

雄牛は硝酸カリウム投与前 30 日に検査し、投与 30 日間、投与後更に 30 日間検査した。硝酸塩の投与量は最初 100g/日(亜硝酸イオンとして 60g に相当)、1 週間ごとに 50g ずつ増量し、最終的に 250g(亜硝酸イオンとして 150g に相当)投与した。硝酸塩の投与により、メトヘモグロビン濃度は上昇($p < 0.01$)、血清胆汁量の増加及びプロゲステロンの生物学的半減期が延長($p < 0.01$)が認められ、肝機能の低下も示唆された。更に、投与期間及び投与後のコルチゾール濃度の上昇($p < 0.05$)及び投与期間中チロキシン濃度の減少($p = 0.05$)による甲状腺機能の抑制が観察された。投与後、甲状腺刺激ホルモンの検出が不可能な濃度($p < 0.001$)に低下したことから、視床下部の機能低下が示唆された。投与期間中及び特に投与後に Leydig 細胞の機能に硝酸塩が影響を及ぼしていることは、ゴナドトロピン投与に対する睾丸の反応が減弱していることから明白であった。精液の分析結果から、総酸性ホスファターゼ活性の増加($p < 0.01$)及びフラクトースの減少が確認された。同様に硝酸カリウムの投与により、精子の自発運動も低減した。しかし、対照群と比較し、一時的な形態学的差異は認められなかったが、二次的異常が投与後 115% 上昇したことから、膜が損傷していることが示唆される。組織学的検査からは、精母細胞及び精子細胞層に損傷が認められた。¹⁾ (Zraly et al., 1997)

6 局所刺激性

該当文献なし。

7 その他の毒性

7.1 副腎及び甲状腺への影響

1 群雄 10 匹のウイスターラットからなる 3 群に、それぞれ塩化カリウム(対照群)、亜硝酸カリウム、硝酸カリウムを 36mmol/L を飲料水に溶かし、90 日間投与した。亜硝酸カリウム及び硝酸カリウムを投与したグループは、対照群に比較し体重増加は遅れたが、体重 1kg 当りの餌摂取量は 3 群の間で差異は認められなかった。飲料水の摂取量は、亜硝酸塩を含む飲料水を摂取した群は、他の 2 群に比較し、統計的に有意に低かった。亜硝酸塩を含む飲料水を摂取した群は最初の 1ヶ月間はチアノーゼ状態を呈したが、その後は正常に戻った。この理由は、飲料水の摂取量が低減したためと思われる。観察期間の最終時点では、メトヘモグロビン及び血中亚硝酸塩濃度の有意な上昇、亜硝酸塩及び硝酸塩投与ラットのプラズマ硝酸塩濃度はほぼ等しかったものの、対照群より高かった。亜硝酸塩及び硝酸塩投与によるチロキシン、遊離チロキシン、甲状腺刺激ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、コルチコステロン、アルドステロンの血中濃度への影響は認められなかった。顕微鏡による病理組織検査結果は、亜硝酸塩投与群の全てのラットで副腎皮質球状帯の肥大が観察されたが、硝酸塩投与群では 10 匹中 2 匹にわずかな肥大が認められた。副腎の形態測

定結果も顕微鏡による検査結果に沿うものであった。硝酸塩を投与したラットにしばしば観察された副腎皮質球状帯の小肥大は、形態測定分析でも殆ど確認できないものであった。従って、硝酸イオンはラットの副腎皮質球状帯の肥大の原因にはならないと結論することが出来る。¹⁾ (Boink *et al.*, 1996)。

7.2 甲状腺に対する影響

生後56日令の豚に2日及び6週間、硝酸カリウムを3%混餌投与(硝酸イオンとして730 mg/kg bw/日に相当する。)した。メトヘモグロビン濃度、血清 T_4 、 T_3 、硝酸塩及びソマトメジンを測定した。母獣が硝酸カリウム摂取後に十分なヨードを摂取すると T_4 量の低減を防止することが出来た。6週間硝酸カリウムを投与した群においては、ヨードを0.5 mg/kg bwの割合で餌に強化しても T_4 の減少を防止できなかった。又、硝酸塩の投与に起因して生じる血清ソマトメジン活性の低下も観察され、この低下は豚体重増加率の低下に相応するものであった。²⁾ (Jahreis *et al.*, 1907)

7.3 行動に及ぼす影響

硝酸塩を投与したラットにより、知覚運動機能及び学習行動の発達を観察した。妊娠並びに授乳ラット(1群 50匹)及びその子供に硝酸カリウムをそれぞれ0、1.12、2.24 mmol/l (0、113、226 mg/lに相当)を含む飲料水を投与した。出生後の反射神経成熟、感覚及び体細胞性パラメーター、自発運動、一方向性アボイダンスの習得、成人期における判別可能な学習行動等についてテストした。反射(正向、クリフアボイダンス)及び聴力驚愕反応は硝酸塩投与群の方が早期に成熟した。オープンフィールド運動も、生後5、7、10日が高かったものの、20日以降は低下した。罰或いは報酬付き記憶学習行動では、硝酸塩投与群に顕著な能力低下が観察された。これらの結果は、行動発達過程で硝酸塩投与によりもたらされた偏差であり、学習能力、特に識別型能力の低下が認められた。²⁾ (Markel *et al.*, 1989)

8 ヒトにおける知見

8.1 ヒトに対する硝酸塩の毒性は、動物と同様に硝酸塩から亜硝酸塩への変換によって生じる。このため、幼児や低及び無塩酸症患者或いは胃に疾患を持つ人では危険性が高くなる。これらの患者は硝酸塩の毒性に対しても感受性が高いと思われる。²⁾ (Speijers *et al.*, 1987; Bruning-Fann & Knaeene, 1993; Speijers, in press)。

8.2 ヒトに対する致死量は硝酸イオン(NO_3^-)として4-50 g (NO_3^- として67-833 mg/kgに匹敵する。)と報告されている。毒性の基準として、メトヘモグロビンが生成する毒性量は NO_3^- として2-5g (Corre & Breimer, 1979²⁾)、6-9 g (Fassett, 1973²⁾)と報告されており、それぞれ33-83及び100-150 mg/kg bwに匹敵する。Fassett(1973²⁾)は、硝酸塩による急性の毒性症状として、腹痛を伴う急性胃腸炎、血尿、血便が急激に起こると報告している。反復

投与による副作用としては消化不良、精神的抑圧、頭痛、虚弱等の症状が報告されている。Farre *et al.* (1982²⁾)は幼児 50 人からなるグループで弱いメトヘモグロビン血症が 9 例で見られたと報告している。毒性発現の理由は井戸水中の硝酸塩(76 mg/L)含有量が高かったためとしている。

8.3 1973-1989 年報告された硝酸塩による 80 例の急性中毒が Gao & Guo (1982²⁾)により報告されている。救急施設に運び込まれた患者の多くはショック状態にあり、マイルドではあるが呼吸困難を示し、唇や手先が紫藍或いは青白色を呈し、精神状態は異常を示していた。全ての患者で赤血球に異常は認められず、白血球数は 16 例で一時的に高かった。2 例で ASAT、BUN 濃度の上昇が認められたが、いずれも硝酸塩を 2 g 以上摂取したためと思われる。

8.4 年齢が生後 11 日から 11 ヶ月の健康な幼若児に硝酸イオン(NO_3^-)を 50 mg 又は 100 mg/kg bw を数日間経口投与したところ、メトヘモグロビン量が上昇(5.3-7.5%)したがチアノーゼは見られなかった。6-7 週令の幼若児に、前記投与による症状が回復した直後に、100 mg/kg bw の NO_3^- を投与すると、チアノーゼが発症し、メトヘモグロビン量も 11%上昇した。しかし、個々の幼若児の正確な年齢、投与期間等の詳細に関する報告はない。²⁾ (Gornblath & Hartmann, 1948)

引用文献

- 1) WHO Food Additive Series No.50 Nitrate (and potential endogenous formation of *N*-nitroso compounds) (2002)
- 2) WHO Food Additive Series No.35 Nitrate (1995)

改定経歴

版 No.	作成日	内 容
01	2005 年 02 月 28 日	新規作成(JECFA—Monographs & Evaluation)

和名:樟脳白油

英名:Camphor White Oil

No.:478

コード:120041

CAS 登録番号:76-22-2

別名:ハクユ

収載公定書:

JP 薬添規(2003) 局外規 食添 粧原基・粧配規 外原規

USP/NF EP FDA

最大使用量:経一般外用剤 40mg/g

該当文献なし

- 1 単回投与毒性
- 2 反復投与毒性
- 3 遺伝毒性
- 4 癌原性
- 5 生殖発生毒性
- 6 局所刺激性
- 7 その他の毒性
- 8 ヒトにおける知見

改訂履歴

版 No.	作成日	内容
01	2005年01月11日	新規作成(検索式;JECFA-Monographs&Evaluations: Camphor White Oil、MEDLINE/PubMed: Camphor White Oil)

和名: 食用黄色 5 号

英名: Food Yellow No.5

No.: 482

コード: 102396

CAS 登録番号: 2783-94-0

別名: サンセットイエロー FCF、2-ヒドロキシ-6-スルホナトナフタレン-1-アゾ-(4'-ベンゼンスルホン酸)二ナトリウム

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

最大使用量:

経口投与 微量

JECFA の評価:(FAS 17, (1964))

毒性作用を示さない用量

ラット:1%混餌(500 mg/kg 体重に相当)¹⁾

イヌ:2%混餌(500 mg/kg 体重に相当)¹⁾

ヒトの1日摂取許容量(ADI)の推定値

0~2.5 mg/kg 体重¹⁾

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀

マウス	経口	>6.0 g/kg	¹⁾ (Gaunt <i>et al.</i> , 1967)
	腹腔内	5.0 g/kg	¹⁾ (Gaunt <i>et al.</i> , 1967)
ラット	経口	>2.0 g/kg	¹⁾ (Lu & Lavallée, 1965)
	経口	>10.0 g/kg	¹⁾ (Gaunt <i>et al.</i> , 1967)
	腹腔内	3.8 g/kg	¹⁾ (Gaunt <i>et al.</i> , 1967)

2 反復投与毒性

2.1 マウス

2.1.1 マウス 80 週間反復投与毒性試験

マウス雌雄各 30 匹の群に、本色素を 0.2、0.4、0.8、1.6%で 80 週間混餌投与した。マウス雌雄各 60 匹から成る 1 群を対照群とした。本色素を投与しても、群内の死亡率、体重増加率、臓器重量、あるいは血液学的所見に有害な影響はみられなかった。病理組織学的所

見の発生率および重症度は、投与群および対照群において同様であり、本色素を投与したマウスにおいて、腫瘍発生率の上昇は認められなかった^{1,2)} (Gaunt *et al.*, 1974)。

2.2 ラット

2.2.1 ラット 3日間反復投与毒性試験

未成熟雌ラット10匹の群に、本色素を1日2回3日間皮下投与し、4日目にラットを屠殺した。1回に250 mg/kg体重となるように本色素水溶液を注射した。エストロゲン活性(子宮重量)は認められなかった¹⁾ (Graham & Allmark, 1969)。

2.2.2 ラット 14日間反復投与毒性試験

飼料に5%の本色素を添加して未成熟の雄ラットに摂食させた場合、通常飼料に5%添加では何の影響も観察されなかったが、精製飼料では、成長の著しい遅延を引き起こし、半数以上のラットが14日間の実験期間内に死亡した。この毒性は、ハーブの種子、人参の根の粉末、アルファルファの葉肉、小麦粉の添加により防御されたが、精製セルロースの効果は中程度であった²⁾ (Ershoff, 1977)。

2.2.3 ラット 90日間反復投与毒性試験

ラット雌雄各15匹の群に本色素を0(対照)、0.5、1.0、2.0、3.0%で90日間混餌投与したが、成長あるいは摂餌量に対する有害な影響は誘発されなかった。しかし、3%群では試験期間中を通して、2%群では最初の数週間において、わずかな下痢が認められた。血液学的検査あるいは試験終了時の肝および腎機能検査で異常は認められなかった。剖検では、2%群および3%群において盲腸の腫脹が認められ、3%群では精巣の腫脹が認められた。本色素に起因する組織学的変化は認められなかった^{1,2)} (Gaunt *et al.*, 1967)。

2.2.4 ラット 7ヶ月間反復投与毒性試験

ラット20匹に1%の本色素水溶液1 mLを7ヶ月間にわたって週2回皮下投与した。合計55回注射した。1匹に腹腔内腫瘍が認められた(観察期間の報告なし)¹⁾ (Deut. Forsch., 1957)。

2.2.5 ラット 10ヶ月間反復投与毒性試験

本色素の2%水溶液を飲水としてラット16匹の群に10ヶ月間投与した。これらのラットに投与する飼料のビタミンB₂は最小必要量とした。本色素の非投与群と比較したところ、本色素は若齢ラットの成長を促進し、これら動物の生存率を改善することが明らかになった。肝臓に病理組織学的変化は認められなかった^{1,2)} (Manchon & Lowy, 1964)。

2.2.6 ラット 64週間反復投与毒性試験

雌雄各15匹の4群に対して、本色素を0、0.03、0.3および1.5%として64週間混餌投与した。ラットの死亡率は対照群と同様であった。摂餌量、発育、臓器重量、組織学的所見および血液学的所見に影響は認められなかった。腫瘍発生率に有意差はみられなかった¹⁾ (Mannell, 1958)。

2.2.7 ラット 18ヶ月間反復投与毒性試験

ラット雌雄各5匹に対して本色素を4%で最高18ヶ月間混餌投与した。腺胃および小腸に

いくらかの染色が認められた。一部のラットのこれら臓器に粒状の沈着物が認められた。腫瘍は認められなかった¹⁾ (Willheim & Ivy, 1953)。

2.2.8 ラット 79 または 102 週間反復投与毒性試験

ラット(雌雄)20匹から成る4群を用いた。2.0、1.0、0.5、0.0%で混餌投与した。79週目および102週目に生存動物を屠殺し、剖検した。雌ラットで、わずかな、しかし有意ではない発育遅延が発生した。摂餌量および生存率に影響はなかった。病理組織学的検査によると、肝臓には高齢動物に認められる一般的な変化しか認められなかった。ラットにおいて腫瘍変化は認められず、発がん性も認められなかった¹⁾ (Kanisawa, 1967)。

2.3 イヌ

2.3.1 イヌ 2~3ヶ月間反復投与毒性試験

イヌによる混餌投与試験を実施した。ビーグル4匹に本色素を1.0、5.0%で混餌投与した。5.0%群のイヌ4匹のうち2匹、および1.0%群の1匹で体重漸減がみられ、2~3ヶ月後に屠殺しなければならなくなった。一般に、5.0%混餌投与群は中等度毒性、1.0%混餌投与群は軽度毒性を示した。体重減少および下痢が、結果としてみられた主要な臨床所見であった。肉眼および病理組織学的検査で病理学的変化が認められたが、特徴的なものではなかった¹⁾。

2.3.2 イヌ 7年間反復投与毒性試験

雌のビーグル犬5匹に対して本色素を2.0%で7年間混餌投与した。病理組織学的所見は何も報告されなかった¹⁾。

2.4 ハムスター

2.4.1 ハムスター 330日間反復投与毒性試験

離乳前のGraffiまたはLakeview(LVG)ハムスター各11匹に、本色素(1.0mg)を皮下注射あるいは腹腔内注射したところ、死亡率の上昇はみられず、330日間にわたって腫瘍は認められなかった¹⁾ (Price *et al.*, 1978)。

2.5 ミニブタ

2.5.1 ミニブタ 98日間反復投与毒性試験

ブタ雌雄各3匹の群に対して、本色素を0(対照)、250、500および1000mg/kg/日で98日間混餌投与した。体重増加、血液学的指標、尿成分、臓器重量あるいは血清トランスアミナーゼ濃度および尿素濃度について、試験群と対照群に差は認められなかった。剖検あるいは組織の病理組織学的検査において異常は認められなかった。このような結果からブタに本色素を約3ヶ月経口投与した場合の無作用量は、1,000mg/kg/日以上であると考えられた^{1,2)} (Gaunt, 1969)。

3 遺伝毒性

3.1.1 復帰突然変異試験

*Escherichia coli*の培地を用いて、変異原性の有無について本色素0.5g/100mLを試験し

た。変異原性作用は認められなかった¹⁾ (Luck & Rickerl, 1960)。

3.1.2 復帰突然変異試験

本色素は、代謝活性の有無にかかわらず、*Salmonella typhimurium* TA1538、TA98、TA100 株に対して変異原性を示さなかった。様々なスルホン化ナフチルアミン類にも変異原性は認められなかった(すなわち、1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid)¹⁾ (Garner & Nutman, 1977)。

3.1.3 復帰突然変異試験

本色素を、フェノバルビトン処理したラットから得た肝ミクロソーム(S9)分画添加および無添加で試験したところ、*Salmonella typhimurium* 4 株(TA1535、TA1538、TA98、TA100)において復帰突然変異は発生しなかった¹⁾ (Viola & Nosotti, 1978)。

3.1.4 遺伝子転換試験

本色素によって、2 倍体酵母 B2 34 (*S. cerevisiae*) で有糸分裂による遺伝子転換はまったく増加しなかった¹⁾ (Sankaranarayanan & Murthy, 1979)。

3.1.5 Rec assay

本色素の DNA 損傷能を調べるため、*E. coli* Rec assay を行った。*E. coli* WP 2 *uvrA* および *S. typhimurium* TA1538 における復帰突然変異をほうこう試験(fluctuation assay)にて調べた。いずれの試験も代謝活性の有る場合と無い場合について行ったが、本色素には遺伝毒性は認められなかった¹⁾ (Haveland-Smith & Combes, 1980)。

3.1.6 復帰突然変異試験

本色素を各種のげっ歯類に強制経口投与した際の胆汁、尿、糞便中の変異原性の有無を Ames 試験で調べた結果、S9 添加の有無にかかわらず、陰性であったことから、経口摂取による遺伝毒性はないと結論された²⁾ (Wever *et al.* 1989)。また、*S. typhimurium* の TA98 株、TA100 株を用いた変異試験でも、S9 添加、無添加系共に陰性であった²⁾ (Izbirak *et al.*, 1990)。

4 癌原性

4.1 マウス

4.1.1 マウス 52 週間癌原性試験

マウス 30 匹の群に本色素 0.05% を 52 週間飲水投与した。動物は生存する限り飼育した。一週間当たりの本色素摂取量は約 17 mg であり、摂取量合計は 1 匹あたり 884 mg となった。生存動物 7 匹において、リンパ腫 9 個および良性の腸腫瘍 1 個が認められた。対照群では、生存動物 13 匹においてリンパ腫 5 個および腸腫瘍 1 個が認められた。試験開始時、対照群のマウスは 60 匹であった¹⁾ (Bonser *et al.*, 1956)。

4.1.2 マウス 80 週間癌原性試験

マウス雌雄各 30 匹の群に、本色素を 0.2、0.4、0.8、1.6% で 80 週間混餌投与した。マウス雌雄各 60 匹から成る群を対照とした。本色素を投与しても、群内の死亡率、体重増加率、

臓器重量、あるいは血液学的所見に有害な影響はみられなかった。病理組織学的所見の発生率および重症度は、投与群および対照群において同様であり、本色素を投与したマウスにおいて、腫瘍発生率の上昇は認められなかった¹⁾ (Gaunt, 1974)。

4.1.3 マウス 2年間癌原性試験

本色素について2年間混餌投与試験を実施し、2系統のマウス(C57 black および C3H)に対して本色素を1%および2%で混餌投与した。各系統100匹のマウスに両濃度の本色素をそれぞれ投与し、各系統200匹のマウスに对照飼料を投与した。腫瘍形成に対する影響は認められなかった¹⁾。

4.2 ラット

4.2.1 ラット 癌原性試験

Osborne-Mendelラット同腹児24群を交配させた群(雌雄同数にする)に、本色素を0、0.5、1.0、2.0 および5.0%で混餌投与した。乳房腫瘍数に統計学的に有意な増加は認められなかった。認められた腫瘍数は、0%群で2個、0.5%群で1個、1.0%群で6個、2.0%群で3個、5.0%群で6個であった¹⁾。

4.2.2 ラット 癌原性試験

Osborne-Mendel および Sprague-Dawley ラットを用いて追加混餌投与試験を実施した。各系統ラット100匹に対して本色素を1.0%および2.0%で混餌投与した。各系統のラット200匹を対照群とした。肉眼および顕微鏡による病理学的検査では腫瘍形成に影響はみられなかった¹⁾。

4.2.3 ラット 64週間癌原性試験

雌雄各15匹の4群に対して、本色素を0、0.03、0.3 および1.5%として64週間混餌投与した。ラットの死亡率は対照群と同様であった。摂餌量、発育、臓器重量、組織学的所見および血液学的所見に影響は認められなかった。腫瘍発生率に有意差はみられなかった¹⁾ (Mannell, 1958)。

4.2.4 ラット 18ヶ月間癌原性試験

ラット雌雄各5匹に対して本色素を4%で最高18ヶ月間混餌投与した。腺胃および小腸にいくらかの染色が認められた。一部のラットのこれら臓器に粒状の沈着物が認められた。腫瘍は認められなかった¹⁾ (Wilhelm & Ivy, 1953)。

4.2.5 ラット 79または102週間癌原性試験

ラット(雌雄)20匹から成る4群を用いた。2.0、1.0、0.5、0.0%で混餌投与した。79週目および102週目に生存動物を屠殺し、剖検した。雌ラットで、わずかな、しかし有意ではない発育遅延が発生した。摂餌量および生存率に影響はなかった。病理組織学的検査によると、肝臓には高齢動物に認められる一般的な変化しか認められなかった。ラットにおいて腫瘍変化は認められず、発がん性も認められなかった¹⁾ (Kanisawa, 1967)。

4.3 ハムスター

4.3.1 ハムスター 330日間癌原性試験

離乳前の Graffi または Lakeview (LVG) ハムスター各 11 匹に、本色素 (1.0 mg) を皮下注射あるいは腹腔内注射したところ、死亡率の上昇はみられず、330 日間にわたって腫瘍は認められなかった¹⁾ (Price *et al.*, 1978)。

5 生殖発生毒性

5.1 マウス

5.1.1 マウス 生殖試験

F0 マウスの5週齢から F1の9週齢まで、混餌投与 (0.15、0.30、0.60%) した試験で、産児数、体重、性比に差異は認められなかったが、授乳後期の児マウスの体重は 0.15% 及び 0.30% 投与群で雌雄共に有意に増加した。一方、以下の神経行動学的指標について有意な異常が観察された。すなわち、授乳前期の児マウスにおける swimming direction test (濃度依存性、雌雄)、平面立ち直り反応 及び負の走地性 (0.30% 群、雄)、swimming head angle (濃度依存性、雌)²⁾ (Tanaka, 1996)。

5.2 ラット

5.2.1 ラット 催奇形性試験

本色素 100、300、1000 mg/kg/日 を妊娠 6 日～15 日のラットに強制経口投与した。300 mg/kg/日 群および 1000 mg/kg/日 群母動物の出生児の平均体重が減少したが、有意差には到らなかった。評価したその他の母動物 (体重、黄体、胎芽を認めない着床痕 (empty implantation site)、早期吸収、後期吸収、生存または死亡の満期胎児) あるいは胎児 (性別、外部異常、内部異常、骨格異常) のパラメータに影響は認められなかった。これらの母動物の出生児に奇形は認められなかった¹⁾ (International Research and Development Corporation, 1972a)。

5.2.2 ラット 生殖試験

本色素を混餌投与した。投与量は、1 日摂取許容量 (ADI) あるいは過去に行われたラットおよびイヌによる長期混餌投与試験データから評価した推定安全摂取量の倍数 (1 倍、10 倍、30 倍、100 倍) を基に決定した。しかし、1000 mg/kg/日 以上の用量は試験されなかった。ヒトにおける本色素の使用濃度も混餌濃度決定のためのファクターとした。F_{2b} の同腹児から得られたデータによると、生殖行動に対して有害な影響はみられなかった¹⁾ (Pierce *et al.*, 1973 - available in summary only)。

5.3 ウサギ

5.3.1 ウサギ 催奇形性試験

本色素 100、300、1000 mg/kg/日 を妊娠 6 日～18 日のウサギに強制経口投与した。評価した母動物 (体重、黄体、早期吸収、後期吸収、胎児の生存期間または死亡時期) あるいは胎児 (平均体重、性別、外部異常、骨格異常) のパラメータに影響は認められなかった。本色素とは無関係であると考えられる不完全な双生児 (incomplete twin) が 1000 mg/kg/日 群で発生した¹⁾ (International Research and Development Corporation, 1972b)。

6 局所刺激性

6.1 モルモット

6.1.1 モルモット 感作性試験

モルモットによる試験において、本色素には感作性は認められないことが確認された¹⁾ (Bär & Griepentrog, 1960)。

7 その他の毒性

7.1 細胞毒性

7.1.1 胚繊維芽細胞 細胞毒性

本色素は、F 1706 Fisher ラット胚線維芽細胞に対して継代培養を 10 代行っても細胞形質転換を誘発しなかった。すなわち、典型的な形態的变化が認められず、細胞に重大な腫瘍化もみられなかった¹⁾ (Price *et al.*, 1978)。

8 ヒトにおける知見

8.1 ヒト 皮膚試験

本色素を用いた皮膚試験では、p-phenyl-enediamine に過敏性反応を示す患者で交差性感作により湿疹性過敏症が誘発された。本色素はキノン構造を有する化合物に容易に変換されること、およびキノン化合物はある種の生体成分と結合できることから、このような反応が発生したと説明できる¹⁾ (Baer *et al.*, 1948)。

引用文献

1) WHO Food Additive Series No.17 Sunset Yellow FCF, 1964

(accessed ; Sep. 2004, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je29.htm>)

2) 第7版食品添加物公定書解説書

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; JECFA-Monographs & Evaluations : Sunset Yellow FCF)

和名: 食用赤色 2 号

英名: Food Red No. 2

No.: 483

コード: 102390

CAS 登録番号: 915- 67- 3

別名: アマランス, 2-ヒドロキシアゾナフタレン-3,4',6-トリスルホン酸三ナトリウム,

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

最大使用量:

経口投与 微量、一般外用剤 微量

JECFA の評価 : (FAS 19, (1984))

毒性作用を起こさない濃度

ラット: 50 mg/kg 体重(混餌)¹⁾

ヒト 1 日摂取許容量の推定値

0~0.5 mg/kg 体重¹⁾

毒性影響を生じない量として、ラットで混餌投与時に 50 mg/kg 体重と評価し、ヒトの 1 日許容摂取量 (ADI) を 0 - 0.5 mg/kg 体重と設定した²⁾ (FDA, 1984)。

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀

マウス	経口	LD ₅₀	>10 g/kg	³⁾ (Anonymous, 1959)
ラット	腹腔	LD ₅₀	>1 g/kg	³⁾ (Anonymous, 1957)
ラット	静脈	LD ₅₀	>1 g/kg	³⁾ (Anonymous, 1957)

2 反復投与毒性

2.1 マウス

2.1.1 マウス 477 日間反復投与毒性試験

マウス 20 匹に本色素 15~20 mg を 1 週間のうち 5 日間、最高 477 日間投与した。剖検をマウス 18 匹に対して行ったが、肝臓に病変は認められなかった^{2,3)} (Cook *et al.*, 1940)。

2.2 ラット

2.2.1 ラット 3 日間反復投与毒性試験

若齢ラット 5 匹から成る群に本色素を 1 日 2 回、3 日間皮下投与した。4 日目にラットを屠殺した。各注射時に、本色素 250 mg/kg 体重を水溶液として投与した。対照群と比較してエストロゲン活性(正常な子宮重量)は認められなかった。その他も異常はみられなかった^{2,3)} (Graham & Allmark, 1959)。

2.2.2 ラット 10 日間反復投与毒性試験

離乳ラットの群に、本色素を 0、1200、3000、10000、20000 ppm で 10 日間混餌投与した。試験群は 9 匹/群、対照群は 12 匹/群とした。すべてのラットにビタミン A 30 µg を連日投与した。体重、摂餌量、肝重量および肝臓のビタミン A 量に有意な変化は認められなかった⁴⁾ (Truhaut and Ferrando, 1975)。

2.2.3 ラット 21 日間反復投与毒性試験

雌雄各 6 匹から成る 6 群に基礎粗飼料、高度精製基礎飼料、2.5 または 5% 本色素含有粗飼料、2.5 または 5% 本色素含有精製基礎飼料を 21 日間投与した。5% 本色素は体重増加または一般状態に対して事実上全く有害作用を示さなかった。しかし、本色素含有精製基礎飼料の場合、成長が止まり 2 週間以内にラットは死亡した。ビタミン補充はこの食餌の影響に予防効果を示さなかったが、10% セルロース、10% アルファルファ飼料またはクレソンパウダーは予防効果を示した³⁾ (Ershoff & Thurston, 1974)。

2.2.4 ラット 90 日間反復投与毒性試験

ラットに本色素を飼料に混ぜ、20、40、80 及び 1,250 mg/kg/day で 90 日間投与したところ、雄の 1,250 mg/kg 投与群で腎臓にカルシウム沈着が観察された²⁾ (Clode *et al.*, 1987)。

2.2.5 ラット 365 日間反復投与毒性試験

ラット 11 匹に 1% 溶液 0.5 mL を週 2 回 365 日間皮下投与したところ、腫瘍は認められなかった。観察期間は 879 日間であり、総投与量は 1 匹あたり 0.5 g であった³⁾ (Anonymous, 1957)。

2.2.6 ラット 12 ヶ月間反復投与毒性試験

交配していない雌雄ラットに本色素 1.5 または 15 mg/kg を 12 ヶ月間強制経口投与した。雌では発情周期が抑制され、胎児死亡数の増加、授乳障害が認められた。雄では、精子生存期間が短くなり、死亡および抵抗の減少が認められた³⁾ (Shtenberg & Gavrilenko, 1972)。

2.2.7 ラット 417 日間反復投与毒性試験

ラット 10 匹に、本色素を含量 0.2% で混餌投与した。各動物は平均 0.1 g/kg 体重/日を 417 日間摂取した。色素の総摂取量は 1 匹あたり 11 g となった。観察期間は、830 日間であった。小腸がん 1 個が認められた³⁾ (Anonymous, 1957)。

2.2.8 ラット 64 週間反復投与毒性試験

雌雄各 15 匹から成る 3 群に対して、本色素を含量 0.03、0.3、1.5% で 64 週間混餌投与した。ラットの死亡率は、対照群と同様であった。1.5% 群では雌ラットの成長率に有意な低下が認められたが、雄ラットでは認められなかった。この結果は、摂餌量ではなく食餌効率へ

の影響が原因であると考えられた。雌ラットに本色素を含量 0.3% および 1.5% で混餌投与したところ、肝重量が増加した。さらに高用量にすると、腎重量も増加した。摂餌量、病理組織・血液像への影響も、腫瘍発生率における有意差も認められなかった^{2,3)} (Mannel *et al.*, 1958)。

2.2.9 ラット 78 週間反復投与毒性試験

ラットに本色素 20 mg/日を 78 週間投与したところ、死亡率が 68% となった。それに対して対照の死亡率は 13% であった。肝臓のビタミン A 含量低下および肝細胞の脂肪変性を伴う空胞状の形成異常が認められた³⁾ (Galea *et al.*, 1972)。

2.2.10 ラット 18 ヶ月間反復投与毒性試験

雌雄各 5 匹のラットに、本色素を含量 4% で最高 18 ヶ月間混餌投与した。腺胃 (glandular stomach) および小腸の着色が肉眼で認められた。粒状の沈着物が胃、小腸、および一部の結腸に認められた。1 ヶ月のリンパ肉腫がみられた。20 ヶ月以上生存した対照 50 匹に腫瘍は発現しなかった³⁾ (Willheim & Ivy, 1953)。

2.2.11 ラット 18 ヶ月間反復投与毒性試験

ラットに本色素を含量 0.12% (1200 ppm) で最高 18 ヶ月間混餌投与したところ、著しい成長抑制がみられ、死亡率が増加し、肝障害が認められた。数日以内にビタミン A 値は約 50% 低下し、投与期間中徐々に低下を続けた。血清アルブミンおよびγ-グロブリンの上昇が認められたが、血清あるいは肝のグルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) またはグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) の顕著な増加は認められなかった³⁾ (Galea *et al.*, 1962)。本色素を 1200、3000、10000 および 20000 ppm で混餌投与した別の試験では、ラット肝における貯蔵ビタミン A 量の低下は確認されなかった³⁾ (Truhaut & Ferrando, 1975)。

2.2.12 ラット 99 週間反復投与毒性試験

本色素をラット雌雄各 18 匹に 94~99 週間皮下注射した。概して、2~3% 溶液 1 mL を毎週 693 日にわたって注射した。腫瘍は認められなかった³⁾ (Nelson & Hagan, 1953)。

2.2.13 ラット 2 年半反復投与毒性試験

雌雄各 50 匹の離乳ラットから成る群に、本色素を 0、0.003、0.03、0.3 または 3% (0、1.5、15、150、1500 mg/kg 体重) で約 2 年半にわたって混餌投与した。本試験で使用したラットは、親動物に本色素を投与した F₂ 同腹児から無作為に選択した。試験期間中、一部の動物を不注意に誤ったケージに入れてしまったため、動物数が対照群と投与群とで変わってしまった。様々な良性および悪性腫瘍が認められたが、投与群と対照群間に明らかな差は認められなかった。しかし、病理学的データを生物統計学的解析に供したところ、1500 mg/kg 体重の混餌投与を続けた雌ラットにおいて悪性腫瘍数の有意な増加が認められた。高用量群と対照群間において、良性および悪性の腫瘍総数に有意差は認められなかった。一般状態、生存、体重増加、血液検査、臨床化学検査、あるいは相対臓器重量に関して、本色素に関連する影響は認められなかった⁴⁾ (Gordon and Taylor, 1975)。

3 遺伝毒性

3.1 復帰突然変異試験

3.1.1 復帰突然変異試験

本色素 0.5 g/100 mL を含む *Escherichia coli* の培地中で、変異原性の有無について試験したところ、変異原性を認めなかった³⁾ (Lück & Rickerl, 1960)。

3.1.2 復帰突然変異試験

本色素は、*Salmonella typhimurium* G-46 および TA-1530 の 2 菌株による宿主経路試験において変異原性を示すことが明らかとなった。特に、本化合物を 5 日間にわたって反復投与したときに変異原性が認められた。*In vitro* では本微生物に曝露しても突然変異を引き起こさなかったことから、明らかに、この変異原性は本化合物そのものではなく、何らかの代謝物質によって引き起こされている。同様の結果が酵母による体細胞組換え試験でも得られた³⁾ (Legator, 1972、Newell & Maxwell, 1972a)。

3.2 優性致死試験

3.2.1 マウス優性致死試験

雄マウス 12 匹から成る群に対して、0、250、500 mg/kg 体重の 5%アマランス水溶液を腹腔内注射した。その後 6 週間にわたって、各雄を投与していない雌 3 匹と毎週交配させた。雌を生殖用ケージから取り出してから 1 週間後に屠殺し、妊娠徴候の有無を調べた。交配率および変異原性発生率から、優性致死は認められないことが明らかになった⁴⁾ (Arnold *et al.*, 1976)。

3.2.2 ラット優性致死試験

優性致死試験の結果として、本色素のラットに対する変異原性を示唆する一貫した反応は認められなかった。陽性対照である TEM は、既知の変異原物質であるということから予想されるとおり、試験第 2 週～第 5 週に変異原性を示した³⁾ (Newell & Maxwell, 1972b)。

4 癌原性

4.1 マウス

4.1.1 マウス 癌原性試験

C3Hf および C57B1 マウスを用いて、混餌投与試験を実施した。各系統のマウス 100 匹に本物質を 1.0 あるいは 2.0% で混餌投与し、各系統のマウス 200 匹を対照とした。いずれの系統のマウスにも腫瘍は認められなかった³⁾ (Anonymous, 1964a)。

4.1.2 マウス 癌原性試験

マウス 100 匹から成る 2 群に対して、1 群には本色素ペーストを与えず、もう 1 群には本色素ペースト 0.01 g (= アマランス 0.004 g) を連日強制経口投与した。9,10-dimethyl-2-benzanthracene または 3,4-benzopyrene のいずれか 1 滴を週 1 回肩甲骨間の皮膚に塗布した。試験群では乳頭腫が 3.5 週間早く発現し、発現動物数も多かった。

試験群の方が悪性化する割合が高かった³⁾ (Baigusheva, 1968)。

4.1.3 マウス 18ヶ月間癌原性試験

Swiss-Webster アルビノマウス雌雄各 50 匹に本色素の 1%水懸濁液 0.1 mL を 18ヶ月間毎週投与した。雌雄各 100 匹を対照とした。皮膚に対する発がん性は認められなかった³⁾ (Carson, 1963, 1966)。

4.1.4 マウス 2年間癌原性試験

C3Hf 及び C57BL 系マウスのそれぞれ 100 匹を 1 群として本色素の 1%及び 2%を混餌投与し、対照群にはそれぞれ 200 匹の動物を用いて 2 年間の実験を行ったが、両系統のマウスで本色素の催腫瘍効果は認められなかった²⁾ (Hecht, 1957)。

4.2 ラット

4.2.1 ラット 癌原性試験

離乳ラット 24 匹の群に対して、本色素を含量 0.5%、1.0%、2.0%、5.0%で混餌投与した。同様の群を対照とした。5.0%群では、わずかな成長阻害が認められた。肉眼および病理組織学的検査では、疑わしい乳腫瘍増加が認められた。2 個の腫瘍が対照群で認められ、0.5%群では 3 個、1.0%群では 3 個、2.0%群では 6 個、5.0%群では 4 個認められた。この結果の再現性を確認するため、さらに別の 2 年間の混餌投与試験が行われ、Osborne-Mendel および Sprague-Dawley ラット(いずれの系統も雌雄各 50 匹)に対して 0.0、1.0、2.0%の混餌投与が行われた。腫瘍形成への影響に統計学的有意差は認められなかった。雌雄各 100 匹を対照とした³⁾ (Anonymous, 1964b)。

4.2.2 ラット 365 日間癌原性試験

11 匹のラットに 1%液の 0.5ml を週 2 回、365 日間皮下注射し、その後 879 日まで観察したが局所に腫瘍発生は認められなかった²⁾ (Hecht, 1957)。

4.2.3 ラット 99 週間癌原性試験

18 匹のラットに本色素の 2%又は 3%液の 1ml を週 1 回、94~99 週皮下注射したが、局所の腫瘍発生を認められなかった²⁾ (Nelson *et al.*, 1953)。

4.2.4 ラット 2 年間癌原性試験

離乳したばかりのラット 24 匹を 1 群とする動物に本色素の 0.5、1、2、5%飼料を 2 年間投与したところ、5%で軽度の成長抑制が見られ、また肉眼的並びに顕微鏡観察から乳腺腫瘍増加の疑いが持たれた²⁾ (Hansen, 1957)。この所見を確かめるために Osborne-Mendel 及び Sprague-Dawley 系ラットに本色素の 1%及び 2%飼料を与え、対照群には両系統それぞれの 100 匹を用いて 2 年間の実験を行ったが、本色素投与による腫瘍発生の有意的増加はなかった²⁾ (Mannel *et al.*, 1958)。

4.2.5 ラット 25ヶ月間癌原性試験

近交系ラット 50 匹から成る群に、本色素ペースト(アマランス 40%)含有飼料を 25ヶ月間投与した。ラット 35 匹から成る対照群を設けた。飼料の本色素含量は 0.8~1.6%であった。腹膜および腸の腫瘍が生存動物 18 匹に 19ヶ月目から発現し始めた。25ヶ月までに、合計

11 個の腫瘍が確認された。対照群に腫瘍は認められなかった。病理組織学的検査ではすべての腫瘍が悪性であった³⁾ (Baigusheva, 1968)。

4.2.6 ラット 33ヶ月間癌原性試験

近交系雄ラット 50 匹から成る 2 群に、本色素を含量 0% または 2% で 33ヶ月間混餌投与した。33ヶ月までに全動物が死亡した。対照群に比して、体重のわずかな減少が認められたが、これは統計学的に有意ではなかった。確認された 15 個の腫瘍(生存動物 48 匹中 13 匹)には、リンパ肉腫 3 個、肉腫 4 個、腺線維腫 1 個、腸がん 3 個、肝臓がん 1 個、皮膚がん 3 個が含まれる。最初の腫瘍は 6ヶ月後に生じ、その他の大半は 21~23ヶ月後に認められた。試験の全期間中、対照ラット 50 匹では腫瘍は全く認めなかった³⁾ (Andrianova, 1970)。

4.3 イヌ

4.3.1 イヌ 7年間癌原性試験

7年間の毒性試験を雌ビーグルに対して行った。5匹に本色素を 2% で混餌投与し、3匹を対照とした。病理組織学的異常またはその他の異常は認められなかった³⁾ (Anonymous, 1974b)。

5 生殖発生毒性

5.1 マウス

5.1.1 マウス 催奇形性試験

妊娠した CD-1 近交系マウスに本色素 27、90、300 あるいは 1000 mg/kg 体重を妊娠 6 日から 10 日間連日強制経口投与したところ、着床、母動物あるいは胎児の生存に明らかな影響は認められなかった。対照と比較したところ、骨格組織および軟組織における異常に差はみられなかった³⁾ (Anonymous, 1972a)。

5.1.2 マウス 催奇形性試験

妊娠マウス 8~10 匹の群に対して、妊娠 0~7 日あるいは妊娠 6~18 日のいずれかの期間に 0、7.5、30 あるいは 100 mg/kg 体重相当の本色素を 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 18 日に母動物を屠殺し、同腹児のパラメータ、胚吸収、催奇形性を調べた。胚吸収率、胎児死亡および胎児発生に関して重大な影響は認められなかった。本色素投与に関連する催奇形性はみられなかった³⁾ (Larsson, 1974)。

5.2 ラット

5.2.1 ラット 催奇形性試験

雄 1 匹および雌 4 匹の群に本色素 1.5 および 15 mg/kg 体重/日を混餌投与した。同じ動物数の対照群を 2 群設けた。試験開始後 4~5ヶ月、7~8ヶ月、10~12ヶ月の 3 期間に、各群で交配を行った。受胎能、妊娠期間、出生児および死産児数、4 日間および 1 ヶ月間の生存数について調べた。児の異常を記録した。親動物と同じ食餌を投与した第 1 世代(F₁) および第 2 世代(F₂)も同様に観察した。この結果から、本色素は受胎能を低下させ、死産

児数を増加させ、児の奇形を発生させ、児の生存を低下させると判断された^{2,3)}
(Shtenberg & Gavrilenko, 1970)。

5.2.2 ラット 生殖試験

Wistar 系の雌ラット(P)に本色素を飲料水に入れて 1.5 及び 15 mg/kg/day の割合で 12~14 月与え、この間投与開始後 4~5 ヶ月、7~8 ヶ月、10~12 ヶ月の 3 時期にそれぞれ 3~4 匹の動物を交尾させて妊娠率、胎仔の死亡を観察し、第 1 回目の妊娠によって出産した F₁ 動物の発育を観察すると共にその離乳後から前記と同量の色素を投与してその後 4~5 月及び 7~8 月に交尾させて P の場合と同様な観察を行い、F₁ の第 1 回目の妊娠から出産した F₂ については 1 ヶ月まで観察した。

この結果、1.5 及び 15 mg/kg のいずれにおいても妊娠率の低下、死産仔の増加が見られ、F₁ 動物の哺育率及び 1 ヶ月後における生存率は低下し、1.5 mg/kg 群では特に P の第 3 回目の妊娠に前記の変化は著明であって交尾させた 3 匹の動物 1 匹のみが妊娠し、この動物の胎仔 10 匹は全部死産で、そのうち顔面骨の構造異常及び短肢などの肢の発育不良を示すものが見られた。そしてまた、このような胎仔に及ぼす影響は P よりも F₁ で減弱しているため、本色素に対してラットは代を重ねるにつれて生理学的適応を生じるものであろうとしている。以上の結果から、F/W が最大許容量として 1.5 mg/kg の値を定めている本色素の食用に対して疑問を提供するものであるとされた²⁾ (Shtenberg *et al.*, 1970)。

5.2.3 ラット 催奇形性試験

妊娠ラット 13~15 匹の群に、本色素 0、7.5、15、30、100 または 200 mg/kg/日を、妊娠 0~19 日にゾンデを用いて投与し、妊娠 20 日に屠殺した。着床への有害作用は認められなかった。胎児死亡率は用量に相関して上昇した。200 mg/kg/日で、胎児毒性作用が認められた。15 mg/kg/日以上では胚吸収が増加し、100 および 200 mg/kg/日では散発的に同腹児の全吸収も認められた。本色素に関連する催奇形性作用は認められなかった。胎児の性別に対しても明らかな影響はみられなかった^{2,3)} (Collins *et al.*, 1972)。

5.2.4 ラット 催奇形性試験

本色素 27、90、300、1000 mg/kg 体重を妊娠ラットに 10 日間(妊娠 6~15 日)連日投与したが、着床、あるいは母動物または胎児の生存に対して明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織および骨格組織で見られた異常発生率は、対照群と有意な差はなかった³⁾ (Anonymous, 1972)。

5.2.5 ラット 催奇形性試験

Wistar ラットを用いて、妊娠 0~19 日にわたり食用赤色 2 号を 1 日 1 回 7.5、15、30、100 及び 200 mg/kg を、強制あるいは混餌による経口投与を行っても、生存胎仔数、胎仔体重及びその他の検査結果に何ら影響を与えなかった²⁾ (Khera *et al.*, 1974)。

5.2.6 ラット 催奇形性試験

混餌投与と比較して、強制経口投与による奇形学的所見への影響を明らかにするため、同じ試験方法および試験材料による多数の比較試験を実施した。試験は、

Osborne-Mendel および Charles River の CD-1 ラットを対象として、3ヶ所の試験施設で統一した方法を用いて行われた。それぞれ妊娠ラット 20 匹から成る 6 対照群および 4 試験群を用いた。全試験動物に本色素を強制経口投与した。3 試験群には、妊娠 0~19 日、6~15 日、7~9 日のいずれかの期間に 200 mg/kg/日を投与し、もう 1 試験群には、妊娠 0~20 日に、200 mg/kg の摂取量に相当するように本色素 0.2%を飲水投与した。3 対照群には妊娠 0~19 日、6~15 日、7~9 日のいずれかの期間に溶液を強制経口投与し、第 1 対照群にはゾンデによって妊娠 0~19 日に溶液を強制経口投与し、第 2 対照群には妊娠 0~19 日に蒸留水を強制経口投与した。さらに投与や処置をまったく加えない第 3 対照群を設けた。Osborne-Mendel 系または CD-1 系において、胎児毒性に試験群と対照群間で有意差は見られなかった。着床、生存胎児、1 匹あたりの胚吸収率、雌雄胎児の体重については、全体として毒性学的意義のある所見は認められなかった。最初に行われた強制経口投与の所見は再現されなかった。また、その初期の試験では、胚吸収率が背景データと比べて異常に低かった³⁾ (Anonymous, 1974a)。

5.2.7 ラット 催奇形性試験

妊娠ラット 16~22 匹から成る 8 群に対して、妊娠 6~15 日に 0、15、50、150 mg/kg/日の本色素を、ゾンデを用いて与え、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。試験動物群の着床、胎児死亡率、胎児体重、あるいは生殖行動に関して、対照群と比較したところ、被験物質に関連する有害作用は認められなかった。本色素による催奇形性は認められなかった³⁾ (Keplinger *et al.*, 1974)。

5.2.8 ラット 催奇形性試験

Charles River の妊娠ラット 4 匹から成る 5 群に対して妊娠 6~15 日に本色素 0、15、150、450、および 1500 mg/kg 体重を強制経口投与し、妊娠 20 日に屠殺した。母動物の体重増加、同腹児数、胎児の平均重量、胚吸収数に関して、異常な影響は認められなかった。本色素に起因する肉眼的異常は確認されなかった³⁾ (Burnett *et al.*, 1974)。

5.2.9 ラット 催奇形性試験

3つの製造業者から得た本色素をラットに強制経口投与するか、あるいは半合成飼料に混餌投与した。いずれの投与方法でも妊娠 1~19 日に 0、15、30、100、200 mg/kg 体重/日を投与した。黄体数、生存胎児、脱落膜腫、死亡胎児、胎児体重の出生前評価値からは、着床または胚生存に対する本色素に関連する有害作用は認められなかった³⁾ (Khera *et al.*, 1974)。

5.2.10 ラット 催奇形性/生殖試験

ラット雄 10 匹および雌 20 匹 (F_0) から成る 5 群に、0、1.5、15、45、または 150 mg の本色素を 2 週間混餌投与し、2 回交配して、 F_1 世代を得た。 F_1 世代は 3 回交配し、その F_{2b} 同腹児を、 F_3 (原稿は F_2) 世代を得るために使用した。 F_2 世代の親動物は 1 回交配し、 F_{3a} 世代を得た。親世代動物の発育または同腹児における発育、全 3 世代の離乳および奇形学的観察

に関して有意な所見は認められなかった³⁾ (Haley *et al.*, 1972, Smith *et al.*, 1974a and 1974b)。

5.2.11 ラット 生殖試験

3 世代にわたる生殖および催奇形性試験では、Osborne-Mendel ラットの群に 0、30、300、3000、30000 ppm の色素を離乳後 3 ヶ月間与え、その後交配して F₁、F₂、F₃ 世代を得た。生存、体重増加、受胎能、同腹児数、児の生存率、離乳行動、児の生存など、親動物または児のパラメータに関して、有意な影響は認められなかった。最高用量群の F_{1d} 世代雌、F_{2a} × F_{2c} 世代雌雄において、離乳時の体重が有意に低値になったこと以外、本色素は、認められた何らかの有害作用に対して特に影響していないと考えられた。また、蓄積作用は認められなかった³⁾ (Collins *et al.*, 1975a)。

5.2.12 ラット 催奇形性試験

F₀ 世代において 0、30、300、3000、30000 ppm の本色素を投与した Osborne-Mendel ラットの F_{1a} および F_{3b} 世代の児を催奇形性試験に用いた。F_{1a} 世代では、30000 ppm 群で黄体数が減少したが、母動物 1 匹当たりの着床前消失に対照群との差はなかった。F_{1a} 児の胚吸収、胎児平均体重の減少は、用量と関連がなかった。F_{3b} 世代における着床および生存のパラメータは、対照群と同様であった。色素の用量に相関すると考えられる特異的な骨格組織異常または軟組織異常は認められなかった³⁾ (Collins *et al.*, 1975b)。

5.2.13 ラット 催奇形性試験

2 つの代謝物質(ナフチオン酸ナトリウムおよびその R-アミノ塩)および本色素の合成中間体に関する試験では、妊娠ラットにゾンデで 15、30、100、200 mg/kg/日を妊娠 0~19 日に投与した。着床への有害作用は認められなかったが、ナフチオン酸と R-塩の最高用量群で複数胚の吸収率が対照群の値に比して有意に高くなった。ナフチオン酸ナトリウム 100 mg/kg 投与により、胸骨分節異常を認める胎児の割合が有意に増加したが、同様の結果は、R-塩には認められなかった。本色素の合成中間体は 30 mg/kg で胸骨分節異常数を増加させ(異常所見と考えられる)、さらに高用量では骨格発達に有害作用を示した³⁾ (Collins *et al.*, 1973)。

5.2.14 ラット催奇形性試験

本色素の催奇形性を評価するために、産官共同試験を開始した。試験には、米国食品医薬品局(FDA)、Industrial Bio-Test Laboratories (IBT) および国立毒性研究センター(National Center for Toxicological Research: NCTR)の 3 試験機関が参加した。

妊娠雌 20~30 匹から成る群に対して、妊娠 0~19 日、6~15 日、または 7~9 日の期間に本色素 200 mg/kg 体重を強制経口投与した。もう 1 群には、妊娠 0~20 日の期間に同用量の本色素を飲水投与した。適切な対照を設けた。FDA は Osborne-Mendel 系ラットを使用したが、IBT は Charles River、NCTR は両系統のラットを使用した。IBT および NCTR 試験の Charles River 系では、妊娠 0~19 日に母動物へ 200 mg/kg を強制経口投与したところ、複数の胚吸収が認められる母動物数が有意に増加した。同様に、NCTR 試験では、こ