. Toxicol. Pathol.*, 15, 197-201, 2002.
- 56) Salim, E. I., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Mitsuhashi, M., Yoshida, K., Endo, G. and Fukushima, S.: Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in p53 heterozygous knockout and wild-type C57BL/6J mice. *Carcinogenesis*, 24, 335-342, 2003.
- 57) Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nakae, D., Konishi, Y., Tsuda, H., Takasuka, N., Imaida, K., Shirai, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T., Hirose, M. and Furukawa, F.: Lack of initiation activity in rat liver of low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline. *Cancer Lett.*, 191, 35-40, 2003.
- 58) Tsuda, H., Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Nakae, D., Imaida, K., Tatematsu, M., Hirose, M., Wakabayashi, K. and Moore, M.A.: Value of GST-P positive preneoplastic hepatic foci in dose-response studies of hepatocarcinogenesis: Evidence for practical thresholds with both genotoxic and nongenotoxic carcinogens. A review of recent work. *Toxicol. Pathol.*, 31, 80-86, 2003.
- 59) Mitsuhashi, M., Wanibuchi, H., Wei, M., Doi, K., Morimura, K., Masuca, C., Wada, S., Nakatani, T., Kakizoe, T. and Fukushima, S.: Lack of inhibition of BBN-induced bladder carcinogenesis in C57BL/6 mice by intravesical instillation of KRN 7000. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 19-23, 2003.
- 60) Seike, N., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nishikawa, T., Hirata, K., Yoshikawa, J. and Fukushima, S.: Enhancement of lung carcinogenesis by nonylphenol and genistein in a F344 rat multiorgan carcinogenesis model. *Cancer Lett.*, 192, 25-36, 2003.
- 61) Karim, R., Wanibuchi, H., Wei, M., Morimura, K., Salim, E.I. and Fukushima, S.: Enhancing risk of ethanol on MeIQx induces rat hepatocarcinogenesis is accompanied with increased levels of cellular proliferation and oxidative stress. *Cancer Lett.*, 192, 37-47, 2003.
- 62) Mitsuhashi, M., Wanibuchi, H., Wei, M., Doi, K., Morimura, K., Masuda, C., Wada, S., Nakatani, T., Kakizoe, T. and Fukushima, S.: No inhibition of urinary bladder carcinogenesis in rats with interavesical instillation of α -galactocylceramide. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 4, 45-50, 2003.
- 63) Romanenko, A., Morimura, K., Wanibuchi, H., Wei, M., Zaparin, W., Vinnichenko, W., Kinoshita, A., Vozianov, A. and Fukushima, S.: Urinary bladder lesions induced by persistent chronic low-dose ionizing radiation. *Cancer Sci.*, 94, 328-333, 2003.
- 64) Ogawa, M., Wanibuchi, H., Nishikawa, M., Yano, Y., Otani, S., Totsuka, Y., Wakabayashi, K., Nakae, D. and Fukushima, S.: Post-initiation inhibition of MeIQx

- hepatocarcinogenesis in rats by cysteine. *Osaka City Med. J.*, 49, 21-30, 2003.
- 65) Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Shen, J., Imaoka, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Phenobarbital at low dose exerts hormesis in rat hepatocarcinogenesis by reducing oxidative DNA damage, altering cell proliferation, apoptosis and gene expression. *Carcinogenesis*, 24, 1389-1399, 2003.
- 66) Murai, T., Koide, A., Miyauchi, H., Inoue, S., Maruyama, T., Makino, S., Mori, S., Wanibuchi, H., Mori, Y. and Fukushima, S.: Promoting effect of sodium L-ascorbate on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced renal pelvic carcinogenesis in SD/cShi rats of both sexes. *J. Toxicol. Pathol.*, 16, 2003.
- 67) Kuno T, Yamada Y, Hirose Y., Katayama M, Sakata K, Hara A, Saji S, Mori H. Induction of apoptosis by sulindac in azoxymethane-induced possible colonic premalignant lesions in rats. *Jpn. J. Cancer Res.* 93: 242-246, 2002.
- 68) Zheng Q, Hirose Y., Yoshimi N, Murakami A, Koshimizu K, Ohigashi H, Sakata K, Matsumoto Y, Sayama Y, Mori H. Further investigation of the modifying effect of various chemopreventive agents on apoptosis and cell proliferation in human colon cancer cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128: 539-546, 2002.
- 69) Yamada Y, Oyama T, Hirose Y., Hara A, Sugie S, Yoshida K, Yoshimi N, Mori H. beta-Catenin mutation is selected during malignant transformation in colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 24: 91-97, 2003.
- 70) Hirose Y., Kuno T, Yamada Y, Sakata K, Katayama M, Yoshida K, Qiao Z, Hata K, Yoshimi N, Mori H. Azoxymethane-induced beta-catenin-accumulated crypts in colonic mucosa of rodents as an intermediate biomarker for colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 24: 107-111, 2003.
- 71) Mori H, Yamada Y, Hirose Y., Kuno T, Katayama M, Sakata K, Yoshida K, Sugie S, Hara A, Yoshimi N. Chemoprevention of large bowel carcinogenesis: the role of control of cell proliferation and significance of beta-catenin-accumulated crypts as a new biomarker. *Eur. J. Cancer Prev.* 11: S71-S75, 2002.
- 72) Katayama M, Hara A, Hirose Y., Yamada Y, Kuno T, Sakata K, Morioka T, Inamine, M, Shibuya C, Mori H, Yoshimi N. Carcinoid tumor in the female urethral orifice: rare case report and a review of the literature. *Pathol. Int.* 53: 102-105, 2003.
- 73) Kuno T, Hirose Y., Yamada Y, Yoshida K, Qiao Z, Katayama M, Sakata K, Hara A, Sugie S, Mori H. Promoting effects of high-fat corn oil and high-fat mixed lipids diets on 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene-induced mammary tumorigenesis in F344 rats. *Oncol. Rep.* 10: 699-703, 2003.
- 74) Matsunaga K, Katayama M, Sakata K, Kuno T, Yoshida K, Yamada Y, Hirose Y., Yoshimi N, Mori H. Inhibitory effects of chlorogenic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 3: 163-166, 2002.
- 75) T. Shirai, M. Asamoto, S. Takahashi, K. Imaida. Diet and prostate cancer. *Toxicology*, 181-182:89-94, 2002.
- 76) T. Shirai, K. Kato, M. Futakuchi, S. Takahashi, S. Suzuki, K. Imaida. M. Asamoto. Organ differences in the enhancing potential of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine on carcinogenicity in the prostate, colon and pancreas. *Mutat Res*, 506-507: 129-136, 2002.
- 77) F. Wu, J. Li, H. Miki, M. Nishioka, J. Fujita, M. Ohmori, K. Imaida. S. Kuriyama. p107 Expression in