

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

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

平成14～16年度 総合研究報告書

主任研究者 佐藤 恭子

平成17年(2005)3月

## 目 次

I. 総合研究報告書	
既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究	1
佐藤 恭子	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	60
III. 研究成果の刊行物・別刷	61

### 既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

主任研究者 佐藤 恭子 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部主任研究官

研究要旨 既存添加物のうち、生物試験等の科学的な根拠に基づく基本的な安全性評価及び品質規格の設定が必要とされる品目につき、それらに必要なデータを得ることを目的に、毒性試験と成分・品質に関する試験を連携して実施した。90 日間反復投与毒性試験は、アグロバクテリウムスクシノグリカン、キダチアロエ抽出物、コメヌカ油抽出物、サンダラック樹脂、ジャマイカカシヤ抽出物、スフィンゴ脂質、ニガヨモギ抽出物の 7 品目について実施した。また、変異原性試験のうち、細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞に対する染色体異常試験及びげっ歯類を用いる小核試験を行ったのは、エラグ酸、ヒキオコシ抽出物、ホウセンカ抽出物、ログウッド色素の 4 品目、染色体異常試験のみを行ったのは、サンダラック樹脂、ヒメマツタケ抽出物、メバロン酸の 3 品目、小核試験のみを行ったのは、エレミ樹脂、没食子酸の 2 品目であった。キダチアロエ抽出物、コメヌカ油抽出物、サンダラック樹脂、ジャマイカカシヤ抽出物及びニガヨモギ抽出物の 90 日間反復投与毒性試験結果は、厚生労働省の既存添加物の安全性評価検討会における資料とされ、既存添加物の安全性評価に寄与している。他の毒性試験結果についても、安全性評価の際の資料となる。なお、90 日間反復投与毒性試験を行ったグレープフルーツ種子抽出物試料については、成分研究の結果、提供された試料が誤っていたことが判明し、変異原性試験を行った試料については、成分研究の結果との関連から、評価の対象とすべきではないものと判断した。これにより、品質規格のないものについては、毒性試験を行う際の成分確認が重要であることが示唆された。この他、くん液（木酢液）については、近年その用途が広がっているが、一部に変異原性の懸念が報告されていることから、市場製品等の変異原性試験を行った。さらに、既存添加物の復帰突然変異原性試験の結果に影響を与える諸要因について検討した。成分・品質に関する研究では、本研究で毒性試験の対象とした品目の他、近年、毒性試験の行われ、同じロットあるいは同じ製法で調製された試料が入手可能であった品目（アマシードガム、アルカネット色素、アロエベラ抽出物、ウルシロウ、オゾケライト、魚鱗箔、酵素分解ハトムギ抽出物、ゴマ油不ケン化物、コメヌカ酵素分解物、スクレロガム、精油除去ウイキョウ抽出物、タデ抽出物、チャ種子サボニン、ニガキ抽出物、ばい煎ダイズ抽出物、パフィア抽出物、ホホバロウ、マクロホモブシスガム、ユーカリ葉抽出物、レイシ抽出物の 20 品目）を対象とした。今回分析した試料の中には、既存添加物名簿の定義等に主成分の記載がない品目もあったが、基原に特徴的な成分等を同定する等、多くの知見を得ることができた。その一方、既存添加物名簿収載品目リストの記載事項（成分、学名等）に合致しない試料もあり、規格化のためには、より幅広く詳細な検討が必要と考えられた。

## 分担研究者

井上 達 国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター長  
神谷研二 広島大学原爆放射能医学研究所  
教授  
関田清司 国立医薬品食品衛生研究所  
毒性部室長  
原田昌興 神奈川県立がんセンター  
臨床研究所長  
三森国敏 東京農工大学農学部教授  
林 真 国立医薬品食品衛生研究所  
変異遺伝部長  
浅倉眞澄 中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター室長  
荒木明宏 中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター室長  
中嶋 圓 食品農医薬品安全性評価センター  
遺伝毒性グループリーダー  
宮澤眞紀 神奈川県衛生研究所  
理化学部主任研究員  
李 貞範 富山医科薬科大学薬学部助手  
黒柳正典 広島県立大学教授  
合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部長  
中澤裕之 星薬科大学教授  
永津明人 名古屋市立大学講師  
山崎 壮 国立医薬品食品衛生研究所  
食品添加物部室長  
尹 永淑 東京薬科大学助手

## 研究協力者

菅野 純、小川幸男  
国立医薬品食品衛生研究所  
松元郷六、和田邦生、阿部美咲樹、竹澤祐造  
残留農薬研究所  
麻野間正晴 名古屋市衛生研究所  
杉山淑江、佐々木俊明、加藤典代  
中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター

益森勝志、赤星まゆみ、古屋有桂子、菊池正憲、  
田中 仁、嶋田佐和子、上田摩弥  
食品農医薬品安全性評価センター  
土井佳代、熊坂謙一、小島 尚  
神奈川県衛生研究所  
川原信夫、鄒 大鵬、丸山卓郎、  
杉本直樹、多田敦子、八代崇寛、金 哲龍  
国立医薬品食品衛生研究所  
斉藤貢一、伊藤里恵 星薬科大学  
酒井信夫 千葉大学大学院  
櫛 泰典 帯広畜産大学  
垣内信子 金沢大学

## A. 研究目的

既存添加物は、平成7年5月の食品衛生法の改正に伴い、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、その範囲を定め、使用を認めているものである。その際の国会附帯決議で、既存添加物については速やかな安全性の見直しが求められた。平成8年度の厚生科学研究報告書「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」において、既存添加物全489品目のうち、139品目については、安全性試験の実施を含め、その安全性について検討することが必要であるとされた。さらに、平成11年度「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」において、それまでに安全性試験成績が収集できた14品目についての安全性評価が行われたが、平成13年度の時点でも基本的安全性を評価するために反復投与毒性試験あるいは変異原性試験の実施が必要とされる品目が多数残されていた。安全性試験結果の評価には、供与された試料の品質や成分に関する情報が必要であるが、残された品目の中には、業界自主規格さえ作成されていない品目、成分研究の行われていない品目も多く含まれていた。既存添加物には、天然物から抽出により得られたものが多く、それ

らは通常、多成分からなる。同じ品目名であっても、製法等が異なると、成分組成も異なることが予想される。そのため、多くの既存添加物は、既存添加物名簿に（ ）書きで、基原・本質が付記されて、限定されている。また、既存添加物の場合、添加物原体にも安定化のために、デキストリンあるいは食用油脂等を含む場合がある。したがって、毒性試験等に用いられる試料の主成分含量を明らかにしておくことは、安全性評価のために重要である。さらに、既存添加物については公的な規格の設定が求められている。そこで、本研究では、既存添加物の安全性を確保することを目指し、その安全性試験結果評価の一助及び公的品質規格の整備のために、90日間反復投与毒性試験あるいは変異原性試験（復帰突然変異原性試験、染色体異常試験、小核試験）と成分研究を連携して実施するとともに、近年、毒性試験の行われ、同じロットあるいは同じ製法で調製された試料が入手可能であった品目についての成分研究を実施した。また、くん液（木酢液）については、近年その用途が広がっているが、一部に変異原性の懸念が報告されていることから、改めて市場製品他の復帰突然変異原性試験及び成分研究を行った。さらに、本研究事業では既存添加物等の復帰突然変異原性試験の結果に影響を与える諸要因についての検討も行った。

## B. 研究方法

### 1. 試料

試料は全て、日本食品添加物協会を通じて提供されたものを用いた。

### 2. 90日間反復投与毒性試験

ラットに数段階の用量の被験物質を90日間反復投与した。試験では、一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定を投与期間中に実施する他、投与終了後には、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定、及び組織学的検査を含む

病理学的検査を実施した。

### 3. 変異原性試験

食品添加物ガイドラインで示された基本的な変異原性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、げっ歯類を用いる小核試験）を実施した。

### 4. 成分・品質に関する研究

検討品目につき、HPLC、LC/MS、LC/MS/MS、GC/MS、ESI-FT・ICR・MS、NMR等の各種機器分析により主有効成分（主成分）、副成分の構造解析、定量を行った。

## C. 研究成果および考察

### 1. 90日間反復投与毒性試験実施品目

①に成分研究結果を、②に毒性試験結果を示す。また、アグロバクテリウムスクシノグリカン、サンダラック樹脂、ジャマイカカシア抽出物、スフィンゴ脂質については、最終報告書を本報告書の参考資料とした。

**1. アグロバクテリウムスクシノグリカン：**①スクシノグリカンを77.6%の収率で得た。構成糖はグルコース、ガラクトース、マンノースであり、Glc:Gal:Man = 10:1:0.8であった。また、非還元末端位にピルビン酸が結合していることが示唆された。さらに、糖鎖の結合様式を明らかにした。② 最高用量5%混餌摂取群においても、一般状態、体重、摂餌量、血液学的、血液生化学的ならびに病理学的に、スクシノグリカン摂取に基づくと想定される有意の影響は認められず、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。本試験によるスクシノグリカン最高用量摂取群における一日平均摂取量、雄における3.85g/kg B.W./day、雌における3.64g/kg B.W./dayは、スクシノグリカンの無毒性量であると想定される。(0.5、1.5、5%添加粉末飼料投与)。

**2. キダチアロエ抽出物：**①収率9.1%で、ガラクトン酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、およびグルコースで構成される多糖

体を単離した。多糖を還元後、メチル化分析に供し、主に 1,4-結合したガラクトン酸で構成されるペクチン性多糖であることが示唆された。また、低分子化合物として aloenin (1.9%)、barbaloin (0.7%)、isobarbaloin (0.7%) を含有していた。これらの低分子化合物を指標とした局方アロエおよびアロインとの判別法として、TLC および LC/MS が有用であることを明らかにした。②4%投与群で軽度の白血球増加と体重減少が認められたが、組織学的に明らかな毒性所見は認められず、その他の異常所見も認められなかったことから毒性は極めて低いものと考えられる。(0.06、0.25、1、4%添加固形飼料投与)。

**3. コメヌカ油抽出物：**①約 60%がフェルラ酸であることを確認した。主成分フェルラ酸以外の成分としてフェルラ酸のステロイドおよびトリテルペンのエステルが含まれていることがわかった。②血液学的検査および血清生化学的検査においては、散発的な検査項目で対照群に比べ有意の差を認めたが、これらの値の変動範囲はごく軽度であり、その範囲も生物学的に正常範囲で、用量相関性も認められなかったことから毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。投与群に特異的な組織学的変化は認められなかった(0.06、0.25、1、4%添加固形飼料投与)。

**4. サングラック樹脂：**①成分は、既存添加物名簿の記載の通り、サングラコピマル酸(含有量 11.6%)であることを明らかにした。②雄では 1.0 および 5.0%群で用量に依存した肝相対重量増大がみられ、雌では 5.0%群で肝相対重量が増大した。無毒性量は肝臓の相対重量の変化を指標に、雄では 0.2%(123.6 mg/kg/day)、雌では 1.0%(686.6 mg/kg/day)であると推察した(0、0.2、1.0、5.0%添加粉末飼料投与)。

**5. ジャマイカカシヤ抽出物：**①主有効成分 quassin を単離し、MS、NMR により同定した。得られた quassin を標品として定量した結果、

quassin 21.4%、neoquassin (16 位の立体異性体の混合物 55.5%)であった。②0.005 および 0.05%群では雌雄ともに、毒性学的に意味のある変化は認められなかった。0.5%群では肝臓への響を示唆する変化として、肝臓の絶対および相対重量増加、病理組織学的検査において肝細胞の肥大および肝臓の酵素誘導を介した二次的变化と考えられる甲状腺濾胞細胞の過形成が雌雄で認められた。また、雌の血液生化学的検査では、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチターゼ( $\gamma$ -GTP)や総コレステロール(T-Cho)の増加も認められた。これらのことから、本試験条件下でのジャマイカカシヤ抽出物の無毒性量は雌雄とも 0.05%(雄:27.9 mg、雌 30.1 mg/kg/day)と推察された。(0、0.005、0.05、0.5%添加粉末飼料投与)。

**6. スフィンゴ脂質：**①シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び HPLC を用いた分離を行った結果、主成分とされている、スフィンゴシン骨格あるいはフィトスフィンゴシン骨格を持つセレブロシドが 9 種単離された。また、スフィンゴ脂質の由来判別法についての文献的検討より、米または小麦のぬか由来製品とウシ脳由来製品の区別は原理的には可能と判断された。②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、臓器重量およ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。以上より、本試験における米糠スフィンゴ糖脂質のラットに対する無毒性量は 1000 mg/kg であると考えられた(週 5 日 0、60、250、1000mg/kg、強制経口投与)。

**7. ニガヨモギ抽出物：**①精油成分としては chrysanthenol、sabinol の含量が高く、副作用成分とされる  $\alpha$ -、 $\beta$ -thujone の含有量はごく微量であった。主成分およびその他のセスキテルペン二量体について検討した結果、アブシンチン及びアナブシンチンを同定した。また、主成

分アブシンチンを定量し、本抽出物製品中に2.0%含有されることを明らかとした。②血液学的検査及び血清生化学的検査においては、散発的な検査項目で対照群に比べ有意の差を認めしたが、変動幅がわずかであることなどから、毒性学的意義はないものと判断した。雌雄に肝臓相対重量の変化が認められたが、病理組織学的変化は認められず、毒性学的意義はないものと判断した。病理組織学的検査では雌雄ともに顎下腺漿液腺細胞の空胞化が認められ、投与群の数例で若干変化が強かったが、発生頻度は対照群と差はなく、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(0、0.125、0.5、2%混水投与)。

## II. 変異原性試験実施品目

①に成分研究結果を、②に変異原性試験結果を示す。なお、一部、細菌を用いる復帰突然変異試験を復、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を染、げっ歯類を用いる小核試験を小と略した。

1. エラグ酸：①エラグ酸純度は、 $99.6 \pm 2.0\%$  (乾燥時)と、非常に高いことが確認された。②復：陰性、小：陰性。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の一部で非常に弱い異常細胞の増加が観察されたが、他の条件下での増加はなく、さらに高用量まで試験されたげっ歯類を用いる小核試験において陰性の結果であったことから、エラグ酸における変異原性試験は問題ないものと考えられた。

2. エレミ樹脂：①既存添加物名簿収載品目リストの主成分は $\beta$ -アミリンとされているが、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルにより、エレミの樹脂の主成分は $\beta$ -アミリンではなく $\alpha$ -アミリンであることが示唆された。GC/MS 分析では、 $\alpha$ -アミリン及び $\beta$ -アミリンのピークのみが検出された( $\alpha$ -アミリン 78.6%、 $\beta$ -アミリン 21.4%) ②小：陰性。なお、エレミ樹脂に関しては、細菌

を用いる復帰突然変異試験とほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では陰性結果がすでに報告されており、問題となるような遺伝毒性は無いものとする。

3. サンダラック樹脂：①I. 4. の通り。②ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で染色体の構造異常は誘発しなかったが、連続処理法において被験物質の析出・沈殿が認められる高用量において数的染色体異常(倍数体)の誘発が観察された。なお、サンダラック樹脂に関しては平成13年度の厚生労働科学研究費補助金を受けた安全性研究として細菌を用いる復帰突然変異試験とげっ歯類を用いる小核試験が行われており、いずれも陰性の結果であった。今回のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で染色体の数的異常の誘発が見られたが、総合的に評価すると、*in vitro*において染色体異常誘発性を示すものの、十分高用量まで試験された小核試験が陰性であり、生体にとって特段問題となるものではないと考える。

4. ヒキオコシ抽出物：①ヒキオコシの同属植物に特徴的な3種のジテルペン(rabdosianone I, maoecrystal A 及び rabdosianone I の2つのメチル基のうち1つがヒドロキシメチル基となったもの)の他、ulsolic acid、4',5'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone の存在を明らかにしたが、ヒキオコシ抽出物の主成分といわれるエンメインは確認されなかった。また、基原植物である生薬エンメイソウのメタノール溶液は、ヒキオコシ抽出物のメタノール溶液と全く同じ TLC パターンを示し、エンメインは確認されなかった。②復：陰性、小：陰性。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で一部陽性の結果が得られたが、高用量まで試験したげっ歯類を用いる小核試験において陰性の結果であったことから、*in vitro*で観察された染色体異常誘発性は生体内では発現することはないものと考えられた。

5. ヒメマツタケ抽出物：①低分子量の有機化

化合物が検出されなかったことから、苦味成分は多糖類またはタンパクに糖が結合している高分子である可能性が示唆された。②ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で染色体異常誘発性は認められなかった。なお、ヒメマツタケ抽出物に関しては平成 13 年度の厚生労働科学研究費補助金を受けた安全性研究として細菌を用いる復帰突然変異試験とげっ歯類を用いる小核試験が行われており、いずれも陰性の結果であった。今回のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の結果が陰性であったことを総合的に評価すると、現在流通しているヒメマツタケ抽出物に関する遺伝毒性は問題ないものと考えることが出来る。

**6. ホウセンカ抽出物：**①既存添加物名簿収載品目リストの基原・製法・本質に、有効成分の記載はないが、ホウセンカの二次代謝産物として、ナフトキノン誘導体、トリテルペノイド配糖体類の存在が報告されている。成分研究の結果、既に本植物より報告されている化合物群とは若干異なる比較的単純な低分子化合物群並びに基本骨格の異なるトリテルペノイド (vanillin, scopoletin, 4-hydroxy-benzaldehyde, echinocystic acid 及び新規ナフトキノン誘導体) を同定した。②復、染、小：陰性。標準的な変異原性試験の組み合わせにおいて、全て陰性の結果であったことから、生体内において遺伝毒性を示す可能性はないものと考えられた。

**7. 没食子酸：**①HPLC で定量した結果、没食子酸・一水和物として 99.7% であった。また、HPLC の gradient 溶出により分離したところ、没食子酸以外に明らかなピークは認められず、製品中の没食子酸純度が非常に高いことが確認された。②小：陰性。なお、没食子酸に関しては細菌を用いる復帰突然変異試験とほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験が評価されており、復帰突然変異試験は陰性であったが、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では陽性の結果

が報告されている。今回のげっ歯類を用いる小核試験における陰性結果は、生体内では染色体異常誘発性が発現しないことを示しており、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えることが出来る。

**8. メバロン酸：**①比旋光度測定およびキラルカラムを用いた HPLC 分析より、メバロン酸製品中のメバロノラクトンは *R(-)* 体であることが確認された。また LC/MS でメバロノラクトンの定量した結果、97.6% であった。②染：±S9 における観察可能な最高用量のみに、色体の構造異常誘発性が認められた。なお、メバロン酸に関しても平成 13 年度の厚生労働科学研究費補助金を受けた安全性研究として細菌を用いる復帰突然変異試験とげっ歯類を用いる小核試験が行われており、いずれも陰性の結果であった。今回のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の結果が陽性であったことを総合的に評価すると、*in vitro* において染色体異常誘発性を示すものの、十分高用量まで試験された小核試験が陰性であり、生体にとって特段問題となるものではないと考える。

**9. ログウッド色素：**①初年度、毒性試験実施予定品目として分析した試料からはシタン色素の主色素成分であるサンタリン A、B 等が検出されたため、毒性試験は保留とした。新たに入手した試料からは、LC/MS を用いて検討した結果、主色素とされるヘマトキシリン (含有量 27.3%) 及びその酸化体ヘマテイン (含有量 7.2%) を検出した。本色素の安定性について検討した結果、長期保存によってもその成分組成は変化しないことが確認された。②復：陰性。染、小：陽性。*in vitro* 試験系においては細胞毒性のため異常の観察が不能になる直前の用量においてのみ見られた反応で、強いものでは無いと考えられた。また、*in vivo* での小核誘発性に関しても限界用量の 2000mg/kg を 2 回投与群においてのみ統計学的な有意差が観察された。し



かし、その出現頻度は 0.36%と低く（通常マウスで観察される陰性対照の上限程度の値）、生物学的意義は低いものと考えられる。

10. **木酢液**：9 類の異なる試料について試験を実施した。①GC/MS 及びヘッドスペース GC/MS 分析（NIST ライブラリ検索）により、いずれの試料からも酢酸をはじめとする有機酸及び 2-methoxyphenol 等のフェノール系化合物等が同定された。②復：9 種類の木酢液試料（製品、原液等）に対し最高用量を 100 mg/プレートとした帰突然変異試験を行い、7 種類で陽性結果を得た。しかし最大用量を国内外のガイドラインで推奨されている限界用量である 5mg/プレートとした場合、陽性を示した検体は原液 2 試料であった。陽性を示した菌株から、木酢液中に含まれる変異原物質は塩基対置換型の変異を引き起こす物質であることが示唆された。

**グレープフルーツ種子抽出物**：①変異原性試験に供された試料からは、アルキル鎖が C8-C18 のベンザルコニウムが検出された。②：復、染：細菌の生育阻害が強く出たため、当該試験の結果は安全性の評価に使用すべきではないと判断した。従って、染色体異常試験の結果は、数的異常の誘発を示唆するものであったが、評価の対象とすべきではないものと判断した。

### Ⅲ. 近年毒性試験の実施された品目の成分研究

参考のため、品目名の後に近年実施された試験及び実施年度を記した（以下、90 間反復投与毒性試験を 90、細菌を用いる復帰突然変異試験を復、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を染、げっ歯類を用いる小核試験を小と略す）。

1. **アマシードガム**、90(H15)：中性多糖及び分子量の異なる数種の酸性多糖が含まれていた。それらの構成糖及び結合様式を検討したところ、中性多糖はキシランタイプ多糖、酸性多糖はラムノガラクトツロナンタイプ多糖であること

が明らかになった。

2. **アルカネット色素**、復、染、小(H13)、90(H14)：既存添加物名簿の主成分（主色素成分）はアルカニン（alkannin）とされている。しかし、本色素には、alkannin 及びその各種エステル体も含まれるものの、本色素の本体は、shikonin (*R*-configuration) 及びその各種エステル化体であることを確認した。また、原料植物が、*Anchusa officinalis* L.ではなく、別のムラサキ科植物であることを示す結果を得た。

3. **アロエベラ抽出物**、90(H15)：機能性多糖として報告されているアセマンナンは確認できなかった。低分子量成分について TLC 及び LC/MS を用いて検討したが、アロエベラ抽出物製品からは検出されなかった。

4. **ウルシロウ**、90(H15)：既存添加物名簿の主成分はグリセリンパルミタートとされている。本研究において、主成分はGlyceryl-1,2,3-tripalmitate (30.7%)であり、その他glyceryl-1,2-dipalmitate-3-oleateとglyceryl-1,3-dipalmitate-2-oleateの混合物(21.2%)、glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate (2.1%)、glyceryl-1-palmitate-2-oleate-3-stearate (2.6%)、glyceryl-1,2-dipalmitate-2-stearate (5.6%)、glyceryl-1,2-distearate-3-palmitate (1.4%) を含むことを明らかにした。

5. **オソケライト**、90(H15)：既存添加物名簿収載品目リストでは、主成分は C<sub>11</sub>~C<sub>13</sub> の炭化水素とされているが、今回の試料の主成分は C<sub>11</sub> から C<sub>13</sub> の飽和炭化水素であり、炭素数の範囲が異なっていた。なお、飽和炭化水素濃度の合計は、75.1%であった。

6. **魚鱗箔**、90(H15)：魚鱗箔分の主構成成分がグアニン、ヒポキサンチン及びキサンチンであることを明らかにした。箔分中のそれぞれの含有量は、79.38%、1.64%、2.01%であった

7. **酵素分解ハトムギ抽出物**、90(H15)：主成分は 1~7 個のグルコースがα-(1→4)結合したオ

リゴ糖の混合物 (glucose、maltose、maltotriose、maltotetraose、maltopentaose、maltohexaose、maltoheptaose) であることを確認した。

**8. ゴマ油不ケン化物、90(H15) :** ゴマリグナン類のうち、セサミン及びセサモールの定量を行ったところ、それぞれ1.8%、0.27%であった。

**9. コメヌカ酵素分解物、90(H15) :** 主活性成分とされているフィチン酸の定量を、大量に共存するとされているペプチドを排除しフィチン酸のみを検出・定量する方法として、<sup>31</sup>P-NMR 測定により行った結果、11.1%と算出された。

**10. スクレロガム、90(H15) :** スクレロガム中の多糖は、1,3-グルカンで約3残基当たり1残基のペンダントとして主鎖の6位にグルコースが結合している構造であることが推定された。

**11. 精油除去ウイキョウ抽出物、90(H11) :** 既存添加物名簿収載品目リストでは、4-*O*- $\alpha$ -D-グルコシルシナピルアルコールを主成分とするとされているが、分析の結果、*O*- $\beta$ -D-galucosyl-synapylalcohol が0.25%存在すること及びadenosine が含有されることがわかった。

**12. タデ抽出物、90(H15) :** 既存添加物名簿の主成分はポリゴジアルとされているが、12種の化合物を単離し、このうち3種はセスキテルペンのisodrimeninol、植物ステロールである $\beta$ -sitosterol 及びstigmasterol と同定した。

**13. チャ種子サポニン、90(H15) :** 既存添加物名簿の主成分はサポニンとされており、分取TLCにより、2つのフラボン含有フラクションと、複数のサポニンが混在するフラクションを得た。フラボン配糖体は、サポニンチャ種子成分として知られるcamelliaside B 及びさらに1つの糖の結合したものと考えられた。

**14. ニガキ抽出物、90(H15) :** 既存添加物名簿の主成分はクアシンとされている。クアシン、ネオクアシン および2種のアルカロイドが単離された。今回分析したニガキ抽出物製品のHPLCクロマトグラムは、ジャマイカカッ

シア抽出物製品のものと同様であった。

**15. ばい煎ダイズ抽出物、復(H16) :** 既存添加物名簿には、成分としてマルトールを含むと記載されている。maltol と共にダイズイソフラボン類である daidzin、genistin、daidzein、genistein、6"-*O*-acetyldaizin、6"-*O*-acetyl-glycitin、6"-*O*-acetylgenistin 等が観察された。主なイソフラボン類の含量は daidzin 0.40%、genistin 0.48% であり、他方、maltol 含量は0.014%であった。

**16. パフィア抽出物、復、染、小(H14)、90(H15) :** 既存添加物名簿において主成分はエクジステロイド及びサポニンとされており、本研究で、 $\beta$ -ecdysone 及びトリテルペンサポニンが得られた。なお、既存添加物名簿収載品目リストにおいて、パフィア抽出物の学名は、*Paffia iresunoides* となっているが、文献上は、*Phaffia iresinosides* となっており、学名の修正が必要と考えられた。

**17. ホホバロウ、復、小(H13)、90(H14) :** 既存添加物名簿の主成分はイコセン酸イコセニル (eicosenyl eicosenoate) であり、本研究においても、ホホバロウの主構成成分は高級脂肪酸と高級アルコールのエステル (eicosenyl octadesenoate (C20:1, C18:1)、eicosenyl eicosenoate (C20:1, C20:1)、docosenyl eicosenoate (C22:1, C20:1)、eicosenyl docosenoate (C20:1, C22:1)、tetracosenyl eicosenoate (C24:1, C20:1)) であることが明らかとなった。このうち主成分をLC/MS/MSにより定量したところ、docosenyl eicosenoate 37.8%、eicosenyl eicosenoate 21.4%であった。

**18. マクロホモブシスガム、90(H15) :** 糖組成分析やメチル化分析の結果、 $\beta$ -1,3-グルカンとデキストランが含まれている可能性が考えられた。

**19. ユーカリ葉抽出物、90(H15) :** 主化合物として没食子酸、Quercetin 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronide、Kaempferol 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronide、grandinol

類縁新規配糖体及び macrocarpal I を含むことを明らかにした。

**20. レイシ抽出物、90(H15) :** 既存添加物名簿収載品目リストに有効成分の記載はないが、マンネンタケ(霊芝、レイシ)の苦味成分に関しては、現在までに合計 80 種以上が単離・同定されている。苦味成分の成分研究の結果、ganoderic acid 類を主苦味成分とするラノスタン型トリテルペノイドの複雑な混合物であることがわかった。

#### IV. 遺伝毒性に関する検討事項のまとめ

既存添加物等の復帰突然変異原性試験の結果に影響を与える諸要因として、検体のヒスチジン含有または混入による復帰変異コロニー数の増加や、アルカロイド、アゾ色素、配糖体化合物等の試験での試験手法、試験菌株、代謝活性化系の選択が不適切であるための陰性結果などが挙げられる。そこで、既存添加物の復帰突然変異原性試験の結果に影響を与えるこれらの諸要因についての検討を行った。

##### 1. ヒスチジン等の変異原性試験に及ぼす影響に関する研究

ヒスチジン及びヒスチジンを配列構造に持つ合成ジ・トリペプチドのサルモネラ試験系への添加による復帰変異コロニー数の増加と、ヒスチジン要求性菌(バックグラウンドローン)への影響を調べた。また、プロテアーゼ活性を持つ酵素を用い、透析によるヒスチジン除去の効果とプロテアーゼ活性を不活化した場合の効果等についても検討し、復帰突然変異試験の限界について考察した。

アミノ酸(サルモネラの場合はヒスチジン、大腸菌の場合はトリプトファン)の添加試験により、アミノ酸による復帰変異コロニー数の増加が、全ての菌株において認められる現象ではないことが明らかとなった。また、バックグラウンドローンを観察することで、アミノ酸によ

る復帰変異コロニー数の増加か否かを判別できることが確認された。

サルモネラ TA100 におけるパパイン(最適 pH6.5~8.0)とブタ胃由来ペプシン(最適 pH3.0~4.0)を用いた試験及び、プロテアーゼ活性のある酵素中の遊離ヒスチジンを限外ろ過によって減少させたプロテアーゼ混入試料の試験において、プロテアーゼ活性のある試料を試験した場合にバックグラウンドローンが濃くなり復帰変異コロニー数の増加を示すことから、プロテアーゼによって試料の蛋白質の一部または S9 蛋白質が分解されてサルモネラに利用されていることがうかがわれた。

ヒスチジンを配列構造に持つ合成ジ・トリペプチドのサルモネラ TA100 試験系への添加試験において、ヒスチジンの N 末端側のアミノ酸をピログルタミン化することでジペプチド・トリペプチドを利用できなくなることから、テスト菌が菌体内に取り込んだペプチドをペプチターゼで切断して、ペプチド中のヒスチジンを利用していると考えられた。また、短鎖のペプチド中のヒスチジンを利用できることも明らかとなった。このことから、復帰突然変異原性試験において、ヒスチジンを配列構造に持つ短鎖のペプチド及びプロテアーゼ活性のある試料を試験するには限界があり、アミノ酸の影響を受けない試験系の選択が必要であること、さらに、試験結果の評価はバックグラウンドローンの濃くなる濃度以下で実施する必要があると結論された。

##### 2. 復帰突然変異原性試験に影響を与える諸要因の研究

復帰突然変異原性試験の結果に影響を与える諸要因のうち、試験菌株、代謝活性化系の選択の重要性を確認するために、アゾ色素[アマランス(赤色2号)及び陽性物質としてボンソー3R]をモデル化合物として、芳香族アミノ・ニトロ化合物の変異原性の検出に高感度である試験菌

株YG1041、YG1042とリボフラビン添加ハムスター肝S9との組み合わせによるアゾ色素の高感度な変異原性検出法について検討した。

アマランスは、ラット肝 S9 にリボフラビン (0.5 $\mu$ mol/plate) を添加してアゾ基の切断を促進したが TA98、TA100、YG1041、YG1042 のいずれの菌株においても変異原性を示さなかった。しかし、ハムスター肝 S9 にリボフラビン (0.5  $\mu$ mol/plate) を添加した場合は、YG1041 において溶媒対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニーが出現し、陽性の結果を示した。その強さはボンソー3R を同じ条件で試験した場合の約 1/19 程度であった。アマランスは陰性の物質とされてきたが、従来代謝活性化系では、変異原性を示す活性化体の生成量が少なく TA98、TA100 で、検出できなかったものと考えられた。この結果より、試験手法、試験菌株及び代謝活性化系の適切な選択をすることが復帰突然変異試験の結果評価において重要であることが確認された。

#### D. 結論

90 日間反復投与毒性試験は、アグロバクテリウムスクシノグリカン、キダチアロエ抽出物、コメヌカ油抽出物、サンダラック樹脂、ジャマイカカシヤ抽出物、スフィンゴ脂質、ニガヨモギ抽出物について行った。サンダラック樹脂及びジャマイカカシヤ抽出物で肝重量の増加が示唆されたことを除き、毒性は認められなかった。

変異原性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、およびげっ歯類を用いる小核試験の全てあるいは一部）は、エラグ酸、ヒキオコシ抽出物、ログウッド色素、ハウセンカ抽出物、サンダラック樹脂、ヒメマツタケ抽出物、メバロン酸、エレミ樹脂、没食子酸及びくん液（木酢液）について行ったが、今回検討した既存添加物には問

題となるような遺伝毒性は無いものと考えられる。

また、変異原性試験の適切な試験実施と評価のため、復帰突然変異試験の結果に影響を与えるヒスチジン等及びその他の諸要因について検討し、ヒスチジンを配列構造に持つ短鎖のペプチド及びプロテアーゼ活性のある試料を試験するには、限界があるなどの知見が得られた。また、芳香族アミノ・ニトロ化合物の変異原性の検出に高感度である YG1041 とリボフラビン添加ハムスター肝 S9 との組み合わせによるアゾ色素の高感度な変異原性検出法は、食用アゾ色素の変異原性評価に有用であることが判明した。

本研究事業において毒性試験に供された試料及び近年、毒性試験に供された試料等 37 品目の既存添加物について、成分・品質研究を行い、その基原に特徴的な成分等を同定する等、多くの知見を得ることができた。その一方、既存添加物名簿収載品目リストの記載事項（成分、学名等）に合致しない試料もあり、規格化のためには、より幅広く詳細な検討が必要と考えられた。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一, 天然苦味料ジャマイカカシヤ抽出物の成分分析, 食品衛生学雑誌, 44, 328-331 (2003).
- 2) Yashiro, T., Sugimoto, N., Sato, K., Yamazaki, T., Tanamoto, K., Analysis of Absinthin in Absinth Extract Bittering Agent, Jpn. J. Food Chem., 11, 86-90 (2004).

- 3) 金 哲龍, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一, 天然着色料魚鱗箔の構成成分, 食化誌, 投稿中.
- 4) Tada, A., Z-L. Jin, Sugimoto, N., Sato, K., Yamazaki, T., Tanamoto, K., Analysis of the Constituents in Jojoba Wax used as a Food Additive by LC/MS/MS, J. Food Hyg. Soc. Japan, submitted.
- 5) Sakai S., Maruyama T., Kawahara N., Goda Y., Studies on Main Pigments in Alkanet Color, a Natural Food Color. Jpn. J. Food Chem., 12 (1), in press.

## 2. 学会発表

- 1) 磯 朝枝, 石橋邦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一: 天然増粘安定剤キダチアロエ抽出物の成分分析. 日本食品衛生学会第 86 回学術講演会, 岩手, 2003.
- 2) 丸山卓郎, 酒井信夫, 川原信夫, 佐藤恭子, 棚元憲一, 合田幸広: 既存添加物「アルカネット色素」の成分と基原種について. 日本食品化学学会第 10 回学術大会, 大阪, 2004.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

—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：食品の増粘安定剤として利用されている多糖体スクシノグリカン摂取の影響、毒性を、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、一般状態、摂餌量、体重増加等をはじめ血液学的、血液生化学的検査値に影響なく、病理学的にも被検物質投与に起因する変化は認められなかった。これらの結果から、スクシノグリカンの毒性はきわめて乏しいものと考えられる。

A. 研究目的

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。食品の増粘安定剤として利用されている既存添加物の 1 品目、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）の一般毒性についても未だ十分な検討がなされていない。本研究は、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・アグロバクテリウムスクシノグリカンは、*Agrobacterium tumefaciences* が産生する菌体外成分で、スクシノグリカンを主成分とする水溶性高分子多糖体として *Agrobacterium* の培養液より分離して得られたものである。このスクシノグリカンは灰白褐色の微粒粉末で、やや吸湿性に富み、特異臭がある。被検物質スクシノグリカンは日本食品添加物協会より供与を受け実験を実施した。

4 週齢の Fisher 系 F344 (SPF) ラット雌雄各 60

匹を日本チャールス・リバー社より購入、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基礎飼料（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。動物はポリカーボネイト製ケージ（幅 26.5cm、奥行き 42.5cm、高さ 20cm）に 5 匹ずつ飼育、床敷きはオリエンタル酵母社製のホワイトフレークを使用し、週 2 回交換した。

ラット飼育用粉末基礎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 10 匹として、スクシノグリカンを 0.5%、1.5%、5.0% の割合で基礎飼料 CRF-1 に混合した飼料を調製、自由摂餌による 90 日間反復投与試験を行った。

試験期間中、各動物個体の一般状態は毎日観察し、体重測定は週 1 回一定の曜日に設定、摂餌量は投与

開始日の給餌量から次回給餌時の残餌量をケージ単位で測定、1日1匹当たりの平均摂取量を求めた。被検物摂取量は、各週毎の1日1匹当たりの摂取量、各週の平均体重、および被検物質添加濃度から、体重1kgに対する1日当たりの平均摂取量として求めた。

被検物質を90日間投与終了時に、各群の動物はエーテル麻酔下で心穿刺採血を行った後、脱血死亡させ、型のごとく剖検を行い、被検物質投与の影響について検索した。各個体について、外表所見および全身諸臓器の肉眼的観察を行い、脳、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣及び卵巣については重量測定後、胃、小腸、大腸、前立腺、精嚢、子宮については摘出後速やかに10%緩衝ホルマリン液に浸漬、固定を行い、病理組織学的検索に供した。各臓器、組織は型のごとく切り出し、パラフィン包埋を行い、薄切切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的検索を行った。採取血液は、株式会社エスアールエルに依頼し、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、血小板数(PLT)、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)、平均血色素量(MCH)、平均血色素濃度(MCHC)を測定、また血液塗抹標本による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(TP)、アルブミン(Alb)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、グルコース(Glc)、総コレステロール(T-Cho)、トリグリセライド(TG)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(AIT, GPT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AsT, GOT)、アルカリフォスファターゼ(AIP)、電解質(Na, K, Cl, Ca)の測定を行った。

#### (倫理面の配慮)

本試験は、食品添加物の90日間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行われる試験であり、動物

からの採血や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

### 1) 一般状態、体重および摂取量について

試験期間中の動物の一般状態については、いずれの濃度の被検物質スクシノグリカン混餌飼料摂取群においても、外表所見、行動等に特別の変化はなく、途中死亡個体も認められなかった。試験期間中の各群の体重の推移をFig 1およびTable 1に示す。体重増加は、雌では対照群を含め各群とも雄に比べて増加率が低く、また雄のスクシノグリカン5.0%混餌摂取群では加齢とともに若干体重増加が鈍くなる傾向が見られたが、雌雄とも対照群とスクシノグリカン混餌飼料摂取各群間に統計的な有意差は認められなかった。試験期間中の各群の動物1匹1日当たりの平均摂取量をTable 2、Fig 2に示す。雄では混餌飼料摂取開始6週間頃から、平均摂取量はスクシノグリカンの用量に関係なく対照群に比して若干減少傾向が見られるが、統計的な有意差はなかった。雌では実験開始後3週目より、平均摂取量が漸減する傾向が見られたが、対照群も同様の傾向を示し、スクシノグリカン混餌飼料摂取群と対照群の摂取量には有意差は全く認められなかった。被検物質スクシノグリカンの体重1kg当たり1日摂取量、動物1匹の90日間の平均累積摂取量をTable 3に示す。被検物質1日当たりの平均摂取量は用量段階に相関し、最高用量5%混餌飼料摂取群の摂取量は、雄では3.85g/kg b.w./day、雌では3.64g/kg b.w./dayであった。

### 2) 血液学および血液生化学検査結果について

血液学的検査結果、血液生化学検査結果をそれぞれTable 4、Table 5に示した。血液学的検査では、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均血色素量、平均血色素濃度等赤血球系の

検査値、白血球数、白血球分画、血小板数ともに被検物質摂取群と対照群間で、雌雄いずれの動物においても差は認められなかった。血液生化学検査では、雌雄とも特に雌において、被検物質摂取群ではA/G比が上昇傾向が見られ、雄では一見被検物質用量との相関があるかに見られるが、統計的有意差はなく、雌では対照群との差は見られなかった。血糖値については、雄の被検物質 1.5%、5.0%摂取群では対照群に比して有意の上昇が見られたが、用量相関はなく、いずれの値も正常値の範囲内であった。その他、肝機能に関わる ALT, AsT,  $\gamma$ -GPT、腎機能関連の BUN、Creatinin、電解質バランス、脂質代謝関連の Total cholesterol には群間差、異常値は認められなかったが、スクシノグリカン 5%混餌摂取群における Tryglyceride 値は雄では対照群に比して有意の減少を、一方雌では有意の増加を示していたが、スクシノグリカンの用量との相関は認められなかった。

### 3) 病理学的所見について

実験終了剖検時の肉眼所見ではいずれの個体にも特記すべき所見はなかった。剖検時の各臓器の絶対重量を Table 6 に、体重値に対する相対重量のグラフを Fig 3 (雄), Fig 4 (雌) に示す。雄の5%用量群における肝臓重量が対照群に比して減少しているが、雌の5%用量群ではむしろ対照群より相対重量は増加しており、明らかな用量相関は認められず、有意差はなかった。その他の臓器重量には雌雄とも被検物質摂取群と対照群間に殆ど差は認められなかった。組織学的には、心臓のうっ血、出血、心筋の変性、細胞浸潤等について検索を行ったがいずれの個体にも所見はなかった。肺では、時に気管支周囲の巣状リンパ球集簇の目立つ個体が対照群を含め散見されたが、うっ血、出血、巣状細胞浸潤、浮腫、無気肺葉、気腫等の所見はいずれの個体にも認められなかった。肝臓においても肝細胞の変化、うっ血、出血、壊死などの所見は被検物質摂取群においても、全く認められなかった。腎臓でも糸球体、尿細管と

もに異常所見は認められず、円柱形成、異常沈着物などの所見も得られなかった。脾臓では雌においてときにヘモジデリン沈着の目立つ個体が認められたが、対照群においても認められる所見で、被検物質摂取との関連は窺われなかった。その他、脳をはじめ中枢神経系、副腎、生殖器、消化管とも異常所見は得られなかった。

### 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 *Agrobacterium tumefaciens* によって産生される菌体外高分子多糖体で、グルコース、ガラクトース、コハク酸、ビ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摂取による生体に対する影響、毒性、健康被害についての報告は検索した範囲では見当たらなかった。そこで、スクシノグリカン摂取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。まず、被検物質スクシノグリカンの投与試験量を設定するためにガイドラインにしたがって、スクシノグリカン5%含有飼料を調製、6週齢の雌雄F344ラット各10匹を用い12日間連続投与による影響について検討した結果、一般状態はじめ、血液検査値などの異常、急性毒性は認められなかった。この予備試験の結果から、スクシノグリカン5%を最高用量として、その1/10量・0.5%を低用量群、1.5%を中用量群に設定し、雌雄一群各10匹として90日間反復投与試験を実施した。試験期間中の雌雄各群とも一般状態、体重増加、摂餌量等には異常を認めず、途中死亡例はなかった。90日間投与終了後、剖検を実施したが、外表所見をはじめ、全身諸臓器組織の肉眼所見、臓器重量等には異常所見は得られなかった。剖検時に採取した血液による一般血液検査では



赤血球系の検査値、白血球数、白血球分画、血小板数ともに異常値はなく、スクシノグリカン摂取による骨髄機能等への影響はないものと推察された。血液生化学検査により、雌雄ともスクシノグリカン摂取試験群では血糖値の上昇傾向を認め、雄の 1.5% および 5.0%混餌摂取群、雌の 0.5%混餌摂取群では統計学的にも対照群に比して有意の高値を示していたが、明らかな用量相関は認められなかった。スクシノグリカンは糖代謝に影響する可能性は考慮されるが、有意の上昇を示した雄の 5.0%混餌摂取群における平均血糖値 154.7mg/dl は Fisher F344 系ラットの生理的血糖値の上限以下であり明らかな用量相関のないことから、この上昇は異常所見ではないと判断される。トリグリセライド値は、スクシノグリカン 5.0%混餌摂取群の雄では対照群に比して統計的に有意の低下を示したが、雌では逆に有意の上昇を認め、雌雄でその傾向は異なり、用量相関はなく、いずれの値も正常値範囲内に留まり、スクシノグリカン摂取との関連はないものと判断される。病理学組織学的にも糖代謝、脂質代謝に関係する肝臓、腎臓、膵臓などに対照群と比べて取り上げるべき有意の所見はなく、スクシノグリカン摂取が生体に及ぼす影響はきわめて乏しいものと推察される。

#### E. 結論

被検物質スクシノグリカンの 90 日間反復投与試験により、最高用量 5%混餌摂取群においても、一

般状態、体重、摂餌量、血液学的、血液生化学的ならびに病理学的に、スクシノグリカン摂取にもとずくと想定される有意の影響は認められず、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。本試験によるスクシノグリカン最高用量摂取群における一日平均摂取量、雄における 3.85g/kg B.W./day、雌における 3.64g/kg B.W./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. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

特になし

#### H. 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

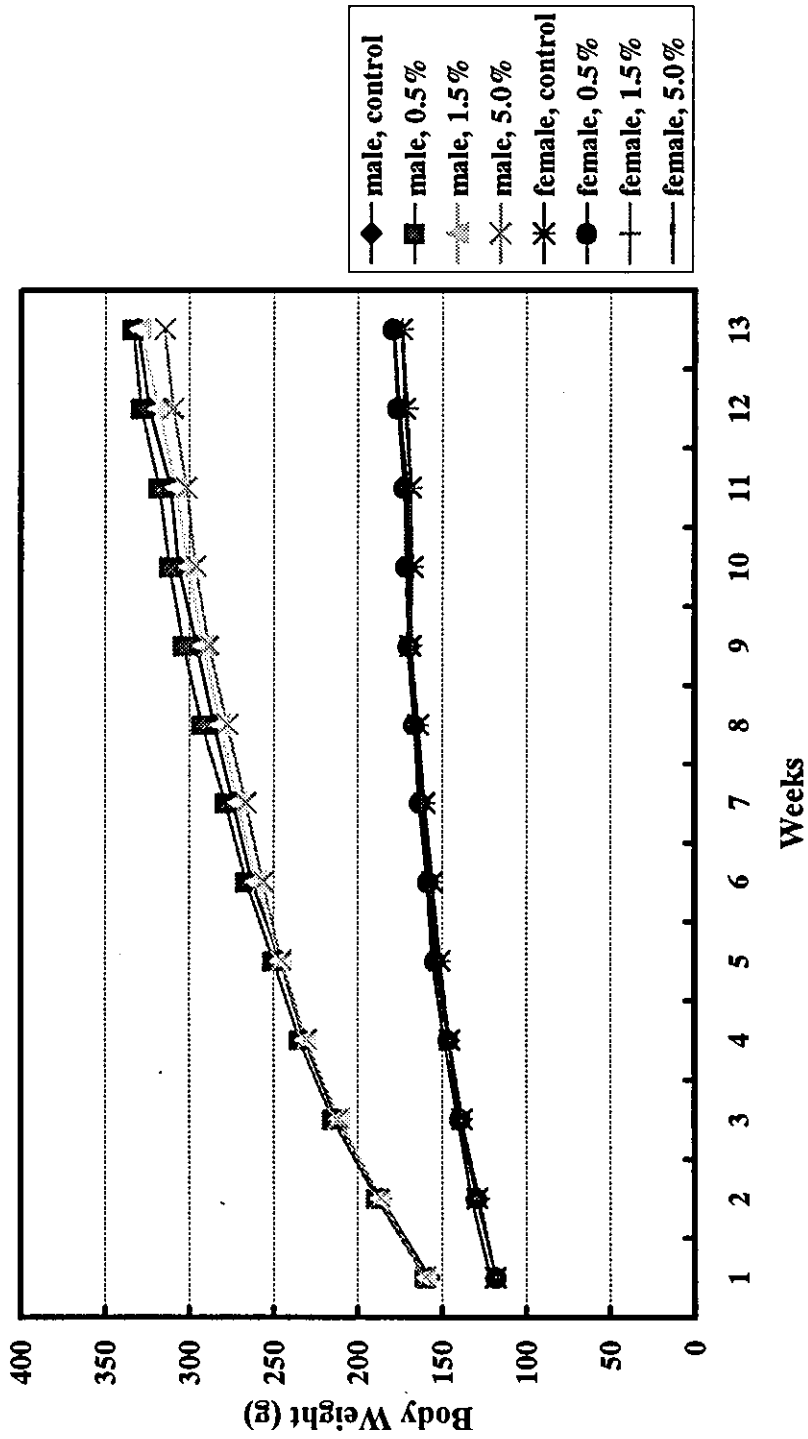
##### 2. 実用新案登録

特になし

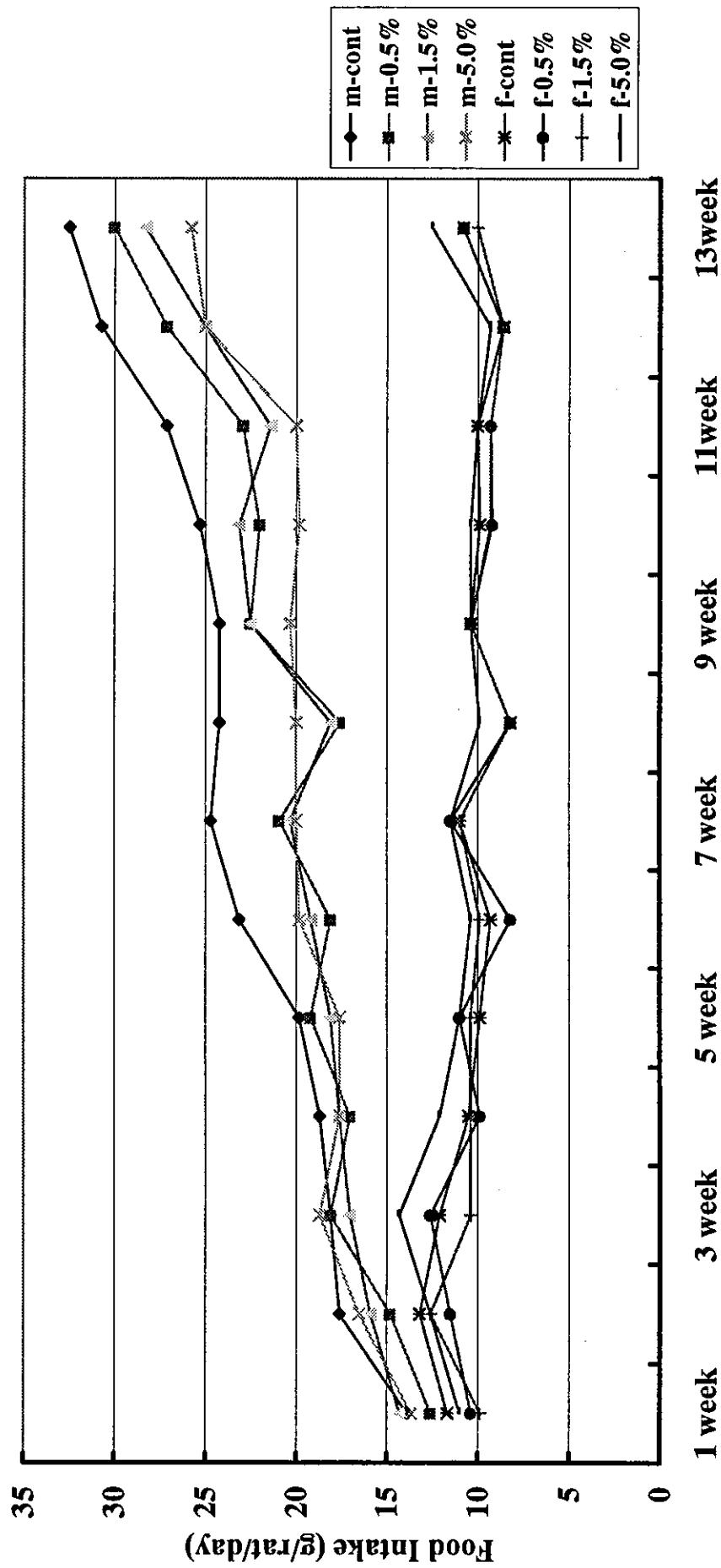
##### 3. その他

特になし

Fig. 1 Body weight of F344 rats fed with succinoglycan containing diet



**Fig. 2 Daily food intake in F344 rats fed with succinoglycan containing diet**



**Fig. 3 Relative wight of various organs (ratio to gBW, male)**

