

2 例、肝原発性アデノーマ、海綿状肝血管種であった。7 例のラットで腫瘍の発生が認められた。6 例は線維肉腫、1 例は皮膚への転移を伴う肺癌であった。発症が 12 カ月後であったことから、発がん性は弱いものと考えられた。²⁾ (Pliss, 1958)

5 生殖発生毒性

該当文献なし。

6 局所刺激性

6.1 皮膚一次刺激試験

試験動物：ウサギ

試験方法：亜硝酸ジシクロヘキシルアミンを 50%メタノールに溶解し、ガーゼ(10×10cm)に浸したものを毛刈りしたウサギの背部に 24 時間貼付した。コントロールとして 50%メタノールをガーゼに浸したものを同様に貼付した。亜硝酸ジシクロヘキシルアミンの投与量は 2.5mg/kg に設定した。

結果：観察の結果、皮膚刺激性は認められなかった。検体除去 2 週間後に、全身性の影響も認められなかった。¹⁾(McOmie & Anderson, 1949)

6.2 パッチテスト

試験動物：ウサギ

試験方法：Draize 法に従い、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンの固定を直接もしくは 10%濃度で 50%メタノールに溶解したものを、ウサギ 2 例の無傷皮膚および擦過皮膚に投与した。さらにコントロールとして 50%メタノールを、1 匹の無傷皮膚および擦過皮膚に投与した。

結果：紅斑・水腫は認められなかった。検体除去 1 週間後、損傷皮膚に病理組織学的な障害は認められなかった。¹⁾(McOmie & Anderson, 1949)

6.3 皮膚感作試験

試験動物：ウサギ

試験方法：10%亜硝酸ジシクロヘキシルアミン溶液の 10ml を 20 日間にわたり 15 回、体毛を除去した 4 例のウサギの背部皮膚 100 平方 cm に塗布した。コントロールとして 1 例に 50%メタノール液を同様の頻度で適用した。曝露終了後曝露群の一例を屠殺して剖検を行った。

結果：炎症・紅斑・発毛停止・その他の皮膚反応は認められなかった。肺・腎臓・肝臓・皮膚に反応は見られなかった。¹⁾(McOmie & Anderson, 1949)

6.4 眼刺激試験

試験動物：ウサギ

試験方法：Draize 法に従い実施した。

結果：2 例のウサギにおいて軽度の結膜炎の兆候を認めたが、有意なものではなかった。¹⁾(McOmie & Anderson, 1949)

7. その他の毒性

7.1 ウサギの血圧に対する作用

試験動物：ウサギ

試験方法：ペントバルビタールナトリウム麻酔下、亜硝酸ジシクロヘキシルアミン、ジイソプロピル亜硝酸塩、亜硝酸塩をウサギ耳静脈に注入後の頸動脈血圧を測定した。対照として血管抑制剤のニトログリセリンを使用した。

結果：亜硝酸ジシクロヘキシルアミンは明らかな血圧降下作用を認め、その効果は亜硝酸塩よりも大きかった。作用時間はニトログリセリンより長かったが、亜硝酸塩とほぼ同様であった。¹⁾(McOmie & Anderson, 1949)

7.2 肝毒性

試験動物：ラット

試験方法：亜硝酸ジシクロヘキシルアミン 32.5mg/kg を 24 例のラットに 3 日間腹腔内投与した。同様にシクロヘキシルアミン 349mg/kg の投与も行った。投与終了後に屠殺し、肝組織について電子顕微鏡観察を行った。

結果：亜硝酸ジシクロヘキシルアミン投与群の肝実質細胞で、シクロヘキシルアミン投与群に比して有意な変化が認められた。すなわち、多くの細胞で核の膨張、クロマチン量の減少、グリコーゲン顆粒の減少が認められ、粗面小胞体の肥厚も認められるなど、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンはシクロヘキシルアミンに比してより早期かつ著明に肝障害性を示すと結論している。³⁾(Gordienko, 1977)

8 ヒトにおける知見

該当文献なし。

引用文献

- 1) McOmie WA, Anderson HH: The toxicity of dicyclohexylamine nitrite. In: Anderson HH, Alles, GA, Daniel TC, editors. University of California Publications in Pharmacology vol. 2 Berkeley and Los Angeles California:University of California Press; 1938. p.231-240.
- 2) Pliss GB. On the Carcinogenic Activity of Dicyclohexylamine and Dicyclohexylaminenitrite,

Voprosyl Onkologii. 1958; 4: 659-667.

- 3) Gordienko VM, Didenko MN. Electron microscopic study of rat hepatocytes under the effect of dicyclohexylamine nitrite and oil-soluble cyclohexylamine salt. TSITOL GENET. 1977; 11: 76-78.

改訂経歴

| 版 No. | 作成日 | 内 容 |
|-------|-------------|--|
| 01 | 2004年11月17日 | 新規作成(検索式; MEDLINE/PubMed: dicyclohexylamine nitrite* or dicyclohexyl ammonium nitrite* or dicyclohexyl ammonium nitrite* or "cyclohexanamine, N-cyclohexyl-, nitrite" or 3129-91-7, TOXNET/ dicyclohexylamine nitrite) |

和名: 亜硝酸ナトリウム

No.18

英名: Sodium Nitrite

コード: 106703

CAS 登録番号: 7632-00-0

別名:

収載公定書:

JP 薬添規 局外規 食添(7) 粧原基・粧配規 外原規

USP/NF EP FDA

最大使用量: 殺虫剤

JECFA の評価:

ADI(1日許容摂取量): 0-0.07 mg/kg bw/日(亜硝酸イオンとして) (2002年、第59回)
(ADIには、自然界から由来するすべての亜硝酸イオンを含む。但し、3ヶ月以下の乳幼児を除く。) 亜硝酸ナトリウムは、1961年に開かれたJECFAで評価され、ADI 0-0.4mg/kg bw(亜硝酸ナトリウムとして)(条件付 ADI: 0.4-0.8)が設定された。その後、第17回 JECFA(1973年)において、ADI 0-0.2mg/kg bw(暫定、亜硝酸ナトリウムとして)に引き下げられ、第20回(1976)年には「6ヶ月以下の乳幼児用食品へは使用すべきではない。」という条件が付された。1995年、第44回で再評価され、ADI 0-0.06 mg/kg bw(亜硝酸イオンとして、自然界から由来するすべての亜硝酸塩を含む。)とされ、更に「3ヶ月以下の乳幼児食には使用すべきでない。」と変更された。¹⁾ その後、2002年第59回において硝酸塩、亜硝酸塩について再評価され、ADI 0-0.07 mg/kg bw/日に変更された。²⁾

無影響量(NOEL): ラット(100ml/L、飲料水で投与、10mg/kg bw/day に相当)²⁾

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀

| | | | |
|-----|----|------------------|--|
| ラット | 経口 | 85 mg/kg bw | Lehman, 1958 ¹⁾ |
| マウス | 経口 | 175-220 mg/kg bw | Greenberg, 1945 ¹⁾ ; Lehman, 1958 ¹⁾ |

これらのゲッシ動物における急性症状として、血管拡張、血圧低下、肝臓中のビタミンA濃度の低下、甲状腺機能障害が認められた。

1.2 ラット

1.2.1 単回投与した場合と同量の亜硝酸ナトリウムを数回に分けて投与した場合の影響について、雌ラットを用いて比較した。メトヘモグロビン血症を指標とし、亜硝酸ナトリウム 160 mg/kg bw 又は 320 mg/kg bw を少量に分けて(15分毎に3回、続いて30分毎に4

回)投与した結果、40 mg/kg 又は 80 mg/kg bw をそれぞれ単回投与した場合に比較し、毒性の発現は低かった。¹⁾ (De Vries, 1938)

- 1.2.2 同様の実験で、亜硝酸ナトリウム 100 mg/kg bw をラットに投与し、2 時間後に同量を再投与したところ、高い死亡率を示したが、4 時間後に同量投与した場合はすべての動物が生存していた。ラットにおけるメトヘモグロビンの半減期は 90 分と報告されており、この毒性発現結果の差異は、メトヘモグロビンの体内半減期に起因するものと推測される。¹⁾ (Shuval & Gruener, 1972)

- 1.2.3 1 群 18-24 匹からなる生後 45-55 日の Long-Evans Hooded 雄ラットに 0、50、75、100 mg/kg bw の亜硝酸ナトリウムを投与し、行動、血液学的検査、脳組織病理学的検査を行った。行動変化については、亜硝酸ナトリウムを 75 mg/kg の割合で投与した後、25 分後に観察し、脳の組織病理学的検査については投与 24 時間後に検査した。検査前に 10 分間動物を水に浸漬すると、重症なモーター運動能力低下を生じたが、検査前 10 分間、脚に温和な衝撃を与えた程度では、運動能力低下は見られなかった。メトヘモグロビン (MetHb と略) については、投与後に検査したが、これらの処理によると思われる MetHb の変化は認められなかった。海馬の形成細胞に及ぼす亜硝酸塩の長期影響は、虚血による変化と良く似ていた。¹⁾ (Isaacson & Fahey, 1987)

1.3 イヌ

- 1.3.1 イヌに亜硝酸ナトリウム 1-2g/kg をソーセージと共に投与したところ、投与後 1-2 時間内に、呼吸数及び心拍数が増加し、ECG も変化、メトヘモグロビン血症も認められ、血清中のナトリウムが増加しカリウムが減少、ASAT 活性も増加した。¹⁾ (Isaacson & Fahey, 1987)

2 反復投与毒性

2.1 マウス

- 2.1.1 1 群 5 匹のマウスからなる生後 6 又は 55 週のマウスに、亜硝酸ナトリウム 0、110 mg/kg bw を胃管強制投与した。亜硝酸ナトリウム投与群では強制走行距離の減少、ECG (心電図) の異常、限外顕微鏡下で心筋の変化が観察された。¹⁾ (Kinoshita et al., 1985)
- 2.1.2 亜硝酸ナトリウム、0、100、1000、1500 又は 2000 mg/L を飲料水に添加 (0、10、100、150 又は 200 mg/kg bw/日に相当する。)し 2 週間投与した結果、マウスの運動能力が低下した。¹⁾ (Gruener & Shuval, 1971)
- 2.1.3 1 群 10 匹の雄マウスからなる 5 群に、0、100、1000、1500 又は 2000 mg/L の亜硝酸ナトリウムを含む飲料水 (0、10、100、150 又は 200 mg/kg bw/日に相当する。)を投与した。亜硝酸ナトリウム投与群の運動能は低下したが、特に最高投与群でその低下が大きかった。メトヘモグロビン血症も同様に観察された。実験者によると、投与群の鎮静効果はメトヘモグロビン血症に起因するものとは思われずとしている。¹⁾ (Behroozi et al., 1971)

2.1.4 1群雌雄 10 匹の B6C3F1 マウスに亜硝酸ナトリウムを 0、375、750、1500、3000 又は 5000 mg/L 含有する飲料水で 14 週間投与した。この量は 1 日平均雄では 90、190、340、750、990 mg./kg bw、雌では 120、240、440、840 mg./kg bw に相当する。投与後 13 週で、亜硝酸ナトリウム最高投与群の雄ラットでは、対照群に比較し有意に体重増加率が減少した。雄ラットの脾臓の相対重量、雌ラットの心臓、腎臓、肝臓及び脾臓の相対及び絶対重量は対照群よりも大きかった。最高投与群の雄では精子運動能力が低下し、3 高投与群の雌ラットでは対照群に比較し発情周期が有意に長くなった。2 高投与群の雌雄のラットでは前胃に扁平上皮過形成が認められ、2 高投与群の雄ラット及び 3 高投与群の雌ラットにおいては脾臓の髓外造血が観察された。又、2 高投与群の雄ラットでは精巢に変性も認められた。²⁾ (National Program, 2001)

2.2 ラット

2.2.1 1 群雌雄 10 匹からなるラットに、亜硝酸ナトリウム 0、0.06、0.125、0.25、0.5 又は 1% 濃度含有する飲料水を 6 週間与えた。これらの濃度は、亜硝酸ナトリウムとして 0、60、125、250、500 又は 1000 mg/kg bw/日に相当する。1000 mg/kg bw/日の投与量では緩やかな体重増加抑制が認められた。剖検の結果、高投与の 2 群で血液、脾臓にメトヘモグロビン血症による著明な色調の変化(褐色化)が認められた。飲料水で投与する場合の最大耐量は 0.25%であった。¹⁾ (Maekawa *et al.*, 1982)

2.2.2 1 群雄ラット 8 匹からなる 4 群に、亜硝酸ナトリウム 0、100、300、2000 mg/L 含有する飲料水を 2 ヶ月間与えた。これらの濃度は、亜硝酸ナトリウムとして 0、10、30 又は 200 mg/kg bw/日に相当する。最大投与群における EEG に異常が認められたが、その他の投与群においてはその程度がより小さかった。¹⁾ (Shuval & Gruener, 1972)

2.2.3 1 群 8 匹の生後 1 ヶ月の雄ラットからなる 2 群に、亜硝酸ナトリウムを 0 又は 200mg/L を含む飲料水を投与した。(亜硝酸ナトリウムとして 0 又は 20mg/kg bw/日に相当する)メトヘモグロビン濃度は対照群で 0-1.2%であったのに対し、亜硝酸ナトリウム投与群では 0.5-3.1%であった。同時に、亜硝酸ナトリウム投与群では肺損傷の発生率が高かった。同様の実験で、生後 2 ヶ月のラット(亜硝酸ナトリウム投与群 12 匹、対照群 9 匹)に、亜硝酸ナトリウムを飲料水に 0、2000 mg/L 添加し、14 ヶ月間投与した。メトヘモグロビン濃度は対照群が 0-1%であったのに対し、亜硝酸ナトリウム投与群では 1-35%とばらついていて、亜硝酸塩を摂取した動物は体重及び肝重量も小さく、血清ビタミン E 濃度も減少し、グルタチオン濃度の低い赤血球も増加し、すべての動物で重症な肺損傷が認められた。¹⁾ (Chow *et al.*, 1980)

2.2.4 1 群雌雄各 10 匹のラットに、亜硝酸ナトリウム 0、380、750、1500、3000 又は 5000mg/L を含む飲料水を 14 週間投与した。この量は雄ラットでは 30、55、120、200、310 mg/kg bw/日、雌ラットでは 40、80、130、220 及び 340 mg/kg bw/日に相当する。更に、他の群に同濃度を含有する飲料水を 70-71 日間投与した。220 mg/kg bw/日を投与した群の雌 1 匹が試験終了前に死亡した。310 mg/kg bw/日を投与した雄ラットは対照

群に比較し明らかに体重が少なかった。又、310 mg/kg bw/日投与群及び雌ラットの 2 高投与群においては、対照群に比較し 2、14 週の摂水量が低かった。臨床所見では、雄で亜硝酸ナトリウムを 200、310 mg/kg bw/日投与した群、雌では 3 高投与群の目の褐色化、口、舌、耳、足にチアノーゼが観察された。網赤血球数は雌雄とも 2 高投与群で増加した。エリトロンは雌雄最高投与群で、投与後 19 日目に低減したが、14 週までに再び増加した。全ての投与群でメトヘモグロビン量は増加し、総ヘモグロビン量に対する割合は雄の対照群で 0.002%、200mg/kg bw/日投与群の雄で 4.4%、310 mg/kg bw/日投与群の雄で 17%、雌の対照群で 0.37%、220 mg/kg bw/日投与群で 5.8%、340 mg/kg bw/日投与群で 11%であった。実験者はこれらの影響に対する NOEL を算定できなかったと報告している。2 高投与群の雌雄における腎臓、脾臓の相対重量は増加し、200、310 mg/kg bw/日投与の雄ラットでは精子運動能力の低下が観察された。2 高投与群の雌雄の骨髄における赤血球生成能は増加し、網赤血球数が増加した。最高投与群の雌雄ラットでは有意に前胃の鱗状細胞の過形成が認められた。メトヘモグロビンの生成が 3%以下であれば悪影響があるとは言えず、120 mg/kg bw/日投与群の精子運動能力の低下を基に NOEL は 55 mg/kg bw/日とした。²⁾ (National Toxicology Program, 2001)

2.2.5 1 群 8 匹の雄ラットに、亜硝酸ナトリウムを 0、100、1000、2000 又は 3000 mg/L を含む飲料水を 2 年間投与した。成長、発育、死亡率、総ヘモグロビン量については亜硝酸ナトリウム投与群と対照群の間に有意な差異は見られなかった。しかし、亜硝酸ナトリウムを 1000、2000 又は 3000 mg/L 摂取した群では総メトヘモグロビン量は試験中有意に高く、対照群に比較し、それぞれ 5%、12%、22%高かった。主要な組織病理学的変化は最高投与群において肺、心臓に見られ、心筋に小さな変性と繊維化が観察された。冠動脈は、通常この年齢で見られるような厚く狭くなる代わりに、薄く拡張していた。肺における変化はリンパ球が浸潤した気管支拡張、肺胞の極度の膨張が認められ、亜硝酸ナトリウムを 1000、2000 又は 3000 mg/L 摂取した群でこのような現象が認められた。この試験における NOEL は亜硝酸ナトリウムとして 100 mg/L であり、10 mg/kg bw /日に相当し、亜硝酸イオンとして 6.7mg /kg bw /日となる。¹⁾ (Shuval & Gruener, 1972)

2.3 ウサギ

2.3.1 ラットで見られた副腎皮質球状帯の変化を裏つける現象として、亜硝酸ナトリウム 10 mg/kg bw/日を非経口投与により 18 日間投与し、尿中ステロイドの排泄の変化をみた結果、時間の経過と共に、尿中の 17-ヒドロキシー、17-ケト、17-ケトンの形をしたステロイド類の排泄量が減少した。NaNO₂ 20 mg/kg bw/日を 14 日間投与した場合でも 17-ヒドロキシー及び 17-ケトステロイドの排泄量が減少した。¹⁾ (Violante *et al.*, 1973)

3 遺伝毒性

3.1 亜硝酸ナトリウムは *Salmonella typhimurium* による Ames テストで、突然変異性を示したが、市販の SOS-chromotest では他の変異原性物質と同様陰性であった (Brams *et*

al., 1987)。しかし、Nakamuraらによると、SOS-chromotest を用いたテストでも弱い遺伝毒性を示した。¹⁾ (1987)

- 3.2 マウス細胞によるテストで、亜硝酸ナトリウムは代謝活性がない場合には single strand breaks の増加を認めなかったが、比較的高濃度では投与量に比例し遺伝子突然変異、染色体異常がそれぞれ増加した。この変異原性は多分 DNA の脱アミノ化によるもので、ニトロ素アミンの生成に起因するものではないと推定される。¹⁾ (Kodama *et al.*, 1976)

V79 ハムスター細胞に亜硝酸ナトリウムを約 pH5 の酸性下で投与すると、6-TG mutant の増加が認められた。¹⁾ (Budayoba, 1985)

ハムスター培養細胞による試験では明らかに染色体異常が増加した。¹⁾ (Tuda *et al.*, 1976)。End-duplication も同様に報告されている。¹⁾ (Tuda & Kato, 1977)

亜硝酸ナトリウムは人胚肺組織から得た異常細胞を急激に誘導した (Stanford Research Institute, 1972-報告書なし)。マウスリンパ腫 L5178Y による thymidine kinase locus assay では、亜硝酸ナトリウムは 0.02-1mmol/L 濃度で陽性であり、既知の変異原物質、発がん物質に比較し弱い変異原性を示す。¹⁾ (Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988)

- 3.3 Syrian ハムスターの妊娠 11 又は 12 日目に、亜硝酸ナトリウムを経口投与した。ハムスター胚細胞の培養細胞で薬剤抵抗性を示す変異(8-AG、オウバイン)が増加した。同時に、用量依存性の小核の生成増加が認められた。しかし、染色体異常増加の検知は出来なかった。¹⁾ (Inui *et al.*, 1979)

- 3.4 *In vitro* で、亜硝酸ナトリウム投与によるハムスター細胞の形態の変異が報告されている (Tsuda *et al.*, 1973)。*In vitro* では胚細胞の変異が生じるが、*in-vivo* でこの変異した細胞を移植すると、新生物へ変化した。¹⁾ (Inui *et al.*, 1979)

- 3.5 ショウジョウバエ翅毛スポットテスト(wing spot test)で、Graf *et al.* (1989)は翅体細胞に大小のシングルスポットの出現頻度の変化による突然変異性を観察した。一つは *E. coli* K 12 uvr B/rec A DNA repair を用いた宿主経由試験、及びマウス小核試験の 2 種の *in vivo* テストで変異原性は認められなかった。¹⁾ (Couchell & Friedman, 1975; Hayashi *et al.*, 1981, 1988; Hellmer & Bolcsfoldi, 1992)

約 210 mg /kg bw になるように亜硝酸ナトリウムを飲料水に溶かし妊娠 5-18 日及び非妊娠ラットにそれぞれ投与したところ、両群共骨髓細胞に染色体異常を誘発し、同様に胚の肝細胞にも染色体異常が認められた。この異常分裂中期(metaphase)の数の割合は成熟ラットの骨髓に比較し、胚肝細胞の方が高かった。¹⁾ (El Nahas *et al.*, 1984; Luca *et al.*, 1987)

- 3.6 亜硝酸塩は次の三段階によって突然変異を誘発するとしている。(1) DNA 鎖中の DNA 塩基から脱アミノする。脱アミノはしばしば自然発生的にも起こるが、これらの修復システムはバクテリアに存在することが知られており、哺乳動物の細胞でも同様と思

われる。(2) DNA鎖のプリン残基同士のクロスリンクの形成が2重鎖DNAの場合にヘリクスの歪が生じる。このタイプの損傷の誘発はDNAの近くに存在するポリアミン、グリコール、アルコール、フェノール等の分子で増強される(Thomas *et al.*, 1979)。(3) 亜硝酸塩はニトロ化され易い物質と反応し、N-ニトロ化合物をつくり、間接的に変異原性をあらわす。¹⁾ (Zimmermann, 1977)

- 3.7 雄マウスの胚細胞に対し、*in vivo* テストで亜硝酸塩及び硝酸塩の影響を調査した。亜硝酸ナトリウム 120 mg/kg bw/日を17日間投与後、UDS(処理後17日)及び精子細胞における精子奇形(処理後11日又は17日)を調査した。硝酸塩も同様に600又は1200 mg/kg bw/日を3日間投与した。この結果、亜硝酸塩(硝酸塩も)はUDS反応を誘発しなかった。唯一精子奇形テストで亜硝酸ナトリウム 120 mg/kg bw/日を投与した群で陽性であった。¹⁾ (Alavantic *et al.* 1988)
- 3.8 亜硝酸ナトリウムは *Salmonella typhimurium* TA100 に対して、Aroclor 1254-ハムスター及びラット肝臓酵素による代謝活性の有無に係わらず、変異原性を示したが、TA98 に対しては陰性であった。雄ラット及びマウスに亜硝酸ナトリウムを腹腔内投与し小核試験を行ったが、骨髄に小核形成の誘導は認められず、マウスの末梢血液を用いた14週にわたる小核試験でも陰性の結果が得られている。²⁾ (National Toxicology Program, 2001)

4 癌原性

4.1 マウス

- 4.1.1 1群雌雄50匹のマウスからなる4群に、亜硝酸ナトリウムをそれぞれ0、1000、2500又は5000 mg/L含有する飲料水を18ヶ月間投与(0、200、500、1000 mg/kg bw/日にそれぞれ相当する。)した。腫瘍の発生は認められなかった。¹⁾ (Inai *et al.*, 1964)
- 4.1.2 1群200匹からなる同血統交配のマウスに、0又は0.2%/L亜硝酸ナトリウムを含有する飲料水を投与した。その内、100匹は0.2%/L亜硝酸ナトリウムに子宮内暴露(妊娠、授乳中)し、離乳後は0.2%/L亜硝酸ナトリウム飲料水を投与した。通常の組織学的検査では、亜硝酸ナトリウムは暴露期間に関係なく中枢神経系の腫瘍発生に影響を及ぼさないように思えた。この結果は亜硝酸ナトリウムがVMマウスで脳グリオーマの原因の可能性が高いことを示唆する先の実験結果と矛盾するものであった。¹⁾ (Hawkes *et al.*, 1992)
- 4.1.3 1群雌雄各50匹のB6C3F1マウスに亜硝酸ナトリウムを0、750、1500又は3000 mg/Lを含む飲料水を2年間投与した。これらの投与量はそれぞれ雄では60、120、220 mg/kg bw/日、雌では45、90、160 mg/kg bw/日に相当する。投与群の生存率は対照群と変わらなかった。最高投与群の雌では実験終了まで対照群に比較し体重が小さく、投与群の摂水量も対照群に比較し少なかった。雌マウスの前胃に扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生が高い傾向が認められた。最高投与群の雄では対照群に比較し、前

胃に有意に過形成の生成が観察された。しかし、これら前胃扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の生成が陽性傾向にあるというだけで、発癌性が認められるとするには証拠不十分である。²⁾ (National Toxicology Program, 2001)

4.2 ラット

4.2.1 US FDA による大規模試験(Newbern, 1978, 1979)で、対照群ラット 537 匹、亜硝酸塩投与群では 1383 匹のラットにそれぞれ 0、25、50、100、200 mg/kg bw を餌又は飲料水に添加し投与した。亜硝酸塩投与群の一部は出産 5 日前及び離乳前から生涯投与を継続した。餌は、通常用いる動物飼料及び寒天をベースにした半合成飼料の2種類を用いた。Newbern(1978, 1979)は全ての亜硝酸塩投与群でリンパ腫の発生が増加したと報告した(投与群の発生率が 10.2%に対し、対照群では 5.4%であった。)。しかしながら、政府の Interagency Working Group は同一組織プレパートを精査し異なる結論、即ち、亜硝酸塩処理群及び対照群とも、リンパ腫の発生率は少数(約1%)であると結論した。この不一致は Newbern がリンパ腫と診断したものを、Interagency Working Group は髄外造血、plasmacytosis(形質細胞増多症)又は histiocytic sarcoma(組織球肉腫)と診断し、リンパ腫としては極少数でしかなかったことによる。その他の腫瘍の発生は見とめられなかった。¹⁾ (FDA, 1980a,b)

4.2.2 1群雌雄 50 匹の F344 ラット 3 群に、亜硝酸ナトリウムを 0、0.125 又は 0.25%濃度になるよう飲料水に加え、2 年間飼育した。発癌の所見は認められなかった。対照群に比較し、高投与群の雌ラットにおいて有意に腫瘍発生率の低下が観察された。この減少理由の一つは、この種のラットで自然発生的に見られる(約 25%)単核細胞白血病(mononuclear cell leukaemia)に起因するものと思われる。¹⁾ (Maekawa et al., 1982)

4.2.3 1群雌雄 24 匹からなる F344 ラットに、亜硝酸ナトリウムを 2000 mg/kg 添加した餌(100 mg/kg bw/日に相当する)或いは 200 mg/kg bw/日に相当する亜硝酸ナトリウムを添加した飲料水を投与した。この結果、癌原性は認められず、亜硝酸塩処理群で雌雄ともに F344 種に自然発生する単球白血病的減少が認められた。亜硝酸ナトリウム投与群において、その他の腫瘍発生増加は認められなかった。¹⁾ (Lijinsky et al, 1983)

4.2.4 1群 50 匹からなる生後 6 週令の F344 雄ラットで長期投与試験を行った。亜硝酸ナトリウムは 115 週まで 0.2 又は 0.5%をたん白低減飼料に混餌し投与した。雄 20 匹からなる対照群はたん白低減飼料のみを投与した。亜硝酸ナトリウム投与群では体重増加率が減少し、投与開始 1 週間後の RBC、PCV 及びヘモグロビン量は減少した。RBC は 8 週後も引き続き減少したが、徐々に回復し 52 週には正常に戻った。投与量に相関して、リンパ腫、白血病、精巣間質細胞腫の発生時期、発生数の減少が認められた。白血病はリンパ腫を持つ動物に認められ、この 2 つの腫瘍には関連性のあることが示唆された。この実験条件では亜硝酸ナトリウムはラットに対し発癌性は認められず、むしろ、投与量に相応して発癌率が低減する傾向が見られた。¹⁾ (Grant & Butler, 1989)

4.2.5 1群雌雄各 50 匹の Fisher344 ラットに、最初の 3 群には基礎食にフィッシュミールを

8%、32%、64%強化した餌を与え、0.12%亜硝酸ナトリウム含有飲料水を投与した。他の3群にはこれと同比率でフィッシュミールを強化し、飲用水にはタップウォーターを用いた。104週経過後、生存する動物を全てと殺し、組織検査を行った。フィッシュミールを強化した餌で飼育した雄ラットでは、強化量に比例して異常細管、アデノーマ、腎細胞カルシノーマの発生が認められた。雌では雄に比較して腎腫瘍の誘導に関する感受性は低かった。フィッシュミールを64%強化した餌を摂取した群と8%強化した群とを比較すると、64%強化群では異常細管の出現率と多様性は有意に高かった。腎障害の発生は亜硝酸ナトリウムの摂取量に関係なく、フィッシュミールの強化量と有意な相関を示し、雌よりも雄で発生率が高かった。64%フィッシュミール強化餌と0.12%亜硝酸ナトリウム含有飲料水を摂取したラットの投与4週間後の胃中N-ニトロソジメチルアミン量は、8%強化餌と0.12%亜硝酸ナトリウム含有飲料水を摂取した群に比べ、2倍量高かった。このように、フィッシュミールと亜硝酸ナトリウムを同時に投与すると腎臓上皮に腫瘍が誘発される。

²⁾ (Furukawa et al., 2000)

- 4.2.6 1群雌雄各50匹のFisher344/Nラットに、亜硝酸ナトリウム0、750、1500、3000 mg/Lを飲料水に添加し、2年間飼育した。この量は雄では35、70、130 mg/kg bw、雌では40、80、150 mg/kg bwに相当する。血漿亜硝酸及び血中ヘモグロビンの毒力学的調査を目的に、雌雄各10匹に同量の亜硝酸ナトリウムを12ヶ月間投与した。生存率は対照群と変わらなかった。最高投与群においては対照群に比べ、試験期間を通して平均体重が低く、摂水量も低かった。又、その他の投与群における摂水量は14週後以降で低かった。最高投与群の雌雄ラットにおいて、前胃の上皮に過形成の発生が認められ、その発生率は対照群に比較し有意に高かった。雌ラットにおいて乳腺腺維腺腫の発生は中間投与群で有意に高く、低投与の2群においても多様な腺維腺腫が認められたものの、これらの新生物の発生は対照群においても観察されるものであった。最高投与群においては、これら新生物の増加は認められなかった。単核細胞白血病の発生は80、150 mg/kg bw/日投与群の雌雄で有意に減少した。これらの結果から、発癌性の証拠は見当たらない。²⁾ (National Toxicology Program, 2001)

5 生殖発生毒性

5.1 マウス

- 5.1.1 1群約15匹からなる妊娠ICRマウスに、亜硝酸ナトリウムを0、100又は1000 mg/L濃度で含有する飲料水を妊娠7-18日間投与した。亜硝酸ナトリウム投与群と対照群を比較し、胎児数、胎児の体重、死亡胎児数等、亜硝酸ナトリウム投与による毒性を示唆する影響は認められなかった。亜硝酸ナトリウム投与群の胎児の外表異常、骨格異常も対照群と比較し差は認められなかった。亜硝酸ナトリウムにより子宮暴露された胎児の生細胞染色体について観察した結果、破損及びギャップ等の増加も差が認められなかった。これらの結果から、この実験の投与量では亜硝酸ナトリウムの催奇形性、突然

変異性は認められなかった。¹⁾ (Shimaria *et al.*, 1989)

- 5.1.2 Swiss CD-1 マウスを用い、亜硝酸ナトリウムの繁殖に及ぼす影響を見た。投与量を設定する目的で、同居期間中 0.06%、0.12%、0.24%(W/V)濃度の亜硝酸ナトリウムを含有する飲料水を投与した。同居期間の高投与群における F₀ の体重は減少しなかったものの、摂水量は 10-17%減少した。亜硝酸ナトリウムの摂取量はそれぞれ 120、260、420 mg/kg bwであった。この段階で、9 匹のマウスが死亡したが、0.06%投与群で 3 匹、0.12%投与群で 4 匹、0.24%投与群は 0、対照群で 1 匹であった。1 対当りの平均産児数、同腹児数、生存児数及び子動物の体重等には、投与による影響は認められなかった。各子動物の分娩までの日数にも影響はなかった。各母動物は同居段階から離乳迄、産児を飼育させた。飼育中の死亡率には亜硝酸塩処理による影響は認められなかったが、子動物の体重増加率は、最高投与群で生後 7-21 日にかけて 12-17%減少した。この原因は母動物の摂水量が減少したため、結果として乳の生成が減少したことによると思われる。この段階において、繁殖に何ら影響が認められなかったので、対照群及び最高投与群のマウスのみについて潜在的繁殖毒性を調査した。この試験期間中、摂水量は 8% 低減した。F1 の交配期の初期体重は全ての群で差がなかった。F1 マウスの妊娠率、交尾率には投与による影響は認められず、交尾能力も変わらなかった。産児数、生存児数、子動物の体重は投与による減少は認められなかった。分娩後、F2 子動物、F1 マウスをと殺し検査した。最終体重は投与による影響は認められず、各臓器重量にも変化は認められなかった。発情周期も変わらず、精子運動能力や形態学的変化も認められなかった。組織学的検査では、0.24%投与群のマウスの肝臓、腎臓とも対照群と変わらなかった。このように、亜硝酸ナトリウムはマウスに対し 420 mg/kg 体重迄は繁殖に悪影響は認められず、この値が繁殖毒性の NOEL と考えられる。²⁾ (Chapin *et al.*, 1997)

5.2 ラット

- 5.2.1 1 群 12 匹からなる妊娠ラットに亜硝酸ナトリウムを飲料水に 0、2000 又は 3000 mg/L 添加し投与した。この濃度は亜硝酸ナトリウムとして 0、200、300 mg/kg bw/日に相当する。非妊娠ラットも同様の処理を行った。亜硝酸ナトリウムを投与した妊娠ラットには貧血症状が現れ、同様の処理を行った非妊娠ラットに比較し血中メトヘモグロビン含量も高かった。又、亜硝酸ナトリウムを投与した母ラットにおける新生児の死亡率は対照群に比較し明らかに高く、特に、離乳前 3 週間において顕著であった。子ラットの死亡率は対照群で 6%であったが、2000 mg 投与群では 30%、3000 mg 投与群では 53%であった。出生時体重は全ての群で同等であったが、親動物に亜硝酸ナトリウムを投与した群の子ラットの体重増加率は顕著に低かった。¹⁾ (Shuval & Gruener, 1972)。
- 5.2.2 亜硝酸ナトリウムを 2.5-50 mg/kg bw を妊娠ラットに投与した結果、胎盤を経由して胎児がメトヘモグロビン症を呈した。¹⁾ (Shuval & Gruener, 1972)
- 5.2.3 2 世代繁殖試験において、亜硝酸ナトリウムを 0、240 又は 460 mg 含有する餌で妊娠時から 28 ヶ月間飼育したが、産児数、死亡数、生涯成長率等の変化は認められな

った。この投与量は、それぞれ 0、12、23 mg/kg bw/日に相当する。¹⁾ (Shank & Newberne, 1976)

5.2.4 妊娠 Long-Evans ラットに妊娠期間を通じ、亜硝酸ナトリウムを 0.5、1、2 又は 3g/L 添加した飲料水を投与した。投与群及び対照群の出産児には有意な差異は観察されなかった。その後、親動物に亜硝酸ナトリウムを 2 又は 3g/L 投与した群の子ラットは体重増加率が低下し、著しい貧血症を呈し、出生後 3 週間で死亡する子ラットも出た。出生後 2 週間で、子ラットの血中 Hb、RBC、MCV (Mean corpuscular volume) は、対照群に比較し顕著に低下した。又、脂肪肝が観察され、血液塗末標本では顕著な不同血球、難染色性、乳糜様脂肪血が観察された。組織病理検査では中心小葉肝細胞の細胞質空胞形成、骨髄・脾臓における血液産生の減少が認められた。1g/L 投与群においては、血液学的変化も認められたが、成長及び死亡率への影響は認められなかった。以上の結果から、0.5g 投与群が NOEL か又はそれに近い値であった。亜硝酸塩処理による影響を見るには、妊娠中よりも授乳中の方が観察する上で妥当なツールとなる。¹⁾ (Roth *et al.*, 1987)

5.2.5 妊娠及び授乳期間中、亜硝酸ナトリウムを 2 又は 3g/L 添加した飲料水を投与した Long-Evans ラットの親動物から出生した新生児及び授乳児は重症な小赤血球貧血症及び成長抑制、高死亡率が認められ、更に、脂肪血、脂肪肝損傷、骨髄・脾臓における血液産生減少、血清及び組織中の鉄濃度の低下が観察された。これらは全て鉄欠乏症に係わる特徴と一致する。親動物に亜硝酸ナトリウムを投与した新生児ラットに鉄強化剤を与えると新生児の貧血は消失し、他の亜硝酸塩によって生じた悪影響も消失した (Shuval & Gruener, 1972; Roth *et al.*, 1987)。亜硝酸塩処理をした母ラットの母乳中の鉄含量は低減し、胎児又は授乳児で顕著な鉄欠乏症が観察された。このように、亜硝酸塩処理を行った母ラットは胎児及び新生児に対し鉄供給能力が減少することにより、新生児に対し重大な鉄欠乏症を引き起こす。¹⁾ (Roth & Smith, 1988)

5.2.6 40 日令のラットに亜硝酸ナトリウムを 0、200、1000 及び 4000mg/kg を含む加熱殺菌処理した肉を投与した。この量は 0、10、50 及び 200mg/kg bw/日に相当する。F1b 世代を妊娠 21 日目にと殺し観察した結果、着床前ロス数や再吸収、奇形数等に有意な差は認められなかった。胎児数、雌雄数、平均体重等対照群との差も認められなかった。¹⁾ (Carstensen & Hasselager, 1972, 要約のみ)

5.2.7 妊娠ラット 10 匹及び 15 匹からなる 2 群に、それぞれ妊娠 9 日、10 日目に亜硝酸ナトリウム 3g 又は 10g を混餌投与した。この量は 150 及び 500mg/kg bw/日の相当する。この結果は、何ら胎児毒性、催奇形性は認められなかった。¹⁾ (Alexandrov *et al.*, 1990)

5.3 モルモット

5.3.1 1 群 4 匹の妊娠モルモットに、亜硝酸ナトリウム 0、50 又は 60 mg/kg bw/日を出産前 15 日間、皮下投与した。50 mg/kg bw/日投与群では出産は正常であったが、60 mg/kg bw/日投与群では、投与 1 時間後に流産が 3 件発生し、続いて胎児死亡が観察された。

死亡時、親動物及び胎児血中メトヘモグロビン濃度は最高濃度に達し、胎児血中酸素圧は対照群に比較し低かった。60 mg/kg bw/日投与群の親動物は1時間後に死亡した。

¹⁾ (Sinha & Sleight, 1971)

- 5.3.2 次いで、1群9匹の妊娠モルモットに亜硝酸ナトリウムを0、60 mg/kg bw/日を妊娠最後に皮下注射により単回投与した。親動物は亜硝酸塩投与後0.25-56時間の間隔でと殺し検査した。投与後3時間以上経過した段階で、胎児の96%が死亡した。繁殖に影響を及ぼさない亜硝酸ナトリウムの投与量と親動物及び胎児の死亡を来たした量の差が小さいことが判明した。¹⁾ (Sinha & Sleight, 1971)

5.4 ウシ

- 5.4.1 妊娠したウシに30分間、NO₂イオンを7、9.5及び12 mg/kg bwを注入した。亜硝酸塩で処理した親ウシの血中におけるヘモグロビンからメトヘモグロビンへの転換は投与量に比例して増加し、平均動脈血圧は30-50%低下、用量に相関した心拍数の増加、部分的酸素張力(pO₂)の減少が認められた。胎児に関する変化はメトヘモグロビン量が僅かに上昇し、心拍数(瀕脈及び徐脈)において可変性の変化、胎児pO₂の減少が認められたが、動物間でかなり数値にばらつきが認められた。全ての胎児は生存して生まれたが、亜硝酸塩の最高投与群では、投与後2-3日後に3頭のウシが早産した。血液学的検査データ及び心血管に関するデータから、3頭の胎児は他の胎児より更に重大な低酸素血ストレスを経験したことが示唆された。¹⁾ (Van't Klooster et al., 1990)

6 局所刺激性

該当文献なし。

7 その他の毒性

7.1 悪性腫瘍への transformation に関する試験

マウス BALB/c3T3 細胞に亜硝酸ナトリウム(5-20mM)を添加し、72時間保持すると、悪性病巣(タイプⅢ)が誘導され、用量-相関関係が認められた。この細胞を取り出し、(免疫欠損)ヌードマウスに皮下注射したところ(1×10⁶個/スポット)、腫瘍が飛躍的に増加した。一方、亜硝酸塩未処理の細胞は腫瘍が誘導されなかった。亜硝酸ナトリウムが細胞内成分と反応し発がん物質のN-nitroso化合物を生成するため腫瘍が誘導されるのではなく、亜硝酸ナトリウム自身が細胞誘導活性を持つことが判明した。哺乳動物の活性化されたマクロファージがNO⁻を生産することが示唆される。¹⁾ (Tsuda & Hasegawa, 1990)

7.2 抗酸化剤との相互作用に関する試験

Fisher 雄ラットを用い、前胃細胞の増殖に対する亜硝酸ナトリウムと抗酸化剤であるアスコルビン酸ナトリウムの相互作用について4週間試験した。1群6週令ラット5匹に、カテコール0.8%、ハイドロキノン0.8%、TBHQ(tert-butylhydroquinone)1%、gallic acid 2%

又はピロガロール 2%を単独或いは 0.3%亜硝酸ナトリウムと一緒に飲料水に添加し、或いはアスコルビン酸ナトリウム1%を混餌投与した。前胃粘膜は抗酸化剤単独投与より肥厚し、アスコルビン酸ナトリウムの投与は更にその肥厚を高めた。¹⁾ (Yoshida et al., 1994)

7.3 副腎及び循環器系に及ぼす影響

亜硝酸塩及び有機硝酸塩は血管拡張作用があり(Nickerson, 1975)、亜硝酸ナトリウム 100-300mg/Lを飲料水で2年間投与したラットで冠状動脈血管の筋肉の拡張及び薄化が認められた(Shuval & Gruener, 1972)。亜硝酸塩を長期間摂取することにより、自然発生高血圧ラットの血圧を低下させるか否か調査するため、96匹のラットに亜硝酸ナトリウム又は重炭酸塩 50-75mmol/L を4、8又は12ヶ月投与した。各測定時点における動脈血圧(tail-cuff法で測定)は亜硝酸ナトリウム投与群が有意に低く、亜硝酸塩に対する耐性も示さなかった。同時に、心臓肥大の低減、腎臓萎縮の傾向も見られた。亜硝酸ナトリウム 75mmol/Lの投与は幼若ラットでは十分耐えうる量ではなかった。²⁾ (Haas et al., 1999)

7.4 腫瘍誘発に対する影響

良く知られた発がん物質(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, phenolic compounds, catechol, 3-methoxycatechol and butylated hydroxyanisole)に、更に亜硝酸ナトリウム 0.2-0.3%投与(200-300mg/kgに相当)を投与すると、前胃における腫瘍発生が増強されることが多数報告されている。しかし、この濃度より低濃度での研究は見当たらない。前胃の腫瘍はヒトに対し限定的な影響でしかないため、これらの結果が食品中の亜硝酸塩の安全性評価に意味を持つものとは考えられない(Hirose et al., 1993; Kawabe et al., 1994; Yoshida et al., 1994; Miyauchi et al., 2002)。最近の研究では、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol[4,5-b]pyridineで発生したラットにおける乳腫瘍の発生率及びその大きさに及ぼす0.2%亜硝酸ナトリウム(200mg/kg bwに相当)投与の影響を調べた結果、亜硝酸塩は腫瘍発生率に影響を及ぼさず、又、その大きさも縮小する傾向が認められた。この結果は比較的高濃度の投与量であり、食品中の亜硝酸塩の安全性評価に影響するものではない。²⁾ (Hirose et al., 2002)

8 ヒトにおける知見

8.1 メトヘモグロビン形成

8.1.1 食品中の亜硝酸塩による食中毒事故が報告されている。人の経口投与による致死量は33~250 mg NO₂⁻/kg bwとされ、この低い値は子供及び高齢者に適用される(Corre & Breimer, 1979)。メトヘモグロビン血症を誘発するための毒性量は1-8.3 mg/kg bwの範囲である(Winton et al., 1971; Simon, 1970)。亜硝酸塩の高濃度暴露による中毒については種々報告されている(Machabert et al., 1994; Dudley & Salomon, 1993; Bradberry et al., 1994; Kaplan et al., 1990; Walley & Flanagan, 1987)。亜硝酸塩の毒性は吸入によ

っても、経口によっても誘発される。亜硝酸イオンとして、0.4～>200 mg/kg bw の範囲で、摂取後に亜硝酸塩による中毒症状が現れる。メトヘモグロビン血症の症状は亜硝酸塩の暴露量に応じ、呼吸困難、頻脈に続いて、紫藍症、多幸症、顔面紅潮、頭痛、めまい、失調症等の症状がでる。メトヘモグロビン血症の患者は酸素及び又はビタミン C 並びにメチレンブルーの投与で回復するが、重症の場合には点滴を行う(Kalpan *et al.*, 1990; Walley & Flanagan, 1987; Bradberry *et al.*, 1994)。人における亜硝酸塩の毒性に関する他の情報源には、血管拡張剤或いはシアン中毒の解毒剤として利用される亜硝酸ナトリウムがある。30-300 mg/人(0.5-5 mg/kg bw に相当する。)では毒性効果を示さなかった。¹⁾ (NAS, 1981)

8.1.2 年齢が 3 歳以下の幼児は別として、他の遺伝的或いは疾病の影響で生体に異常を来しているグループの人が、硝酸塩や亜硝酸塩によるメトヘモグロビン血症に罹患することがある。この例としては、妊婦(Metcalf, 1961)、グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠乏症(Kohl, 1973)、胃酸分泌が低減している成人、遺伝的に赤血球中の NADH 又はメトヘモグロビンレダクターゼ欠損患者(Scott, 1960)、老年者(Spiegelhalder)で報告されている。同様に、ヘモグロビンが遺伝的に構造異常の人も、食事による亜硝酸塩や硝酸塩のリスクが高まる。¹⁾ (Jaffe & Heller, 1964, cited in NAS, 1981)

8.1.3 亜硝酸ナトリウムを 0.5 mg/kg bw/日、調理した野菜に添加し 9 日間投与したところ、人の尿中の 17-ヒドロキシ及び 17-ケステロイドの排泄が減少した。この結果は副腎におけるステロイドの生産が低減したことを裏付けるウサギの事例からも予測される(Violante *et al.*, 1973)。このことは亜硝酸塩の投与とラットの副腎表層の肥厚の関連からも裏付けられる。¹⁾ (Til *et al.*, 1988, 1990; Boink *et al.* in press)。

引用文献

- 1) WHO Food Additive Series 35 (NITRITE(and potential endogenous formation Of N-nitroso compounds) (1995)
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je13.htm>
- 2) WHO Food Additive Series 50 (NITRITE(and potential endogenous formation Of N-nitroso compounds) (2002)
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm>

改定経歴

| 版 No. | 作成日 | 内 容 |
|-------|------------------|------|
| 01 | 2005 年 02 月 28 日 | 新規作成 |

和名：アスコルビン酸

No.: 20

英名：Ascorbic Acid

コード：001008

CAS 登録番号：50-81-7

別名：L-アスコルビン酸、ビタミン C(110316)

収載公定書：

■JP(14) □薬添規 □局外規 ■食添(7) □粧原基・粧配規 □外原規

■USP/NF(27/22) ■EP(4) ■FDA

最大使用量：

経口投与 500mg、静脈内注射 2.8g、筋肉内注射 1.68g、皮下注射 10mg、局所麻酔注射 50mg、一般外用剤 1mg/g、耳鼻科用剤 4mg/g、歯科外用及び口中用 91.1mg

■GRAS(182.3013, 182.8013)

JECFA の評価：

ADI は「特定しない」と評価されている。¹⁾ (1981 年)

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀

| | | | |
|-------|-----|------------|----------------------------|
| マウス | 経口 | >5000mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |
| マウス | 静脈内 | >1000mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |
| ラット | 経口 | >5000mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |
| ラット | 静脈内 | >1000mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |
| モルモット | 経口 | >5000mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |
| モルモット | 静脈内 | >500mg/kg | Demole, 1934 ²⁾ |

2 反復投与毒性

2.1 マウス

2.1.1 マウスにアスコルビン酸 500-1000mg/kg を 7 日間経口、皮下又は静脈内投与した。一般行動及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。¹⁾ (Demole, 1934)

2.2 ラット

2.2.1 1 群 6 匹のラットにアスコルビン酸塩 0、1、5 又は 10%含有食を与えた。用量相関性を示す体重増加抑制、5% 群では死亡 2 匹及び軟便が認められた。¹⁾ (De Albuquerque & Henriques, 1970)

2.3 モルモット

- 2.3.1 モルモットにアスコルビン酸 400-2500mg/kgを6日間経口、皮下又は静脈内投与した。一般行動及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。¹⁾ (Demole, 1934)

3 遺伝毒性

3.1 in vitro

- 3.1.1 *S. typhimurium* の TA98 他 4 株、*S. cerevisiae* の D4 株を用いた復帰変異原試験において、代謝活性系の有無にかかわらず、アスコルビン酸及びアスコルビン酸カルシウムは変異原性を示さなかった。¹⁾ (Litton Bionetics, 1975 & 1976)
- 3.1.2 マウスのリンパ腫 L5178Y TK+/-細胞を用いて、ミルモル濃度のアスコルビン酸及びアスコルビン酸ナトリウムの突然変異原性を検討した。毒性用量レベルにおいても遺伝子突然変異は見られなかった。アスコルビン酸による毒性は、細胞非存在下にアスコルビン酸と培地中の成分が化学反応して形成される物質によるものと思われる。³⁾ (Amacher & Paillet, 1981)
- 3.1.3 *S. typhimurium* の TA100 株を用いた復帰変異原試験において、脱イオン水で調整した培地を用いた試験系ではアスコルビン酸は変異原性を示さなかった。⁴⁾ (Norkus et al, 1983)

3.2 in vivo

- 3.2.1 組織飽和量以上のビタミン C 含有食を与えたモルモットを用いた in vivo 宿主経路復帰変異原試験において、変異原性は認められなかった。⁴⁾ (Norkus et al., 1983)

4 癌原性

4.1 ラット

- 4.1.1 1 群雌雄各 26 匹のラットに、L アスコルビン酸 0、1000、1500 又は 2000mg/kg 含有食を 2 年間与えた。血液、尿、血液生化学検査、肉眼的及び病理組織学的検査において被験物質投与に起因する変化は認められず、腫瘍発生率は対照群との間に差はなかった。¹⁾ (Surber & Cerioli, 1971)

5 生殖発生毒性

5.1 in vitro

- 5.1.1 アフリカツメガエルの胞胚にアスコルビン酸、セレンナトリウム、クマリン、セロトニン及び 13-cis-レチノイン酸を 96 時間曝露し、催奇形性を検討した。アスコルビン酸には催奇形性殆ど見られなかった。セレンナトリウムとクマリンには中等度の、セロトニンはそれらよりやや強い、13-cis-レチノイン酸では強い催奇形性が認められた。⁵⁾ (DeYoung et al., 1991)

5.2 マウス

5.2.1 1群 20-23 匹の CD1 マウスに妊娠 6 日から 15 日までアスコルビン酸 5.2-520mg/kg を経口投与した。母獣及び胎児の生存率に対照群との間に差はなかった。胎児の外観及び骨格検査において奇形発生率の上昇は認められなかった。¹⁾ (Food & Drug Research Laboratories, 1974)

5.3 ラット

5.3.1 1群 20-22 匹の Wistar 系ラットに妊娠 6 日から 15 日までアスコルビン酸 5.5-555mg/kg を経口投与した。母獣及び胎児の生存率に対照群との間に差はなかった。頭蓋縫合癒合不全の発生率が 555mg/kg 群に高かったが、胎児の外観及び骨格検査において奇形発生率の上昇は認められなかった。¹⁾ (Food & Drug Research Laboratories, 1974)

6 局所刺激性

該当文献なし

7 その他の毒性

7.1 依存性

7.1.1 極めて大量のアスコルビン酸を長期投与したモルモット及びヒトに依存状態が報告されているが(Rhead & Schrauzer, 1971; Sorensen et al., 1974)、GRAS 物質として評価されている。¹⁾ (SCOGS, 1979)

8 ヒトにおける知見

8.1 乳幼児 29 名、幼稚園児及び学童 93 名、成人 20 名にアスコルビン酸を 6000mg まで漸増し、1400 日間以上投与した。高用量群において、成人では 5 名に嘔気、嘔吐、下痢、顔面潮紅、頭痛、倦怠感、睡眠障害が、乳幼児では 4 名に発疹が認められた。¹⁾ (Widenbauer, 1936)

8.2 30 名の小児(活動期リウマチ群 10 名、回復期リウマチ群 10 名、対照群 10 名)にアスコルビン酸 5mg を 3 日間投与した報告に著しい尿量増加が見られているが(Abbasy, 1937)、心不全患者 9 名にアスコルビン酸 300mg を投与した試験において利尿作用が報告されている。¹⁾ (Evans, 1938)

8.3 女性 1 名、男性 3 名にアスコルビン酸 1000mg を 3 ヶ月間投与した。血清中、白血球中及び尿中のアスコルビン酸濃度に変化は認められなかった。有害作用も見られなかった。¹⁾ (Lowry et al., 1952)

8.4 アスコルビン酸塩を風邪治療用に使用した女性に、アスコルビン酸とワルファリンとの相互作用が認められた。¹⁾ (Rosenthal, 1971)

8.5 若い健常成人男性にアスコルビン酸塩 4g をサプリメントとして投与した。投与前の尿酸の尿中排泄量は 58mg であったが、投与後には 622mg に上昇した。¹⁾ (Briggs, 1973)

8.6 アスコルビン酸 250mg の 3 ヶ月間投与の二重盲検試験において、有害作用発生率は

プラセボ群と同等であったが(Anderson et al. 1972)、311名の健常者を用いた大量(0-6g)かつ長期(9ヶ月間)の二重盲検試験では有害作用は認められなかった。血液生化学検査にも異常は認められなかった。¹⁾(Lewis et al., 1975)

- 8.7 高用量のアスコルビン酸塩による食物中のビタミン B₁₂ 破壊に関して相反する報告があるが(Newmark et al., 1976; Herbert & Jacob, 1974)、500mg 以上のアスコルビン酸塩を服用した成人の 2-3%にビタミン B₁₂ 欠乏が発生している。¹⁾(Hines, 1975)
- 8.8 14名の健常成人にアスコルビン酸を 3-5 日間投与した。過酸化水素による溶血性試験の感受性が上昇した。¹⁾(Mengel & Green, 1976)
- 8.9 男性 5 名にアスコルビン酸 200mg を 15 日間投与し、さらに 2g を 15 日間投与した。白血球の殺菌作用が著しく低下したが、投与中止により作用は回復した。¹⁾(Shilotri & Seetharam, 1977)
- 8.10 44 組の学童期双生児の一方に体重に応じて 500、750 又は 1000mg のビタミン C を、他方にプラセボを 5ヶ月間投与した。血圧、身長、体重、血液および血液生化学検査において群間に著しい差はなかった。¹⁾(Miller et al., 1977)

引用文献

- 1) WHO Food Additive Series No.16 Calcium ascorbate. 1981 (accessed ; Oct. 2004 <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je06.htm>)
- 2) WHO Food Additive Series No.5 Ascorbic acid and its potassium and sodium salts. 1974 (accessed ; May. 2003 <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je20.htm>)
- 3) Amacher DE, Paillet SC. Ascorbate is detectably mutagenic in the L5178Y TK+/- cell mutation assay. Cancer Lett. 1981 Nov; 14: 151-8
- 4) Norkus EP, Kuenzig W, Conney AH. Studies on the mutagenic activity of ascorbic acid in vitro and in vivo. Mutat Res. 1983 Apr;117(1-2):183-91
- 5) DeYoung DJ, Bantle JA, Fort DJ. Assessment of the developmental Toxicity of ascorbic acid, sodium selenate, coumarin, serotonin, and 13-cis retinoic acid using FETAX. Drug Chem Toxicol. 1991; 14: 127-41

改定経歴

| 版 No. | 作成日 | 内 容 |
|-------|-------------|--|
| 01 | 2004年09月27日 | 新規作成(検索式; JECFA-Monographs & Evaluations : Ascorbic Acid、MEDLINE/PubMed : ascorbic acid Field: Title, Limits: only items with abstracts, Toxicology 801件 |