

立腺、精巣、精巣上体、卵巣および卵管、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、大腿筋、脊髄(頸部および腰部)、眼球およびハーダー腺、その他肉眼的異常部位。90日間投与群の低および中間用量群の全ての動物については、以下の器官・組織について上述と同様の方法で病理組織学的検査を行なった:胸腺、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、高用量群において投与に関連した異常が観察された器官・組織、その他肉眼的異常部位

休薬群の動物の全例について、今回の試験の標的臓器である肝臓のみについて病理組織学的検査を実施した。

統計学的解析

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。尿検査、病理検査については、Fischerの直接確率検定法を用いて統計学的解析を実施した。

D. 試験結果

一般状態および死亡動物

試験期間中および休薬期間中の一般状態について、いずれの群にも投与に関連した変化は観察されず、死亡動物も認められなかった。

体重および摂餌量

試験期間中の体重を Fig.1 に示す。雌雄とも10,000ppm群で、有意な体重増加抑制(雄で9週、雌で3,4,5および10週時)あるいは抑制傾向が散見されたが、休薬期間では対照群との間に有意な差異は雌雄とも観察されなかった。2,000ppm群以下の投与群の体重は投与および休薬期間ともに対照群と同様の値で推移した。

試験期間中の摂餌量を Table1 に示す。投与期間および回復期間ともに雌雄のいずれの投与群においても対照群との間に有意な差異は観察されなかった。メバロン酸の体重当たりの一日平均摂取量(mg/kg/day)は雄400、2,000、10,000ppm群で29.50、149.54、709.94mg/kg、雌の400、2,000、10,000ppm群で31.29、155.46、750.47mg/kgと算出した。メバロン酸の90日間の総摂取量は雄の400、2,000、10,000ppm群で0.48、2.5、11.89g/rat、雌の400、2,000、10,000ppm群で0.35、1.75、8.43g/ratであり、雌雄ともに用量にほぼ依存していた。

尿検査

投与期間および休薬期間の尿検査成績を

Table2-A、2-Bにそれぞれ記載した。投与終了後・休薬期間終了後のいずれの時期においても尿検査の結果は、全ての群で同様であり、投与に関連した異常は観察されなかった。

血液学的検査

投与期間および休薬期間後の血液学検査成績を Table3-A、3-Bにそれぞれ記載した。90日間の投与終了後の10,000ppm群において、雄で赤血球数が、雌でヘモグロビンおよびヘマトクリット値が有意に減少し、それぞれ軽度な貧血傾向が観察された。2,000ppm以下の投与群および全ての群の休薬期間終了後において、対照群との間で有意差は観察されず、貧血傾向も認められなかった。

血液化学的検査

投与期間および休薬期間の血液化学的検査成績を Table4-A、4-Bにそれぞれ記載した。90日間の投与終了後の10,000ppm群において、雌雄でALTの上昇、雄でASTの上昇、雌でA/G比の低下、総コレステロールおよび中性脂肪値の有意な増加が認められた。2,000ppm以下の投与群および全ての群の回復試験群において、対照群との間で有意差は観察されなかった。投与期間の白血球百分比の成績を Table5にそれぞれ記載した。全ての投与群において、対照群との間に有意差は観察されなかった。

臓器重量

投与期間および休薬期間の臓器重量の値を Table6-A(投与期間・雄)、6-B(投与期間・雌)、Table7-A(休薬期間・雄)、7-B(休薬期間・雌)にそれぞれ記載した。90日間の投与終了後の10,000ppm群において、雌雄とも肝臓の絶対および相対重量が増加したが、2,000ppm以下の投与群では同様の変動は観察されず、全ての群の休薬群において、対照群との間で臓器重量の有意な差異は観察されなかった。

病理学的検査

投与期間および休薬期間後の病理検査結果を Table8-A、8-Bにそれぞれ記載した。90日間の投与終了後の剖検にて、10,000ppm群の雌雄の肝臓が脂肪肝様を呈した。2,000ppm以下の群にはこのような変化は認められなかった。病理組織学的検索においても10,000ppm群の肝臓で投与に関連した変化が観察された。小葉中心性の肝細胞脂肪化が同群の雌雄全例に観察され、一部では小葉中心部だけでなく全域に微細な肝細胞脂肪化が認められた(Fig.2,3)。程度は雄で中等度を示す個体が多く、雌では軽度であり、雄でより強く認め

られた。また、同群の雌雄全例に軽度な炎症細胞の集簇巣が肝実質内に散見された。同様の変化は2,000ppm以下の群では認められなかった。そのほか雄で心筋炎、腎尿細管の好酸性小体あるいは雌の腎臓で石灰沈着が散見された。これらはいずれも本系統のこの時期の動物に観察される変化であり、程度・頻度ともに投与に関連した変動は認められなかった。休薬期間終了後の検査では、肝臓に肉眼的異常はいずれの群においても観察されず、病理組織学的検査では10,000ppm群の肝細胞脂肪化は著しく減少していた。同群の雄では軽度な脂肪化が残るものの、雌では数例に軽微な脂肪化が観察されるのみであった。また、肝細胞に脂肪化が残る個体ではリンパ球集積および小肉芽腫など炎症が慢性化した組織像が散見された。腎臓、脾臓、骨髄など造血器系の臓器には投与に関連した異常は認められなかった。

E. 考察

雌雄のF344ラットにメバロン酸を混餌投与し、90日間反復投与毒性試験および4週間の回復性試験を実施した。メバロン酸投与に一般状態の変化など毒性兆候は観察されなかったが、最高用量群の10,000ppm群の雌雄において投与期間の後半に有意な体重増加抑制が散見された。摂餌量は投与期間中、対照群を含む全ての群で同様であったことから、10,000ppm群で観察された体重増加抑制はメバロン酸投与による影響であると考えられた。2,000ppm以下の投与群の体重では投与による影響は観察されなかった。

投与期間および休薬期間終了時に実施した尿検査の各検査項目は、全ての群で同様の値を示したことから、尿検査において投与に関連する異常は認められないと考えられた。

本試験の血液化学的検査および病理学検査結果より、メバロン酸の90日間混餌投与は10,000ppm群で小葉中心性肝細胞脂肪化とそれに関連した変化が認められることが明らかとなった。同群での肝臓の変化は肉眼的にも脂肪肝様に観察され、雄でより強い変化として認められた。同群の雌で認められた総コレステロール値および中性脂肪の有意な増加は、肝細胞脂肪化に関連した脂肪代謝異常の結果と考えられるが、病理学的変化がより強かった雄に同様の変化が観察されなかった原因については不明である。また、10,000ppm群の雌雄で炎症性細胞の集積が肝臓で認められたが、この原因として肝細胞脂肪化が進行し肝細胞質中の脂肪滴が大きくなり肝細胞を破壊したことによる反応性変化と考えられ、同群の雌雄で観察された軽度なALTの上昇も、肝細胞の軽度の破壊を示唆する所見であると考え

られた。回復期間終了後の検査では、肝細胞脂肪化は雌雄とも明らかに減少しており、雌では異常が全く認められない個体も存在した。また、炎症細胞の出現も減少し、より慢性化する方向を示したことから、メバロン酸投与による肝細胞脂肪化は、4週間の休薬では完全に回復しないものの、投与を中止することにより回復する可能性の高い可逆性の変化であることが明らかとなった。2,000ppm以下の投与群では投与に関連する異常は認められなかった。

血液学的検査では、10,000ppm群の雌雄で軽度ながら貧血傾向が認められたが、造血器系臓器に対応する組織学的変化は認められなかった。この軽度な貧血傾向は予備試験においても同用量を投与した動物で観察されたことから、メバロン酸投与に関連した変化であると考えられた。この貧血の原因については不明であるが、造血器系臓器に異常が観察されなかったことから、造血器系への直接障害であるとは考え難く、むしろ肝細胞障害に伴いヘム蛋白の合成異常が報告されていることから、この貧血傾向は同群で観察された肝代謝障害に関連した二次的な変化である可能性が示唆された。休薬後は、貧血を示唆する所見は認められず、貧血傾向は投与中止により回復すると考えられた。

2,000ppm以下の投与群では、上述の変化を始め投与に関連する有意な差異は対照群との間に認められなかった。

以上の結果より、メバロン酸の混餌投与による90日間反復投与により、10,000ppm群の雌雄で肝細胞脂肪化とそれに伴う炎症性変化が認められ、脂肪化による肝細胞破壊により雌雄で血清中ALTが上昇した。これらの肝臓の変化は、雄でより強く認められたが、雌では血清中の総コレステロールおよび中性脂肪値の上昇も観察された。これらの変化はいずれも4週間の休薬期間により回復傾向を示した。また、肝代謝障害に関連したと考えられる軽度な貧血傾向が10,000ppm群の雌雄で観察されたが、この傾向は休薬により回復した。2,000ppm以下の投与群ではメバロン酸投与による毒性影響はいずれの項目においても観察されなかった。

F. 結論

F344ラットを用いたメバロン酸の90日間反復投与毒性試験による影響量は雌雄とも10,000ppm(雄 709.94mg/kg/day、雌 750.47mg/kg/day)、無影響量を雌雄とも2,000ppm(雄 149.54mg/kg/day、雌 155.46mg/kg/day)と結論し、10,000ppm群で認められた毒性影響はいずれも回復あるいは回復

傾向を示す可逆性の変化であると考えられた。

G. 健康危険情報
なし

H. 研究発表

- (1) Tujiuchi T, Sasaki Y, Tsutsumi M, Konishi Y and Nakae D, *FHIT* alterations in lung adenocarcinomas induced by *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in rats. *Carcinogenesis*, 2001, 22: 17-22.
- (2) Hatanaka Y, Nakae D, Mutai M, Hashizume K, Kamihara Y, Kinoshita N, Tani Y, Danno G, Ohta S, Konishi Y and Ashida H, Decreased expression of Bcl-x protein during hepatocarcinogenesis induced exogenously and endogenously in rats. *Jpn J Cancer Res*, 2001, 92: 1270-1277.
- (3) Hamada J, Nakata D, Nakae D, Kobayashi Y, Akai H, Konishi Y, Okada F, Shibata T, Hosokawa M and Moriuchi T, Increased oxidative DNA damage in mammary tumor cells by continuous epidermal growth factor stimulation. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93: 214-219.
- (4) Tujiuchi T, Sasaki Y, Murata N, Tsutsumi M, Nakae D and Konishi Y, Elevated expression of transforming growth factor α s and the tumor necrosis factor family in lung adenocarcinomas induced by *N*-nitroso(2-hydroxypropyl)amine in rats. *Exp Toxicol Pathol*, 2001, 53: 291-295.
- (5) Vijayaraghavan M, Wanibuchi H, Karim R, Yamamoto S, Masuda C, Nakae D, Konishi Y and Fukushima S, Dimethylarsinic acid induced 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation in the kidney of NCI-Black-Reiter rats. *Cancer Lett*, 2001, 165: 11-17.
- (6) Kuniyasu H, Oue N, Nakae D, Tsutsumi M, Denda A, Tsujiuchi T, Yokozaki H and Yasui W, Interleukin-15 expression is associated with malignant potential in colon cancer cells. *Pathobiology*, 2001, 69: 86-95.
- (7) Yoshii J, Yoshiji H, Kuriyama S, Ikenaka Y, Noguchi R, Okuda H, Tsujinoue H, Nakatani T, Kishida H, Nakae D, Gomez DE, De Lorenzo MS, Tejera AM and Fukui H, The copper-chelating agent, trientine, suppresses tumor development and angiogenesis in the murine hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer*, 2001, 94: 768-773.
- (8) 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*, 2002, 175: 113-119.
- (9) Nakae D, Umemura T and Kurokawa Y, Reactive oxygen and nitrogen oxide species-induced stress, a major intrinsic factor involved in carcinogenic processes and a possible target for cancer prevention. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2002, 3: 313-318.
- (10) Floyd RA, Kotake Y, Hensley K, Nakae D and Konishi Y, Reactive oxygen species in choline deficiency induced carcinogenesis and nitroreduction inhibition. *Mol Cell Biochem*, 2002, 235: 195-203.
- (11) Puatanachokchai R, Kishida H, Denda A, Murata N, Konishi Y, Vinitketkumnuen U and Nakae D, Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis initiated with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats. *Cancer Lett*, 2002, 183: 9-15.
- (12) Tsujiuchi T, Sasaki Y, Kubozoe T, Tsutsumi M, Konishi Y and Nakae D, Alterations of the *Fhit* gene in hepatocellular carcinomas induced by *N*-nitrosodiethylamine in rats. *Mol Carcinog*, 2002, 34: 19-24.
- (13) Kawai Y, Kato Y, Nakae D, Kusuoka O, Konishi Y, Uchida K and Osawa T, Immunohistochemical detection of a substituted 1,*N*²-ethenodeoxyguanosine adduct by α -6 polyunsaturated fatty acid hydroperoxides in the livers of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 485-489.
- (14) Denda A, Kitayama W, Murata N, Kishida H, Sasaki Y, Kusuoka O, Tsujiuchi T, Tsutsumi M, Nakae D, Takagi H and Konishi Y, Increased expression of cyclooxygenase-2 protein during rat hepatocarcinogenesis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet and chemopreventive efficacy of a specific inhibitor, nimesulide. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 245-256.
- (15) Denda A, Kitayama W, Kishida H, Murata N, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Nakae D and Konishi Y, Development of hepatocellular adenomas and carcinomas associated with fibrosis in C57BL/6J mice given a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Jpn J Cancer Res*, 2002, 93: 125-132.
- (16) 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*, 2002, 23: 1387-1397.
- (17) Nishikawa T, Wanibuchi H, Ogawa M, Kinoshita A, Morimura K, Hiroi T, Funae Y, Kishida H, Nakae D and Fukushima S,

- Promoting effects of monomethylarsinic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide on induction of rat liver preneoplastic glutathione *S*-transferase placental form positive foci. A possible reactive oxygen species mechanism. *Int J Cancer*, 2002, 100: 136-139.
- (18) Yoshida M, Katsuda S, Tanimoto T, Asai S, Nakae D, Kurokawa Y, Taya K and Maekawa A, Induction of different types of uterine adenocarcinomas in Donryu rats due to neonatal exposure to high-dose *p-tert*-octylphenol for different periods. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 1745-1750.
- (19) 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*, 2002, 93: 1076-1082.
- (20) Nakae D, Kishida H, Enami T, Konishi Y, Hensley KL, Floyd RA and Kotake Y, Effects of *N-tert*-butyl nitron and its derivatives on the early phase of hepatocarcinogenesis in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Cancer Sci*, 2003, 94: 26-31.
- (21) Tsuda H, Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Nakae D, Imaida K, Tatematsu M, Hirose M, Wakabayashi K and Moore MA, values 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*, 2003, 31: 80-86.
- (22) 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[2,5-*f*]quinoxaline. *Cancer Lett*, 2003, 191: 35-40.

I. 知的所有権の取得状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

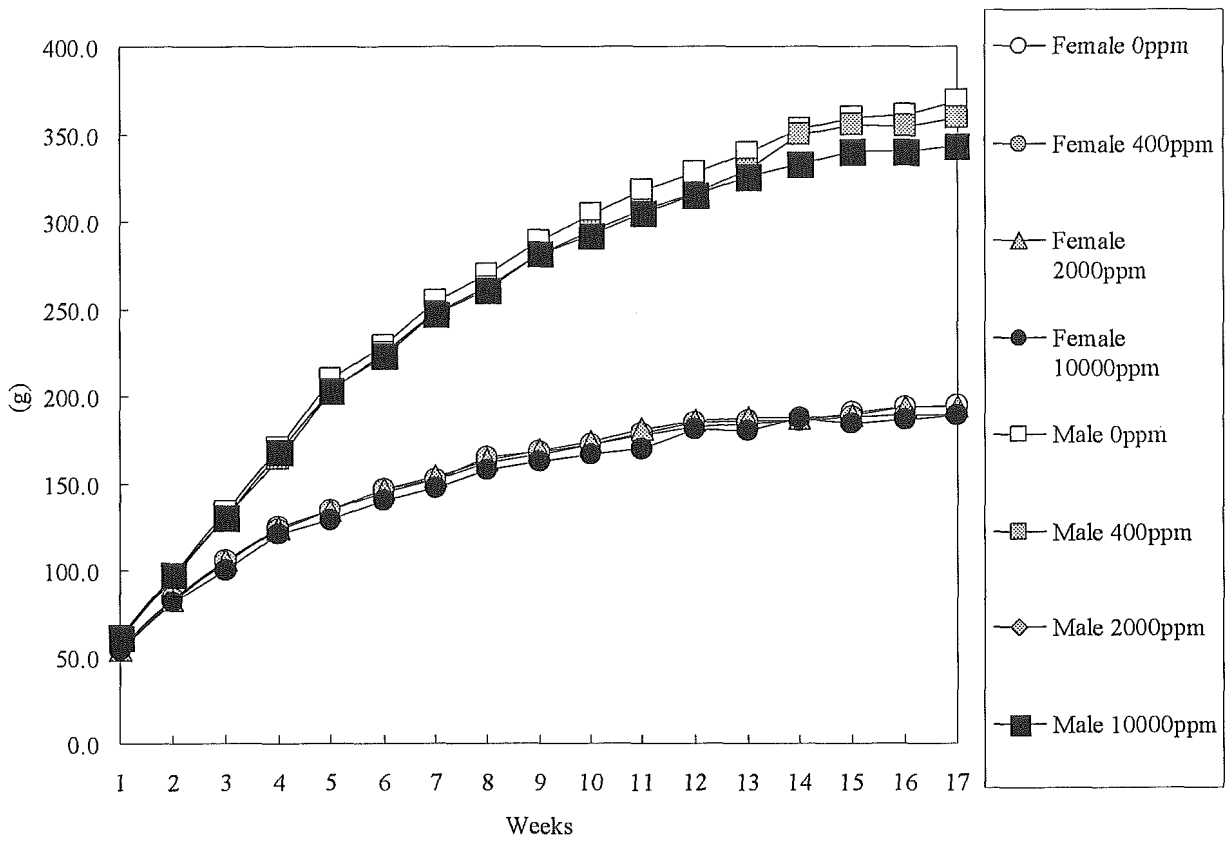


Fig 1 Growth curve

Table 1 Summary of Food and chemical intakes

	Food intake (g/rat/day)				Chemical intake(mg/kg/day)				Total chemical intake(g/rat)	
	Male		Female		Male	Female	Male	Female	Male	Female
	Treatment	Recovery	Treatment	Recovery						
0ppm	Mean	13.76	11.69	9.53	8.87	-	-	-	-	-
	SD	1.41	1.05	0.74	0.84					
400ppm	Mean	13.32	11.38	9.72	9.16	29.50	31.29	0.48	0.33	
	SD	1.63	1.03	0.84	0.36	16.69	12.72			
2000ppm	Mean	13.76	11.48	9.64	8.41	149.54	155.46	2.50	1.62	
	SD	1.19	1.61	0.54	0.82	84.82	65.89			
10000ppm	Mean	13.07	11.85	9.17	8.88	709.94	750.47	11.89	7.70	
	SD	2.14	2.47	0.74	2.00	370.89	257.84			

Table 2-A
Summary of urinalysis for 90-day treatment

		Group (ppm)			
		0	400	2,000	10,000
<i>Male</i>					
Urobilinogen	Not detected	10a/10b	10/10	10/10	10/10
Bilirubin	Not detected	10/10	10/10	10/10	10/10
Occult blood	Not detected	7/10	10/10	10/10	10/10
	Positive, very slightly	3/10	0/10	0/10	0/10
Keton body	Not detected	10/10	10/10	7/10	8/10
	Positive, very slightly	0/10	0/10	0/10	1/10
	Positive, slightly	0/10	10/10	3/10	1/10
Glucose	Not detected	9/10	9/10	10/10	10/10
	Positive, slightly	1/10	1/10	0/10	0/10
Protein	Not detected	0/10	2/10	2/10	0/10
	Positive, very slightly	10/10	4/10	5/10	10/10
	Positive, slightly	0/10	3/10	3/10	0/10
	Positive, moderately	0/10	1/10	0/10	0/10
pH	6	1/10	0/10	0/10	0/10
	7	1/10	3/10	2/10	2/10
	8	8/10	7/10	8/10	8/10
Ascorbic acid	0	10/10	0/10	10/10	10/10
<i>Female</i>					
Urobilinogen	Not detected	10/10	10/10	10/10	10/10
Bilirubin	Not detected	10/10	10/10	10/10	10/10
Occult blood	Not detected	10/10	10/10	10/10	10/10
	Positive, very slightly	0/10	0/10	0/10	0/10
Keton body	Not detected	9/10	10/10	10/10	10/10
	Positive, very slightly	0/10	0/10	0/10	0/10
	Positive, slightly	1/10	0/10	0/10	0/10
Glucose	Not detected	10/10	10/10	10/10	10/10
	Positive, slightly	0/10	0/10	0/10	0/10
Protein	Not detected	0/10	0/10	2/10	0/10
	Positive, very slightly	8/10	7/10	8/10	10/10
	Positive, slightly	2/10	2/10	0/10	0/10
	Positive, moderately	0/10	1/10	0/10	0/10
pH	6	2/10	0/10	0/10	0/10
	7	2/10	1/10	2/10	1/10
	8	6/10	9/10	8/10	9/10
Ascorbic acid	0	10/10	10/10	10/10	10/10

a / b, incidence/number of rats examined

Table 2-B
Summary of urinalysis for recovery period

		Group (ppm)			
		0	400	2,000	10,000
<i>Male</i>					
Urobilinogen	Not detected	5a/5b	5/5	5/5	5/5
Bilirubin	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
Occult blood	Not detected	5/5	4/5	4/5	3/5
	Positive, very slightly	0/5	1/5	1/5	2/5
Keton body	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
	Positive, very slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
	Positive, slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
Glucose	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
	Positive, slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
Protein	Not detected	2/5	2/5	5/5	1/5
	Positive, very slightly	0/5	0/5	0/5	3/5
	Positive, slightly	2/5	0/5	0/5	1/5
	Positive, moderately	1/5	3/5	0/5	0/5
pH	6	0/5	0/5	2/5	0/5
	7	4/5	5/5	3/5	4/5
	8	1/5	0/5	0/5	1/5
Ascorbic acid	0	5/5	5/5	5/5	5/5
<i>Female</i>					
Urobilinogen	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
Bilirubin	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
Occult blood	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
	Positive, very slightly	5/5	5/5	5/5	5/5
Keton body	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
	Positive, very slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
	Positive, slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
Glucose	Not detected	5/5	5/5	5/5	5/5
	Positive, slightly	0/5	0/5	0/5	0/5
Protein	Not detected	0/5	2/5	2/5	1/5
	Positive, very slightly	3/5	3/5	3/5	3/5
	Positive, slightly	2/5	0/5	0/5	1/5
	Positive, moderately	0/5	0/5	0/5	0/5
pH	6	1/5	1/5	0/5	0/5
	7	0/5	1/5	2/5	2/5
	8	4/5	3/5	2/5	3/5
	9	0/5	0/5	1/5	0/5
Ascorbic acid	0	5/5	5/5	5/5	5/5

a / b, incidence/number of rats examined

Table 3-A Summary of Hematology in Animals treated after 90 -day treatment

Male												
	Platelet	HB	RBC	WBC	HT	MCV	MCH	MCHC				
	(x105/ μ L)	(g/dL)	(x105/ μ L)	(x102/ μ L)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)				
0ppm	Mean	76.79	14.59	840.86	6500.00	47.24	56.14	17.43	31.00			
	SD	2.73	1.28	10.07	1132.84	0.96	0.90	1.51	2.77			
400ppm	Mean	80.86	15.00	831.60	5340.00	47.28	56.80	18.00	31.80			
	SD	3.99	0.14	11.26	1718.43	0.48	0.84	0.00	0.45			
2,000ppm	Mean	69.67	14.73	821.50	6650.00	46.65	56.83	18.00	31.50			
	SD	10.75	0.60	28.20	281.07	2.53	1.17	0.00	0.84			
10,000ppm	Mean	75.08	13.76	794.00	6620.00	44.00	55.40	17.20	31.20			
	SD	8.80	0.23	19.60	1023.23	1.61	0.89	0.45	1.10			
Female												
	Platelet	HB	RBC	WBC	HT	MCV	MCH	MCHC				
	(x105/ μ L)	(g/dL)	(x105/ μ L)	(x102/ μ L)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)				
0ppm	Mean	64.12	15.83	779.67	6450.00	47.50	60.83	20.17	33.50			
	SD	9.87	0.44	19.78	1032.96	1.38	0.41	0.41	0.84			
400ppm	Mean	69.03	15.78	785.38	6100.00	47.44	60.38	20.00	34.38			
	SD	5.23	0.77	36.49	1359.62	2.31	0.74	0.00	3.89			
2,000ppm	Mean	70.72	15.68	775.00	5583.33	46.62	60.00	20.17	33.67			
	SD	8.35	0.53	17.38	1624.09	1.48	0.63	0.41	0.82			
10,000ppm	Mean	59.14	14.55	751.25	6262.50	43.79	59.25	19.50	33.38			
	SD	17.91	0.76	47.72	1860.06	3.18	2.05	0.53	1.30			

Significantly different from control value, p* $<$ 0.05, p** $<$ 0.01

Table 3-B Summary of Hematology in Animals treated after recovery period

Male		Platelet (x105/ μ L)	HB (g/dL)	RBC (x105/ μ L)	WBC (x102/ μ L)	HT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
0ppm	Mean	73.62	15.88	895.00	6100.00	51.48	56.60	17.80	31.00
	SD	3.37	1.26	69.94	1104.54	4.16	2.19	0.45	0.00
400ppm	Mean	71.54	15.42	866.40	5560.00	50.28	58.00	17.80	31.00
	SD	4.58	0.26	14.62	439.32	1.00	0.71	0.45	0.00
2,000ppm	Mean	69.78	15.42	872.60	5620.00	50.66	58.00	17.80	30.60
	SD	3.57	0.11	6.80	1032.96	0.62	0.71	0.45	0.55
10,000ppm	Mean	70.86	14.68	876.80	5920.00	49.86	56.80	17.00	29.60
	SD	4.48	0.61	21.46	1243.78	1.73	0.84	0.00	0.55
Female									
		Platelet (x105/ μ L)	HB (g/dL)	RBC (x105/ μ L)	WBC (x102/ μ L)	HT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
0ppm	Mean	76.06	15.18	782.80	5160.00	49.12	62.80	19.20	31.00
	SD	4.89	0.52	27.86	1824.28	1.67	0.45	0.45	0.00
400ppm	Mean	67.42	15.10	774.00	4800.00	49.02	63.40	19.40	30.80
	SD	6.35	0.75	35.23	2336.66	2.27	0.55	0.55	0.45
2,000ppm	Mean	73.64	15.06	790.00	3898.00	49.60	62.80	19.20	30.40
	SD	5.98	0.35	19.53	2194.77	2.00	1.10	0.45	0.55
10,000ppm	Mean	68.00	14.64	771.40	4040.00	48.08	62.40	18.80	30.40
	SD	4.06	0.29	23.67	1570.99	1.26	0.89	0.45	0.55

Table 4-A Summary of blood biochemistry after 90-day treatment

Male															
	TP (g/dL)	A/G	BIL (mg/dL)	TCHO (mg/dL)	TG (g/dL)	CRE (mg/dL)	Ca (mg/dL)	IP (mg/dL)	Na (mEq/dL)	K (mEq/dL)	GGT (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	ALB (g/dL)
0ppm	6.89	2.10	0.00	63.56	69.78	0.30	10.20	7.44	147.11	4.90	<2	147.44	67.33	383.44	4.67
	0.24	0.12	0.00	4.56	20.50	0.02	0.38	0.96	1.27	0.58		34.58	5.00	41.53	0.10
400ppm	6.91	2.08	0.00	64.90	74.50	0.31	10.20	7.45	148.10	4.96	<2	173.10	70.30	392.20	4.67
	0.28	0.12	0.00	5.80	19.86	0.02	0.37	0.56	1.29	0.53		52.33	6.73	40.55	0.13
2,000ppm	6.71	2.06	0.00	60.70	69.00	0.32	10.14	7.30	147.00	5.16	<2	146.30	63.70	366.90	4.52
	0.24	0.05	0.00	3.65	16.22	0.05	0.32	0.67	1.15	1.17		39.12	5.95	28.93	0.16
10,000ppm	6.94	1.97	0.00	67.70	53.20	0.33	10.17	7.44	147.20	5.19	<2	205.00	103.80	382.50	4.58
	0.31	0.13	0.00	7.44	13.58	0.05	0.34	0.95	1.40	0.49		62.12	14.05	26.82	0.15
												*	**		
Female															
	TP (g/dL)	A/G	BIL (mg/dL)	TCHO (mg/dL)	TG (g/dL)	CRE (mg/dL)	Ca (mg/dL)	IP (mg/dL)	Na (mEq/dL)	K (mEq/dL)	GGT (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	ALB (g/dL)
0ppm	7.04	2.29	0.00	83.30	24.20	0.31	10.53	8.06	150.80	6.05	<2	172.50	60.00	254.20	4.89
	0.33	0.17	0.00	7.66	10.03	0.03	0.35	1.65	2.57	1.17		43.07	13.60	33.85	0.16
400ppm	6.90	2.30	0.00	79.50	28.80	0.31	10.41	7.37	151.30	5.12	<2	148.30	59.50	254.30	4.79
	0.45	0.23	0.00	7.18	11.00	0.03	0.44	1.16	1.64	1.17		30.74	7.47	34.24	0.22
2,000ppm	7.03	2.24	0.00	85.60	24.90	0.32	10.34	7.70	150.70	5.17	<2	148.10	55.60	241.90	4.85
	0.54	0.24	0.00	7.35	8.05	0.03	0.53	1.52	1.25	0.98		27.11	4.55	27.85	0.25
10,000ppm	7.04	1.94	0.00	110.40	49.00	0.31	10.43	8.04	150.80	5.82	3.50	206.80	93.60	249.10	4.63
	0.48	0.21	0.00	10.41	24.90	0.03	0.67	1.88	2.53	1.54	0.84	46.57	32.94	24.95	0.18
		**		**	**								**		

Significantly different from control value, p*<0.05, p**<0.01

Table 4-B Summary of Blood Biochemistry after recovery period

Male															
	TP	A/G	BIL	TCHO	TG	CRE	Ca	IP	Na	K	GGT	AST	ALT	ALP	ALB
	(g/dL)		(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/dL)	(mEq/dL)	(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(g/dL)
Oppm	6.92	2.14	0.00	69.80	66.80	0.37	9.96	6.76	150.20	4.30	<2	131.80	83.20	289.60	4.70
	0.42	0.09	0.00	10.31	14.72	0.05	0.82	1.75	1.10	0.22		25.97	7.79	26.42	0.32
400ppm	6.76	2.12	0.00	66.00	58.00	0.36	9.62	5.74	122.40	4.44	<2	120.00	83.20	277.80	4.50
	0.27	0.04	0.00	4.53	11.20	0.05	0.16	0.70	60.06	0.48		13.95	13.83	35.14	0.14
2,000ppm	6.44	2.20	0.00	53.80	42.00	0.34	9.20	5.88	150.00	4.38	<2	174.60	106.20	291.40	4.50
	0.21	0.19	0.00	7.40	11.90	0.04	0.32	1.00	0.71	0.54		43.18	12.07	20.02	0.14
10,000ppm	6.86	2.00	0.00	63.40	37.20	0.35	9.62	5.96	149.60	5.08	<2	171.80	122.00	275.00	4.58
	0.15	0.19	0.00	5.32	5.07	0.05	0.22	0.47	1.52	0.30		49.76	45.80	26.30	0.11
Female															
	TP	A/G	BIL	TCHO	TG	CRE	Ca	IP	Na	K	GGT	AST	ALT	ALP	ALB
	(g/dL)		(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/dL)	(mEq/dL)	(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(g/dL)
Oppm	6.52	2.62	0.02	83.20	28.60	0.28	9.92	4.20	147.80	3.88	<2	94.80	61.00	237.80	4.72
	0.15	0.13	0.04	10.64	8.50	0.02	0.13	0.67	1.30	0.19		9.58	9.51	27.31	0.13
400ppm	6.48	2.64	0.00	84.80	52.00	0.27	9.82	4.48	148.20	3.98	<2	100.00	61.80	244.40	4.70
	0.22	0.17	0.00	7.63	28.21	0.02	0.26	0.65	2.28	0.39		23.05	16.50	43.49	0.12
2,000ppm	6.60	2.50	0.02	87.80	61.40	0.29	9.90	4.92	147.60	4.30	<2	90.40	49.20	225.60	4.70
	0.25	0.30	0.04	10.89	26.93	0.02	0.34	1.29	1.52	0.64		20.91	7.40	44.28	0.07
10,000ppm	6.70	2.48	0.00	88.20	48.60	0.28	10.12	4.68	149.00	4.20	<2	108.60	54.80	218.00	4.76
	0.10	0.28	0.00	10.43	17.90	0.02	0.28	0.61	1.73	0.93		59.06	11.32	32.83	0.22

Table 5
Summary of differential count per 100 leukocytes after 90-day treatment

		Neutrophil L.	Eosinophil L.	Lymphocytes	Monocytes
<i>Male</i>					
0ppm	Mean	16.0	1.1	82.1	0.7
	SD	3.5	1.3	3.5	1.1
400ppm	Mean	13.25	0.38	85.50	0.88
	SD	4.56	0.52	4.96	0.83
2,000ppm	Mean	11.44	0.67	87.78	0.11
	SD	4.59	1.12	4.49	0.33
10,000ppm	Mean	10.0	0.8	89.1	0.1
	SD	6.6	1.2	7.1	0.4
<i>Female</i>					
0ppm	Mean	13.0	1.7	85.0	0.3
	SD	6.9	0.6	7.8	0.6
400ppm	Mean	13.3	0.5	86.3	0.0
	SD	8.5	0.6	8.0	0.0
2,000ppm	Mean	11.0	0.3	88.7	0.0
	SD	8.9	0.5	9.2	0.0
10,000ppm	Mean	6.4	1.3	92.1	0.3
	SD	5.5	2.0	7.6	0.5

Table 6-A Summary of organweights after 90-day treatment Male

Group	Final B.W. (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Spleen (mg)	Liver (g)
0ppm (n=10)	333 ± 10.4	1947 ± 131.4	302 ± 94.1	850 ± 309.7	633 ± 27.9	8.32 ± 0.67
		(5851 ± 356.0) ^a	(813 ± 388.7)	(2275 ± 1213.3)	(1901 ± 127.7)	(24.99 ± 1.65)
400ppm (n=10)	317 ± 13.9	1931 ± 116.7	265 ± 54.4	949 ± 83.1	631 ± 605.0	7.77 ± 0.62
		(6086 ± 295.6)	(737 ± 317.3)	(2988 ± 174.3)	(1991 ± 80.8)	(24.44 ± 1.11)
2000ppm (n=10)	328 ± 14.8	1987 ± 38.7	272 ± 64.3	972 ± 111.0	631 ± 50.4	8.39 ± 0.40
		(6065 ± 319.8)	(829 ± 191.7)	(2962 ± 306.7)	(1924 ± 134.4)	(25.56 ± 0.73)
10000ppm (n=10)	322 ± 13.1	1984 ± 44.5	220 ± 79.9	948 ± 69.3	658 ± 58.2	10.83 ± 0.56 **
		(6179 ± 263.2)	(685 ± 256.4)	(2946 ± 170.1)	(1910 ± 457.9)	(33.69 ± 1.06)**
Group Adrenals (mg)	Kidneys (mg)	Testes (mg)	Prostate (mg)			
0ppm (n=10)	43 ± 6.5	2130 ± 139	2994 ± 153.3	386 ± 91.7		
	(129 ± 20.2)	(6397 ± 297)	(8996 ± 371.7)	(1159 ± 278.1)		
400ppm (n=10)	41 ± 7.7	1817 ± 743	3078 ± 144.6	398 ± 46.8		
	(115 ± 47.7)	(5064 ± 287.6)	(9708 ± 459.9)	(1108 ± 442.2)		
2000ppm (n=10)	44 ± 9.8	2075 ± 130	3014 ± 193.0	400 ± 86.0		
	(134 ± 28.9)	(6332 ± 477)	(9193 ± 627.6)	(1223 ± 278.3)		
10000ppm (n=10)	66 ± 47.1	2118 ± 135	3081 ± 98.6	431 ± 95.2		
	(47 ± 63.2)	(6591 ± 453)	(9583 ± 180.4)	(1243 ± 479.4)		

()^a, organ weight/final body weight x 1000
 Significantly different from control value, **:P<0.01

Table 6-B Summary of organ weights after 90-day treatment Female

Group	Final B.W. (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Spleen (mg)
Oppm (n=10)	177 ± 6.9	1782 ± 56 (10080.2 ± 477)	201.4 ± 40.1 (1137.6 ± 222)	572 ± 21.54 (3232.25 ± 57.36)	394.3 ± 26.7 (2229 ± 146)
400ppm (n=10)	179.7 ± 7.63	1783.4 ± 57.7 (9940.59 ± 530)	205.4 ± 56.4 (1142 ± 305)	610 ± 52.71 (3392.63 ± 232.4)	403.1 ± 51.6 (2240 ± 235)
2000ppm (n=10)	178.7 ± 5.58	1628.3 ± 568 (9137.21 ± 3194)	232.5 ± 157 (1301.3 ± 888)	592.9 ± 46.23 (3317.27 ± 230.9)	403.9 ± 43.2 (2261 ± 239)
10000ppm (n=10)	171.4 ± 10.5	1769.1 ± 39.5 (10353.2 ± 615)	165.7 ± 65.1 (969.66 ± 399)	565.9 ± 45.14 (3301.17 ± 153.1)	434.4 ± 32 (2536 ± 146)

Group	Liver (g)	Adrenals (mg)	Kidneys (mg)	Ovaries (mg)	Uterus (mg)
Oppm (n=10)	4.529 ± 0.37 (25.58 ± 1.77)	47.8 ± 12.3 (270.134 ± 69.8)	1282.7 ± 82.7 (6493.4 ± 2308)	51.7 ± 15.25 (291.862 ± 82.46)	647.8 ± 218 (3659 ± 1229)
400ppm (n=10)	4.307 ± 0.25 (23.99 ± 1.51)	52 ± 14.8 (289.38 ± 82.6)	1298.1 ± 89 (7240.6 ± 663)	57.9 ± 19.5 (320.828 ± 103.7)	522.2 ± 167 (2895 ± 870)
2000ppm (n=10)	4.291 ± 0.36 (24.02 ± 1.91)	51.7 ± 12.9 (289.803 ± 73.1)	1328.7 ± 211 (7439.1 ± 1200)	57.4 ± 12.92 (321.919 ± 74.28)	509.3 ± 194 (2848 ± 1077)
10000ppm (n=10)	6.213 ± 0.45 ** (36.29 ± 2.36)**	59.1 ± 13.1 (347.06 ± 86.7)	1249.9 ± 66.2 (7303.4 ± 364)	56.8 ± 9.319 (332.939 ± 60.47)	565.6 ± 244 (3280 ± 1311)

() a, organ weight/final body weight x 1000
Significantly different from control value, **.P<0.01

Table 7-A Summary of organ weights after recovery period

Male

Group	Final B.W. (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Spleen (mg)	Liver (g)
0ppm (n=5)	288 ± 141 (534.7 ± 270.59) ^a	1705.5 ± 837.68 (534.7 ± 270.59) ^a	184.7 ± 93.87 (2903.7 ± 1871.48)	997.5 ± 628.90 (1489.4 ± 738.30)	513.7 ± 254.1 (1489.4 ± 738.3)	6 ± 3.21 (19 ± 9.31)
400ppm (n=5)	342 ± 141 (6036.8 ± 2497.62)	2056.8 ± 845.48 (6036.8 ± 2497.62)	180.0 ± 74.65 (528.1 ± 219.96)	2932.2 ± 1214.80 (2932.2 ± 1214.80)	1859.0 ± 768.2 (1859.0 ± 768.2)	22 ± 9.10 (22 ± 9.10)
2000ppm (n=5)	324 ± 9 (6124.1 ± 265.71)	1983.6 ± 39.04 (6124.1 ± 265.71)	167.8 ± 43.16 (517.3 ± 133.61)	1023.2 ± 29.23 (3157.1 ± 92.57)	613.6 ± 34.2 (1892.7 ± 92.6)	7 ± 0.29 (21 ± 0.73)
10000ppm (n=5)	271 ± 12 (4943.6 ± 2430.00)	1985.2 ± 812.74 (4943.6 ± 2430.00)	167.2 ± 73.62 (534.7 ± 270.59)	979.8 ± 407.72 (2903.7 ± 1871.48)	677.6 ± 277.8 (1739.3 ± 855.1)	8 ± 3.13 (20 ± 9.58)

Group	Adrenals (mg)		Kidneys (mg)		Testes (mg)		Prostate (mg)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0ppm (n=5)	34.2 ± 17.41 (99.0 ± 50.48)	1827 ± 917 (5298 ± 2668)	2601 ± 1284.6 (7534 ± 3705.6)	412 ± 209.66 (201 ± 102.35)	412 ± 285.85 (324 ± 143.36)	645 ± 648.00 (325 ± 38.57)	483 ± 205.88 (203 ± 104.40)	
2000ppm (n=5)	41.0 ± 4.90 (126.4 ± 14.66)	2132 ± 72 (6578 ± 214)	3137 ± 110.8 (9680 ± 372.2)	645 ± 648.00 (325 ± 38.57)				
10000ppm (n=5)	40.8 ± 18.67 (105.1 ± 58.62)	2095 ± 951 (4290 ± 3338)	2748 ± 1206.3 (7075 ± 3785.6)	483 ± 205.88 (203 ± 104.40)				

()^a organ weight/final body weight x 1000

Table 7-B Summary of organ weights after recovery period
Female

Group	Final B.W. (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Spleen (mg)	Liver (g)	
0ppm (n=5)	158.0 ± 77.7	1501 ± 690 ±	737.0 (362.9)	131 ± 1309)	69 (1808 ±	250 (892)	3.50 ± 1.729 (1.73 ± 9.092)
400ppm (n=5)	183.4 ± 75.0	1775 ± 9680 ±	727.9 (3963.3)	134 ± 730 ±	57 (310)	1339 (1339)	3.99 ± 1.631 (21.8 ± 8.885)
2000ppm (n=5)	186.6 ± 9.3	1830 ± 9827 ±	48.2 (575.2)	148 ± 797 ±	6 (44)	28 (156)	4.0 ± 0.313 (21.5 ± 1.141)
10000ppm (n=5)	151.3 ± 11.4	1846 ± 7922	755.4 (3896.4)	135 ± 690	57 (363)	250 (1309)	4.2 ± 1.752 (19.4 ± 9.554)
Group	Adrenals (mg)	Kidneys (mg)	Ovaries (mg)	Uterus (mg)			
0ppm (n=5)	38.0 ± 200.3 ±	19.4 (101.7)	1073 ± 5660 ±	530 (2792)	41.2 ± 217.1 ±	20.5 (107.6)	605.2 ± 404.8 (336.4 ± 224.6)
400ppm (n=5)	38.0 ± 225.4 ±	18.2 (98.4)	1073 ± 6892 ±	516 (2822)	50.0 ± 271.5	24.9 (132.6)	517.4 ± 233.3 (290.0 ± 127.7)
2000ppm (n=5)	46.8 ± 250.3 ±	9.3 (42.9)	1017 ± 5370 ±	573 (3002)	49.6 ± 264.8 ±	7.6 (27.7)	539.4 ± 46.7 (294.7 ± 23.0)
10000ppm (n=5)	48.8 ± 224.8 ±	21.1 (117.4)	1330 ± 6118 ±	547 (3028)	49.8 ± 229.3 ±	21.9 (122.0)	724.6 ± 346.7 (326.5 ± 186.3)

()a, organ weight/final body weight x 1000

Table 8-A
Summary of pathological findings after 90-day treatment

Organs/Tissues Findings		Group (ppm)			
		0	400	2,000	10,000
Macroscopy					
<u>Male</u>					
Number of rats examined		10	10	10	10
Liver	Fatty liver	0	0	0	10*
<u>Female</u>					
Number of rats examined		10	10	10	10
Liver	Fatty liver	0	0	0	10*
Histopathology					
<u>Male</u>					
Number of rats examined		10	10	10	10
Heart	Myocarditis	6	NE	NE	3
Trachya	Dilatation of gland	1	NE	NE	0
Kidney	Eosinophilic body, slight	9	7	7	8
Liver	Aggregation of lymphocytes	1	0	0	0
	Fatty change of hepatocytes, centrilobular	0	0	0	10*
	Slight	(0	0	0	0)
	Moderate	(0	0	0	7)
	Severe	(0	0	0	3)
	Aggregation of inflammatory cells, slight	0	0	0	10*
Testis	Focal strophy of seminiferous tubules	1	0	0	0
Hardarian gland	Aggregation of lymphocytes	1	NE	NE	0
<u>Female</u>					
Number of rats examined		10	10	10	10
Heart	Myocarditis	2	NE	NE	0
Stomach	Aggregation of lymphocytes	1	NE	NE	0
Kidney	Calcification	1	0	1	1
Liver	Fatty change of hepatocytes, centrilobular	0	0	0	10*
	Slight	(0	0	0	4)
	Moderate	(0	0	0	6)
	Severe	(0	0	0	0)
	Aggregation of inflammatory cells	0	0	0	10*
Femur	Microgranuloma	1	NE	NE	0

NE, Not examined

Significantly different from control value, *P<0.05

Table 8-B
Summary of pathological findings after recovery treatment

Organs/Tissues Findings	0	Group 400	(ppm) 2,000	10,000
Macroscopy				
<i>Male</i>				
Number of rats examined	5	5	5	5
Liver No abnormalities	5	5	5	5
<i>Female</i>				
Number of rats examined	5	5	5	5
Liver No abnormalities	5	5	5	5
Histopathology				
<i>Male</i>				
Number of rats examined	5	5	5	5
Liver Hepatocytes, fatty change, very slight	0	0	0	5*
Aggregation of lymphocytes, slight	1	0	1	0
Microgranuloma/aggregation of	0	0	0	5*
Slight	(0	0	0	3)
Moderate	(0	0	0	2)
<i>Female</i>				
Number of rats examined	5	5	5	5
Liver Hepatocytes, fatty change, very slight	0	0	0	3
Microgranuloma/aggregation of	0	0	0	3
Slight	(0	0	0	3)
Moderate	(0	0	0	0)

NE, Not examined

Significantly different from control value, *P<0.05

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
反復投与毒性や発がん性試験等の実施による既存添加物の安全性評価に関する研究
平成 16 年度分担研究年度終了報告書

トコトリエノールの安全性評価に関する研究
分担研究者 西川秋佳 国立医薬品食品衛生研究所病理部室長

研究要旨： 穀類やパーム油などに豊富に含まれているトコトリエノールは、ビタミンEと化学構造上の類似性を有し、トコフェロールと同様の抗酸化作用を有することから、酸化防止の目的で食品添加物として使用されている。トコトリエノールの 13 週間反復投与毒性試験では、無毒性量(NOAEL)は 0.19%（雄で 120 mg/kg 体重、雌で 130 mg/kg 体重）と推定され、雄の 0.19%投与群で平均赤血球容積の減少、血清アルカリフォスファターゼの上昇などがみられたことから、無影響量(NOEL)は求められていない。今回、Wistar Hannover ラットを用いたトコトリエノールの 1 年間慢性毒性・2 年間発がん性併合試験を実施した。1 年間の慢性毒性試験より、雌雄の 2.0%群において、造血臓器および肝臓に対する影響が示唆された。病理組織学的検索結果を待つて無毒性量を求める予定である。がん原性試験は継続中である。

A. 研究目的

近年、天然性添加物の開発および利用が盛んとなり、一般食品あるいは健康食品に広範に利用されている。これは、消費者の自然・天然指向によるところが大きい。しかし、このような天然性添加物の多くは、安全性試験による健康影響の評価がなされていないのが現状であり、広く消費者等からその安全性の評価が求められている。

穀類やパーム油などに豊富に含まれているトコトリエノールは、ビタミンEと化学構造上の類似性を有し、トコフェロールと同様の抗酸化作用を有することから、酸化防止の目的で食品添加物として使用されている。トコトリエノールの 13 週間反復投与毒性試験では、無毒性量(NOAEL)は 0.19%（雄で 120 mg/kg 体重、雌で 130 mg/kg 体重）と推定され、雄の 0.19%投与群で平均赤血球容積の減少、A/G 比の上昇、血清アルカリフォスファターゼの上昇および相対副腎重量の増加がみられたことから、無影響量(NOEL)は求められていない。慢性毒性試験および癌原性試験は実施されていないことから、今回 1 年間慢性毒性・2 年間発がん性併合試験を実施した。

B. 研究方法

<被験物質並びに飼料の調製>

パーム油より得られたビタミンE混合物を蒸留により精製したトコトリエノールをエーザイ株式会社（東京）より供与を受けた。トコフェロールを完全に分離することはできないので、被験物質の組成は α -トコトリエノール 21.4%、 β -トコトリエノール 3.5%、 γ -トコトリエノール 36.5%、 δ -トコトリエノール 8.6%、 α -トコフェロール 20.5%、 β -トコフェロール 0.7%、 γ -トコフェロール 1.0%、 δ -トコフェロール 0.5%であった。粉末基礎食 CE-2（日本クレア株式会社、東京）に混和し、適正濃度となるように添加した。投与濃度は、トコトリエノールの 13 週間反復投与毒性試験の結果から、慢性毒性試験では最高用量を 2.0%とし、以下 0.4%、0.08%、および 0%(対照群)の 4 段階とし、癌原性試験では 2%、0.4%および 0%(対照群)の 3 段階とした。トコトリエノール含有飼料は、給餌まで冷暗所 (< 4℃) に保存した。

<実験動物並びに飼育条件>

雌雄の Wistar Hannover ラットを日本ク