

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）  
協力研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

既存添加物「スフィンゴ脂質」がウシ由来スフィンゴ脂質でないことを確認する試験法の提案

協力研究者 榑 泰典 帯広畜産大学畜産科学科 教授

研究要旨

BSE 病原体が食品中に混入する危険を避けるために、現在、ウシ脳を食品、医薬品、化粧品等の原料に使用することが禁止されている。そこで、現在使用が禁止されているウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質を判別する確認試験法について文献的検討を行った。

A. 研究目的

現在食品添加物の乳化剤として用いられている「スフィンゴ脂質」としては、ウシ科ウシ (*Bos taurus* LINNE) の脳、イネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種子又は小麦 (*Triticum aestivum* LINNE) の胚芽から得られた米ぬかより、室温時 温時エタノール、含水エタノール、イソプロピルアルコール、アセトン、ヘキサン又は酢酸エチルで抽出したものより得られたものが利用されている。ここ数年におきた狂牛病騒動によりウシ脳由来のスフィンゴシン脂質が禁止されたことによりそこで食品添加物中の「スフィンゴ脂質」がウシ由来でないことを確認する試験法を提案する。

B. 文献調査結果

スフィンゴ脂質の提唱された生合成経路を鑑みると、動物と植物によって大きく異なる点がいくつか存在する。<sup>1)</sup>

1) スフィンゴシン塩基の分析

スフィンゴシン塩基においてスフィンガニンから動物ではジヒドロキシセラミドを合成するのに対し、植物ではフィトスフィンゴシンが合成されたのちフィトセラミドへと変換されることである<sup>2)</sup>

スフィンゴシン塩基の分析 植物由来の化合物群には phytosphingosine ((2*S*,3*S*,4*R*)-2-Amino-1,3,4-octadecanetriol) 中に二重結合（特に 8 位に相当する部分）が存在するものが確認されてい

る。<sup>3)</sup> そこでサンプルを質量分析を行い、二重結合の数をチェックすることにより、区別が可能になると考えられる。しかしながらこの分析法では植物由来であることを証明できるが、ウシ由来のものが混合している場合判別するのが難しいと考えられる。

2) セレブロシドの分析

セレブロシドにおいては、ウシ脳がガラクトシルセラミドを基本<sup>4)</sup> とし、グルコシルセラミドも共存すること<sup>5)</sup> が知られている。またウシ脳ガラクト ス水酸基がアセチル化されているものが 1.1%ほど存在することが知られている。<sup>6, 7)</sup>

セレブロシドの分析 構成するセレブロシドは構成糖ならびにセラミド部分も異なるものを分析しなくてはならないことから、サンプルの質量分析を行い検出時間と分子量の測定から由来を特定できると考える。近年の質量分析法の改良により、electrospray ionization mass spectrometry and low energy collision-induced dissociation tandem mass spectrometry (ESI-MS/CID-MS) によるセレブロシド種の分析が可能となっている<sup>8, 9)</sup>

より簡便な方法としては、抗ガラクトセレブロシド抗体が入手可能であることから ELISA 法などにより、スクリーニングすることも可能であると考えられる<sup>10)</sup>

前述のようにアセチル化されたガラクトセレブ

ロシド (特にガラクトース 6 位) がウシ脳に存在することが知られているので、上述の質量分析による分析もしくは O-アシル化化合物がアルカリ条件に対し不安定であることを利用し、TLC において 1 次元展開後、アルカリ処理を行うことで脱アシル化し、2 次元目を展開することで、対角線以外にあるものを検出し O-アシル化ガラクトセレブロシドの存在を確認することが可能と考えられる。<sup>11)</sup>

### 3) スフィンゴ糖脂質の分析

セレブロシド糖鎖においては動物類がガングリオシドなどの多糖からなっているものを含むのに対し、植物類では多糖からなるものの報告は余りない。

スフィンゴ糖脂質の分析 これらの分子種を一度に解析できるとすると、クロマトグラフィーと質量分析の組み合わせが、最もその必要条件を満たす。ここでは、「スフィンゴシン脂質」を構成するセラミドおよび構成糖鎖の分析に着目してそれぞれの可能性について述べる

#### 1) セラミド

セラミドは長鎖塩基と脂肪酸が N-アシル結合により結合している化合物群である。現在まで長鎖塩基の分析から、植物由来の化合物群には *phytosphingosine* ((2*S*,3*S*,4*R*)-2-Amino-1,3,4-octadecanetriol) 中に二重結合 (特に 8 位に相当する部分) が存在するものが確認されている。そこでスフィンゴシン脂質を MS 分析を行い、二重結合の数をチェックすることにより区別が可能になると考えられるが、その際にも、前述した *electrospray ionization mass spectrometry and low energy collision-induced dissociation tandem mass spectrometry (ESI-MS/CID-MS)* が有用と考える。その他に標品を用いた HPLC に分離、定量<sup>12)</sup> や GC-MS による分析、定量<sup>13)</sup> なども利用可能である。しかしながら、米ぬか中にウシ脳由来の物を混在させた場合区別が難しくなることは否めない。

#### 2) 糖鎖

ウシ由来スフィンゴシン脂質中のガングリオシドには構成糖であるシアル酸の 7、8、9 位がアセチル化されているものが知られている。そこでこの特徴を利用してアセチル化シアル酸の有無によりスフィンゴシン脂質の由来を確認することも可能となる。アセチル基の転移が比較のおこりやすい<sup>14)</sup> ので O-アセチル位置によらず検出できる

手段が必要となる。ここでも質量分析が適用可能となるが、その他の手法として現在 O-アセチル化シアル酸含有スフィンゴシン脂質に対する抗体が、何種類か知られており市販されているものも存在する。これらの抗体を利用し O-アセチル化シアル酸含有糖脂質の存在を検出することで、ウシ由来であることを確認できると考えられる。<sup>15 21)</sup>

他の方法として、アシル化ガラクトセレブロシドの際と同様に、O-アセチル化化合物がアルカリ条件に対し不安定であることを利用し、2 次元 TLC により、対角線以外にあるものを検出し O-アセチル化シアル酸含有糖脂質の存在を確認することが可能となる。

### 参考文献

- 1) Dickson RC, *Annu Rev Biochem* 1998;67:27-48, Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*: comparison to mammals.
- 2) Karlsson KA, *Chem Phys Lipids* 1970;5(1):6-43, On the chemistry and occurrence of sphingolipid long-chain bases.
- 3) Lester RL, Dickson RC, Sphingolipids with inositolphosphate-containing head groups., *Adv Lipid Res* 1993;26:253-74)
- 4) Tamai, Y., Taketomi, T., and Yamakawa, T., New glycolipids in bovine brain, *Jpn. J. Exp. Med.*, 37, 79-81 (1967)
- 5) Nishimura K., Yamakawa, T., *Lipids*, 3, 262 (1968))
- 6) Tamai, T., Further study on the faster running glycolipid in brain, *Jpn. J. Exp. Med.*, 38, 65-73 (1968)
- 7) Yasugi E, Kasama T, Kojima H, Yamakawa T, *J Biochem (Tokyo)* 1983;93(6):1595-9, Occurrence of 2-O-acyl galactosyl ceramide in human and bovine brains. 8) Levery SB, Toledo MS, Doong RL, Straus AH, Takahashi HK. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2000;14(7):551-63, Comparative analysis of ceramide structural modification found in fungal cerebrosides by electrospray tandem mass spectrometry with low energy collision-induced dissociation of Li<sup>+</sup> adduct ions.,
- 9) Liebisch G, Drobnik W, Reil M, Trumbach B, Arnecke R, Olgemoller B, Roscher A, Schmitz G, *J Lipid Res* 1999;40(8):1539-46 Quantitative measurement of different ceramide species from crude cellular extracts by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS).

- 10) Benjamins JA, Callahan RE, Montgomery IN, Studzinski DM, Dyer CA, J Neuroimmunol 1987;14(3):325-38, Production and characterization of high titer antibodies to galactocerebroside.)
- 11) Sonnino S, Ghidoni R, Chigorno V, Masserini M, Tettamanti G, Anal Biochem 1983 Jan;128(1):104-14, Recognition by two-dimensional thin-layer chromatography and densitometric quantification of alkali-labile gangliosides from the brain of different animals.
- 12) Yano M, Kishida E, Muneyuki Y, Masuzawa Y, J Lipid Res 1998;39(10):2091-8, Quantitative analysis of ceramide molecular species by high performance liquid chromatography.)
- 13) Raith K, Darius J, Neubert RH, J Chromatogr A 2000;876(1-2):229-33, Ceramide analysis utilizing gas chromatography-mass spectrometry.)
- 14) Kamerling JP, Schauer R, Shukla AK, Stoll S, Van Halbeek H, Vliegthart JF, Eur J Biochem 1987;162(3):601-7, Migration of O-acetyl groups in N,O-acetylneuraminic acids.)
- 15) Levine JM, Beasley L, Stallcup WB, J Neurosci 1984;4(3):820-31, The D1.1 antigen: a cell surface marker for germinal cells of the central nervous system.
- 16) Chou DK, Flores S, Jungalwala FB, J Neurochem 1990;54(5):1598-607, Identification of disialosyl paragloboside and O-acetyldisialosyl paragloboside in cerebellum and embryonic cerebrum.
- 17) Reinhardt-Maelicke S, Cleaves V, Kindler-Rohrborn A, Rajewsky MF, Brain Res Dev Brain Res 1990;51(2):279-82, Differential recognition of a set of O-acetylated gangliosides by monoclonal antibodies RB13-2, D1.1, and JONES during rat brain development.
- 18) Nayak RC, Berman AB, George KL, Eisenbarth GS, King GL, J Exp Med 1988;167(3):1003-15, A monoclonal antibody (3G5)-defined ganglioside antigen is expressed on the cell surface of microvascular pericytes.
- 19) Cheresch DA, Varki AP, Varki NM, Stallcup WB, Levine J, Reisfeld RA, J Biol Chem 1984;259(12):7453-9, A monoclonal antibody recognizes an O-acetylated sialic acid in a human melanoma-associated ganglioside.
- 20) Cheresch DA, Reisfeld RA, Varki AP, Science 1984;225(4664):844-6, O-acetylation of disialoganglioside GD3 by human melanoma cells creates a unique antigenic determinant.
- 21) Thurin J, Herlyn M, Hindsgaul O, Stromberg N, Karlsson KA, Elder D, Stepkowski Z, Koprowski H, J Biol Chem 1985;260(27):14556-63, Proton NMR and fast-atom bombardment mass spectrometry analysis of the melanoma-associated ganglioside 9-O-acetyl-GD3.

(参考)

U.S. Food Drug Administration, Center for Food Safety Applied Nutrition, Food Compliance Program によると、ウシ組織由来の伝染性のある成分として以下の物があげられていることから、これらに対する検定法を適用することも一つの手段となりうる。

(BOVINE TISSUE AND TISSUE-DERIVED MATERIALS WITH SUSPECTED RISK OF INFECTIVITY)

Adrenal gland\*\*  
 Basal ganglia/basal ganglion  
 Bone marrow\*\*  
 Brain\*\*  
 Brain extract\*\*  
 Ceramide B-lactoside  
 Ceramide dihexoside  
 Cerebellum  
 Cerebroside (sulfate)  
 Cerebrospinal fluid\*\*  
 Cranial nerves\*\*  
 Collagen (soluble)  
 Colon (proximal and distal)\*\*  
 Digalactosylceramide  
 Diglycosylceramides (cytosides)  
 Disialoganglioside  
 Dura mater\*\*  
 Elastin (source: oxen neck ligaments)  
 Eye\*\*  
 Galactocerebroside  
 Galactosylcerebroside (sulfate ester)  
 Ganglioside  
 Glucosylcerebroside  
 Glycerophospholipid  
 Glycosaminoglycan  
 Glycosphingolipid  
 Glycosylceramide  
 Hypothalamus\*\*  
 Ileum\*\*

Intercellular Lipids (ICL's)  
 Lactocerebroside  
 Lactosylceramide  
 Liposomes  
 Liver (including liver powder)  
 Lung  
 Lymph nodes\*\*  
 Mammary tissues  
 Monoglycosylceramide (cerebroside)  
 Monosialoganglioside  
 N-Nervonoyl cerebroside  
 N-Oleoyl cerebroside  
 N-Palmitoyl cerebroside  
 Nasal mucosa\*\*  
 Olfactory bulb or gland\*\*  
 "Orchic" extracts  
 Ovaries  
 Pancreas (including pancreatin)  
 Phospholipids  
 Pineal gland\*\*  
 Pituitary gland\*\*  
 Placenta\*\*  
 Rowamyelin  
 Sciatic nerve  
 Sphingosine phosphatide  
 Sphinogomyelin  
 Sphingolipid  
 Spinal cord\*\*  
 Spleen\*\*  
 Suprarenal gland\*\*  
 Tetraglycosylceramide  
 Thyroid  
 Thymus gland (sweet-bread)  
 Tonsil\*\*  
 Triglycosylceramide  
 Trinitrophenylaminolauroylgluococerebroside  
 Trinitrophenylaminolauroylgalactocerebroside  
 Trisialoganglioside

[補足] (分担研究者 山崎 壮)

米の胚芽中のスフィンゴ糖脂質のスフィンゴシン塩基、脂肪酸、糖組成などの分析報告の例として、以下のものがある。

米ぬかのスフィンゴ脂質の構成糖はグルコース、マンノースなどである。また、植物に特徴的スフィンゴシン塩基として 4-hydroxysphinganine (phytoshingosine) と 4-hydroxy-8-sphingenine が存在している。これらは、ほ乳類動物脳由来スフィンゴ糖脂質とは異なる特徴である。

- 1) Yasuo Fujino, Masao Ohnishi and Seisuke Ito: *Agric. Biol. Chem.* 49 (9), 2753-2762 (1985). Molecular species of ceramide and mono-, di-, tri-, and tetraglycosylceramide in bran and endosperm of rice grains.
- 2) Kojima, Michiyuki; Ohta, Keiko; Ohnishi, Masao; Ito, Seisuke: *Obihiro Chikusan Daigaku Gakujutsu Kenkyu Hokoku, Dai-1-Bu*, 17 (2), 143-8 (English) 1991. Chemical characterization of sphingophosphoglycolipids in rice leafy stems.
- 3) Yasuo MANO, Kumi KAWAMINAMI, Michiyuki KOJIMA, Masao OHNISHI, and Seisuke ITO: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63 (4), 619-625 (1999). Comparative Composition of Brown Rice Lipids (Lipid Fractions) of Indica and Japonica Rices

米ぬかにはステロール配糖体が含まれていることが報告されているが、分析報告の例として、以下のものがある。

- 1) Fujino Y, Ohnishi M.: *Biochim Biophys Acta* 574(1):94-102 (1979). Isolation and structure of diglycosylsterols and triglycosylsterols in rice bran.

酸化防止剤等の安全性に関する研究  
ーコメヌカ油抽出物のラットによる 90 日間反復投与毒性試験ー

分担研究者 神谷研二 広島大学原爆放射線医科学研究所 教授

研究要旨 ラットにコメヌカ油抽出物の 90 日間の経口投与を行い、個体における毒性や亜慢性試験を行った結果、コメヌカ油抽出物の毒性は今回の亜慢性毒性試験では検出できなかった。

A. 研究目的

コメヌカ油抽出物は、イネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種子より得られる米滓油またはアルカリ油濁、米糠粗口分、ガム質などの精製副産物の不ケン化物をエタノールで抽出して得られたもので、白色の粉末である。フェルラ酸を主成分とし、オレイン酸およびその水和物やフェノール物質を含む混合物である。水には難溶であるが、エタノール、アセトンに易溶解性である。耐熱性に優れ、光などの影響を受けにくく常温での保存で安定している。防菌、防ばい性を有し食品の長期保存に有効であり、ビタミンE 等との併用で相乗効果を示す。また加水分解タイプおよびケトン分解タイプの油脂の酸化を防止する。このような効果より、酸化防止剤として食品、おものに食肉加工品、めん類などに添加されている。

この様に、コメヌカ油抽出物は、既に食品にも酸化防止剤として使用されており、安全性は高いと考えられるが、本検体のAmesテスト並びに亜急性、及び慢性の毒性試験は行なわれていない。従って、動物実験による定量的な安全性評価が必要である。

本研究では、ラットにコメヌカ油抽出物の90日間の経口投与を行い、個体における毒性や亜慢性試験を行うことを目的とした。

B. 研究方法

コメヌカ油抽出物は、築野食品工業株式会社（和歌山）より提供されたものを用いた。コメヌカ油抽出物は、白色の粉末で常温での保存では安定である。

動物は、4週齢のF344/DuCrj系ラット(SPF)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、基礎飼料(CRF-1 固形飼料、オリエンタル酵母工業(株))と水道水で2週間馴化飼育した後、体重層別無作為抽出により雌雄各5群(各群10匹)に分け、試験に供した。

動物の飼育は、バリヤーシステムの飼育室にて、室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、換気回数16回/時(オールフレッシュ)、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ケージ(幅26.5cm、長さ42.5cm、高さ20cm)に5匹ずつ飼育し、床敷はチャールス・リバー社のサンフレイクを使用し、週2回交換した。飲料水として水道水を試験期間中自由に摂取させた。

雌雄各4群を被験物質投与群とし、0.06%、0.25%、1%、4%の割合でコメヌカ油抽出物を混合した固形飼料(CRF-1,オリエンタル酵母工業(株))を90日間自由に摂取させた。その他に对照群として雌雄各1群には、コメヌカ油抽出物を含まない基礎飼料(CRF-1固形飼料)を同期間自由に摂取させた。試験期間中、全動物の一般状態を毎日観察し体重の測定を2週間に1回行った。

摂餌量及び検体の摂取量は、毎週3回（月、水、金曜日）測定した。検体の投与期間終了後、エーテル麻酔下で開腹、腹部大動脈より採血し、瀉血により屠殺後剖検した。諸臓器は、肉眼的に観察した後摘出し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣および卵巣については重量測定後、甲状腺、胃、小腸、大腸、子宮については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。その後、各臓器および組織を切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン（H.E.）染色を施して、病理組織学的に検索を行った。採血した血液は広島市医師会臨床検査センターに依頼し白血球（WBC）、赤血球（RBC）、ヘモグロビン（Hg）、ヘマトクリット（Ht）、血小板（PLT）、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）、ならびに好中球（Neutro）、リンパ球（Lymph）、単球（Mono）、好酸球（Eosino）、ならびに好塩基球（Baso）を測定した。また、血清を分離し、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、アルブミン・グロブリン比（A/G比）、総コレステロール（T-CHO）、中性脂肪（TG）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ナトリウム（Na）、クロール（Cl）、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase（ $\gamma$ -GTP）、総ビリルビン（T-Bil）を測定した。

#### （倫理面の配慮）

本試験は、食品添加物の90日間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行われる試験であり、動物からの採血や解剖においては麻酔下で行うなどの動物への苦痛を軽減するなどの配慮を行った。また、当実験施設の動物実験倫理規定を遵守して行った。

### C. 研究結果

#### 1. 一般状態

試験期間中の動物の一般状態は、いずれの実験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。

#### 2. 体重

試験期間中の各群の体重の推移をFig.1とTable 1に示した。雌雄とも被験物質投与群の用量に相関してわずかに数値の低い傾向が見られ、コメヌカ油抽出物の4%群に有意差も認められるが数値は正常範囲であり、試験終了時まで他の実験群同様体重は増加した。

#### 3. 摂餌量および被験物質摂取量

各群の摂餌量の推移をTable 2に示した。試験経過中の摂餌量は、雌雄とも各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。

試験期間中におけるラット一匹一日当たりの平均の摂餌量と被験物質摂取量をTable 3に示した。ラット一匹一日当たりの平均摂餌量については、雌雄とも対照群と被験物質投与群との間に大きな差はみられず、また被験物質であるコメヌカ油抽出物の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ相関していた。

#### 4. 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学的及び血清生化学的検査の結果をTable 4, 5に示した。対照群に対する有意差検定の結果、雄においてGOTと $\gamma$ -GTPで対照群に対して被験物質投与群の用量に相関してやや増加傾向がみられ、GOTで4%群に $\gamma$ -GTPでは4%、1%群に有意差も認められるが、これらの数値は正常範囲である。また、雌においてはGOTとALP等で4%、1%群に有意差も認められるものの、明らかな用量相関性はみられない。その他、雄、雌いずれにおいてもいくつかの検査項目では有意差がみられるものもあるが、これらの検査値はすべて正常範囲であり、明らかな用量相関性は認められなかつ

た。

## 5. 臓器重量

実験終了時における臓器の絶対重量の結果をTable 6、7に示した。対照群に対する有意差検定の結果、雄ラットにおいては、心臓重量でコメヌカ油抽出物の1%群、4%群に、肝臓で0.06%群、1%群に、腎臓で0.06%群に有意差が認められたが、これらの臓器重量は正常範囲であり、用量相関性も認められなかった。また雌ラットにおいては、胸腺重量でコメヌカ油抽出物の0.25%群に、肝臓で0.25%群、1%群に、腎臓と卵巣で4%群にそれぞれ有意差が認められたが、これらの臓器重量はすべて正常範囲であり、用量相関性も認められなかった。

## 6. 病理組織学的検索

検索した全ての臓器において、対照群に比べ、コメヌカ油抽出物の投与群に特異的な変化は認められなかった。また、コメヌカ油抽出物の投与量に相関して変化する病理組織学的な病変も認められなかった。臓器重量が有意に変化した、雄ラットの心臓、肝臓、腎臓また雌ラットの胸腺、肝臓、腎臓、卵巣においても病理組織学的異常病変は認められなかった。

## D. 考察

コメヌカ油抽出物は、イネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種子より得られる米滓油またはアルカリ油濁、米糠粗ロウ分、ガム質などの精製副産物の不ケン化物をエタノールで抽出して得られたもので、白色の粉末である。フェルラ酸を主成分とし、オレイン酸およびその水和物やフェノール物質を含む混合物である。水には難溶であるが、エタノール、アセトンに易溶解性である。耐熱性に優れ、光などの影響を受けにくく常温での保存で安定している。防菌、防ばい性を有し食品の長期保存に有効であり、ビタミンE 等との併

用で相乗効果を示す。また加水分解タイプおよびケトン分解タイプの油脂の酸化を防止する。このような効果から、酸化防止剤として食品、おもに食肉加工品、めん類などに添加されている。

このように、コメヌカ油抽出物は、既に食品にも酸化防止剤として使用されており、安全性は高いと考えられるが、本検体のAmesテスト並びに亜急性、及び慢性の毒性試験は行なわれていない。従って、動物実験による定量的な安全性評価が必要である。

本研究では、ラットにコメヌカ油抽出物の90日間の経口投与を行い、個体における亜慢性毒性試験を実施した。その結果、死亡動物および一般状態の変化は試験期間を通してみられなかった。体重増加及び摂餌量は対照群と投与群間において大きな差は認められなかった。血液学的検査及び血清生化学的検査においては、散発的な検査項目で対照群に比べ有意の差を認めたが、これらの値の変動範囲はごく軽度であり、その範囲も生物学的に正常範囲で、用量相関性も認められなかった。また、他の関連するパラメーターにも変化が認められなかったことから毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

剖検における肉眼的観察では、腎、心臓や肝臓等の各臓器に変化は認められず、対照群との間に差を認めなかった。病理組織学的検査においても、対照群に比べコメヌカ油抽出物の投与群に特異的な組織学的変化はコメヌカ油抽出物を投与したすべての濃度群において見いだせなかった。

## E. 結論

いずれの投与群においても途中死亡例がなく、体重増加抑制も認められず、また組織学的に明らか毒性所見も認められなかったことから、コメヌカ油抽出物の毒性は今回の亜慢性毒性試験では検出できなかった。

## F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



Fig 1. Growth curves of F344 rats treated with Rice bran oil extract

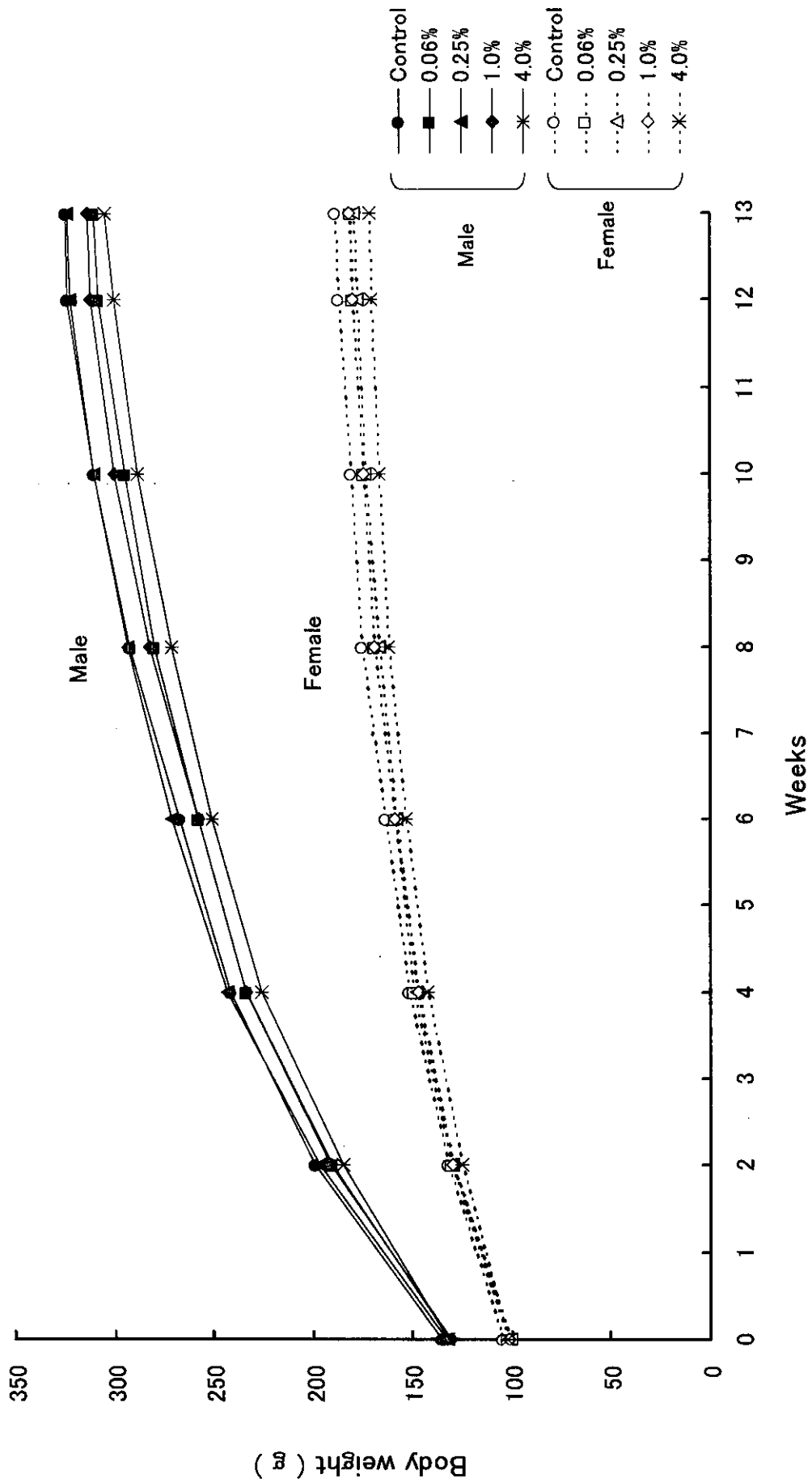


Table 1. Body weight of F344 rats treated with Rice bran oil extract

Sex	Groups	Weeks										
		0	2	4	6	8	10	12	13			
Male	Control	135.1±4.3	198.8±5.5	241.8±6.0	267.7±8.8	292.2±11.6	310.9±14.1	323.8±14.1	325.1±14.3			
	0.06%	131.2±8.0	190.6±10.2	233.5±8.3	258.4±8.9	279.7±10.3	294.8±11.0	308.2±11.1	310.4±10.0			
	0.25%	133.2±6.8	196.7±9.9	243.1±10.0	271.6±11.4	293.4±12.7	310.5±15.2	322.3±14.7	324.4±14.8			
	1.0%	130.5±5.7	191.5±6.3	233.9±7.7	257.9±10.7	282.5±10.7	300.6±10.6	312.4±11.8	314.1±12.6			
	4.0%	132.4±3.8	184.5±4.1	225.6±4.7	250.7±4.2	271.7±4.1	288.8±4.4	300.7±4.7	304.9±5.0			
Female	Control	104.7±3.5	131.8±5.2	151.9±7.0	163.8±7.2	175.6±9.9	181.3±8.2	187.6±8.5	188.4±8.1			
	0.06%	102.3±4.1	130.2±4.9	149.2±6.6	158.8±6.6	169.1±6.7	174.7±7.0	179.8±8.0	180.6±7.5			
	0.25%	101.0±2.8	130.1±4.2	147.6±5.2	158.3±5.1	166.4±6.3	173.5±7.3	178.1±8.4	179.3±9.0			
	1.0%	101.2±2.1	129.4±2.8	147.3±2.6	159.0±3.8	168.8±4.6	174.7±4.9	179.9±4.8	181.4±4.5			
	4.0%	102.4±4.0	125.0±5.7	142.0±5.8	153.5±7.6	161.9±8.4	166.6±9.6	170.6±8.2	171.4±8.7			

Table 2. Daily food intakes of F344 rats treated Rice bran oil extract

Sex	Groups	No. of rats Examined	Weeks												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Male	Control	10	12.6	13.6	13.6	13.4	13.5	13.3	13.1	12.6	12.4	12.2	11.9	12.3	11.9
	0.06%	10	12.6	13.2	13.1	13.3	13.0	12.8	12.7	12.5	12.0	11.8	11.5	11.7	11.4
	0.25%	10	12.8	13.3	13.7	13.9	13.9	13.6	13.5	13.2	12.9	12.6	12.2	12.3	12.5
	1.0%	10	12.0	12.8	13.2	13.4	13.3	13.2	13.0	12.8	12.5	12.1	11.9	11.9	11.7
	4.0%	10	11.7	13.5	13.4	13.4	13.6	13.8	13.1	13.2	12.8	12.4	12.5	12.7	12.7
Female	Control	10	9.3	9.5	9.3	9.1	9.1	8.9	8.4	8.4	8.5	7.9	7.9	8.0	7.5
	0.06%	10	9.7	9.8	9.6	9.4	9.1	8.8	8.4	8.3	8.2	7.8	7.8	7.8	8.0
	0.25%	10	9.5	9.7	9.8	9.4	9.0	8.7	8.3	8.0	7.9	7.7	7.8	7.6	7.8
	1.0%	10	9.3	9.5	9.4	9.0	8.8	8.7	8.1	8.0	8.2	7.9	7.9	8.0	7.9
	4.0%	10	8.5	9.5	9.3	9.1	8.7	8.6	8.1	8.1	7.9	7.4	7.7	7.7	7.6

Table 3. Average intakes of food or Rice bran oil extract per rat

Sex	Groups	No. of rats Examined	Daily intakes of		Total intakes of Rice bran oil extract (g/rat/90days)
			Food (g/rat)	Rice bran oil extract (g/rat)	
Male	Control	10	12.81	—	—
	0.06%	10	12.46	0.007	0.63
	0.25%	10	13.13	0.033	2.97
	1.0%	10	12.63	0.126	11.34
	4.0%	10	13.00	0.520	46.80
Female	Control	10	8.62	—	—
	0.06%	10	8.68	0.005	0.45
	0.25%	10	8.57	0.021	1.89
	1.0%	10	8.51	0.085	7.65
	4.0%	10	8.34	0.333	29.97

**Table 4. Hematological and biochemical findings of F344 Male rats treated with Rice bran oil extract for 90 days**

	Control(10) <sup>a)</sup>	Groups of Male rats				
		0.06%(10)	0.25%(10)	1.0%(10)	4.0%(10)	
WBC	(mm <sup>3</sup> )	4544 ± 980 <sup>b)</sup>	4110 ± 871	3600 ± 1437	4100 ± 953	4438 ± 930
RBC	(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	829 ± 15	818 ± 31	802 ± 20*	838 ± 13	863 ± 22**
Hb	(g/dl)	15.1 ± 0.3	14.9 ± 0.4	14.7 ± 0.3	15.3 ± 0.2	15.6 ± 0.4**
Ht	(%)	41.1 ± 0.6	40.8 ± 1.5	39.5 ± 1.0**	41.6 ± 0.7	42.4 ± 1.2*
PLT	(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	51.7 ± 18.7	42.6 ± 15.5	36.2 ± 14.3*	50.0 ± 5.5	50.3 ± 4.9
MCV	(fl)	49.4 ± 0.2	49.9 ± 0.5	54.8 ± 16.7	49.6 ± 0.6	49.1 ± 0.4
MCH	(pg)	18.2 ± 0.6	18.2 ± 0.5	18.4 ± 0.2	18.2 ± 0.5	18.0 ± 0.1
MCHC	(%)	36.7 ± 1.0	36.5 ± 0.9	37.2 ± 0.6	36.7 ± 0.8	36.7 ± 0.4
Neutro	(%)	13.7 ± 2.1	12.5 ± 5.4	17.7 ± 7.8	15.3 ± 3.1	9.1 ± 3.8
Lymph	(%)	81.2 ± 2.9	81.2 ± 4.7	76.7 ± 6.6	81.7 ± 4.3	81.6 ± 1.6
Mono	(%)	1.7 ± 1.0	2.1 ± 2.3	1.7 ± 1.0	1.1 ± 0.7	2.6 ± 0.9
Eosino	(%)	1.4 ± 2.0	1.7 ± 0.9	1.0 ± 0.5	1.3 ± 1.6	0.3 ± 0.4
Baso	(%)	1.9 ± 1.6	2.5 ± 5.1	3.0 ± 4.9	0.6 ± 0.4	6.4 ± 2.8
TP	(g/dl)	6.2 ± 0.1	6.2 ± 0.2	6.1 ± 0.2	6.3 ± 0.3	6.4 ± 0.1
ALB	(g/dl)	4.2 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.5 ± 0.1**
A/G		2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2*	2.2 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.4 ± 0.2**
GOT	(IU/l)	97 ± 23	104 ± 21	105 ± 14	113 ± 13	121 ± 14**
GPT	(IU/l)	52 ± 11	56 ± 13	63 ± 11*	70 ± 11**	53 ± 8
T-Bil	(mg/dl)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
ALP	(IU/l)	717 ± 56	731 ± 53	720 ± 32	710 ± 52	824 ± 37**
γ-GTP	(IU/l)	2.4 ± 1.0	2.8 ± 0.4	2.8 ± 1.2	3.9 ± 1.2*	4.2 ± 1.2**
CRE	(mg/dl)	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
BUN	(mg/dl)	20.3 ± 1.1	20.7 ± 2.6	18.7 ± 0.4*	18.8 ± 0.7*	18.8 ± 0.7*
TG	(mg/dl)	180 ± 43	180 ± 34	151 ± 29	200 ± 52	211 ± 26
T-CHO	(mg/dl)	68 ± 5	69 ± 3	69 ± 4	70 ± 4	73 ± 3*
Na	(mEq/l)	141 ± 1	142 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	143 ± 2
K	(mEq/l)	4.2 ± 0.7	4.3 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.2 ± 0.7	4.3 ± 0.7
Cl	(mEq/l)	99 ± 1	101 ± 1*	101 ± 1*	100 ± 2	101 ± 2*
Ca	(mg/dl)	10.0 ± 0.2	10.0 ± 0.2	10.2 ± 0.2	10.2 ± 0.5	10.3 ± 0.2

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means ± S.D.

\*: Significantly difference from the control (P<0.05), \*\*: significantly difference from the control (P<0.01)

**Table 5. Hematological and biochemical findings of F344 Female rats treated with Rice bran oil extract for 90 days**

		Groups of Female rats				
		Control(10) <sup>a)</sup>	0.06%(10)	0.25%(10)	1.0%(10)	4.0%(10)
WBC	(mm <sup>3</sup> )	3025 ± 1069 <sup>b)</sup>	2530 ± 701	2620 ± 824	3756 ± 868	3125 ± 349
RBC	(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	781 ± 29	754 ± 37*	771 ± 17	777 ± 20	801 ± 16
Hb	(g/dl)	15.1 ± 0.5	14.7 ± 0.3	15.0 ± 0.4	15.2 ± 0.3	15.5 ± 0.6
Ht	(%)	40.2 ± 1.4	38.9 ± 1.9	39.9 ± 1.0	40.2 ± 1.0	41.1 ± 1.0
PLT	(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	53.8 ± 5.7	57.6 ± 4.9	59.6 ± 4.8*	58.4 ± 3.3	57.0 ± 5.1
MCV	(fl)	51.4 ± 0.3	51.6 ± 0.3	51.6 ± 0.3	51.6 ± 0.3	51.3 ± 0.5
MCH	(pg)	19.4 ± 0.3	19.5 ± 0.8	19.4 ± 0.2	19.5 ± 0.2	19.4 ± 0.5
MCHC	(%)	37.6 ± 0.4	37.8 ± 1.5	37.5 ± 0.3	37.8 ± 0.3	37.8 ± 1.0
Neutro	(%)	10.2 ± 2.3	13.6 ± 6.6	17.8 ± 9.4*	10.7 ± 3.7	10.5 ± 4.3
Lymph	(%)	83.5 ± 3.1	77.9 ± 8.2	74.4 ± 10.6*	84.7 ± 4.0	84.5 ± 4.6
Mono	(%)	1.5 ± 0.5	1.4 ± 1.2	2.1 ± 1.3	1.7 ± 0.2	1.5 ± 0.6
Eosino	(%)	1.5 ± 1.8	1.7 ± 1.4	1.4 ± 2.2	0.8 ± 0.5	1.2 ± 1.1
Baso	(%)	3.3 ± 3.5	5.4 ± 7.7	4.3 ± 3.4	2.0 ± 1.5	2.2 ± 2.4
TP	(g/dl)	6.6 ± 0.4	6.5 ± 0.2	6.6 ± 0.5	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.2
ALB	(g/dl)	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.1	4.8 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.9 ± 0.2
A/G		2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.3	2.6 ± 0.1	2.9 ± 0.1**
GOT	(IU/l)	118 ± 19	111 ± 12	113 ± 22	86 ± 9**	84 ± 19**
GPT	(IU/l)	45 ± 11	43 ± 10	43 ± 8	36 ± 4*	39 ± 8
T-Bil	(mg/dl)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
ALP	(IU/l)	641 ± 53	676 ± 56	658 ± 67	570 ± 49*	515 ± 60**
γ-GTP	(IU/l)	2.9 ± 0.9	2.9 ± 0.6	3.8 ± 0.8*	3.6 ± 1.0	4.1 ± 0.8**
CRE	(mg/dl)	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1
BUN	(mg/dl)	21.0 ± 1.7	21.4 ± 1.8	20.7 ± 1.2	18.7 ± 0.9**	18.1 ± 1.6**
TG	(mg/dl)	168 ± 63	108 ± 34**	75 ± 17**	81 ± 23**	107 ± 32**
T-CHO	(mg/dl)	94 ± 5	88 ± 5*	92 ± 7	93 ± 3	105 ± 5**
Na	(mEq/l)	144 ± 2	144 ± 2	143 ± 2	142 ± 2*	143 ± 1
K	(mEq/l)	4.4 ± 0.8	3.9 ± 0.3	4.4 ± 1.5	3.8 ± 0.4	3.6 ± 0.3
Cl	(mEq/l)	101 ± 1	102 ± 1	101 ± 2	101 ± 1	102 ± 2
Ca	(mg/dl)	10.4 ± 0.6	10.2 ± 0.2	10.3 ± 0.7	9.8 ± 0.2*	10.1 ± 0.2

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means ± S.D.

\*: Significantly difference from the control (P<0.05), \*\*: significantly difference from the control (P<0.01)

**Table 6. Absolute organ weight of F344 Male rats treated with Rice bran oil extract for 90 days**

Organs	Control(10) <sup>a)</sup>	Groups of Male rats			
		0.06%(10)	0.25%(10)	1.0%(10)	4.0%(10)
Body weight					
at start	135.1 ± 4.3 <sup>b)</sup>	131.2 ± 8.0	133.2 ± 6.8	130.5 ± 5.7	132.4 ± 3.8
at end	325.1 ± 14.3	310.4 ± 10.0	324.4 ± 14.8	314.1 ± 12.6	304.9 ± 5.0
Brain	1.868 ± 0.078	1.803 ± 0.118	1.878 ± 0.085	1.845 ± 0.074	1.847 ± 0.090
Heart	0.937 ± 0.088	0.870 ± 0.085	0.911 ± 0.061	0.845 ± 0.042 <sup>**</sup>	0.869 ± 0.047 <sup>*</sup>
Thymus	0.299 ± 0.072	0.288 ± 0.062	0.317 ± 0.062	0.309 ± 0.061	0.277 ± 0.037
Lung	1.065 ± 0.058	1.040 ± 0.075	1.132 ± 0.147	1.071 ± 0.049	1.078 ± 0.110
Liver	9.513 ± 0.363	8.542 ± 0.603 <sup>**</sup>	9.285 ± 0.584	8.814 ± 0.421 <sup>**</sup>	9.756 ± 0.329
Kidney	1.815 ± 0.077	1.631 ± 0.087 <sup>**</sup>	1.759 ± 0.106	1.764 ± 0.122	1.876 ± 0.082
Adrenal	0.060 ± 0.018	0.059 ± 0.022	0.056 ± 0.028	0.045 ± 0.016	0.050 ± 0.011
Spleen	0.647 ± 0.057	0.615 ± 0.030	0.637 ± 0.037	0.615 ± 0.035	0.625 ± 0.022
Testis	2.920 ± 0.208	2.989 ± 0.144	3.032 ± 0.136	2.894 ± 0.239	3.032 ± 0.124

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means ± S.D.

\*: Significantly difference from the control (P<0.05), \*\*: significantly difference from the control (P<0.01)

Table 7. Absolute organ weight of F344 Female rats treated with Rice bran oil extract for 90 days

Organs	Control(10) <sup>a)</sup>	Groups of Female rats			
		0.06%(10)	0.25%(10)	1.0%(10)	4.0%(10)
Body weight					
at start	104.7 ± 3.5 <sup>b)</sup>	102.3 ± 4.1	101.0 ± 2.8	101.2 ± 2.1	102.4 ± 4.0
at end	188.4 ± 8.1	180.6 ± 7.5	179.3 ± 9.0	181.4 ± 4.5	171.4 ± 8.7
Brain	1.721 ± 0.075	1.738 ± 0.054	1.696 ± 0.086	1.756 ± 0.093	1.726 ± 0.050
Heart	0.597 ± 0.050	0.600 ± 0.159	0.576 ± 0.017	0.571 ± 0.069	0.528 ± 0.044
Thymus	0.243 ± 0.056	0.223 ± 0.051	0.187 ± 0.038*	0.215 ± 0.032	0.207 ± 0.051
Lung	0.811 ± 0.068	0.795 ± 0.066	0.789 ± 0.099	0.804 ± 0.053	0.749 ± 0.085
Liver	5.255 ± 0.434	5.036 ± 0.436	4.850 ± 0.288*	4.875 ± 0.187*	5.212 ± 0.359
Kidney	1.064 ± 0.067	1.003 ± 0.037	1.041 ± 0.112	1.019 ± 0.036	0.956 ± 0.042**
Adrenal	0.062 ± 0.012	0.052 ± 0.012	0.061 ± 0.025	0.058 ± 0.019	0.046 ± 0.014
Spleen	0.394 ± 0.021	0.391 ± 0.024	0.378 ± 0.021	0.390 ± 0.030	0.377 ± 0.035
Ovary	0.137 ± 0.030	0.117 ± 0.022	0.127 ± 0.032	0.119 ± 0.009	0.104 ± 0.034*

a) Numbers in parenthesis represent the number of samples examined

b) Values are means ± SD.

\*: Significantly difference from the control (P<0.05), \*\*: significantly difference from the control (P<0.01)



**酸化防止剤等の安全性に関する研究**  
**－キダチアロエ抽出物のラットによる 90 日間反復投与毒性試験－**

分担研究者 神谷研二 広島大学原爆放射線医科学研究所 教授

研究要旨 ラットにキダチアロエ抽出物の 90 日間の経口投与を行い、個体における毒性や亜慢性試験を行った。4%キダチアロエ抽出物投与群では、軽度の白血球増加と体重減少を認めしたが、その他の異常を認めず、キダチアロエ抽出物の毒性は極めて低いものと考えられる。

**A. 研究目的**

アロエはアフリカ原産のユリ科の多年草で、200種以上の種類があり、古くから、洋の東西をとわず様々な種が医薬品、化粧品、食品等非常に幅広い用途に用いられている。特に、日本ではアロエの一種、キダチアロエ (*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger) が「医者いらず」の俗称で親しまれており、一般家庭でも庭に植えたり鉢植えにされることが多い。キダチアロエは、ゼリー状の葉肉部分、葉生汁、葉の搾汁、葉を乾燥したものなど、いろいろな形態で利用されており、またその利用範囲は広く、健胃、便秘解消のための下剤等の内科的、火傷、切り傷、打ち身、虫歯等の外科的応用としての医薬品のほか、化粧品、キャンディー、ジュース、お茶などの食品に用いられている。本研究で用いたキダチアロエ抽出物は、キダチアロエの葉より搾汁して得られたもので、多糖類を主成分としており、その他リンゴ酸等の有機酸、アミノ酸、アンスロン配糖体、アントラキノン類、塩類なども含んでいる。色は淡褐色で特異なおおいがあり、水に溶けやすく、含水エタノールにもやや溶けやすく、油脂には溶けない性質を持っている。

キダチアロエは永年にわたってさまざまな形態で利用されてきており、また近年、キダチアロエの生物活性や生理作用等についての研究も行

われ再評価されているが、動物実験による定量的な安全性評価が必要である。

本研究では、ラットにキダチアロエ抽出物の90日間の経口投与を行い、個体における毒性や亜慢性試験を行うことを目的とした。

**B. 研究方法**

キダチアロエ抽出物は、日本粉末薬品株式会社（大阪市）より提供されたものを用いた。キダチアロエ抽出物は、淡褐色の粉末で特異なおおいがある。

動物は、4週齢のF344/DuCrj系ラット(SPF)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、基礎飼料(CRF-1 固形飼料、オリエンタル酵母工業(株))と水道水で2週間馴化飼育した後、体重層別無作為抽出により雌雄各5群(各群10匹)に分け、試験に供した。

動物の飼育は、バリエーションシステムの飼育室にて、室温 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50\pm 5\%$ 、換気回数16回/時(オールフレッシュ)、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ケージ(幅26.5cm、長さ42.5cm、高さ20cm)に5匹ずつ飼育し、床敷はチャールス・リバー社のサンフレークを使用し、週2回交換した。飲料水として水道水を試験期間中自由に摂取させた。

雌雄各4群を被験物質投与群とし、0.06%、0.25%、1%、4%の割合でキダチアロエ抽出物を混合した固形飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業（株））を90日間自由に摂取させた。その他に対照群として雌雄各1群には、キダチアロエ抽出物を含まない基礎飼料（CRF-1 固形飼料）を同期間自由に摂取させた。試験期間中、全動物の一般状態を毎日観察し体重の測定を2週間に1回行った。摂餌量及び検体の摂取量は、毎週3回（月、水、金曜日）測定した。検体の投与期間終了後、エーテル麻酔下で開腹、腹部大動脈より採血し、瀉血により屠殺後剖検した。諸臓器は、肉眼的に観察した後摘出し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣および卵巣については重量測定後、甲状腺、胃、小腸、大腸、子宮については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。その後、各臓器および組織を切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン（H.E.）染色を施して、病理組織学的に検索を行った。採血した血液は広島市医師会臨床検査センターに依頼し白血球（WBC）、赤血球（RBC）、ヘモグロビン（Hg）、ヘマトクリット（Ht）、血小板（PLT）、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）、ならびに好中球（Neutro）、リンパ球（Lymph）、単球（Mono）、好酸球（Eosino）、ならびに好塩基球（Baso）を測定した。また、血清を分離し、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、アルブミン・グロブリン比（A/G比）、総コレステロール（T-CHO）、中性脂肪（TG）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ナトリウム（Na）、クロール（Cl）、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase（ $\gamma$ -GTP）、総ビリルビン（T-Bil）を測定した。

#### （倫理面の配慮）

本試験は、食品添加物の90日間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行われる試験であり、動物からの採血や解剖においては麻酔下で行うなどの動物への苦痛を軽減するなどの配慮を行った。また、当実験施設の動物実験倫理規定を遵守して行った。

### C. 研究結果

#### 1. 一般状態

試験期間中の動物の一般状態は、雄においてキダチアロエ抽出物の4%群で、試験開始後1週間ごろから他の投与群に比べて水の摂取量が多くなり、また、便の状態が次第に軟便の様相を呈していた。この状態は試験終了時まで続いたが、健康状態の観察では他の実験群と比べて特に異常は見られなかった。雌の4%群においては、雄の4%群よりも比較的軽いが、雌の他の投与群に比べて軟便の傾向がみられた。他の実験群においては雄、雌ともに特記すべき変化は認められず、キダチアロエ抽出物の4%群を含めて全ての動物が試験終了時まで生存した。

#### 2. 体重

試験期間中の各群の体重の推移をFig.1とTable 1に示した。雄では、キダチアロエ抽出物の4%群で試験開始後2週間ごろから他の投与群に比べ軽度の体重減少を認め、対照群に対して統計的有意差（Dunnetの多重比較法による）を認めた。しかし、体重は他の実験群と同様に試験終了時まで増加した。同様に、雌でも試験開始後8週間ごろから他の投与群に比べて軽度の体重減少を認め、統計的にも有意差を認めた。しかし、体重は他の実験群と同様に試験終了時まで増加した。

#### 3. 摂餌量および被験物質摂取量

各群の摂餌量の推移をTable 2に示した。試験経過中の摂餌量は、雌雄とも各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。

試験期間中におけるラット一匹一日当たりの

平均の摂餌量と被験物質摂取量をTable 3に示した。ラット一匹一日当たりの平均摂餌量については、雌雄とも被験物質投与群の用量に相関してわずかに増加がみられるが、対照群と被験物質投与群との間に大きな差はみられず、また被験物質であるキダチアロエ抽出物の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ相関していた。

#### 4. 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学および血清生化学的検査の結果をTable 4, 5に示した。対照群に対する有意差検定(Dunnettの多重比較法による)の結果、雌雄ともにキダチアロエ抽出物の4%群で白血球の数値が増加しており、統計的有意差も認められた。白血球分画では、好中球は対照群に比し被験物質投与群の用量に相関して好中球比率の増加傾向がみられ、1%、4%群では有意差も認められた。これに対しリンパ球では逆に被験物質投与群の用量に相関してリンパ球比率の減少傾向がみられ、1%、4%群では有意差も認められた。

その他、種々の検査項目で有意差が散見されたものの、検査値はすべて正常範囲であり、明らかな用量相関性は認められなかった。

#### 5. 臓器重量

試験終了時における臓器の絶対重量の結果をTable 6, 7に示した。対照群に対する有意差検定の結果、雄ラットにおいては、心臓、胸腺、肝臓重量で用量に相関して軽度の減少傾向がみられ、キダチアロエ抽出物の4%群に有意差も認められた。この他腎臓重量でキダチアロエ抽出物の0.06%、0.25%群に有意差が認められたが、用量相関性は認められなかった。これらすべての臓器重量は正常範囲である。また雌ラットにおいては、肺でキダチアロエ抽出物の4%群に、脾臓でキダチアロエ抽出物の1%群に有意差が認められたが、これらの臓器重量はすべて正常範囲であり、用量相関性も認められなかった。

#### 6. 病理組織学的検査

検索した全ての臓器において、対照群に比べ、

キダチアロエ抽出物の投与群に特異的な変化は認められなかった。また、キダチアロエ抽出物の投与量に相関して変化する病理組織学的な病変も認められなかった。臓器重量が有意に変化した、雄ラットの心臓、胸腺、肝臓、腎臓、また雌ラットの肺、脾臓においても病理組織学的異常病変は認められなかった。

#### D. 考察

ユリ科でアロエの一種、キダチアロエ(*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger)は、日本では「医者いらず」の俗称で親しまれており、一般家庭でも庭に植えたり鉢植えにされることが多い。キダチアロエは、ゼリー状の葉肉部分、葉生汁、葉の搾汁、葉を乾燥したものなど、いろいろな形態で利用されており、またその利用範囲は広く、健胃、便秘解消のための下剤等の内科的、火傷、切り傷、打ち身、虫歯等の外科的応用としての医薬品のほか、化粧品、キャンディー、ジュース、お茶などの食品に用いられている。

このように、キダチアロエは永年にわたってさまざまな形態で利用されてきており、また近年、キダチアロエの生物活性や生理作用等についての研究も行われ再評価されているが、動物実験による定量的な安全性評価が必要である。

本研究では、ラットにキダチアロエの葉より搾汁して得られたキダチアロエ抽出物の90日間の経口投与を行い、個体における亜慢性試験を実施した。その結果、まず、全ての動物が試験終了時まで生存した。動物の一般状態では、雄においてキダチアロエ抽出物の4%群で、試験開始後1週間ごろから他の投与群に比べて水の摂取量が多くなり、また、便の状態が軟便であった。雌の4%群においても他の投与群に比べて軟便の傾向がみられた。この状態は試験終了時まで続いたが、健康状態の観察では他の実験群と比べて特に異常は見られなかった。このことは、アロエの下剤としての有効性を示してきた文献とも良く合致

する。体重に関しては、雌雄ともにキダチアロエ抽出物の4%投与群で試験開始後しばらくして、他の投与群に比べ軽度の体重減少を認めたが、試験終了時まで他の実験群と同様の体重増加を示した。摂餌量は対照群と投与群間において大きな差は認められなかった。

血液学的検査及び血清生化学的検査においては、4%投与群において雌雄いずれも白血球数の増加を認めた。この白血球数の増加に伴って、相対的な好中球割合の増加とリンパ球割合の減少を認めることから、白血球数の増加は好中球の増加によるものと考えられる。しかし、その原因は不明である。その他、散発的な検査項目で対照群に比べ有意の差を認めたが、これらの値の変動範囲はごく軽度であり、その範囲も生物学的に正常範囲で、用量相関性も認められなかった。また、他の関連するパラメーターにも変化が認められなかったことから毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

剖検における肉眼的観察では、腎、心臓や肝臓等の各臓器に変化は認められず、対照群との間に差を認めなかった。病理組織学的検査においても、対照群に比べキダチアロエ抽出物の投与群に特異的な組織学的変化はキダチアロエ抽出物を投与したすべての濃度群において見いだせなかつ

た。

#### E. 結論

今回の亜慢性毒性試験では、キダチアロエ抽出物の4%投与群で、軽度の白血球増加と体重減少を認めたが、すべての投与群において途中死亡例がなく、また組織学的に明らかな毒性所見も認められず、その他の異常所見も認められなかったことから、キダチアロエ抽出物の毒性は極めて低いものと考えられる。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし