

Table 10 Hematological data for F344 female rats given Jojoba Wax for 90 days.

Item	Dose level (%)				
	0	0.625	1.25	2.5	5
WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	41.4 \pm 1.3 ^{a)}	50.0 \pm 7.1	34.6 \pm 7.0	52.4 \pm 11.5	41.2 \pm 10.9
RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	889 \pm 38	896 \pm 34	893 \pm 51	833 \pm 18 ^{b)}	890 \pm 32
Hb (g/dL)	16.4 \pm 0.5	16.3 \pm 0.5	16.4 \pm 0.9	15.2 \pm 0.4 ^{c)}	16.1 \pm 0.7
Ht (%)	51.9 \pm 1.3	51.1 \pm 1.9	51.4 \pm 2.4	46.8 \pm 1.1 ^{d)}	50.5 \pm 1.7
MCV (fL)	57.8 \pm 0.7	57.1 \pm 0.4	57.6 \pm 0.7	56.2 \pm 0.4 ^{c)}	56.7 \pm 0.4 ^{b)}
MCH (pg)	18.2 \pm 0.1	18.2 \pm 0.1	18.4 \pm 0.1 ^{b)}	18.2 \pm 0.3	18.1 \pm 0.1
MCHC (g/dL)	31.5 \pm 0.4	31.8 \pm 0.2	31.8 \pm 0.3	32.4 \pm 0.5 ^{b)}	31.9 \pm 0.4
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	83.6 \pm 8.6	78.5 \pm 6.0	82.4 \pm 4.3	64.6 \pm 20.7	87.6 \pm 8.3
Differential cell counts (%)					
Neutro	78.4 \pm 7.8	76.3 \pm 4.2	70.9 \pm 3.3	76.1 \pm 2.8	73.7 \pm 3.2
Eosino	1.5 \pm 1.0	3.4 \pm 5.1	1.6 \pm 1.0	2.1 \pm 0.5	3.0 \pm 4.8
Baso	0.10 \pm 0.10	0.40 \pm 0.50	0.10 \pm 0.10	0.20 \pm 0.20	0.20 \pm 0.20
Lymph	17.0 \pm 6.1	15.3 \pm 4.1	23.3 \pm 4.8	14.5 \pm 3.8	20.9 \pm 6.5
Mono	3.0 \pm 2.4	4.6 \pm 4.1	4.2 \pm 2.6	3.0 \pm 0.7	2.2 \pm 1.1

a) Mean \pm SD.

b-d) Significantly different from the control group by Student's t-test (^bP<0.02, ^cP<0.005, ^dP<0.001).

Table 11 Serum biochemical data for F344 male rats given Jojoba Wax for 90 days.

Item	Dose level (%)				
	0	0.625	1.25	2.5	5
TP (g/dL)	6.4 ± 0.1 ^{a)}	6.7 ± 0.2 ^{b)}	6.5 ± 0.4	6.5 ± 0.2	6.4 ± 0.2
Alb (g/dL)	2.9 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.2	2.9 ± 0.1	3.0 ± 0.2
A/G	0.84 ± 0.02	0.81 ± 0.01 ^{b)}	0.84 ± 0.03	0.82 ± 0.03	0.90 ± 0.08
AST (IU/L)	144 ± 43	93 ± 15	119 ± 30	108 ± 25	141 ± 37
ALT (IU/L)	84 ± 15	83 ± 15	102 ± 22	68 ± 10	116 ± 35
ALP (IU/L)	464 ± 23	460 ± 74	452 ± 44	441 ± 38	554 ± 41 ^{c)}
γ-GTP (IU/L)	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
T.Bil (mg/dL)	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1
TC (mg/dL)	69 ± 4	77 ± 4 ^{b)}	78 ± 12	80 ± 9 ^{d)}	87 ± 5 ^{e)}
TG (mg/dL)	79 ± 24	111 ± 28	109 ± 51	61 ± 16	78 ± 22
BUN (mg/dL)	25.5 ± 1.6	22.7 ± 2.3	22.8 ± 1.9 ^{d)}	23.3 ± 1.4 ^{d)}	27.9 ± 3.2
Cr (mg/dL)	0.41 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.39 ± 0.03	0.42 ± 0.02	0.54 ± 0.11 ^{d)}
Na (mEq/dL)	140 ± 1	142 ± 2	141 ± 2	144 ± 2 ^{e)}	137 ± 7
Cl (mEq/dL)	98 ± 1	97 ± 1	97 ± 2	99 ± 1	97 ± 2
K (mEq/dL)	9.2 ± 2.6	9.4 ± 0.6	9.6 ± 0.7	7.8 ± 0.4	14.4 ± 7.1
Ca (mg/dL)	11.5 ± 0.9	12.0 ± 0.8	11.7 ± 0.5	11.3 ± 0.6	11.0 ± 0.6
IP (mg/dL)	7.9 ± 1.4	8.3 ± 1.0	8.3 ± 0.8	8.2 ± 0.8	11.9 ± 3.7

a) Mean ± SD.

b-e) Significantly different from the control group by Student's t-test (^bP<0.02, ^cP<0.005, ^dP<0.05, ^eP<0.001).

Table 12 Serum biochemical data for F344 female rats given Jojoba Wax for 90 days.

Item	Dose level (%)				
	0	0.625	1.25	2.5	5
TP (g/dL)	6.3 ± 0.3	6.1 ± 0.4	6.2 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.2 ± 0.3
Alb (g/dL)	3.0 ± 0.2	2.9 ± 0.2	2.9 ± 0.0	3.1 ± 0.1	2.9 ± 0.2
Al/G	0.93 ± 0.04	0.90 ± 0.04	0.87 ± 0.03 ^{b)}	0.92 ± 0.05	0.91 ± 0.05
AST (IU/L)	109 ± 3	109 ± 7	113 ± 11	118 ± 8	137 ± 19 ^{c)}
ALT (IU/L)	54 ± 5	47 ± 2 ^{d)}	49 ± 5	58 ± 12	72 ± 14 ^{e)}
ALP (IU/L)	268 ± 33	256 ± 31	289 ± 61	308 ± 35	468 ± 100 ^{e)}
γ-GTP (IU/L)	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
T.Bil (mg/dL)	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1
TC (mg/dL)	106 ± 7	97 ± 11	101 ± 13	112 ± 10	117 ± 16
TG (mg/dL)	101 ± 25	71 ± 30	87 ± 35	90 ± 17	105 ± 13
BUN (mg/dL)	22.0 ± 2.0	22.2 ± 2.7	24.0 ± 3.1	29.7 ± 3.8 ^{f)}	30.2 ± 3.6 ^{f)}
Cr (mg/dL)	0.45 ± 0.02	0.48 ± 0.04	0.52 ± 0.05 ^{d)}	0.48 ± 0.02 ^{b)}	0.48 ± 0.03
Na (mEq/dL)	143 ± 2	143 ± 1	143 ± 2	143 ± 1	142 ± 2
Cl (mEq/dL)	98 ± 2	100 ± 1	100 ± 1	98 ± 1	99 ± 2
K (mEq/dL)	9.9 ± 1.5	8.5 ± 1.9	8.1 ± 0.3	10.3 ± 1.4	9.4 ± 2.3
Ca (mg/dL)	11.0 ± 0.2	10.9 ± 0.4	10.6 ± 0.5	11.2 ± 0.3	10.9 ± 0.6
IP (mg/dL)	7.3 ± 0.6	6.4 ± 1.1	6.1 ± 0.6 ^{d)}	7.7 ± 0.8	7.3 ± 1.2

a) Mean ± SD.

b,d,f) Significantly different from the control group by Student's t-test (^bP<0.05, ^dP<0.02, ^fP<0.005).

c,e) Significantly different from the control group by Welch's t-test (^cP<0.05, ^eP<0.01).

Item	Dose level (%)				
	0	0.625	1.25	2.5	5
Body weight(g)	300 ± 17 ^{a)}	317 ± 12	314 ± 19	289 ± 17	279 ± 12
Absolute (g)					
Brain	2.08 ± 0.08	1.93 ± 0.16	2.12 ± 0.19	1.92 ± 0.14	2.14 ± 0.09
Lung	1.81 ± 0.24	1.95 ± 0.35	1.88 ± 0.21	1.82 ± 0.23	2.09 ± 0.21
Heart	0.86 ± 0.06	0.89 ± 0.06	0.90 ± 0.08	0.86 ± 0.05	0.83 ± 0.07
Spleen	0.56 ± 0.04	0.62 ± 0.03 ^{b)}	0.64 ± 0.04 ^{c)}	0.61 ± 0.05	0.62 ± 0.05
Pancreas	1.44 ± 0.35	1.28 ± 0.37	1.53 ± 0.53	1.36 ± 0.33	1.57 ± 0.22
Liver	8.35 ± 0.85	9.04 ± 0.72	8.78 ± 0.76	8.31 ± 1.06	8.29 ± 0.82
Adrenals	0.056 ± 0.011	0.054 ± 0.006	0.057 ± 0.006	0.054 ± 0.005	0.052 ± 0.007
Kidneys	2.13 ± 0.15	2.35 ± 0.14 ^{b)}	2.32 ± 0.12	2.38 ± 0.53	2.21 ± 0.09
Testes	3.03 ± 0.13	3.19 ± 0.17	3.17 ± 0.15	3.13 ± 0.21	3.14 ± 0.18
Relative (g/100g B.W.)					
Brain	0.70 ± 0.05	0.61 ± 0.06 ^{b)}	0.68 ± 0.10	0.67 ± 0.05	0.77 ± 0.03 ^{b)}
Lung	0.60 ± 0.07	0.62 ± 0.12	0.60 ± 0.08	0.64 ± 0.11	0.75 ± 0.09 ^{c)}
Heart	0.29 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02
Spleen	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.01 ^{d)}
Pancreas	0.48 ± 0.11	0.41 ± 0.13	0.49 ± 0.17	0.47 ± 0.10	0.56 ± 0.08
Liver	2.79 ± 0.27	2.85 ± 0.20	2.79 ± 0.16	2.87 ± 0.30	2.97 ± 0.24
Adrenals	0.019 ± 0.004	0.017 ± 0.002	0.018 ± 0.001	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.002
Kidneys	0.71 ± 0.02	0.74 ± 0.04	0.74 ± 0.05	0.83 ± 0.19	0.79 ± 0.02 ^{e)}
Testes	1.01 ± 0.04	1.01 ± 0.06	1.01 ± 0.07	1.09 ± 0.10	1.13 ± 0.09 ^{b)}

a) Mean ± SD.

b-e) Significantly different from the control group by Student's t-test (^bP<0.05, ^cP<0.02, ^dP<0.002, ^eP<0.001).

Table 14 Organ weights of F344 female rats given Jojoba Wax for 90 days.

Item	Dose level (%)				
	0	0.625	1.25	2.5	5
Body weight(g)	163 ± 5 ^{a)}	163 ± 4	164 ± 6	155 ± 7	151 ± 7 ^{b)}
Absolute (g)					
Brain	1.88 ± 0.19	1.87 ± 0.17	1.79 ± 0.21	1.87 ± 0.15	1.79 ± 0.15
Lung	1.29 ± 0.19	1.23 ± 0.11	1.22 ± 0.07	1.17 ± 0.10	1.16 ± 0.11
Heart	0.51 ± 0.04	0.53 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.50 ± 0.02	0.47 ± 0.02
Spleen	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.34 ± 0.03
Pancreas	1.03 ± 0.23	0.96 ± 0.10	0.98 ± 0.15	0.94 ± 0.18	0.90 ± 0.20
Liver	4.57 ± 0.24	4.42 ± 0.48	4.55 ± 0.37	4.27 ± 0.36	4.17 ± 0.31
Adrenals	0.053 ± 0.005	0.054 ± 0.006	0.056 ± 0.005	0.053 ± 0.006	0.049 ± 0.008
Kidneys	1.23 ± 0.06	1.21 ± 0.09	1.22 ± 0.08	1.21 ± 0.07	1.13 ± 0.06 ^{c)}
Ovary	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Uterus	0.55 ± 0.20	0.64 ± 0.22	0.53 ± 0.09	0.56 ± 0.11	0.46 ± 0.07
Relative (g/100g B.W.)					
Brain	1.16 ± 0.10	1.15 ± 0.10	1.09 ± 0.12	1.21 ± 0.12	1.79 ± 0.15 ^{d)}
Lung	0.80 ± 0.11	0.75 ± 0.06	0.74 ± 0.03	0.75 ± 0.05	0.77 ± 0.07
Heart	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.31 ± 0.02
Spleen	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01
Pancreas	0.63 ± 0.13	0.59 ± 0.07	0.60 ± 0.08	0.61 ± 0.11	0.59 ± 0.12
Liver	2.81 ± 0.11	2.71 ± 0.31	2.77 ± 0.20	2.76 ± 0.23	2.77 ± 0.13
Adrenals	0.033 ± 0.003	0.033 ± 0.004	0.034 ± 0.003	0.034 ± 0.003	0.032 ± 0.005
Kidneys	0.76 ± 0.02	0.74 ± 0.06	0.75 ± 0.04	0.79 ± 0.04	0.75 ± 0.02
Ovary	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
Uterus	0.33 ± 0.12	0.39 ± 0.13	0.32 ± 0.05	0.36 ± 0.07	0.31 ± 0.05

a) Mean ± SD.

b-d) Significantly different from the control group by Student's t-test (^bP<0.02, ^cP<0.05, ^dP<0.001).

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 年度分担研究報告書

アウレオバジウム培養液の安全性評価に関する研究
分担研究者 鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科 助教授

研究要旨： 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。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。そのため、安全性評価の一環としてラットを用いた 90 日間の反復投与毒性試験を実施した。アウレオバジウム培養液の投与量は、予備試験に基づき、最高用量を混餌投与の上限とされる 5%とし、中間用量および低用量は最高用量に対して公比 3 で除して、1.67%および 0.56%の用量に設定した。各濃度の飲料水を 90 日間自由に摂取させ、対照群には水道水のみを同様に摂取させた。飲料水は毎週 2 回交換し、週に 1 回体重および摂餌量を測定した。投与期間中、一般状態の観察を連日実施した。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、血液学的検査、血清生化学的検査および病理学的検査を実施した。その結果、アウレオバジウム培養液を雌雄のラットに 90 日間飲料水に混じ投与しても明らかな毒性影響が認められなかったことより、無毒性量は 5%と考えられた。

A. 研究目的

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。今回の研究では、アウレオバジウム培養液の 90 日反復投与毒性試験を施行し、その安全性を評価することを目的とした。

B. 研究方法

<動物並びに飼育条件>

5 週齢の F344 ラット (F344/DuCrj) 雌雄各 40 匹を日本チャールス・リバー社 (厚木) 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 4 群に配した。動物の飼育はバリヤーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 24 ± 1 °C、湿度 55 ± 5 %、換気回数 15 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。

<被験物質および投与用量>

アウレオバジウム培養液は株式会社ソフィー (高知) から提供された原体を飲料水に混ぜたものを検体として使用した。本品はアウレオバジウム菌 (黒酵母) の培養液より分離し、滅菌して得られる粘稠な黄色の液体で、僅かに独特な味、香り、酸味がある。基礎飼料に混じ投与する方法も考えられたが、混餌投与の上限とされる 5%では、乾燥し、長期の安定性を確認する分析が困難なため、飲料水に混じ投与することとした。予備試験より投与最高用量は混餌投与の上限とされる 5%とし、また、中間用量および低用量は最高用量に対して公比 3 で除し、1.67%および 0.56%の用量に設定した。検体は週に 2 回交換し、それぞれの濃度の検体飲料水を 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。

<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、摂水量は毎週 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。

血液学的検査は、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、(株) 三菱化学ビーシーエル (大阪) に依頼し測定した。血清生化学的検査は、分離した血清を、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) および γ -グルタミルトランスフェプチダーゼ (γ -GT) について (株) 三菱化学ビーシーエル (大阪) に依頼し測定した。

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、子宮、卵巣および膣を 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雌雄の各 5 %群と対照群のみ実施した。

<統計学的処理法>

体重、摂餌量、臓器重量、血液検査、血液化学的検査各項目について、ANOVA による解析を行い、群間に有意差が観察された場合は、Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群の間で有意差検定を行なった。

C. 研究結果

<一般状態および死亡動物>

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。

<体重および摂餌量>

試験期間中の各群の体重推移を Fig. 1 に示す。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。

試験期間中の摂餌量の推移を Figure 2 に示す。ラット一日当りの平均摂餌量は、雌雄ともに各群の有意な差は認められなかった。摂水量の推移を

Figure 3 に示す。ラット一日当りの平均摂水量は雌雄ともに各群の有意な差は認められなかった。すなわち、アウレオバジウム培養液の摂取量は雌雄とも 5%投与、1.67%投与、0.56%投与でそれぞれ用量に依存している。

<最終体重と臓器重量>

最終体重、臓器の実重量および相対重量の結果を Table 1 および Table 2 に示す。雌雄とも最終体重、各臓器の実重量および相対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。

<血液学的検査>

血液学的検査の結果を Table 3 に示す。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、対照群に比較して有意に減少を示した。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。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>

血清生化学的検査の結果を Table 4 に示す。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。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>

病理組織学的検索の結果、雌に肝に巣状に軽度の小肉芽腫および髄外造血、雄では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。しかし、雌雄ともにアウレオバジウム培養液の投与に起因すると思われる病変は認められなかった。

D. 考察

今回、F344 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。その結果、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、雌の肝に巣状に軽度の小肉芽腫および髄外造血、雄では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。しかしながら、これらの変化はF344ラットでの自然発生病変であ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。

E. 結論

アウレオバジウム培養液を飲料水に混じて90日間雌雄のラットに投与したところ、無毒性量は5%と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
 - 10) 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.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
 - 13) 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.
 - 14) 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.
 - 15) 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.
 - 16) 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.
 - 17) 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.
 - 18) 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.
 - 19) 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.
 - 20) 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.
 - 21) 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.
 - 22) 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.
 - 23) Mitsuhashi, M., Wanibuchi, H., Wei, M., Doi, K., Morimura, K., Masuda, C., Wads, S., Nakatani, T., Kakizoe, T. 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.

- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.

2. 学会発表

シンポジウム・講演

- 1) 鰐淵英機、福島昭治: 砒素発がんの実験的証明とその機序. シンポジウム講演, 第13回日本微量元素学会, 7月4-5日, 千葉, 2002
- 2) 鰐淵英機、森村圭一朗、津田洋幸、白井智之、中江大、小西陽一、立松正衛、福島昭治: MeIQxとDENの低用量複合投与によるラット肝発がん性のリスク評価. ワークショップ, 第61回日本癌学会総会, 10月1-3日, 東京, 2002
- 3) Wanibuchi, H., Ichihara, T., Morimura, K. and Fukushima, S.: Chemopreventive effects of ginseng on rat carcinogenesis. The 8th international symposium on ginseng, Oct. 28-31, Seoul, Korea, 2002 (*Advances in Ginseng Research* 2002 277, p.277-287)
- 4) Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Toxicity versus beneficial effects of phytoestrogens. SCOPE/IUPAC, International Symposium on Endocrine Active Substances, Nov.17-21, Yokohama, Japan, 2002 (Book of Abstracts, Topic3-Subtopic 9, p.38)
- 5) 鰐淵英機: 遺伝子傷害性と非遺伝子傷害性発がん物質についての最近の知見-遺伝毒性発がん物質の低用量域の発がんリスク評価および非遺伝毒性発がん物質のホルミシス現象-日本毒性病理学会第3回教育セミナー, 11月28日, 名古屋, 2002 (日本毒性病理学会第3回教育セミナープログラム集)
- 6) Wanibuchi, H., Kinoshita, A., Wei, M., Salim, E.I. and Fukushima, S.: Carcinogenic potential of dimethylarsinic acid and its underlying mechanisms. American/Japan Conference on Arsenic in Medicine and Biology, Dec. 11-15, Honolulu, Hawaii, 2002 (Book of Abstracts, Session 4, p.20)

一般講演

- 7) 鰐淵英機、小川元女、三橋誠、魏民、森村圭一朗、福島昭治: 有機ヒ素化合物、ジメチルアルシン酸の水腎症ラット尿路系発がんに及ぼす影響. 第91回日本病理学会総会, 3月26-28日, 横浜, 2002
- 8) 鰐淵英機、河津敏明、魏民、土井賢一郎、内藤沙紀、森村圭一朗、田中麗子、吉武彬、福島昭治: 新規トリテルペンPJJ-34のラット多臓器発がんモデルを用いた発がん抑制作用の検討. 第9回日本がん予防研究会, 7月15-16日, 熊本, 2002
- 9) 鰐淵英機、星学、森村圭一朗、福島昭治: 発がん物質の低用量発がんリスクの評価. 第2回分子予防環境医学研究会, 12月20-21日, 東京, 2002
- 10) 鰐淵英機、カリム レザウル、カン ジン ソック、李昌治、森村圭一朗、福島昭治: MeIQxの低用量発がん性に及ぼすアルコール摂取の影響. 第19回日本毒性病理学会, 1月23-24日, 東京, 2003

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

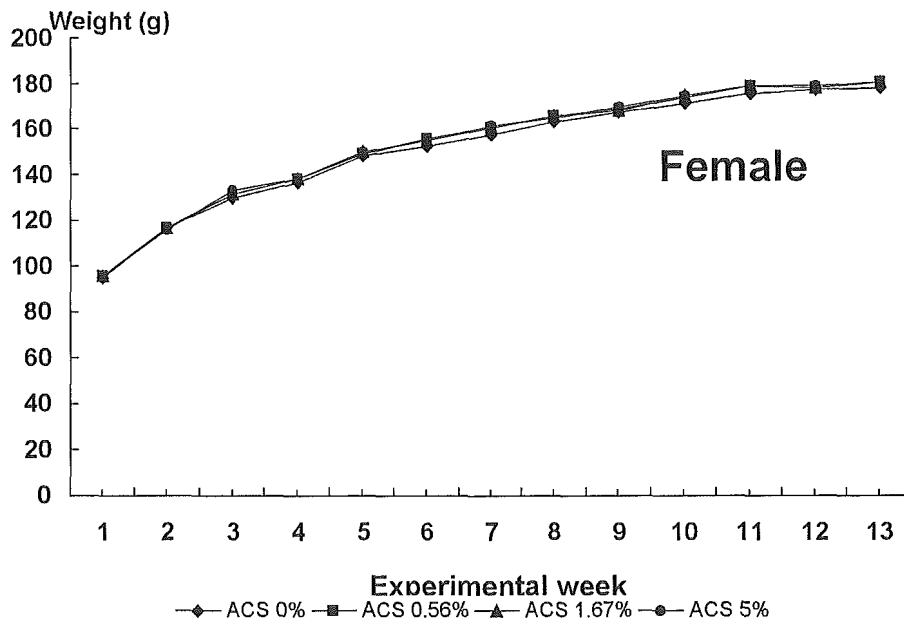
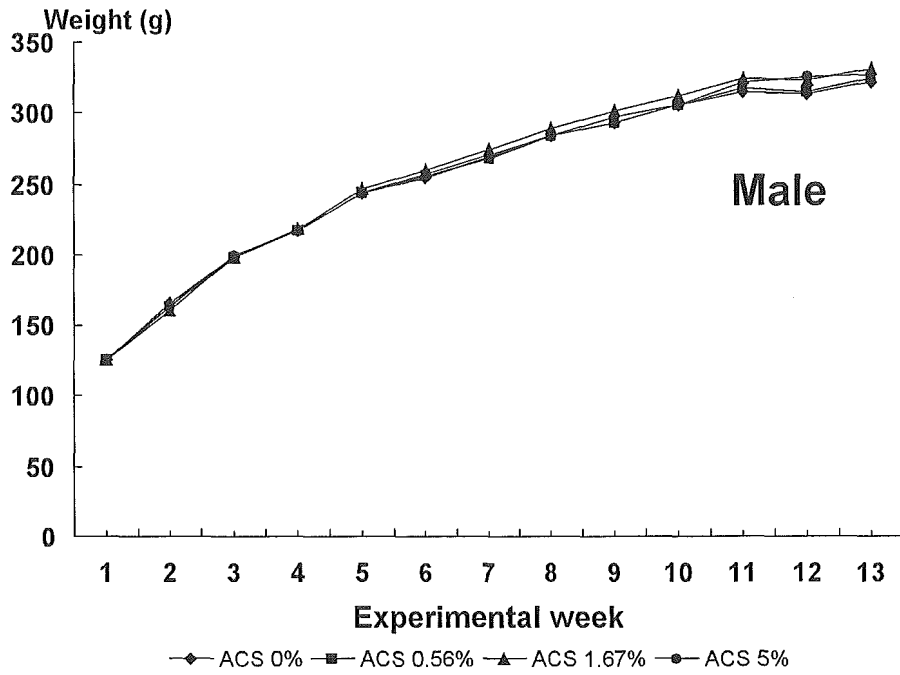


Figure 1 Growth curve of male and female F344 rats treated with Aureobasidium cultured solution (ACS) in drinking water for 90 days.

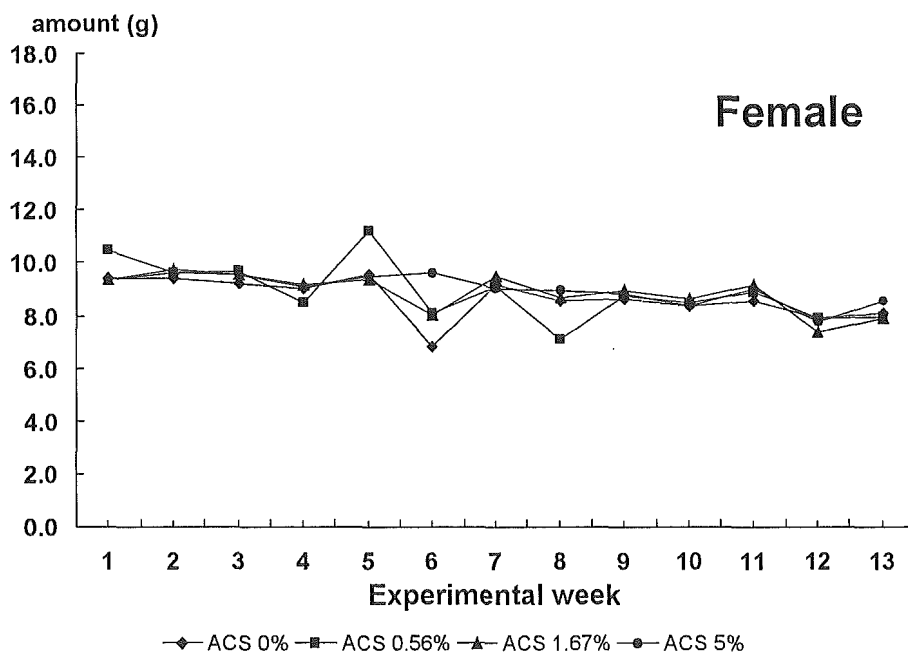
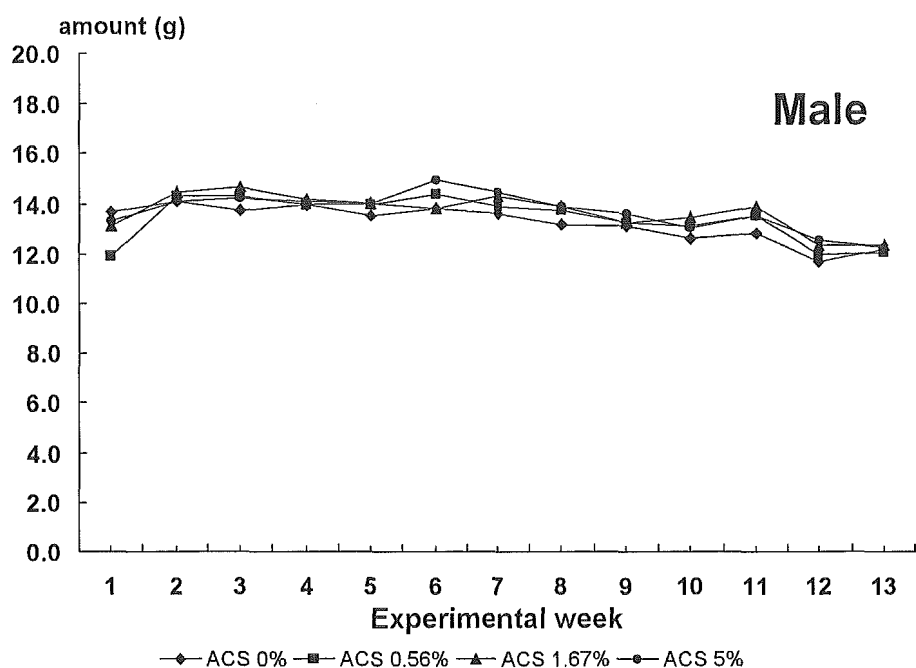


Figure 2 Food intake of male and female F344 rats treated with Aureobasidium cultured solution (ACS) in drinking water for 90 days.

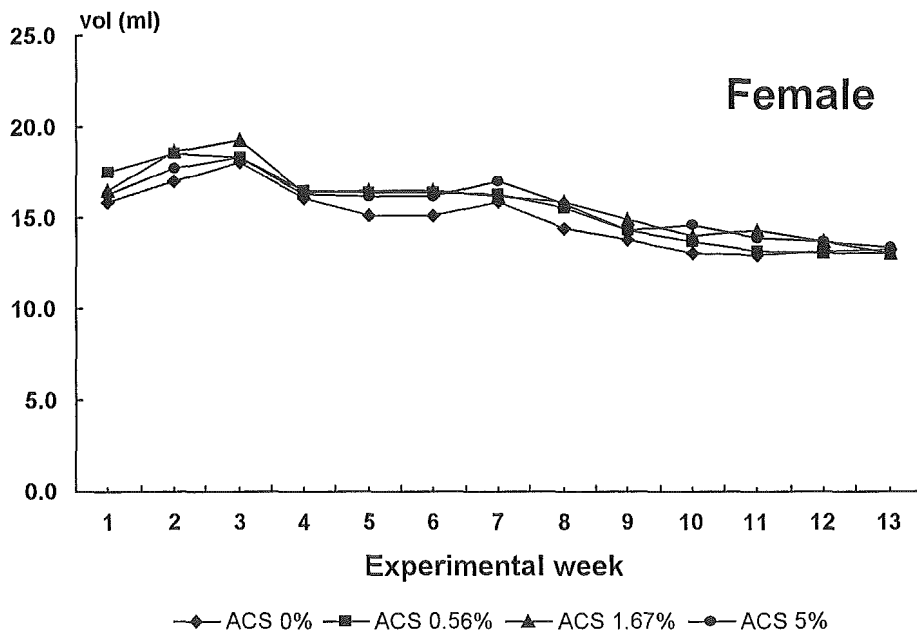
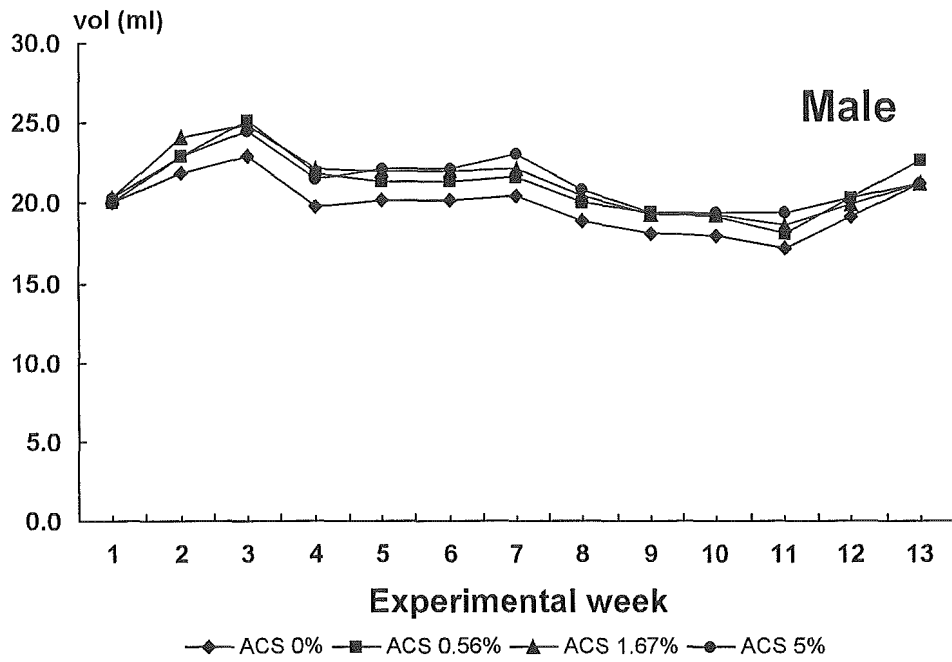


Figure 3 Water consumption of male and female F344 rats treated with Aureobasidium cultured solution (ACS) in drinking water for 90 days.

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 年度分担研究報告書

マスチックの安全性評価に関する研究
分担研究者 鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科 助教授

研究要旨： 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。マスチックは変異原性が陰性であるが、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。そのため、安全性評価の一環としてラットを用いた 90 日間の反復投与毒性試験を実施した。マスチックの投与量は、予備試験に基づき、最高用量を 2% とし、以下公比 3 で除して 0.67% および 0.22 % の用量を設定した。各濃度の CRF-1 粉末飼料を 90 日間自由に摂取させ、対照群には 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。投与期間中、一般状態の観察を連日実施した。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、血液学的検査、血清生化学的検査および病理学的検査を実施した。その結果、マスチックを雌雄のラットに 90 日間混餌投与して場合に多くの検査項目で 0.67% 以上の投与量で用量相関性に変化が見られ、特に雄では最低用量の 0.22% から用量相関性に、相対肝重量の増加が認められた。これら結果から、雄の無毒性量は 0.22% 以下で、今回の研究では決定できず、雌では 0.22% と考えられた。

A. 研究目的

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。マスチックはこれまで、既存添加物として用いられてきているが、未だその安全性は評価されていない。今回の研究では、マスチックの 90 日反復投与毒性試験を施行し、その安全性を評価することを目的とした。

B. 研究方法

<動物並びに飼育条件>

5 週齢の F344 ラット (F344/DuCrj) 雌雄各 40 匹を日本チャールス・リバー社 (厚木) 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 4 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±1 °C、湿度 55±5 %、換気回数 12 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。

<被験物質>

マスチックは株式会社ロッテ (埼玉) から提供された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。本品はウルシ科ヨウニュウコウ (*Pistacia lentiscus* LINNE) の分泌液から抽出され、マスチカジエノン酸を主成分とする黄白色透明のガラス状の破断面を呈する固体で芳香がある。

<予備試験の実施並びに本試験投与量>

予備試験としてマスチックをラット飼育食 (CRF-1, オリエンタル酵母) に 5%、0.56% の濃度で添加した試験食とコントロール食 (CRF-1) を F344 ラット、雌雄、6 週齢、各群 5 匹に粉末飼料として、自由に摂餌させた。試験食は室温保存下で充分安定で、ほとんど分解されないことが示されていた。試験食投与により、一般状態は各群ともに良好で、対照群に比べ有意な差は認めなかった。1 週間後の体重はマスチック 5% 群の雄で 132g と対照群の 147g に比べ有意に増加抑制が見られ、また摂餌量も同群で 9.3g と対照群の 12.5g に比べ、少ない傾向が示され、摂水量は 15.5g と対照群の 18.5g に比べ有意に少ないこと

が明らかとなった。一方、雌ラットにおいては、5%マスチック群と対照群で体重、摂餌量、摂水量には有意な差異はみられなかった。試験食投与1週間後の各群の内臓諸臓器は肉眼的には異常な所見は認めなかった。相対肝重量は雄5%マスチック群で5.6g、雌5%マスチック群で5.7%とそれぞれ対照群の4.1%および3.9%に比べ有意に増加していた。また、相対脾重量は雄マスチック5%群でのみ0.30%と対照群の0.35%に比べ有意に減少していた。以上の結果より、マスチック5%投与はラットに短期の毒性をもたらしていることが明らかとなり、1週間投与で対照群より11%程度の体重減少がみられることより、90日反復毒性試験にもちいるマスチックの濃度は5%より低めの2%を最高用量とした。また、中間用量および低用量は最高用量に対して公比3で除し、0.67%および0.22%の用量に設定した。本試験では、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、対照群にはCRF・1粉末飼料のみを同様に摂取させた。

<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、摂水量は毎週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。

血液学的検査は、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、(株)三菱化学ビーシーエル(大阪)に依頼し測定した。血清生化学的検査は、分離した血清を、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)およびγ-グルタミルトランスペプチダーゼ(γ-GT)について(株)三菱化学ビーシーエル(大阪)に依頼し測定した。

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、子宮、卵巣および膣を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雌雄の各2%群と対照群のみ実施した。

<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、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。

C. 研究結果

<一般状態および死亡動物>

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。

<体重および摂餌量>

試験期間中の各群の体重推移をFig. 1に示す。雄では、2%投与群で1週間後より対照群に比較し有意に体重が低く、最終の90日までその低体重は認められた。雌では8週間後と最終の90日で、2%投与群で対照群に比較し有意に体重が低かった。

試験期間中の摂餌量および摂水量をTable 1、Table 2に示す。ラット一日当りの平均摂餌量は、雌雄ともに有意な群間差は認められなかった。

<血液学的検査>

血液学的検査の結果をTable 3に示す。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。分核好中級とリンパ球分画は、中間用量の0.67%投与群で対照群と比較して有意に増加していた。一方、雌では明らかな差異は認めなかった。

<血清生化学的検査>

血清生化学的検査の結果をTable 4に示す。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。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、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。他の項目では有意差は認められなかった。

<最終体重と臓器重量>

最終体重、臓器実重量および相対臓器重量の結果Table 4、Table 5に示す。最終体重は雄では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。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。胸腺は実重量が、雄では0.22%以上の投与群で、雌では0.22%のみで減少を示した。

<病理組織学的検索>

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髓外造血、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2%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、腎に腎尿管腫大、尿管の硝子滴沈着が観察されたが、対照群および2%投与群に同程度であった。また、雌では1例に副腎皮質の局所的な萎縮が見られた。しかし、雌雄ともにマスの投与に起因すると思われる病変は認められなかった。

D. 考察

今回、F344 ラットを用いてマスの混餌投与による90日間亜慢性毒性試験を実施した。その結果、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つての変化で、マスの投与による変化と考えるとよいと思われた。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、マスの投与による変化と考えるとよいと思われた。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、マスの投与による変化と考えるとよいと思われた。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、雄では肝臓に小肉芽腫および髓外造血、腎臓に好塩基性尿管および硝子滴の沈着、心筋に軽度の炎症性細胞浸潤、雌では肝臓に小肉芽腫および髓外造血、腎臓に鉍質沈着、心筋に軽度の炎症性細胞浸潤が観察された。しかしながら、これらの変化はF344ラットでの自然発生病変であ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%からマスの投与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。

E. 結論

マスクを混餌で90日間雌雄のラットに投与したところ、雄の無毒性量は0.22%以下で今回の研究では決定できず、雌では0.22%と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.

- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) Karim, R., Wanibuchi, H., Wei, M., Morimura, K., Salim, E.I. and Fukushima, S.: Enhancing risk of ethanol on MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis is accompanied with increased levels of cellular proliferation and oxidative stress. *Cancer Lett.*, 192, 37-47, 2003.
- 23) Mitsuhashi, M., Wanibuchi, H., Wei, M., Doi, K., Morimura, K., Masuda, C., Wads, S., Nakatani, T., Kakizoe, T. 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.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.

2. 学会発表

シンポジウム・講演

- 1) 鰐淵英機、福島昭治: 砒素発がんの実験的証明とその機序. シンポジウム講演, 第13回日本微量元素学会, 7月4-5日, 千葉, 2002

- 2) 鰐淵英機、森村圭一朗、津田洋幸、白井智之、中江 大、小西陽一、立松正衛、福島昭治: MeIQx と DEN の低用量複合投与によるラット肝発がん性のリスク評価. ワークショップ, 第 61 回日本癌学会総会, 10 月 1-3 日, 東京, 2002
- 3) Wanibuchi, H., Ichihara, T., Morimura, K. and Fukushima, S.: Chemopreventive effects of ginseng on rat carcinogenesis. The 8th international symposium on ginseng, Oct. 28-31, Seoul, Korea, 2002 (Advances in Ginseng Research 2002 277, p.277-287)
- 4) Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Toxicity versus beneficial effects of phytoestrogens. SCOPE/IUPAC, International Symposium on Endocrine Active Substances, Nov.17-21, Yokohama, Japan, 2002 (Book of Abstracts, Topic3-Subtopic 9, p.38)
- 5) 鰐淵英機: 遺伝子傷害性と非遺伝子傷害性発がん物質についての最近の知見—遺伝毒性発がん物質の低用量域の発がんリスク評価および非遺伝毒性発がん物質のホルミシス現象—日本毒性病理学会第 3 回教育セミナー, 11 月 28 日, 名古屋, 2002 (日本毒性病理学会第 3 回教育セミナープログラム集)
- 6) Wanibuchi, H., Kinoshita, A., Wei, M., Salim, E.I. and Fukushima, S.: Carcinogenic potential of dimethylarsinic acid and its underlying mechanisms. American/Japan Conference on Arsenic in Medicine and Biology, Dec. 11-15, Honolulu, Hawaii, 2002 (Book of Abstracts, Session 4, p.20)
- 一般講演
- 7) 鰐淵英機、小川元女、三橋 誠、魏 民、森村圭一朗、福島昭治: 有機ヒ素化合物、ジメチルアルシン酸の水腎症ラット尿路系発がん性及び影響. 第 91 回日本病理学会総会, 3 月 26-28 日, 横浜, 2002
- 8) 鰐淵英機、河津敏明、魏 民、土井賢一郎、内藤沙紀、森村圭一朗、田中麗子、吉武 彬、福島昭治: 新規トリテルペン PJJ-34 のラット多臓器発がんモデルを用いた発がん抑制作用の検討. 第 9 回日本がん予防研究会, 7 月 15-16 日, 熊本, 2002
- 9) 鰐淵英機、星 学、森村圭一朗、福島昭治: 発がん物質の低用量発がんリスクの評価. 第 2 回分子予防環境医学研究会, 12 月 20-21 日, 東京, 2002
- 10) 鰐淵英機、カリム レザウル、カン ジン ソック、李 昌治、森村圭一朗、福島昭治: MeIQx の低用量発がん性に及ぼすアルコール摂取の影響. 第 19 回日本毒性病理学会, 1 月 23-24 日, 東京, 2003

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

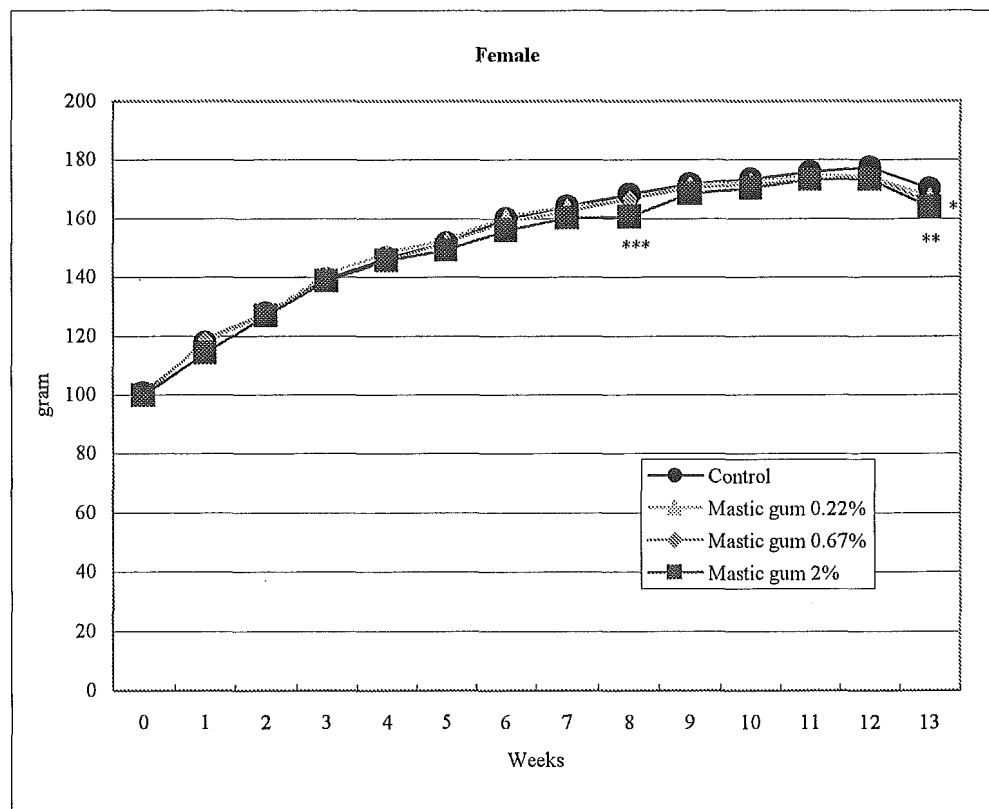
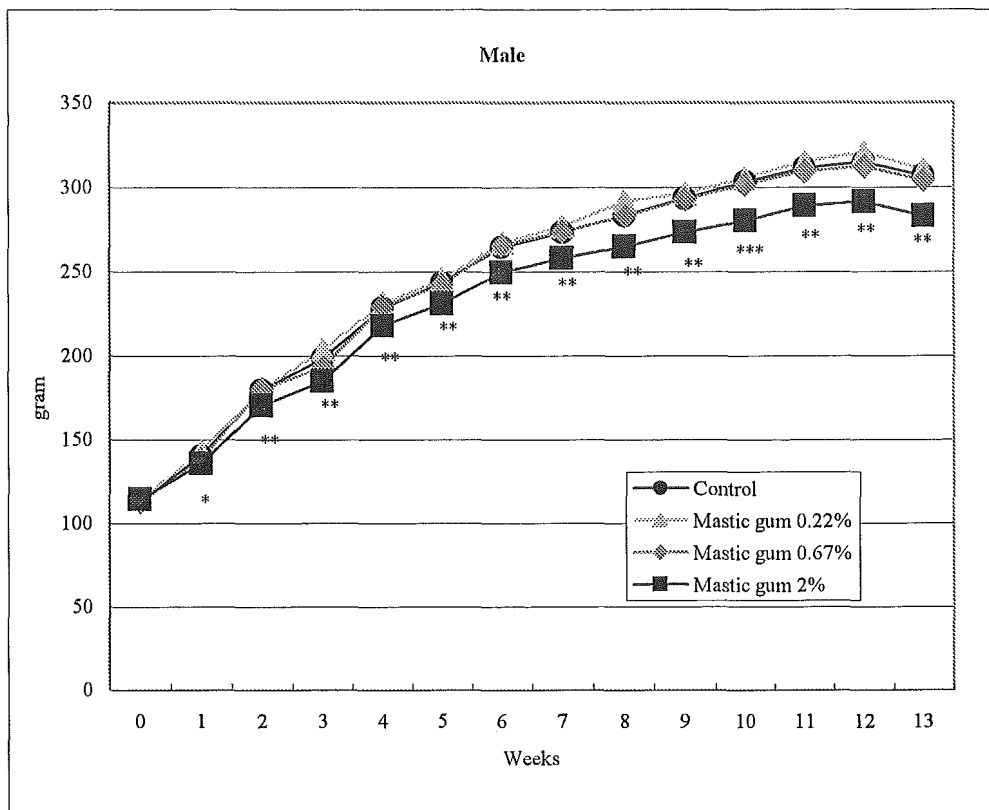


Fig. 1. Body weight