

Fig 1. Growth curves of F344 rats treated with Aloe extract

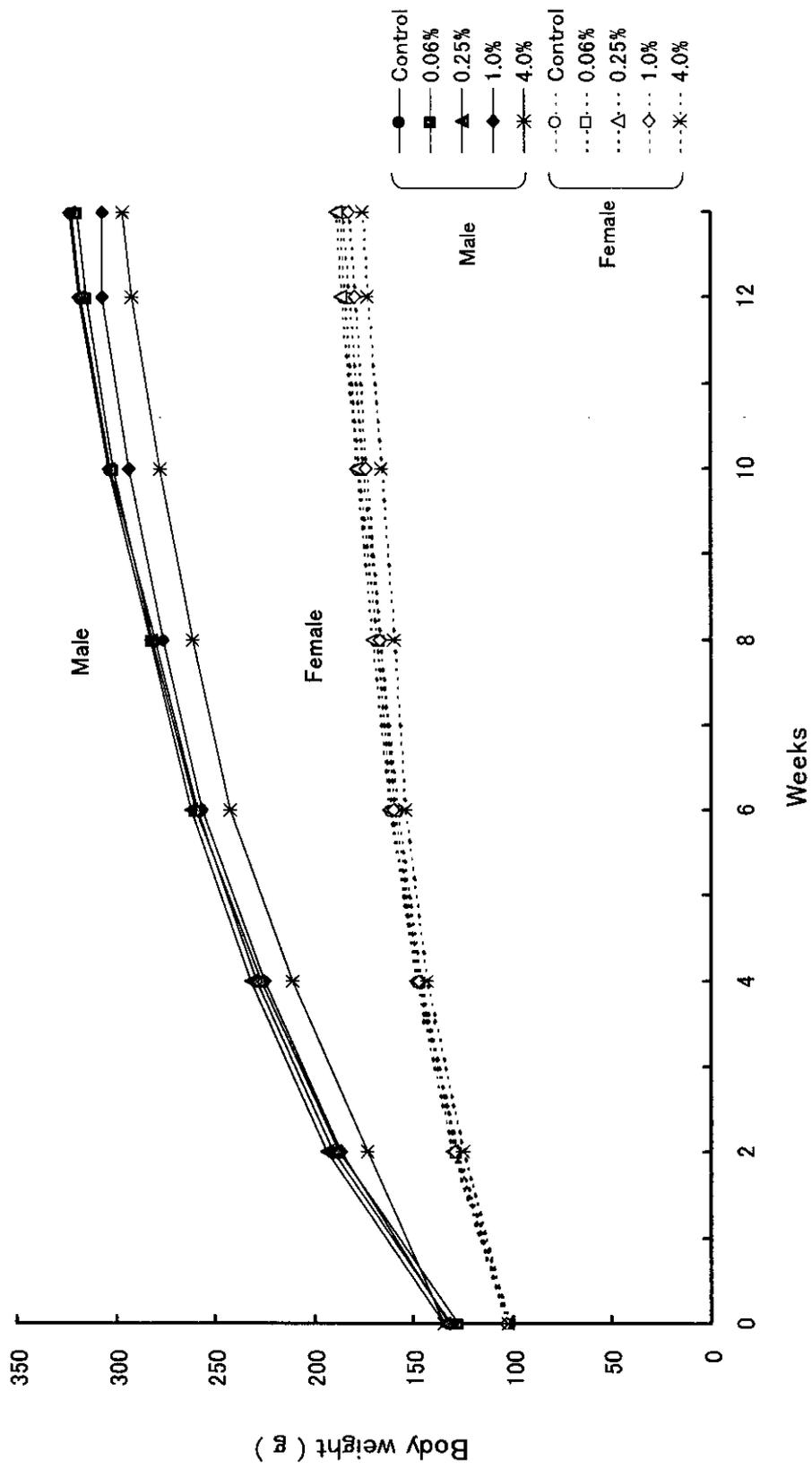


Table 1. Body weight of F344 rats treated with Aloe extract

Sex	Groups	Weeks										
		0	2	4	6	8	10	12	13			
Male	Control	131.1±3.2	190.6±4.8	228.8±7.6	258.5±10.4	279.6±11.2	302.9±14.0	318.0±16.3	322.8±15.6			
	0.06%	127.3±4.9	187.0±4.8	226.3±5.5	259.8±7.7	281.7±9.0	301.1±10.2	314.3±9.1	319.4±9.5			
	0.25%	134.4±5.2	193.5±7.2	231.8±7.1	262.0±8.9	282.2±9.9	303.9±10.7	318.2±11.4	323.6±11.8			
	1.0%	131.9±4.7	186.5±7.9	225.2±8.1	256.6±8.3	276.1±9.7	293.3±9.4	306.6±11.2	306.8±16.6			
	4.0%	134.4±7.0	173.1±14.3	211.1±14.8	242.2±13.4	261.1±14.2	277.7±14.4	291.4±16.5	296.7±15.5			
Female	Control	101.4±1.9	128.4±2.5	147.7±3.8	161.2±5.0	168.3±6.4	177.6±8.6	184.8±7.5	187.5±8.2			
	0.06%	101.4±4.1	128.0±6.1	146.6±8.8	158.3±9.9	166.9±11.1	175.2±11.4	182.4±11.5	185.6±11.9			
	0.25%	103.2±2.8	130.8±1.7	148.8±3.1	162.4±2.3	170.7±2.7	178.7±2.7	186.0±4.8	188.6±5.0			
	1.0%	103.4±3.9	129.0±5.3	147.2±5.3	160.0±4.3	166.9±4.6	173.8±5.8	179.4±7.4	182.6±8.0			
	4.0%	102.1±2.9	125.1±4.8	142.9±3.5	154.2±4.4	159.4±4.9	165.8±5.3	173.2±5.2	175.4±4.3			

**Table 2. Daily food intakes of F344 rats treated Aloe extract**

Sex	Groups	No. of rats Examined	Weeks												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Male	Control	10	11.4	12.5	12.6	12.9	12.9	12.3	12.5	12.4	11.9	12.5	12.5	11.8	11.7
	0.06%	10	11.9	12.7	13.5	13.1	13.4	12.8	12.6	12.6	12.3	12.1	12.4	11.7	11.4
	0.25%	10	12.1	13.1	13.4	13.4	12.8	13.0	12.8	13.0	12.4	12.6	12.6	12.0	11.7
	1.0%	10	11.7	13.3	13.6	14.0	13.6	13.1	12.9	13.0	12.5	12.7	13.1	11.9	11.6
	4.0%	10	10.1	13.0	13.8	13.8	14.7	13.8	13.7	13.2	13.0	12.4	12.8	12.3	12.1
Female	Control	10	9.1	9.2	9.1	8.8	8.8	8.4	8.0	8.1	8.0	8.1	8.4	7.9	7.5
	0.06%	10	9.1	9.5	9.4	9.3	9.0	8.6	8.3	8.1	8.0	7.8	8.1	7.9	7.9
	0.25%	10	9.4	9.6	9.4	9.4	9.3	8.8	8.5	8.4	8.3	8.2	8.5	8.3	7.9
	1.0%	10	9.1	9.7	9.5	9.2	9.4	9.0	8.7	8.7	8.4	8.2	8.6	8.3	8.2
	4.0%	10	8.6	10.6	10.2	9.6	9.6	8.9	8.4	8.9	8.8	8.4	8.7	8.6	8.4

Table 3. Average intakes of food or Aloe extract per rat

Sex	Groups	No. of rats Examined	Daily intakes of		Total intakes of Aloe extract (g/rat/90days)
			Food (g/rat)	Aloe extract (g/rat)	
Male	Control	10	12.31	—	—
	0.06%	10	12.51	0.008	0.72
	0.25%	10	12.71	0.032	2.88
	1.0%	10	12.87	0.129	11.61
	4.0%	10	13.05	0.522	46.98
Female	Control	10	8.17	—	—
	0.06%	10	8.52	0.005	0.45
	0.25%	10	8.76	0.022	1.98
	1.0%	10	8.84	0.088	7.92
	4.0%	10	9.07	0.363	32.67

**Table 4. Hematological and biochemical findings of F344 Male rats treated with Aloe 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	4850 ± 846 <sup>b)</sup>	4200 ± 994	3550 ± 1000	5560 ± 1313	9178 ± 2603**
RBC	842 ± 21	835 ± 11	828 ± 26	841 ± 6	855 ± 15
Hb	15.3 ± 0.4	15.2 ± 0.2	15.1 ± 0.4	15.1 ± 0.2	15.0 ± 0.3**
Ht	41.4 ± 1.2	41.4 ± 0.5	40.7 ± 1.5	40.5 ± 0.4	41.1 ± 0.6
PLT	52.3 ± 5.7	44.6 ± 8.1	49.3 ± 7.1	58.3 ± 8.5	68.4 ± 8.6**
MCV	49.0 ± 0.5	49.5 ± 0.2	49.1 ± 0.6	48.1 ± 0.5**	47.9 ± 0.6**
MCH	18.2 ± 0.3	18.2 ± 0.2	18.3 ± 0.2	17.9 ± 0.1*	17.5 ± 0.3**
MCHC	37.0 ± 0.9	36.7 ± 0.4	37.2 ± 0.6	37.2 ± 0.4	36.5 ± 0.4
Neutro	11.6 ± 4.1	12.4 ± 1.4	14.0 ± 3.8	30.4 ± 5.9**	46.4 ± 12.8**
Lymph	84.7 ± 5.3	83.0 ± 3.0	81.6 ± 5.0	64.6 ± 5.8**	47.0 ± 6.0**
Mono	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.4	1.4 ± 0.6	1.7 ± 0.7*	2.2 ± 2.5**
Eosino	0.9 ± 0.6	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.5	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.4
Baso	2.6 ± 3.8	3.2 ± 3.5	2.0 ± 1.8	2.2 ± 1.2	3.5 ± 8.1
TP	6.2 ± 0.2	6.3 ± 0.4	6.4 ± 0.3	6.3 ± 0.2	6.5 ± 0.2
ALB	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.2 ± 0.1
A/G	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.2	2.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1**
GOT	115 ± 14	121 ± 22	110 ± 13	93 ± 8**	85 ± 8**
GPT	58 ± 11	65 ± 13	60 ± 10	40 ± 5**	37 ± 3**
T-Bil	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
ALP	757 ± 49	788 ± 41	734 ± 37	751 ± 41	798 ± 55
γ-GTP	7.0 ± 1.4	6.7 ± 0.9	6.7 ± 0.9	5.7 ± 0.9*	6.8 ± 1.0
CRE	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0
BUN	20.5 ± 1.0	20.1 ± 0.9	20.3 ± 0.6	19.7 ± 1.4	17.4 ± 1.2**
TG	177 ± 32	211 ± 35*	176 ± 24	152 ± 46	78 ± 21**
T-CHO	68 ± 3	68 ± 4	68 ± 4	64 ± 5	61 ± 4**
Na	142 ± 2	143 ± 2	143 ± 1	142 ± 1	143 ± 1
K	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.7	4.3 ± 0.2	4.4 ± 0.3	4.1 ± 0.2**
Cl	99 ± 1	101 ± 1	100 ± 2	100 ± 2	100 ± 1
Ca	10.3 ± 0.2	10.2 ± 0.2	10.5 ± 0.3	10.3 ± 0.2	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 Aloe extract for 90 days**

	Control(10) <sup>a)</sup>	Groups of Female rats			
		0.06%(10)	0.25%(10)	1.0%(10)	4.0%(10)
WBC	4410 ± 1223 <sup>b)</sup>	3660 ± 757	3333 ± 1164	5710 ± 1620	9420 ± 1590**
RBC	780 ± 23	797 ± 16	782 ± 20	790 ± 16	789 ± 20
Hb	15.0 ± 0.5	15.3 ± 0.3	15.0 ± 0.3	15.0 ± 0.3	15.0 ± 0.3**
Ht	40.0 ± 1.3	41.2 ± 1.0*	40.5 ± 1.3	40.2 ± 1.1	39.7 ± 1.0
PLT	59.6 ± 4.1	55.3 ± 5.6	50.1 ± 8.2*	61.8 ± 9.8	63.6 ± 6.8
MCV	51.2 ± 0.3	51.7 ± 0.5	51.8 ± 0.5*	50.8 ± 0.5	50.3 ± 0.3
MCH	19.2 ± 0.2	19.2 ± 0.2	19.3 ± 0.4	18.9 ± 0.3*	19.0 ± 0.2
MCHC	37.5 ± 0.6	37.1 ± 0.7	37.2 ± 0.9	37.3 ± 0.7	37.8 ± 0.4
Neutro	9.3 ± 4.4	11.2 ± 3.5	9.5 ± 2.1	36.6 ± 14.4**	48.9 ± 17.5**
Lymph	87.2 ± 4.4	85.2 ± 3.4	85.4 ± 3.3	53.9 ± 11.3**	39.5 ± 6.2**
Mono	1.8 ± 0.5	1.5 ± 1.5	1.5 ± 0.7	3.5 ± 4.0	1.9 ± 1.2
Eosino	0.7 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.5	0.9 ± 0.6	0.7 ± 0.4
Baso	1.1 ± 0.6	1.1 ± 0.2	2.5 ± 2.1	5.1 ± 5.6	9.0 ± 15.6*
TP	6.7 ± 0.1	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.3	6.4 ± 0.2**	6.2 ± 0.2**
ALB	4.9 ± 0.2	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.2*	4.5 ± 0.2**	4.2 ± 0.1**
A/G	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.1	2.5 ± 0.2**	2.3 ± 0.2**	2.1 ± 0.1**
GOT	76 ± 7	77 ± 11	104 ± 21**	109 ± 25**	111 ± 19**
GPT	36 ± 4	39 ± 6	48 ± 13*	50 ± 15**	46 ± 10*
T-Bil	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
ALP	507 ± 48	522 ± 53	584 ± 53**	634 ± 71**	687 ± 62**
γ-GTP	6.2 ± 0.9	6.2 ± 2.1	3.5 ± 1.5**	3.6 ± 1.2**	4.4 ± 1.0*
CRE	0.5 ± 0.0	0.6 ± 0.1*	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0
BUN	17.7 ± 1.3	18.0 ± 1.0	20.2 ± 1.1**	20.1 ± 1.7**	18.5 ± 1.2
TG	160 ± 106	123 ± 50	118 ± 32**	68 ± 26**	40 ± 16**
T-CHO	91 ± 7	92 ± 5	92 ± 6	82 ± 6**	72 ± 5**
Na	142 ± 1	143 ± 2	143 ± 3	142 ± 1	141 ± 1
K	3.6 ± 0.4	3.5 ± 0.4	4.0 ± 0.6*	3.9 ± 0.2	4.1 ± 0.2**
Cl	100 ± 2	100 ± 2	101 ± 1	101 ± 2	103 ± 1**
Ca	10.3 ± 0.3	10.4 ± 0.4	10.4 ± 0.3	10.3 ± 0.2	10.1 ± 0.3

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 Aloe 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	131.13 ± 3.2 <sup>b)</sup>	127.3 ± 4.9	134.4 ± 5.2	131.9 ± 4.7	134.4 ± 7.0
at end	322.8 ± 15.6	319.4 ± 9.5	323.6 ± 11.8	306.8 ± 16.6	296.7 ± 15.5
Brain	1.911 ± 0.091	1.858 ± 0.087	1.851 ± 0.101	1.868 ± 0.080	1.864 ± 0.102
Heart	0.942 ± 0.122	0.934 ± 0.110	0.933 ± 0.067	0.896 ± 0.068	0.845 ± 0.067*
Thymus	0.333 ± 0.057	0.315 ± 0.069	0.291 ± 0.036	0.281 ± 0.060	0.256 ± 0.051**
Lung	1.119 ± 0.091	1.100 ± 0.064	1.040 ± 0.080	1.111 ± 0.057	1.172 ± 0.131
Liver	8.959 ± 0.629	8.665 ± 0.339	8.840 ± 0.410	8.826 ± 0.500	8.147 ± 0.432**
Kidney	1.832 ± 0.119	1.690 ± 0.105**	1.713 ± 0.079*	1.783 ± 0.082	1.748 ± 0.118
Adrenal	0.043 ± 0.010	0.048 ± 0.011	0.047 ± 0.012	0.053 ± 0.014	0.052 ± 0.017
Spleen	0.629 ± 0.036	0.611 ± 0.019	0.618 ± 0.031	0.598 ± 0.201	0.639 ± 0.043
Testis	3.064 ± 0.162	2.987 ± 0.141	3.019 ± 0.099	2.859 ± 0.382	2.864 ± 0.258

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 Aloe 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	101.4 ± 1.9 <sup>b)</sup>	101.4 ± 4.1	103.2 ± 2.8	103.4 ± 3.9	102.1 ± 2.9
at end	187.5 ± 8.2	185.6 ± 11.9	188.6 ± 5.0	182.6 ± 8.0	175.4 ± 4.3
Brain	1.712 ± 0.080	1.668 ± 0.087	1.738 ± 0.057	1.747 ± 0.083	1.736 ± 0.084
Heart	0.560 ± 0.048	0.556 ± 0.054	0.599 ± 0.069	0.596 ± 0.047	0.609 ± 0.078
Thymus	0.264 ± 0.058	0.228 ± 0.040	0.237 ± 0.068	0.242 ± 0.137	0.188 ± 0.037
Lung	0.812 ± 0.060	0.765 ± 0.066	0.809 ± 0.068	0.776 ± 0.033	0.744 ± 0.092*
Liver	4.944 ± 0.498	4.854 ± 0.446	5.174 ± 0.263	5.010 ± 0.289	4.821 ± 0.358
Kidney	1.060 ± 0.054	1.018 ± 0.071	1.114 ± 0.073	1.095 ± 0.045	1.057 ± 0.060
Adrenal	0.054 ± 0.019	0.056 ± 0.011	0.056 ± 0.012	0.056 ± 0.013	0.053 ± 0.012
Spleen	0.409 ± 0.016	0.392 ± 0.018	0.402 ± 0.022	0.440 ± 0.047*	0.426 ± 0.029
Ovary	0.116 ± 0.024	0.110 ± 0.034	0.121 ± 0.012	0.118 ± 0.015	0.113 ± 0.015

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)

増粘安定剤の安全性に関する研究

－アグロバクテリウムスクシノグリカンのラットによる 90 日間反復投与毒性試験－

分担研究者 原田昌興 神奈川県立がんセンター臨床研究所 所長

研究要旨 既存添加物アグロバクテリウムスクシノグリカンの長期摂取の影響を、ラットによる 90 日間反復投与試験により検討した。最高用量 5%投与でも、72 日時点では一般状態、摂餌、体重等に影響なく、アグロバクテリウムスクシノグリカンの一般毒性は乏しいものと推測される。

A. 研究目的

食品等の既存添加物は、従来から使用されていた天然添加物に対する経過措置として使用が認められてきたが、その安全性については未だ基本的な検討がなされていないため、速やかな見直しが求められている。既存添加物全 489 品目のうち、特に 109 品目については、反復投与毒性試験などによりその基本的安全性の確認が求められている。本研究は、この既存添加物の 1 品目であるアグロバクテリウムスクシノグリカンの、科学的根拠に基づく基本的な安全性について、ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験により評価することを目的とする。

B. 研究方法

被検物質は *Agrobacterium tumefaciens* の培養液より分離して得られたスクシノグリカンを主成分とする水溶性高分子多糖体・アグロバクテリウムスクシノグリカン（以下「スクシノグリカン」と略称）である。

4 週齢の Fisher 系 F344 (SPF) ラット雌雄各 60 匹を購入、室温 22±2°C、湿度 60±5%に維持した清浄動物飼育室内に設置したヘパフィルター装着アイソラック内で、ラット飼育用放射線照射滅菌

粉末飼料（オリエンタル酵母、CRF・1）及び塩素添加水（残留塩素濃度 10～15ppm）による給水で 2 週間馴化飼育を行った後実験に供した。

ラット飼育用粉末飼料に被検物質スクシノグリカンを 5%濃度で添加した混餌飼料を調製、雌雄各 10 匹のラットに 12 日間反復投与毒性予備試験の結果から、スクシノグリカンの投与量は 5.0%を最高用量として、その 1/10 量 0.5%を低用量、1.5%を中間用量に設定して試験を実施した。試験各群の群分けは馴化飼育期間の体重測定結果に基づく無作為抽出法により雌雄各群 13 匹として、自由摂餌による 90 日間反復投与試験に着手した。

各個体の体重測定は週 1 回一定の曜日に設定、摂餌量はケージ単位で測定、平均摂餌量を求めた。被検物摂取量は、各週毎に 1 日 1 匹当たりの摂餌量から体重 1 kg に対する一日当たりの平均摂取量として求めた。

実験 72 日目に各群より 3 匹を無作為抽出し、エーテル麻酔下で心穿刺採血後、脱血死亡させ、剖検を行い、慢性毒性についての予備検討を行った。採取血液により赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均血色素量、平均血色素濃度を測定、また血液塗

抹標本を作成し白血球百分比を算定した。また、採取血液試料を遠心分離して得た血清を用い、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、電解質、尿素窒素、クレアチニン、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリフォスファターゼを測定した。投与終了時には、同様に各群 10 個体についての採血、剖検を行い、血液一般検査及び血液生化学検査を実施する予定である。

#### (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、動物からの採血や剖検は麻酔下で実施し、動物への苦痛の軽減に十分配慮するとともに、当研究所における動物実験要綱にしたがい、動物の生命の尊厳を損なうことのないよう、倫理規定を順守して実施した。

#### C. 研究結果

被検物質スクシノグリカン投与開始後 72 日目までの経過では、各群に一般状態の変化はなく、途中死亡個体は 5%最高用量投与群においても認められなかった。体重増加は、各群とも雄に比べて雌では増加率が低いが、雌雄とも対照群と混餌飼料摂取各群間に有意差は認められなかった。雄では混餌飼料の平均摂取量は対照群の摂取量に比して若干少ない傾向が見られ、雌の 5%混餌投与群の平均摂取量は対照群よりやや多目であったが、どちらも統計的有意差はなかった。スクシノグリカン最高用量 5%混餌飼料摂取群の平均被検物質摂取量は雌雄とも 3.87g/kg/day であった。血液生化学検査、血液学的検査、病理学的所見については 90 日投与終了時点で分析する予定であるが、現時点での各群 3 匹についての検索結果では著変を認めていない。肉眼的病理所見にも特記すべき所見はなかったが、組織学的検索については現在標本等作成中である。

#### D. 考察

被検物質アグロバクテリウムスクシノグリカンは高分子多糖体で、グルコース、ガラクトース、コハク酸、ピルビン酸及び酸類のナトリウム塩からなる灰白褐色の粉末で、主に調味液、タレ・ソース類、ドレッシング類、アイスクリーム類、ゼリー類等の増粘安定剤として使用されている。このスクシノグリカンの安全性を検証するため、食品添加物の安全性試験ガイドラインにしたがって 90 日間反復投与毒性試験を実施した。被検物質の最高用量 5%投与群でも、少なくとも急性毒性は認められず、72 日までの連続投与によっても、雌雄各群とも一般状態、体重、摂餌量、肉眼的病理所見、一般血液検査、血液生化学検査等に有意の所見がなかったことから、スクシノグリカンの一般毒性は極めて乏しいものと推察される。90 日間連続投与試験は現在続行中のため、最終報告は後日行う予定である。

#### E. 結論

スクシノグリカン 5%混餌摂取群において、少なくとも実験期間 72 日目までは異常なく、雌雄とも被検物平均摂取量 3.87g/kg/day はスクシノグリカンの無毒性量であると想定される。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
特になし
2. 学会発表  
特になし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

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

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）  
分担研究報告書

ガムベース等の安全性に関する研究  
—ニガヨモギ抽出物のラットにおける 13 週間反復投与試験—

分担研究者 三森国敏 東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜病理学講座 教授

研究要旨 食品添加物の規格基準作成の一環として、食品中の苦味料として使用されているニガヨモギ抽出物を雌雄の Wistar Hannover (GALAS)系ラットに 13 週間反復投与し、その毒性について検討した。動物を雌雄各 10 匹ずつ 4 群に分け、ニガヨモギ抽出物の 0, 0.125, 0.5 及び 2 % を 13 週間混水投与した。その結果、いずれの投与群においても死亡動物は認められず、体重増加量、血液学的及び血清生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査において被験物質投与に起因した変化は何ら認められなかった。以上の成績より、本試験におけるニガヨモギ抽出物の無毒性量は 2%以上と考えられた。

A. 研究目的

ニガヨモギ抽出物は、キク科ニガヨモギ (*Artemisia absinthium* Linn.) の全草より、水又は室温時エタノールで抽出して得られたもので、その主成分はセスキテルペン (アブシンチン等) である。ニガヨモギ抽出物は現在、カフェインとともに食品添加物における代表的な苦味料として用いられており、ビール、お茶、コーヒーなどに添加されている。また別の薬理効果としてニガヨモギに含まれるアズレン類には、抗炎症作用、下熱作用があるといわれている。さらにニガヨモギに含まれるツヨンはマリファナの有効成分テトラヒドロカンナビノールに似た化学構造を有し、中枢神経の共通の受容体に作用することにより、ヒトにおいて常習、幻覚、錯乱、痙攣を引き起こすという。現在、ニガヨモギの毒性に関する情報がほとんどないことから、今回ニガ

ヨモギ抽出物の反復投与による毒性変化を明らかにする目的で、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

B. 研究方法

1. 被験物質および投与量：

ニガヨモギ抽出物は、三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 (大阪) より供与されたものを用いた。13 週間反復投与毒性試験に先立ち、動物の検体摂取状況を検討する目的で 5, 2 及び 1% での 7 日間予備投与実験を行った。その結果、5% では検体混入飲料水の忌避が認められ、体重増加率、摂餌量において対照群との間に差が認められた。2% では検体混入飲料水の忌避がわずかにみられたが、体重増加率においては対照群と差がみられなかったことから 2% を高用量群として設定し、以下公比 4 で減じ、0.5, 0.125% を中間用量群及び低用量群にそれぞれ設定した。

## 2. 動物および方法：

5週齢のWistar Hannover (GALAS)ラット雌雄各40匹を日本クレア株式会社より購入し、約1週間の馴化飼育後、雌雄とも各群10匹ずつ4群に分けて実験を行った。動物の飼育はバリアーシステムの動物飼育室にて行い、室内環境条件は、温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 10\%$ 、換気回数18回/時間、蛍光照明12時間(7-19時)とした。動物をラット用吊下げ型金網ケージに2匹或いは3匹/ケージ収容し、固型基礎飼料(CE-2, 日本クレア株式会社)を自由に摂取させた。

被験物質は、投与物質調製時までは $4^{\circ}\text{C}$ で保存し、週2或いは3回調製を行った。一般状態及び死亡動物の有無を毎日観察し、体重及び摂餌量及び飲水量を毎週測定した。なお、摂餌量及び飲水量は、給餌或いは給水量から残餌或いは残水量を差引いた量として算出した。投与開始13週後に全生存動物を屠殺剖検し、試験を終了した。

動物をエーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行った。血液学的検査には多項目自動血球計数装置(Sysmex SE-9000型, Sysmex)を用い、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度(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)及び白血球数(WBC)を測定するとともに、血液塗沫標本作製し、血液細胞自動分析装置(MICROX HEG-120A, 立石電気)を用いて以下の血液像について分類した。分葉核好中球(SEG)、好酸球(EOS)、リンパ球(LYMPH)、単球(MONO)。また、総蛋白(TP)、アルブミン・グロブリン比(A/G)、総コレステロール(TC)、血中尿素窒素(BUN)、ク

レアチニン(CRE)、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、クロール(Cl)、グルタミン酸オキサロアセテクトランスアミラーゼ(GOT)、グルタミンピルビクトランスアミラーゼ(GPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)及びアルブミン(ALB)の各項目についての血清生化学的検査を株式会社SRLで実施した。動物を剖検後、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、下垂体、副腎、甲状腺、顎下腺、精巣、子宮、卵巣の重量を測定した。また、上記臓器に加え、主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、常法に従い薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、対照群と最高用量群について病理組織学的検索を行った。

## 3. 統計学的解析：

体重、摂餌量、飲水量、血液学的検査、血清生化学的検査及び臓器重量の各測定値について群毎に平均値及び標準偏差を求め、多重比較検定を行った。すなわち、Bartlett法により分散の均一性を調べ、均一な場合はDunnettの検定を行ない、不均一な場合はDunnett型の順位和検定を行った。有意水準は危険率5%以下とした。

## C. 研究結果

### 1. 死亡動物及び体重変化：

実験全期間を通じ、死亡動物は認められなかった。

体重は、雌雄いずれの投与群でも実験期間中を通じ対照群と同様の推移を示した(図1, 表1)。

### 2. 飲水量及び摂餌量：

飲水量は雌雄いずれの投与群も実験期

間を通し、対照群との間に差は認められなかった。摂餌量も同様に雌雄いずれの投与群でも実験期間を通じ、対照群との間に差は認められなかった（表1）。

### 3. 血液学的及び血清生化学的検査：

血液学的検査では、雄の0.5%投与群において白血球百分比におけるMONOの割合が有意な増加を示した。雌では被験物質投与に起因した変化は認められなかった（表2）。

血清生化学的検査では、雄の2%投与群でTP値、ALB値、BUN値、Na値及びCl値がそれぞれ有意な増加を示した。雌の0.5%以上の投与群ではA/G比が有意に低下を示した。また0.5%群ではCRE値の有意な上昇も認められた（表3）。

### 4. 臓器重量：

雌雄の2%投与群で肝臓相対重量の有意な増加がみられた（表4、5）。

### 7. 病理組織学的所見：

雌雄ともに対照群ならびに2%投与群について観察を実施した。雄の2%投与群では肝臓の小肉芽腫、腎臓の好塩基性尿細管及び石灰沈着、心臓の心筋細胞限局的壊死、肺の肺胞内出血、大脳の石灰沈着、顎下腺漿液腺細胞の空胞変性、前立腺の間質単核系細胞集簇、下垂体前葉の嚢胞形成及び細胞肥大、中間葉の嚢胞形成、甲状腺の異形成が、それぞれ観察された。雌では肝臓の小肉芽腫、腎臓の好塩基性尿細管、蛋白円柱及び石灰沈着、大脳の石灰沈着、顎下腺漿液腺細胞の空胞変性、下垂体のラトケ嚢遺残、前葉の嚢胞形成、中間葉の嚢胞形成がそれぞれ観察された。これら変化の発現頻度は、雌雄ともに対照群との間に差はみられなかった（表6、7）。

## D. 考察

ニガヨモギ抽出物の反復投与による毒性変化を明らかにする目的で、雌雄ラットに13週間反復混水投与した。

血液学的検査において認められた雄0.5%投与群での白血球百分比におけるMONOの割合増加は、投与量に相関しないことから偶発的な変化と考えられた。血清生化学的検査で認められた雄の2%投与群におけるTP、ALB、BUN、Na及びCl値の有意な増加、また雌0.5%以上の投与群におけるA/G比の低下は、いずれもその変動幅がわずかであることやその他の関連項目に変化がみられないことから毒性学的意義はないものと判断した。また雌0.5%投与群で認められたCRE値の低下は、投与量に相関しないことから偶発的な変化と判断した。臓器重量測定において雌雄で認められた肝臓相対重量の変化は、病理組織学的に変化が認められなかったことから、毒性学的意義はないものと判断した。病理組織学的検査においては雌雄ともに顎下腺漿液腺細胞の空胞化が認められ。被験物質投与群では数例で若干変化が強かった。しかしながら、この変化は対照群に比し、発生頻度では差が見られないこと、また変化の強い個体数もわずかであることから、毒性学的意義は低いものと考えられた。その他の検査項目においては対照群との間に差は認められなかった。

以上の成績より、ニガヨモギ抽出物投与に起因した毒性変化は何ら認められなかったことから、本試験におけるニガヨモギ抽出物のラットにおける無毒性量は2%以上であると考えられた。

## E. 結論

Wistar Hannover (GALAS)ラットを雌雄各 10 匹ずつ 4 群に分け、ニガヨモギ抽出物の 0, 0.125, 0.5 及び 2%を 13 週間混水投与した。いずれの投与群においても死亡動物は認められず、体重増加量、血液学的及び血清生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査においても被験物質投与に起因した変化は何ら認められなかった。

以上より、ニガヨモギ抽出物の 2%を 13 週間混水投与してもラットには何ら毒性変化は認められなかったことから、本試験におけるニガヨモギ抽出物のラット

における無毒性量は 2%以上であると考えられた。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案特許：なし
3. その他：なし

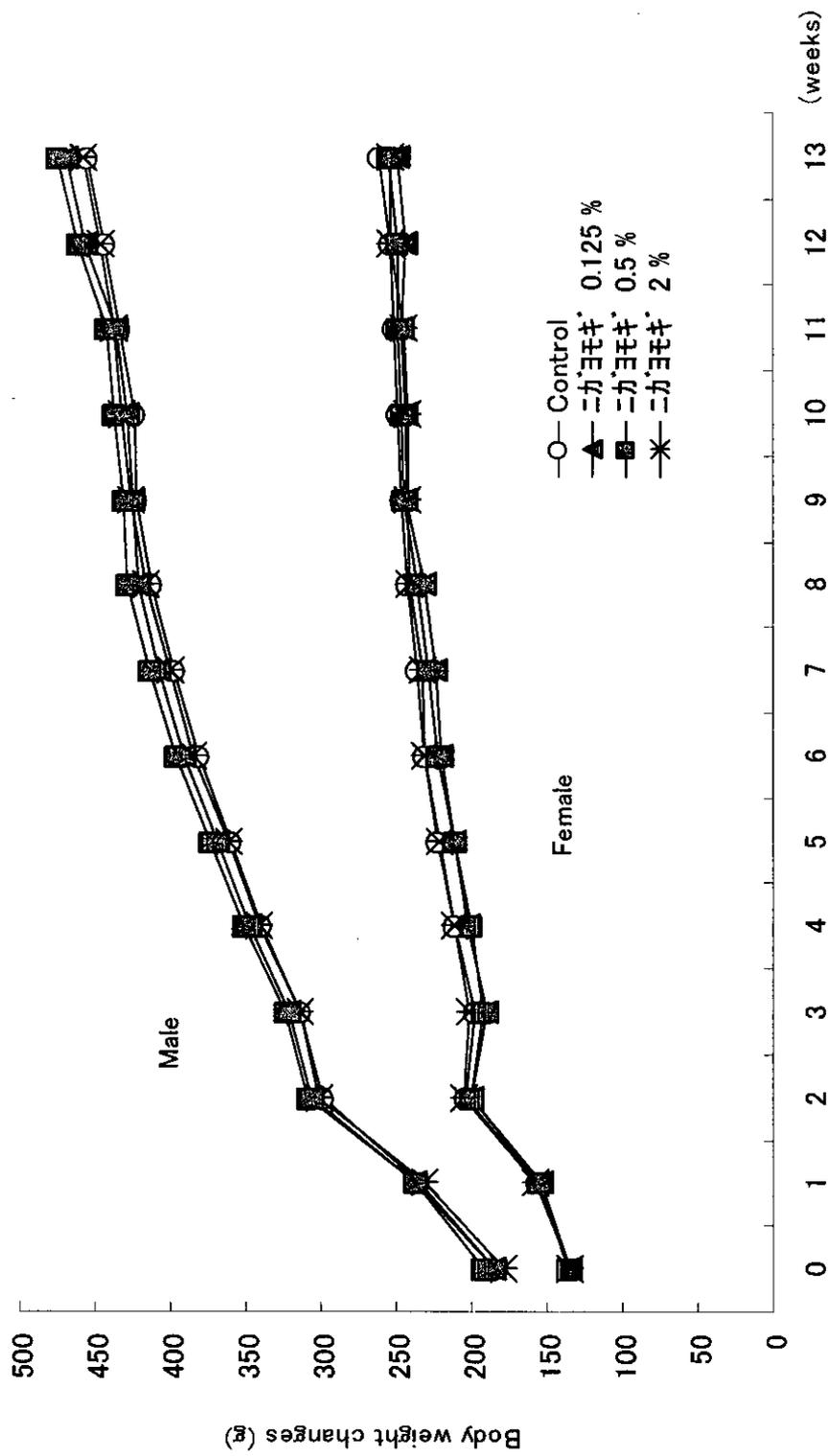


図1 体重の推移

表 1. 体重, 飲水量, 摂餌量, ニガヨモギ摂取量

Dose level (%)	No. of animals	Final body weight (g)	Water consumption (g/rat/day)	Diet intake (g/rat/day)	Daily wormwood extracts intake (g/kg/day)	
Male	0	10	455.6 ± 36.8 <sup>a)</sup>	33.1	22.1	0
	0.125	10	468.5 ± 29.0	36.4	23.3	0.10
	0.5	10	474.6 ± 40.9	34.0	24.0	0.36
	2	10	457.6 ± 22.5	29.0	21.9	1.27
-----						
Female	0	10	266.9 ± 11.7	30.1	17.9	0
	0.125	10	253.7 ± 15.1	29.8	16.8	0.15
	0.5	10	249.6 ± 15.8	27.6	18.0	0.55
	2	10	254.1 ± 14.6	26.2	17.1	2.06

a) : Mean ± S.D.

表2 血液学的検査

Dose level (%)	Control	0.125	0.5	2.0
No. of animals	10	10	10	10
<b>Male</b>				
RBC $\times 10^4/\text{mm}^3$	740.1 $\pm$ 41.9 <sup>a)</sup>	752.6 $\pm$ 28.2	743.2 $\pm$ 38.2	745.7 $\pm$ 52.9
HB g/dl	14.0 $\pm$ 0.8	14.2 $\pm$ 0.5	13.9 $\pm$ 0.6	14.0 $\pm$ 0.5
HT %	40.8 $\pm$ 2.3	41.1 $\pm$ 1.3	40.3 $\pm$ 1.9	41.1 $\pm$ 2.6
MCV $\text{m}^3$	55.2 $\pm$ 1.9	54.8 $\pm$ 1.2	54.2 $\pm$ 1.5	55.2 $\pm$ 2.2
MCH pg	18.9 $\pm$ 1.0	18.9 $\pm$ 0.9	18.7 $\pm$ 0.8	18.9 $\pm$ 1.1
MCHC %	34.3 $\pm$ 0.8	34.5 $\pm$ 0.7	34.5 $\pm$ 0.7	34.1 $\pm$ 1.5
WBC /ml	4010.0 $\pm$ 1382.8	4560.0 $\pm$ 1454.6	4180.0 $\pm$ 1048.6	3680.0 $\pm$ 626.8
Differential cell count (%)				
SEG	16.3 $\pm$ 5.6	16.4 $\pm$ 7.3	15.4 $\pm$ 6.6	17.5 $\pm$ 5.8
EOS	2.2 $\pm$ 1.1	2.1 $\pm$ 0.6	1.4 $\pm$ 0.8	2.2 $\pm$ 1.1
MONO	0.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.6 $\pm$ 0.5 **	1.0 $\pm$ 0.0
LYMP	81.5 $\pm$ 5.7	81.7 $\pm$ 7.4	82.8 $\pm$ 6.3	81.2 $\pm$ 6.3
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
<b>Female</b>				
RBC $\times 10^4/\text{mm}^3$	673.1 $\pm$ 39.6	659.8 $\pm$ 28.5	664.0 $\pm$ 32.7	678.0 $\pm$ 35.5
HB g/dl	13.8 $\pm$ 0.4	13.7 $\pm$ 0.4	13.9 $\pm$ 0.6	13.9 $\pm$ 0.6
HT %	39.1 $\pm$ 1.6	38.0 $\pm$ 1.1	38.9 $\pm$ 2.0	40.2 $\pm$ 2.3
MCV $\text{m}^3$	58.1 $\pm$ 1.7	57.8 $\pm$ 1.7	58.5 $\pm$ 1.5	59.3 $\pm$ 1.9
MCH pg	20.5 $\pm$ 0.8	20.9 $\pm$ 0.8	20.8 $\pm$ 0.6	20.5 $\pm$ 1.2
MCHC %	35.2 $\pm$ 1.0	36.2 $\pm$ 1.0	35.5 $\pm$ 0.8	34.6 $\pm$ 1.2
WBC /ml	3080.0 $\pm$ 799.7	2955.6 $\pm$ 519.9	3320.0 $\pm$ 1265.6	3500.0 $\pm$ 1364.6
Differential cell count (%)				
SEG	19.4 $\pm$ 6.2	16.9 $\pm$ 3.6	20.0 $\pm$ 8.2	13.5 $\pm$ 5.7
EOS	2.1 $\pm$ 1.6	1.2 $\pm$ 0.4	2.1 $\pm$ 1.5	2.0 $\pm$ 1.4
MONO	1.0 $\pm$ 0.0	1.5 $\pm$ 0.6	1.5 $\pm$ 0.7	1.3 $\pm$ 0.6
LYMP	78.6 $\pm$ 6.5	81.8 $\pm$ 3.9	78.2 $\pm$ 8.7	85.1 $\pm$ 6.4

a) : Mean $\pm$ S.D.

\*\* : Significantly different from the control at  $p < 0.0$

表 3 血清生化学的検査結果

Dose level (%)	Control	0.125	0.5	2.0
No. of animals	10	10	10	10
<b>Male</b>				
TP g/dl	6.0 ± 0.4 <sup>a)</sup>	6.1 ± 0.2	6.0 ± 0.4	6.4 ± 0.4 *
A/G	1.8 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.1 ± 0.3
TC mg/dl	48.0 ± 4.8	57.5 ± 10.2	57.2 ± 9.3	57.7 ± 11.5
BUN mg/dl	22.8 ± 1.2	23.5 ± 3.1	24.9 ± 2.5	26.3 ± 4.5 *
CRE mg/dl	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.04
Ca mg/dl	9.4 ± 0.4	9.7 ± 0.2	9.8 ± 0.7	10.0 ± 0.5
IP mg/dl	4.6 ± 0.5	4.8 ± 0.7	4.8 ± 0.6	4.9 ± 0.8
Na mEQ/l	147.1 ± 1.7	145.7 ± 3.0	150.2 ± 4.4	153.0 ± 5.2 **
K mU/dl	3.5 ± 0.4	3.5 ± 0.3	3.3 ± 0.4	3.4 ± 0.4
Cl mEQ/l	106.1 ± 2.3	105.7 ± 2.8	109.3 ± 4.4	111.2 ± 5.6 *
GOT IU/l	68.6 ± 11.2	74.6 ± 13.0	62.7 ± 8.7	66.9 ± 8.8
GPT IU/l	37.2 ± 5.7	41.8 ± 10.6	66.4 ± 101.4	34.1 ± 5.4
ALP IU/l	378.5 ± 91.2	340.8 ± 57.7	315.7 ± 44.3	314.8 ± 57.7
ALB g/dl	3.8 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.0 ± 0.4	4.3 ± 0.4 *
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
<b>Female</b>				
TP g/dl	6.8 ± 0.6	6.6 ± 0.6	6.6 ± 0.3	7.0 ± 0.5
A/G	2.7 ± 0.4	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.4 *	2.2 ± 0.3 *
TC mg/dl	57.6 ± 10.7	48.4 ± 7.0	49.9 ± 9.4	55.6 ± 11.7
BUN mg/dl	23.2 ± 2.0	22.6 ± 3.1	22.3 ± 3.0	23.3 ± 3.2
CRE mg/dl	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.04	0.27 ± 0.02 *	0.29 ± 0.04
Ca mg/dl	10.1 ± 0.5	9.9 ± 0.5	10.0 ± 0.4	10.5 ± 0.4
IP mg/dl	4.5 ± 0.6	4.4 ± 0.9	4.8 ± 0.4	4.6 ± 0.6
Na mEQ/l	145.9 ± 1.5	146.8 ± 1.8	146.2 ± 2.1	145.4 ± 1.1
K mEQ/l	3.1 ± 0.3	3.2 ± 0.4	3.1 ± 0.3	3.0 ± 0.3
Cl mU/dl	105.9 ± 1.9	107.3 ± 2.9	105.9 ± 0.9	104.7 ± 2.0
GOT IU/l	79.4 ± 18.3	70.5 ± 15.4	69.7 ± 9.5	73.9 ± 24.9
GPT IU/l	44.1 ± 14.6	38.9 ± 10.8	40.4 ± 8.9	51.0 ± 26.4
ALP IU/l	148.8 ± 23.0	183.2 ± 88.8	203.6 ± 88.7	145.7 ± 67.2
ALB g/dl	4.9 ± 0.4	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.4	4.8 ± 0.5

a) : Mean±S.D.

\* : Significantly different from the control at p<0.05

\*\* : Significantly different from the control at p<0.01

表4 臓器重量 (雄)

Dose level (%)	Control	0.125	0.5	2.0
No. of animals	10	10	10	10
Body weight	455.6 ± 36.8 <sup>a)</sup>	468.5 ± 29.0	474.6 ± 40.9	457.6 ± 22.5
Absolute (g)				
Brain	2.06 ± 0.05	2.05 ± 0.09	2.08 ± 0.16	2.07 ± 0.07
Heart	1.05 ± 0.09	1.06 ± 0.07	1.08 ± 0.11	1.11 ± 0.07
Lung	1.24 ± 0.10	1.24 ± 0.11	1.25 ± 0.08	1.28 ± 0.10
Liver	14.05 ± 1.00	14.67 ± 1.51	15.26 ± 1.48	15.31 ± 1.37
Kidney	2.51 ± 0.27	2.51 ± 0.28	2.59 ± 0.22	2.71 ± 0.34
Spleen	0.70 ± 0.09	0.73 ± 0.10	0.72 ± 0.11	0.74 ± 0.09
Thymus	0.36 ± 0.06	0.37 ± 0.08	0.40 ± 0.11	0.36 ± 0.06
Adrenal	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.003	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.002
Pituitary gland	0.059 ± 0.009	0.054 ± 0.008	0.058 ± 0.008	0.061 ± 0.010
Thyroid gland	0.035 ± 0.021	0.032 ± 0.021	0.027 ± 0.008	0.037 ± 0.023
Submandibular gland	0.64 ± 0.07	0.68 ± 0.07	0.68 ± 0.10	0.71 ± 0.10
Testis	3.59 ± 0.18	3.52 ± 0.39	3.66 ± 0.36	3.70 ± 0.31
-----				
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	0.45 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.44 ± 0.06	0.45 ± 0.02
Heart	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.24 ± 0.01
Lung	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.28 ± 0.02
Liver	3.09 ± 0.18	3.13 ± 0.28	3.22 ± 0.17	3.35 ± 0.28 *
Kidney	0.55 ± 0.03	0.54 ± 0.05	0.55 ± 0.05	0.59 ± 0.07
Spleen	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.02
Thymus	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.01
Adrenal	0.002 ± 0.000	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.000	0.002 ± 0.000
Pituitary gland	0.013 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.013 ± 0.002
Thyroid gland	0.008 ± 0.005	0.007 ± 0.005	0.006 ± 0.002	0.008 ± 0.006
Submandibular gland	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02
Testis	0.79 ± 0.06	0.75 ± 0.09	0.77 ± 0.06	0.81 ± 0.04

a) : Mean ± S.D.

\* : Significantly different from the control at p<0.05.

表5 臓器重量 (雌)

Dose level (%)	Control	0.125	0.5	2.0
No. of animals	10	10	10	10
Body weight	266.9 ± 11.7 <sup>a)</sup>	253.7 ± 15.1	249.6 ± 15.8 *	254.1 ± 14.6
Absolute (g)				
Brain	1.91 ± 0.08	1.90 ± 0.06	1.90 ± 0.05	1.91 ± 0.06
Heart	0.77 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.76 ± 0.04	0.96 ± 0.56
Lung	0.99 ± 0.11	0.94 ± 0.06	1.00 ± 0.07	0.96 ± 0.07
Liver	8.71 ± 0.71	8.24 ± 0.78	8.53 ± 0.96	9.07 ± 0.49
Kidney	1.76 ± 0.10	1.66 ± 0.12	1.78 ± 0.09	1.77 ± 0.12
Spleen	0.51 ± 0.08	0.49 ± 0.08	0.48 ± 0.07	0.51 ± 0.07
Thymus	0.34 ± 0.05	0.34 ± 0.05	0.32 ± 0.09	0.34 ± 0.05
Adrenal	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.014 ± 0.003	0.014 ± 0.004
Pituitary gland	0.075 ± 0.011	0.076 ± 0.008	0.080 ± 0.014	0.084 ± 0.016
Thyroid gland	0.022 ± 0.006	0.028 ± 0.010	0.026 ± 0.014	0.028 ± 0.010
Submandibular gland	0.489 ± 0.072	0.489 ± 0.067	0.462 ± 0.077	0.445 ± 0.056
Uterus	0.673 ± 0.284	0.615 ± 0.244	0.654 ± 0.312	0.597 ± 0.109
Ovary	0.097 ± 0.019	0.098 ± 0.014	0.106 ± 0.025	0.114 ± 0.023
-----				
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	0.72 ± 0.04	0.75 ± 0.04	0.77 ± 0.05	0.75 ± 0.05
Heart	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.38 ± 0.22
Lung	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.40 ± 0.03	0.38 ± 0.02
Liver	3.27 ± 0.22	3.25 ± 0.23	3.41 ± 0.25	3.58 ± 0.20 *
Kidney	0.66 ± 0.03	0.66 ± 0.05	0.72 ± 0.06	0.70 ± 0.06
Spleen	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.03
Thymus	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.02
Adrenal	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001
Pituitary gland	0.028 ± 0.003	0.030 ± 0.003	0.032 ± 0.005	0.033 ± 0.006
Thyroid gland	0.008 ± 0.002	0.011 ± 0.004	0.010 ± 0.005	0.011 ± 0.003
Submandibular gland	0.184 ± 0.030	0.193 ± 0.023	0.184 ± 0.026	0.175 ± 0.023
Uterus	0.253 ± 0.109	0.244 ± 0.100	0.259 ± 0.112	0.236 ± 0.045
Ovary	0.036 ± 0.006	0.039 ± 0.006	0.043 ± 0.010	0.045 ± 0.008

a) : Mean ± S.D.

\* : Significantly different from the control at p<0.05.