

の系統において、母動物 1 匹当たりの胚吸収の割合も有意に増加した。Osborne-Mendel 系では胚吸収数の有意な増加は認められなかった。本物質関連の骨格あるいは臓器への明らかな影響はみられなかった⁴⁾ (Collins *et al.*, 1976a, 1976b; Keplinger *et al.*, 1976; Holsen *et al.*, 1976a, 1976b)。

5.2.15 ラット 生殖試験

ラットに 20、250、1250 mg/kg の用量で 2 世代試験を行ったが、腎のカルシウム沈着以外に特記すべき所見はなかった²⁾ (Clode *et al.*, 1987)。

5.2.16 ラット 催奇形性試験

ラット胎仔の肢芽細胞²⁾ (Renault *et al.*, 1989)、ラット胎仔の脳の神経細胞²⁾ (Khera *et al.*, 1988)、あるいはラット胎仔の初期全胚葉の培養²⁾ (Cicurel *et al.*, 1988) による催奇形性のスクリーニング試験において、催奇形性は陰性とされている。しかし、ヒト胎児口蓋結合組織細胞による成長阻止試験では、陽性と判断された²⁾ (Steele *et al.*, 1988)。

5.3 イヌ

5.3.1 イヌ 催奇形性/生殖試験

成熟した雌ビーグル 12 匹から成る 4 群に対して、本色素 0、300、900、3000 ppm を混餌投与し、3000 ppm を投与した雄と交配させる、催奇形性および生殖試験を行った。妊娠前投与期間は最初の同腹児については 45 日～382 日であり、2 回目の同腹児については 132 日～572 日であった。妊娠約 60 日に帝王切開によって各群雌 6 匹を出産させ、残りの雌は 2 群の同腹児のいずれも自然分娩させた。出生児は 8 週齢までに離乳させた。連続して得た 2 群の同腹児を調べた。母動物の生殖、体重、摂餌量、あるいは同腹児の数、生存率、病理、骨格発達に関して、有意な影響は認められなかった³⁾ (Mastalki *et al.*, 1975)。

5.4 ハムスター

5.4.1 ハムスター 催奇形性試験

妊娠ハムスターに最高用量 1000 mg/kg 体重の本色素を妊娠 6～10 日に投与したところ、着床あるいは母動物または胎児生存に明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織または骨格組織の異常発生率には、対照群との有意差はみられなかった³⁾ (Anonymous, 1972c)。

5.5 ウサギ

5.5.1 ウサギ 催奇形性試験

妊娠ウサギ 10～14 匹から成る 8 群に本色素 0、1.5、5.0、15.0 mg/kg/日をカプセルにして妊娠 6～16 日に与え、妊娠 29 日に帝王切開して屠殺した。本色素による催奇形性は認められず、着床、児の体重、生存児、吸収胚の総数にも有意な影響は認められなかった。母動物 1 匹当たりの平均早期胚吸収数に増加が認められ、その増加量は、1.5 および 15.0 mg/kg 群では統計学的有意性 ($p=0.05$) 未満であったが、5.0 mg/kg 群では有意であった³⁾ (Keplinger *et al.*, 1974)。

5.5.2 ウサギ 催奇形性試験

妊娠ウサギに本色素 27、90、300、1000 mg/kg 体重を妊娠 6～18 日に投与したところ、着床あるいは母動物または胎児生存に明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織または骨格組織の異常発生率には、対照群との有意差はみられなかった³⁾ (Anonymous, 1972b)。

5.6 ネコ

5.6.1 ネコ 催奇形性／生殖試験

雌の成熟短毛種ネコ 12 匹から成る 4 群に対して、生殖および妊娠期間の前およびその期間中に本色素を 0、300、900、3000 ppm 混餌投与する、催奇形性および生殖試験を行った。すべての雌を、本色素 3000 ppm を混餌投与した雄と交配させた。妊娠約 60 日に帝王切開によって雌 6 匹を出産させ、残りの 6 匹は正常に同腹児を分娩させた。

自然な発情期の開始時点は不明であるため、妊娠前の投与期間を一定にすることは困難であった。同様の理由で、帝王切開で出産した仔ネコは様々な妊娠段階にあった。着床および胚吸収、黄体、死産児、生存児を帝王切開後 24 時間にわたって調べた。正常分娩の仔ネコを 8 週間後に離乳させ、検査した。胚吸収数は 3000 ppm 群で高値となり、帝王切開後の 24 時間生存率は 300 ppm 群で低値となった。正常分娩時の平均体重は 900 ppm 群でのみ低値となったが、出生後 8 週間目では影響は認められなかった。調べたいずれのパラメータも、明確には有害作用を示す所見とみなすことはできなかった³⁾ (Korinke *et al.*, 1974)。

5.6.2 ネコ 催奇形性試験

成熟した雌ネコに本色素 0、92、187、264 mg/kg 体重をゼラチンカプセルとして連日投与した。投与は、妊娠 22 日前から妊娠 61 日または 62 日まで実施した。10 日～38 日間の期間を置いて 7 つの試験を行った。6 試験ではネコ 20 匹を各試験で使用し、1 試験では 11 匹を使用した。各試験ではネコを無作為に 5 つの群に割り付けた。3 群には本色素を投与し、残りの 2 群は対照として用いた。自然またはゴナドトロピンの刺激により発情期の雌の交尾を管理し、妊娠時期を調節した。帝王切開を妊娠 61 日目または 62 日目に行った。総着床数、黄体／総着床数の比、死亡胎児、脱落膜腫、生存胎児、インキュベータ内での生存胎児の 24 時間生存率、生存胎児の平均体重、性別比、および胎児異常に関して、本色素摂取と関連すると考えられる有意な影響は認められなかった⁴⁾ (Khera *et al.*, 1976)。

6 局所刺激性

6.1 ウサギ

6.1.1 ウサギ 皮膚刺激性試験

ウサギ 9 匹から成る 6 群を使用し、本色素 0.1% および 1% を含む軟膏あるいは水溶媒を用いて皮膚刺激および経皮毒性試験を行った。投与に関連する皮膚毒性あるいは全身毒性は認められなかった⁴⁾ (Carson, 1962)。

7 その他の毒性

7.1 ラット

7.1.1 ラット 腎石灰化に関する試験

成熟(11週齢)Wistarラット雌雄25匹から成る群に対して、本色素摂取量が0、20、40、80、1250 mg/kg 体重/日となるように調整して28日間または90日間混餌投与を行った。90日間投与では、実際の摂取量は目標値に近かったが、28日間投与では、実際の1日摂取量平均は雄で0、15、30、63、1005 mg/kg 体重/日、雌で0、17、33、69、1046 mg/kg 体重/日となった。陽性対照として、同様の群に50%乳糖を28日間混餌投与した。

28日間の乳糖投与後、体重増加が抑制され、病理組織学的検査では腎盂の石灰化および過形成発生率の増加が認められた。

28日間および90日間のいずれの投与期間においても、対照群の体重と80 mg/kg 体重/日までの本色素投与群の体重に、統計学的有意差は認められなかった。雄では、1250 mg/kg 体重/日群において体重増加抑制の傾向が認められ、28日間投与後の体重には統計学的に有意な差($P < 0.05$)がみられたが、90日間投与後ではみられなかった。最高用量群の雌雄の摂水量はいずれも、対照群に比して多量であった。

腎相対重量および腎のカルシウム、マグネシウムおよびリン濃度は、いずれの投与群およびいずれの投与期間でも、本色素投与による影響を受けなかった。腎での病理組織学的所見の全体的発生率は低かったが、90日間投与後の高用量群雄では、腎盂過形成および石灰化を認めた動物数がわずかに増加した。しかし、28日投与後ではそのような増加は認められなかった。

石灰化は、老年期ネフローゼ発現動物のみで発生すると結論付けられた。この90日間投与試験における本色素の無作用量は80 mg/kg 体重/日であった¹⁾ (Ford, Butler & Gaunt, 1983)。

7.1.2 ラット 子宮内(*in utero*)曝露を含む長期試験

Wistar系起源の異系交配ラットから構成される対照群雌雄各114匹および投与群雌雄各66匹に、本色素の1日摂取量が0(対照)、50、250、1250 mg/kg 体重となるように、交配前の60日間に本色素を混餌投与した(F_0 世代)。その後、ラットは、同胞交配を避け、雌雄一対で交配し、試験期間中投与を継続しながら、雌には児を出産させ、育てさせた。各児はその母動物と同様の食餌を与えて離乳させた。最後の児が離乳した後、児を(1群の同腹児から雌雄1匹ずつのみ)選択し、90匹(対照群)あるいは54匹(各投与群)から成る長期試験用の群を設けた(F_1 世代)。3~5週齢で F_1 世代を選択した後、雄では3週間、雌では112週間投与を続けた。両世代において、一般状態を観察し、体重、摂餌量および摂水量を頻りに測定した。3、6、12、18ヶ月後に F_1 群の雌雄各20匹の尾静脈から採血した血液、および試験終了時に全生存ラットの大動脈から採取した血液について、血液学的検査を行った。検査項目には、赤血球容積(PCV)、ヘモグロビン、メトヘモグロビン、赤血球数、総白血球数、白血球分画数、および網状赤血球数が含まれていた。3、6、9、12、18、24ヶ

月後にF₁世代から選択した雌雄各20匹について腎機能検査を実施した。F₁試験相終了時に血清化学的検査を実施した。尿素、ブドウ糖、アルブミンおよび総蛋白質、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼを測定した。

試験中に状態不良のため、死亡あるいは屠殺した動物について、詳細な剖検を実施した。また、F₀世代の各群の雌雄からそれぞれ選んだ15匹、およびF₁世代の全生存動物についても剖検を行った。剖検では、副腎、大動脈、膀胱、脳、盲腸、結腸、副睾丸、眼、生殖腺、ハーダ腺、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、筋(骨格筋)、鼻骨、神経(坐骨)、食道、脾臓、前立腺、唾液腺、精囊、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、胸腺、甲状腺、舌、気管、子宮、膣、静脈を採取した。大腿骨骨髓膜も採取した。F₁世代の全動物から採取した鼻骨および脊髄を除いた全組織について、病理組織学的検査を実施した。鼻骨および脊髄の検査は、対照群と最高用量群の検体に限った。

観察期間中に投与と関連があると考えられた所見は、外観における赤色の混合、糞便の赤色着色、および最高用量群における糞便のペレット形状のくずれのみであった。F₀世代雌の90%以上が投与と無関係に同腹児を出産し、児の数は投与群の方が多くなった。最高用量群の児の平均体重は対照群に比して低値となったが、児の数が多いため、同腹児の合計体重は減少しなかった。

F₁世代において、本色素1250 mg/kg体重を投与した雌雄は、摂餌量がわずかに増加したにもかかわらず、いずれも対照群に比してわずかに体重が低値となり、食餌利用率が低下したと結論付けられた。最高用量群の摂水量はわずかに増加(10~12%)したが、雄の腎機能検査において、尿は濃縮され、尿量は低下する傾向が見られた。糞便による水分消滅増加を補うために摂水量が増加したと結論された。

血液学的検査または血清化学的検査で投与に関連すると考えられる一貫した所見は認められなかった。最高用量群の雌雄ラットにおいて、剖検で得られた血液中のヘモグロビン濃度がわずかに高値であったが、この値は雌においてのみ統計学的に有意であった。18ヶ月後に、最高用量群の雌雄いずれにおいても、尿中細胞数が高値となった。最高用量群の雌では、12ヶ月後以降に尿中における蛋白排泄量が増加する傾向が認められた。このような所見は散発的であるが、腎障害が対照群に比して高用量群で早期に発現することを示している可能性がある。

対照群と投与群の死亡率に有意差は認められず、F₁世代の腫瘍発生率および群での分布は、試験した系統のラットで予測される結果であり、投与による影響はなかったと考えられた。最終臓器重量解析で認められた投与関連の唯一の所見は、両世代の2高用量群雄、両世代の最高用量群雌、F₀世代の1250 mg/kg体重群雌における盲腸重量の増加であった。

全用量群において、腎石灰化および腎盂上皮過形成がみられる雌ラットの数は増加したが、雄ラットでは、最高用量群でもそのような病変発生率に有意差は認められなかった。試

験終了時の病理組織学的検査において、年齢に関連する様々な退行性変化が認められたが、最高用量群雌でみられた腎障害による変化を除き、それらは投与と関連しないと考えられた。

1250 mg/kg 体重までの用量で本色素をラットに曝露し、さらに妊娠および授乳中にも曝露を行い、続いて出生児にも 2 年間以上曝露を行ったが、発がん性作用は認められなかった。しかし、使用した全用量群雌の腎に影響が認められたことから、本試験において無作用量 (no-untoward-effect) は設定できなかった¹⁾ (Clode, Hooson, Butler & Conning, 1982)。上記試験における最初の組織評価は無作為化法で行わなかったが、このことが、変化の程度に関する評価に影響を与えた可能性が考えられた。そのため、投与群に関してすでに得られた情報とは無関係に、無作為化法によって腎および副腎組織を再評価した。再評価では、雌 F₁ ラットの腎盂の石灰化および上皮過形成に用量に関連した増加傾向が確認された。過形成は一般に、腎盂石灰化がみられる動物に認められた。統計学的解析 (片側 Fisher 直接法) では、低用量 (50 mg/kg) 群の腎盂石灰化および過形成の発生率は、対照群と比較して有意差はなかった。雄で用量に関連した腎盂石灰化の発生率増加傾向が唯一認められたが、いずれの投与群でも対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。雌雄ともに、F₁ ラットの老年期糸球体腎症および副腎病理は投与による影響を受けていなかった。F₀ ラットでは雌雄いずれにおいても、何らかの部位の石灰化あるいは腎盂過形成の有意な増加は認められず、糸球体腎症はこれらの若齢ラットではほとんど認められなかった¹⁾ (Butler & Conning, 1983)。

7.2 モルモット

7.2.1 モルモット 感作性試験

モルモットによる試験では、本色素に感作性は認められないことが確認された⁴⁾ (Bar & Griepentrog, 1960)。

7.3 ニワトリ

7.3.1 ニワトリ 胚試験

様々な用量の本色素およびナフチオン酸ナトリウムを卵黄および気室に投与し、ニワトリ胚試験を実施した。本化合物は低用量および高用量よりも中用量で毒性が低く、明確な用量相関性は認められなかった⁴⁾ (Winbush, 1972)。

7.4 ネコ

7.4.1 ネコ ハイイツ小体試験

第 1 日目に 1 g、第 9 日目と 18 日目に 0.1 g に相当する本色素の 5% 溶液をネコ 4 匹に注射して行ったハイイツ小体試験は、陰性であった⁴⁾ (Anonymous, 1957)。

8 ヒトにおける知見

8.1 ヒト 過敏性試験

本色素のようなアゾ色素に過敏性を示すことが疑われる再発性蕁麻疹患者または血管浮

腫患者 7 人のうち、1 人が本色素の誘発に反応して蕁麻疹を発現した。さらにもう 1 人にも他感覚徴候 (objective sign) の反応が認められ、他の患者 3 人には、自覚症状が認められた³⁾ (Michaelson & Juhlin, 1973)。

引用文献

- 1) WHO Food Additive Series No.19 Amaranth 1984 (accessed ; Nov. 2004,
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je02.htm>)
- 2) 第7版食品添加物公定書解説書
- 3) WHO Food Additive Series No.8 Amaranth 1975 (accessed ; Nov. 2004,
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v08je02.htm>)
- 4) WHO Food Additive Series No.13 Amaranth 1978 (accessed ; Nov. 2004,
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v13je02.htm>)

改訂経歴

版 No.	作成日	内 容
01	2004 年 11 月 26 日	新規作成 (公定書記載内容反映)

和名: 食用赤色3号

英名: Food Red No. 3

No.: 484

コード: 102393

CAS 登録番号: 16423-68-0

別名: エリスロシン, 2',4',5',7'-テトラヨードフルオレセインナトリウム

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 28, (1991))

本色素による腫瘍形成作用のために、ラットに対する無作用量は判定できなかったが、委員会は、ラットにおける甲状腺腫瘍発生は主としてホルモン作用に起因する可能性が高いと判断し、甲状腺機能への影響に関する無作用量に基づいてADIを設定できると結論付けた。ヒトとラットの甲状腺の生理学的差を考慮し、委員会は過去に報告されたヒトデータの無作用量に基づいて評価した。したがって、委員会は、60 mg/ヒト/日 (1 mg/kg 体重/日に相当) という無作用量に安全係数 10 を適用して、本色素の ADI を 0~0.1 mg/kg 体重と設定した¹⁾ (FDA, 1991)。

毒性作用を示さない用量ラット: 0.25% 混餌 (125 mg/kg 体重/日に相当)²⁾ (FDA, 1986)

(甲状腺ホルモン代謝および甲状腺制御に対する生化学的影響についての試験に基づく)。

ヒトの1日摂取許容量(ADI)暫定値の推定値0~0.6 mg/kg 体重²⁾ (FDA, 1986)

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀^{2,3)}

マウス	経口	6,800 mg/kg	(Butterworth <i>et al.</i> , 1976a)
	腹腔内	360 mg/kg	(Butterworth <i>et al.</i> , 1976a)
	静脈内	370 mg/kg	(Waliszewski, 1952)
ラット	経口	1895 mg/kg	(Lu & Lavalley, 1964)

	経口	1840 mg/kg	(Hansen <i>et al.</i> , 1973a)
	経口	7,100 mg/kg	(Butterworth <i>et al.</i> , 1976a)
	腹腔内	300 mg/kg	(Emerson & Anderson, 1934)
	腹腔内	350 mg/kg	(Butterworth <i>et al.</i> , 1976a)
スナネズミ	経口	1,930 mg/kg	(FDA, 1969)
ウサギ	静脈内	200 mg/kg	(Emerson & Anderson, 1934)

2 反復投与毒性

2.1 マウス

2.1.1 マウス 24ヶ月間反復投与毒性試験

Charles River CD-1 マウス 5 群(雌雄各 60 匹/群)に、0(対照群 2 群を使用)、0.3、1.0、3.0%本色素を 24 ヶ月間混餌投与した。本色素平均摂取量は、雄で 0、424、1474、4759 mg/kg 体重/日、雌で 0、507、1834、5779 mg/kg 体重/日であった。3.0%投与群の雌雄で統計学的に有意な体重減少(試験期間中全体で)が認められたことを除き、全投与群において、その他の調査パラメータ(死亡率、摂餌量、血液学的検査、肉眼による病理学的検査、および病理組織学的検査)には、本色素投与による有害な影響はみられなかった²⁾ (Richter *et al.*, 1981)。

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、3 日間にわたって本色素水溶液 250 mg/kg 体重を 1 日 2 回皮下(s.c.)注射し、4 日目にラットを屠殺した。エストロゲン作用性の活性は認められなかった(子宮重量は正常であるという結果に基づく)^{2,3)} (Graham & Allmark, 1959)。

2.2.2 ラット 90日間反復投与毒性試験

ラット雌雄各 15 匹から成る 5 群に、0、0.25、0.5、1、2%本色素を 90 日間混餌投与した。体重、摂餌量、血液学的検査、血液および尿検査に関して、試験物質投与に関連すると考えられる有害な作用は認められず、全投与群において盲腸の絶対および相対重量が高値になったことを除き、臓器重量は正常であった。盲腸腫脹は用量に関連していたが、組織学的検査結果は正常であった。甲状腺の絶対および相対重量は 2%投与群で高値となった。2%投与群の雌および全投与群の雄において用量依存的に尿細管で色素沈着物が認められたことを除き、病理組織学的検査では異常は認められなかった。本色素は蛋白結合本色素であると同定された。さらに、血清中における総蛋白結合ヨウ素(PHI)および蛋白結合エリスロシン量は、全群において用量依存的に高くなった。蛋白非結合ヨウ素量も用量と関連して上昇した。しかし、T₄ヨウ素に変化はなく、¹³¹I 取り込みは低下した^{2,3)} (Hansen *et al.*, 1973b)。

2.2.3 ラット 90日間反復投与毒性試験

BIBRA 研究所の報告によれば、ラットに本品の 0.25、0.5、1.0 及び 2.0%添加飼料を 90 日間

投与したが、体重、摂餌量、血液学的所見、血液及び尿分析で、本品の投与に関連したと考えられる影響はなかった。器官重量では甲状腺の実重量と体重比重量が 2.0 %で増加した。また各投与群で盲腸の膨大が用量に関連して認められたが、病理学的所見は正常であった^{3,4)} (FDA, 1974)。

2.2.4 ラット 90 日間反復投与毒性試験

Carworth farm E SPF 系ラット(雌雄各 15 匹/群)5 群に対して、0、0.25、0.5、1.0、2.0%本色素を 90 日間混餌投与した。体重増加率または摂餌量に、あるいは血液学的検査、血清検査、または腎機能検査の結果に、投与によると考えられる影響はみられなかった。体重に対する甲状腺の重量は、1.0 および 2.0%本色素投与群でわずかに高値となった。いずれのエリスロシン混餌投与群においても、甲状腺活性に影響はみられなかった。このことは、投与ラットにおいて、甲状腺は病理組織学的に正常であり、血清 T_4 濃度に対する作用は認められず、酸素消費率は正常であったことから、明らかになった²⁾ (Butterworth *et al.*, 1976a)。

2.2.5 ラット 6 ヶ月間反復投与毒性試験

ラット 1 匹(体重 200~250 g)につきエリスロシン 5、10、15、または 50 mg を週 2 回 6 ヶ月間投与したところ、3 ヶ月後にヘモグロビンおよび赤血球数が低下し、雄のコレステロール濃度が低下した^{2,3)} (Bowie *et al.*, 1966)。

2.2.6 ラット 27 週間反復投与毒性試験

雄ラットに 4.0%本色素を長期間混餌投与したときに認められる甲状腺腫瘍は、過剰なヨウ素(本色素の不純物あるいは本色素からのヨウ素代謝物質のいずれか)によって発生したのか、あるいは本色素が有する非ヨウ素関連の別の性質により発生したのかについて調べるため、試験を実施した。試験は後述の Charles River CD ラット 70 匹(雌雄各 35 匹)の 6 投与群で行い、投与は 27 週間続けた。

群 1—混合物なしの飼料を投与した

群 2—1 g あたり NaI(ヨウ化ナトリウム)80 μ g を含有する飼料を投与した

群 3—精製本色素を 4.0%で混餌投与した

群 4—1 g あたり NaI(ヨウ化ナトリウム)80 μ g 含有の、精製本色素 4.0%混餌飼料を投与した

群 5—1 g あたり NaI(ヨウ化ナトリウム)160 μ g 含有の、精製本色素 4.0%混餌飼料を投与した

群 6—市販本色素を 4.0%で混餌投与した

市販本色素の 4%混餌投与は甲状腺機能亢進を引き起こした。TSH および T_4 は上昇したが、 T_3 濃度は低下した。臨床化学検査パラメータ、体重、摂餌量の変化も甲状腺機能亢進を示した。市販本色素製剤をさらに精製して遊離ヨウ素を除いても、このような作用に変化はなかった。NaI のみを含有する飼料を投与した場合には、このような反応は認められなかった。本試験では、本試験および過去の試験で認められた甲状腺の変化は TSH 濃度の増

加によるものであることが裏付けられた。しかし、このような本色素作用の機序は本試験の結果からは解明できなかった²⁾ (Couch *et al.*, 1983)。

2.2.7 ラット 6 または 12 ヶ月間反復投与毒性試験

Sprague-Dawley 雌ラット(12~20 匹/群)に対し、本色素 0%(対照群)または 0.2%(投与群)の混餌投与を 6 または 12 ヶ月間行った。試験期間の最後の 12 週間において、12 ヶ月間投与群にわずかな体重増加抑制が認められた。摂餌量、血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、および臓器重量のようなその他のパラメータは、6 ヶ月および 12 ヶ月投与のいずれにおいても、投与群および対照群で同様であった。投与群および対照群において散発的な病理学的変化が認められた²⁾ (Sekigawa *et al.*, 1978)。

2.2.8 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、本色素を 4%で 18 ヶ月間混餌投与した。腺胃および小腸に肉眼で着色が認められ、粒状の沈着物が胃、小腸、結腸に認められた。肝硬変が 12 ヶ月間生存していたラット 4 例のうち 1 例で認められた。20 ヶ月以上観察した対照ラット 50 匹には腫瘍または肝硬変の発現は認められなかった^{2,3)} (Willheim & Ivy, 1953)。

2.2.9 ラット 18 ヶ月間反復投与毒性試験

6 週齢の無菌 F344 ラットの群(雌雄各 50 匹)に対して、本色素を 1.25%または 2.5%で 18 ヶ月間混餌投与した。雌雄各 30 匹から成る対照群には本色素非含有飼料を投与した。投与の最初の 20 週間には本色素をペレット状飼料に混餌させ、残りの投与期間には粉末飼料に混餌させた。本色素に曝露したラットは試験開始から 18 ヶ月後、対照群ラットは 24 ヶ月後に屠殺した。病理組織学的検査以外のパラメータは報告されなかった。病理組織学的検査において、自然発生の腫瘍(生殖器系、内分泌系、造血系、および消化管系の腫瘍)が散発的に認められたが、その発現頻度は本色素投与群間では同等であり、対照群とも同様であった。甲状腺において病理学的変化は認められなかった²⁾ (Fukunishi *et al.*, 1984)。

2.2.10 ラット 86 週間反復投与毒性試験

100 日齢のラット(試験群:雌雄各 25 匹、対照群:雌雄各 50 匹)に、本色素を 0、0.5、1.0、2.0、4.0%で 86 週間混餌投与した。また、他の 100 日齢のラット群(雌雄各 25 匹)には、85 週間にわたってゾンデにより本色素 0、100、235、750、1500 mg/kg 体重を週 2 回強制経口投与した。この投与後、2 年にわたる試験の残りの期間は、基礎飼料で動物を飼育した。2%群および 4%群に体重減少が認められた。タンパク結合ヨウ素(PBI)の上昇が認められたが、これは甲状腺機能障害が原因ではなく、PBI 測定時の本色素による妨害が原因であった。T₄ヨウ素濃度に影響はなかった。その他に血液学的差はみられず、貧血は認められなかった。肉眼において有害な病理学的所見はみられなかった。病理組織学的検査では、本色素に関連する異常は認められなかった^{2,3)} (Hansen *et al.*, 1973b)。

2.2.11 ラット 2 年間反復投与毒性試験

Osborne-Mendel 離乳ラット雌雄各 12 匹から成る群に、2 年間にわたって本色素を 0、0.5、

1.0、2.0、または 5.0%で混餌投与した。5%本色素投与群に成長抑制が認められた。脾臓の相対重量は、雄の全試験群および雌の 5%投与群で低値であった。軽度盲腸腫脹が 1%投与群で認められ、用量とともに顕著になったが、腫脹した盲腸の組織学的検査所見は正常であった。また、統計学的検査では、5%投与群で数例の下痢が認められたが、最高用量において臓器重量に有意な変化は認められず、本色素投与に関連する、その他の肉眼的所見または病理組織学的所見は認められなかった^{2,3)} (Hansen *et al.*, 1973b)。

2.2.12 ラット 29ヶ月間反復投与毒性試験

Charles River CD 離乳ラット 2 群(70 匹/性/群)に対して、本色素を 0 または 4%で *in utero* 曝露後約 29ヶ月間混餌投与した。本色素の平均摂取量は、雄で 2465 mg/kg 体重/日であり、雌で 3029 mg/kg 体重/日であった。一般状態、行動、死亡率、摂餌量、血液学的検査、臨床化学的検査、尿検査、眼科的所見について、本色素に関連する一貫した有意な影響は認められなかった。投与群の平均体重(雌雄)は試験期間を通して対照群に比してわずかに低値になった。この差は、雄で 3~5 週および 122 週、雌で 0~4 週、6 週、114 週を除いて統計学的に有意であった。甲状腺の絶対および相対重量平均は、対照群の 2 倍以上であった。病理組織学的検査では、甲状腺過形成(濾胞細胞および C 細胞)の発生率は投与群雄で有意に高かった。投与群雄の甲状腺の濾胞腺腫発生率(16/68)は、対照群(0/69)に比して統計学的有意に高くなった。甲状腺 C 細胞がんおよび濾胞がんなどの悪性腫瘍の発生率は、投与群と対照群と同様であった²⁾ (Brewer *et al.*, 1982)。

2.2.13 ラット 30ヶ月間反復投与毒性試験

Charles River CD 離乳ラット雌雄各 70 匹から成る群に、本色素を 0.1、0.5、1.0%で子宮内投与後 30ヶ月間混餌投与した。同時対照群 2 群(70 匹/性/群)には本色素を含まない飼料を投与した。本色素の平均摂取量は、雄で 49、251、507 mg/kg 体重/日、雌で 61、307、642 mg/kg 体重/日であった。子宮内投与試験相において、本色素に関連する一貫した有意な影響は認められなかった。本試験でも、一般状態、行動、死亡率、摂餌量、血液学的検査、臨床化学的検査、尿検査、眼科的所見について、本色素関連の一貫した有意な影響は認められなかった。投与期間中、対照群および投与群の平均体重に有意差はみられなかった。肉眼で認められた病理学的変化は、本色素投与に起因しないと判断された。非腫瘍病変の発生率は、投与群と対照群において同様であった。良性甲状腺腫瘍(濾胞腺腫)の発生率は対照群では 0/140 であったのに対し、雌の 1.0%投与群では 6/68 であり、統計学的に有意な上昇が認められた。投与群の悪性腫瘍発生率は対照群と同様であった²⁾ (Brewer *et al.*, 1981)。

2.3 イヌ

2.3.1 イヌ 2年間反復投与毒性試験

雌雄各 3 匹のビーグル犬に本色素を 0、0.5、1.0、2.01%で 2 年間混餌投与した。すべてのイヌは試験期間中生存した。肉眼および病理組織学的検査では、本色素投与に関連する病理学的変化は認められなかった^{2,3)} (Hansen *et al.*, 1973b)。

2.4 スナネズミ

2.4.1 スナネズミ 19ヶ月反復投与毒性試験

スナネズミ3群(雌雄各15匹/群)に対して、本色素を200、750、900 mg/kgで19ヶ月間混餌投与した(900 mg/kg群の動物には、最初の3ヶ月間、1200 mg/kg投与した)。対照群の構成は、雌雄各30匹であった。全投与群の雄のスナネズミに、体重減少が認められたが、雌では900 mg/kg群でのみに認められた。また、タンパク結合ヨウ素(PBI)上昇が認められたが、これはPBI測定時にみられる本色素による妨害が原因であった。その他の血液学的検査結果に差はみられなかった。肉眼的病理学的検査では異常は認められなかった。病理組織学的検査は実施されなかった^{2,3)} (FDA, 1969)。

2.4.2 スナネズミ 97週間反復投与毒性試験

約6ヶ月齢の雄スナネズミ(Mongolian gerbil)20~24匹の群に、ゾンデによって200、750、900 mg/kgの本色素(水に溶解)を97週間にわたって週2回強制経口投与し、対照群(雌雄各32匹)にはゾンデによって蒸留水のみを投与した。投与量を10 mL/kg体重とした。臨床毒性、死亡率、体重増加、血液学的検査、臓器重量、肉眼による病理学的検査、病理組織学的検査のような臨床検査パラメータについて、本色素に関連する有害な影響は認められなかった²⁾ (Collins & Long, 1976)。

2.4.3 スナネズミ 105週間反復投与毒性試験

約6ヶ月齢のスナネズミ(Mongolian gerbil)3群(雌雄各15~16匹/群)に対して、本色素を1.0、2.0、4.0%で105週間混餌投与し、対照群(雌雄各31匹)には本色素非含有飼料を投与した。全投与群の動物は、対照群と比較して、統計学的有意な用量に依存した体重増加抑制を示した。全般的に、投与群ラットのヘマトクリットおよびヘモグロビン、白血球数および網状赤血球数にわずかな低下が認められ、有意な低下も散発的に認められた。心臓、肝臓、脾臓の相対重量は雌雄いずれにおいても2高用量群で有意に低値になった。投与群ラットの甲状腺には、用量と関連する濾胞肥大のような変化がみられ、中には局所的な過形成が認められた。病理組織学的検査では本色素に関連する影響は認められなかった²⁾ (Collins & Long, 1976)。

2.5 ブタ

2.5.1 ブタ 14週間反復投与毒性試験

大型の白系ブタ4群(各体重約20kgの雌雄各3匹/群)に対して、本色素を0、167、500、1500 mg/kg体重/日で14週間混餌投与した。投与群のブタでは、対照群に比して血清T₄濃度の低下が認められた。全投与群のブタで、血清タンパク結合ヨウ素(PBI)濃度、タンパク非結合ヨウ素濃度、タンパク結合本色素濃度について、用量依存的な増加が認められた。甲状腺重量に用量依存的な増加が認められたが、対照群と比較した場合、その差は高用量群(500および1500 mg/kg体重/日)の雌ブタにおいてのみ統計学的に有意であった。投与群のブタにはいずれも甲状腺の病理学的変化は認められなかった²⁾ (Butterworth *et al.*, 1976b)。

3 遺伝毒性

微生物突然変異	(-)
染色体異常誘発試験	(-)
修復試験	(+)

3.1 復帰突然変異試験

3.1.1 復帰突然変異試験

本色素の変異原性について試験したところ、0.5 g/100 mL で、*Escherichia coli* に対して非常にわずかではあるが統計学的に有意な変異原性を示した。キサンチン分子そのものに原因があり、置換基は単にその作用を変えるのみであることが明らかになった²⁾ (Luck *et al.*, 1963, Luck & Rickerl, 1960)。

3.1.2 復帰突然変異試験

代謝活性有りおよび無しの状況下において 1~10,000 µg/プレートの濃度でエームス試験を実施したところ、*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 および TA1538 において本色素の変異原性は認められなかった²⁾ (Auletta *et al.*, 1977, Bonin & Baker, 1980, Brown *et al.*, 1975)。

3.1.3 復帰突然変異試験

最近実施されたその他いくつかの試験でも、同様に、エームス試験で陰性の結果が得られた²⁾ (Tarján & Kurti, 1982, Ishidate *et al.*, 1984, Jaganath & Myth, 1984a, Muzzall & Cook, 1979)。

3.1.4 復帰突然変異試験

指標菌として *E. coli* WP2 UVrA を用いたところ変異原性は認められなかった²⁾ (Haveland-Smith & Combes, 1980)。

3.1.5 復帰突然変異試験

Salmonella typhimurium (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、および TA100) によるプレート法により、点変異誘発の有無について本色素を試験した。変異原性は認められなかった。フラビンモノヌクレオチドを活性混合物に添加する改良法でも、陰性の結果が得られた¹⁾ (Cameron *et al.*, 1987)。

3.1.6 復帰突然変異試験

B. subtilis 17A/45T 株^{2,4)} (Kada *et al.*, 1978) 及び *S. typhimurium* TA 1535 (250 µg/plate)^{2,4)} (Brown *et al.*, 1978) で変異原性陽性を示した。また、チャイニーズハムスターに対する小核形成試験 (300 µg/ml) で陽性を示した^{1,4)} (Rogers *et al.*, 1988)。

3.1.7 復帰突然変異試験

TA97a、TA98、TA100、TA102、および TA104 によるエームス試験では、ラット肝臓 S9 または盲腸の内容物 (caecal-cell free extract) による代謝活性の有無にかかわらず、2 mg/プ

レートまでの濃度において、本色素は変異原性を示さなかった。comutagen であるハルマンおよびノルハルマンを加えても、S9 の有無にかかわらず、変異原性はみられなかった。自然復帰頻度に用量に依存した抑制が認められた。修復欠損株 (TA97a、TA98、および TA100) に毒性 (光毒性) が認められたが、修復能を有する株 (TA102 および TA104) には認められなかった。本色素は、ベンゾ (a) ピレンおよびマイトマイシン C に抗変異原性を示したが、4-nitroquinoline-N-oxide および methylmethanesulfonate には示さなかった¹⁾ (Lakdawalla & Netrawali, 1988a)。

3.1.8 Rec assay

宿主経路 rec assay²⁾ (Kada *et al.*, 1972)、および *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1537 を用いたマウスによる宿主経路試験において、本色素は不活性であった²⁾ (Tarján & Kurti, 1982)。

3.2 その他

3.2.1 マウス リンパ腫試験

マウスリンパ腫 L5178Y TK⁺/-前進変異試験において、本色素は変異原性を示さず²⁾ (Cifone & Myhr, 1984)、*in vitro* あるいは *in vivo* でラット胚細胞に細胞形質転換を誘発しない²⁾ (Price *et al.*, 1978) ことが確認された。

3.2.2 マウス リンパ腫試験

L5178Y TK⁺/-細胞によるマウスリンパ腫試験では、S9 添加および無添加いずれの場合も、本色素は陽性であると報告された。高度毒性を示す濃度で認められる反応は、陽性対照である ethylmethanesulfonate の反応と同様であった¹⁾ (Cameron *et al.*, 1987)。このような結果は Lin & Brusick による結果と対照的である¹⁾ (Lin & Brusick, 1986)。

3.2.3 マウス小核試験

本色素はマウス小核試験²⁾ (Tarján & Kurti, 1982、Ivett & Myhr, 1984) で不活性であった。ハムスター細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験では作用が認められたが、これは、そのような結果が認められたときの高濃度の本色素 (5 mg/L) の浸透作用が原因であった可能性がある²⁾ (Ishidate *et al.*, 1984)。

3.2.4 マウス小核試験

早期に発表されたマウスにおける小核試験を再評価した¹⁾ (Lin & Brusick, 1986) ところ、陽性反応は、低用量で認められているが (本色素 24 mg/kg 体重の腹腔内投与)、高用量では認められなかった (80 および 240 mg/kg 体重)¹⁾ (Brusick, 1989)。

3.2.5 マウス小核試験

B6C3F1 マウスに、本色素 0、50、100、200 mg/kg を 24 時間ごとに繰り返し腹腔内投与して、末梢リンパ球の姉妹染色分体交換、及び骨髄多染性赤血球と末梢血網状球の小核を測定したところ、対照との差異を認めなかった。この結果は、本色素による発がんの機序が非遺伝毒性であるとの仮説が支持された⁴⁾ (Zijno *et al.*, 1994)。

3.2.6 DNA 修復試験、ほうこう試験、プレート試験等

DNA 修復試験、ほうこう試験 (fluctuation)、およびプレート試験²⁾ (Haveland-Smith *et al.*, 1981) および酵母 B234 株²⁾ (Sankaranarayanan & Murthy, 1979) および D5 株²⁾ (Jaganath & Myhr, 1984b, Matula & Downie, 1984) を用いた有糸分裂遺伝子転換試験において、本色素は活性を示さなかった。酵母 D7 株を用いた有糸分裂遺伝子転換試験²⁾ (Matula & Downie, 1984) および酵母 XV185-14C を用いた復帰変異原性試験で報告された陽性結果については疑問がある²⁾ (Brusick, 1984)。

3.2.7 ラット DNA 修復試験

in vitro において、最高 1 mM の本色素を添加してもラット肝細胞の DNA 修復は誘発されず、*in vivo* でも、本色素 200 mg/kg 体重を経口投与したが、DNA 修復は誘発されなかった¹⁾ (Kronbrust & Barfknecht, 1985)。

3.2.8 修復試験

報告によると、蛍光灯下でインキュベートしたところ、本色素は除去修復能を有する *Bacillus subtilis* 168 株の孢子形成多重遺伝子マイナス変異の発生を増加させた。この作用は除去修復欠損株 her-9 (exc) 株には認められなかった。本色素は両株に高度毒性を示した¹⁾ (Lakdawalla & Netrawali, 1988b)。

3.2.9 チャイニーズハムスター小核試験

V79 チャイニーズハムスターの肺細胞を用いて本色素の遺伝毒性を試験した。200 µg/mL でコロニーの縮小が認められ、400 µg/mL では 90% 以上の細胞致死が認められた。本色素は V79 細胞の HGPRT および Na⁺、K⁺、ATP アーゼ遺伝子座に対して変異原性を示さず、ラット肝細胞による活性の有無にかかわらず、姉妹染色分体変換の発生頻度を上昇させなかった。300 µg/mL において本色素は肝細胞無添加の状態以小核発生頻度を上昇させた。前期有糸分裂数の増加に起因する有糸分裂頻度の用量依存的な増加が認められた。このように、細胞毒性が十分認められる濃度においてのみ、遺伝毒性の増加が認められた^{1,4)} (Rogers *et al.*, 1988)。

4 癌原性

4.1 マウス

4.1.1 マウス 癌原性試験

マウスについて長期混餌投与試験が行われた。マウス 70 匹に本色素を 1% または 2% で混餌投与した。試験期間に生き残ったマウスの数はわずかであり、確認された腫瘍数もわずかであったため、腫瘍形成への作用は、本色素に起因しないと考えられた^{2,3)} (U.S. FDA, 1969)。

4.1.2 マウス 78 週間癌原性試験

雌雄 ICR マウスに 2.5、1.25% 検体添加飼料を 78 週間投与した実験で、有意の腫瘍発生を認めず、がん原性はないと判定された⁴⁾ (井坂, 1979)。

4.1.3 マウス 18ヶ月間癌原性試験

体重27~38 gの7週齢のICRマウス2群(雌雄各50匹/群)に対して、本色素を1.25あるいは2.5%で18ヶ月間混餌投与した。最初の20週間には、マウスに本色素含有固形飼料(cube diet)を投与し、その後は本色素を基礎粉末飼料に混合した。さらに6ヶ月間、試験群のすべての動物に本色素を含まない基礎飼料を投与した。その後、動物を屠殺し、剖検した。対照群の構成は雌雄各45匹であった。死亡率は、対照群よりも本色素投与群で高かった(2.5%投与群で約61%、1.25%投与群で59%、対照群で36%が死亡した)。体重増加には本色素摂取による有害な影響はみられなかった。両試験群の動物では、リンパ性白血病の発生率が高く、肺腺腫の散発的な発現が認められた。両病変の発現頻度は、本系統マウスでみられる自然発生率の範囲内であった。こうした結果から、本試験条件下において本色素はICRマウスに対して発がん性を示さないことが示唆された²⁾(Yoshii & Isaka, 1984)。

4.1.4 マウス 700日間癌原性試験

50~100日齢の合計122匹の雌雄マウス(5系統の混合雑種)に、動物1匹につき本色素1 mg/日を混餌投与した。マウス168匹から成る陰性対照群、および α -アミノトルエンおよびジメチルアミノアゾベンゼンを投与した陽性対照群2群も試験に含めた。500日間の観察期間後に多数のマウスを屠殺し、残りのマウスを700日後に屠殺した。陽性対照群の動物には約200日後に肝腫瘍形成が認められた。本色素投与群における腫瘍発生率は、陰性対照と比較して有意に高くはなかった²⁻⁴⁾(Waterman & Lignac, 1958)。

4.1.5 マウス 24ヶ月間癌原性試験

CD1マウスに本色素0、0.3、1.0及び3.0%含有飼料を長期間摂取させる慢性毒性/発がん性試験を実施した。各群雌、雄、60匹を用い、最大24ヶ月まで投与した。生存率、血液学的所見及び一般外見所見に対する、本色素投与の影響は観察されなかった。また、発がん率に対する対照群との有意差も認められなかった。本試験における無影響量は、雄で3.0%(4,759mg/kg/日)、雌で1.0%(1,834mg/kg/日)であった^{1,4)}(Borzelleca *et al.*, 1987)。

4.2 ラット

4.2.1 ラット 癌原性試験

ラットに本色素0.8%水溶液を1ml ずつ1週間に2回の割合で皮下注射したが局所に肉腫を形成する傾向は認められなかった²⁻⁴⁾(Grasso *et al.*, 1966)。

4.2.2 ラット 300日間癌原性試験

20匹のラットに5%液の1mlを週1回注射したところ、300日以上生存したのは7匹であったが、腫瘍発生は認められなかった²⁻⁴⁾(Umeda, 1956)。

4.2.3 ラット 78週間癌原性試験

雌雄F344ラットに、2.5、1.25%検体添加飼料を78週間投与した実験で、有意の腫瘍発生を認めず、がん原性はないと判定された⁴⁾(福西, 1979)。

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18ヶ月まで混餌投与した。腺胃および小腸に肉

眼で着色が認められ、粒状の沈着物が胃、小腸、結腸に認められた。肝硬変が12ヶ月間生存していたラット4例のうち1例で認められた。20ヶ月以上観察した対照ラット50匹には腫瘍または肝硬変の発現は認められなかった^{2,3)} (Willheim & Ivy, 1953)。

4.2.5 ラット 82 週間癌原性試験

ラットに本品を82週間、週2回100、235、750及び1,500mg/kgを経口投与し、また一方84週間、0.5、1.0、2.0及び4.0%含む飼料で投与した。更にこれらの動物は普通飼料で2年目まで飼育した。成長の抑制が2.0及び4.0%群で見られ、4.0%群では下痢も認められた。赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数などの血液学的検査では変化が見られなかった。タンパク結合ヨウ素(PBI)値の増加が見られたが、本色素の投与を中断すれば16週後には正常に帰する。これは甲状腺の機能障害とするよりも、むしろPBIの測定時の本色素による干渉と思われる。剖検並びに病理組織学的検査で本色素によると思われる異常は認められなかった²⁻⁴⁾ (Hansen *et al.*, 1973)。

4.2.6 ラット 85 週間癌原性試験

ラット20匹に5%本色素水溶液を596日間(85週間)にわたり毎週1mL皮下(s.c.)注射した。投与した本色素の総量は動物1匹当たり2.65gであった。ラット7匹が300日以上生存した。腫瘍は認められなかった²⁻⁴⁾ (Umeda, 1956)。

4.2.7 ラット 97~99 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、注射局所及び他の部位に腫瘍発生を認められなかった^{3,4)} (Nelson, 1953)。

4.2.8 ラット 2 年間癌原性試験

離乳ラット24匹(雌雄各12匹)から成る群に、本色素を0、0.5、1.0、2.0、5.0%で2年間混餌投与した。5%投与群でわずかな成長抑制が認められた。0.5%以上の本色素を投与した動物では、盲腸腫脹が認められたが、病理組織学的検査では腫脹した盲腸は組織学的に正常であった。ラットにおける試験の統計学的評価では、最高用量において臓器重量に有意な変化は認められなかった。5%投与群で数例の下痢が認められた。試験群の生存に差は認められなかった^{2,3)} (FDA, 1969)。

4.2.9 ラット 2 年間癌原性試験

ラット18匹に対して、2年間にわたり1匹当たり本色素12mg含有の水溶液を週1回皮下注射した。注射部位あるいは身体の他の部位で腫瘍は認められなかった²⁻⁴⁾ (Hansen *et al.*, 1973b)。

4.3 イヌ

4.3.1 イヌ 2 年間癌原性試験

ビーグル犬に本色素の0.5、1.0、2.0%添加飼料を2年間投与したが、剖検並びに病理組織学的検査で本色素による影響は認められなかった²⁻⁴⁾ (Hansen *et al.*, 1973)。

5 生殖発生毒性

5.1 ラット

5.1.1 ラット 生殖試験

バイオテスト研究所の報告によれば、1群雌20匹、雄10匹のラットに1.25、12.5、37.5及び125.0 mg/kgを摂餌させ3世代にわたる生殖試験を行った。受精率、同腹産仔数、生育力及び出生後の発達には異常を認めなかった。また1群15ないし19匹の妊娠ラットに25、85及び120 mg/kgを妊娠6日目より15日目まで傾向投与し20日目に屠殺した。母獣の体重、死亡率及び一般症状に変化は見られず、胎仔の死亡率、体重、外形及び内臓、骨格にも影響は見られなかった^{3,4)} (FDA, 1974)。

5.1.2 ラット 生殖試験

Charles River CD ラット(雌雄 23~25 匹/群)から成る4群に、本色素を0、0.25、1.0、または4.0%で連続3世代にわたって混餌投与した。F₀親ラットには各群の食餌を交配前に69日間投与した。試験では、妊娠期間中、全世代の1.0%投与群および4.0%投与群の母動物で、体重増加量平均の軽度(slight)~中等度(moderate)の減少が認められた。授乳0、4、14、21日目に、全世代の4.0%投与群で、出生児平均体重の軽度~中等度の減少が記録された。これらの減少は授乳21日目のみ統計学的に有意であった。いずれの世代においても、雌雄の生殖行動および各用量群の出生児の生存に対して、本色素に関連する一貫した影響は認められなかった²⁾ (Albridge *et al.*, 1981)。

5.1.3 ラット 生殖試験

成熟 Sprague-Dawley ラットの雌雄 18~22 組(体重 200~220 g)から成る群に対して、交配前2週間および交配期間中に本色素を0、0.25、0.5、または1.0%で混餌投与した。雌については混餌を妊娠および授乳期間中も続け、出生児には生後90~100日に達するまで混餌を続けた。陽性対照群のラットには本色素を混餌投与せず、出生児に対して生後2~10日にヒドロキシウレア 50 mg/kgを連日注射した。2年後、1回目の試験と同じ用量群および各群同じ動物数で2回目の試験を行った。両試験において、体重および摂餌量、生殖に成功した雌について親動物を評価した。また、行動毒性と体重、摂餌量、身体的発育、および脳重量について、出生児を評価した。

本色素投与によって、親動物および出生児の体重および摂餌量に減少はみられなかった。1回目の試験において、本色素投与によって、0.5%投与群と1.0%投与群の離乳前出生児の死亡率が有意に増加したが、2回目の試験でそのような増加はみられなかった。いずれの試験においても、平均同腹児数に、本色素による悪影響はみられなかった。挙動的に、本色素は用量依存的な影響を示さず、それは2試験を通して同様であった。本試験から、本色素の最高1.0%の混餌投与は発育ラットに対して精神毒性を示すという証拠は得られなかったと結論された。²⁾ (Vorhees *et al.*, 1983)。

5.1.4 ラット 生殖試験

ラットを用い本色素を餌に混ぜ、F₀への交配前投与及びF₁への長期投与による慢性毒性/発がん性試験を実施した¹⁾。即ち、交配前の2ヶ月間、雌、雄各60匹のラット(F₀)に本色素を、

それぞれ0、0.1、0.5、1.0及び4.0%含有する餌を摂取させた。上記処理後F₀ラットの交配により得た雌、雄のF₁ラット各群70匹を用いてF₀同様に本色素の投与を、最大30ヶ月間実施した。

F₀ラットにおける受精率、妊娠率、出産率、授乳及び仔の生存率に対する本色素投与による影響は観察されなかった。F₁では、本色素4.0%投与群(3,029mg/kg)の雌で、平均体重が対照群に比して有意(p<0.01)に低かった以外、血液学的所見、尿検査及び生存日数に対し、本色素投与による影響は見られなかった。一方、4.0%投与群(2,464mg/kg/日)の雄では、甲状腺平均重量が、対照群44mgに比して、92mgと増加がみられ、甲状腺小胞肥大、過形成並びに甲状腺小胞腺腫の頻度の有意な増加がみられた。本研究における無影響量は、雄で0.5%(251mg/kg/日)、雌で1.0%(641 mg/kg/日)であった¹⁴⁾ (Borzelleca *et al.*, 1987)。

6 局所刺激性

報告なし

7 その他の毒性

7.1 ラット

7.1.1 ラット 60日間反復投与毒性試験(甲状腺毒性)

雄の Sprague-Dawley ラット 160 匹から成る 3 群に本色素を 0.0、0.25、4.0% で混餌投与 (0.0、147.1、2514.3 mg/kg 体重/日に相当) した。試験前、および試験中には毎週、全試験動物の一般状態観察および体重・摂餌量測定を実施した。投与 0、3、7、10、14、21、30、60 日目に、1 群につき 20 匹までの動物を剖検した。各屠殺時に、腹部大動脈から採血して得られた血清を調製し、ラジオイムノアッセイによってサイトロロピン (TSH)、チロキシン (T₄)、3,5,3'-トリヨードサイロニン (T₃)、3,3',5'-トリヨードサイロニン (rT₃) を測定した。各屠殺時に甲状腺および脳下垂体の重量を測定し、臓器重量/体重比を算出した。甲状腺および脳下垂体についてのみ、肉眼による剖検を実施した。4.0% の本色素を混餌投与したラット 3 匹が試験第 2 週に自然死した。4.0% 本色素混餌投与群のラットの体重は、試験第 1 週に減少した。試験中、その平均体重は対照値に比して有意に低値になった (1 週目に 13%、8 週目に 17%)。4.0% 本色素を混餌投与したラットの摂餌量は 1 週目において対照値に比して有意に少なかったが、2 週目以降は同様になった。この結果はおそらく、最初の 2 週間に起こった味の好みの問題に起因していた。4.0% 本色素混餌投与群の雄の脳下垂体絶対重量は、投与 7、10、14、21、60 日目に於いて対照値に比して統計学的有意に低値になった。その差は、高用量群と対照群の体重差に起因すると判断された。4.0% 本色素混餌投与群ラットの甲状腺/副甲状腺の絶対重量は、対照値に比して総じて低値であったが、その差はわずかであり、群間の体重差に起因すると考えられた。これら臓器の相対重量は 21 日目に (対照値に比して) 有意に高値になった。それ以外において、相対重量はわずかに高値であったが、有意ではなかった。0.25% 本色素混餌投与群ラットの甲状腺/副甲

腺の絶対重量および相対重量は、60日目に对照群に比して有意に低値であったが、それ以外では对照群と同様であった。甲状腺および脳下垂体の肉眼による剖検では、投与に関連する変化は認められなかった¹⁾ (Kelly & Daly, 1988)。

7.1.2 ラット 60日間反復投与毒性試験(甲状腺毒性)

ラットの血清ホルモン濃度測定から、次のことが示された。60日間の試験期間中に、对照ラットの血清 TSH 濃度に変化(わずかな上昇)が認められた。TSH 濃度のベースライン値(0日目)は21、30、60日目の濃度に比して有意に低かった。0.25%群では、14、21、30および60日目の血清 TSH 濃度がベースライン値(0日目)に比して有意に高かった。对照群の TSH 濃度と比較すると、21、30、60日目に有意な上昇が認められた。4.0%群の TSH 濃度は、ベースライン値(0日目)および対応する全測定点の对照濃度よりも有意に高かった。0.25%群と比較すると、4.0%群の血清 TSH 濃度は3、7、10、14日目に有意に高かった。0.25%群の血清 T_4 濃度は10および14日目にベースライン値および对照値よりも高かったが、4.0%群の T_4 濃度は全測定点で高かった。さらに、4.0%群の T_4 濃度は、7、10、21、30、60日目に0.25%群よりも有意に高かった。0.25%群ラットの血清 T_3 濃度は30日目に低かったことを除き、对照値と同様であった。4.0%群ラットの血清 T_3 濃度はベースライン値(0日目)および対応する全測定点で对照値よりも有意に低かった。さらに、血清 T_3 濃度は3、10、14、21、30および60日目において0.25%群ラットの濃度に比して低かった。0.25%群では、血清 rT_3 濃度は7、10、14、21、30、60日目にベースライン値(0日目)よりも高く、10、14、21日目に对照値よりも高かった。全測定点において、4.0%群の血清 rT_3 濃度は、对照群および0.25%群よりも顕著に高かった。

以上の結果は、4%本色素混餌投与は、急速かつ持続的な血清 TSH、 T_4 、 rT_3 濃度の上昇および同程度の血清 T_3 濃度の低下をきたし、またこのような変化は0.25%の混餌投与でも発生するが、変化量は少ないことを示している。このような結果は、 T_4 および rT_3 の5'位脱ヨウ素化を本色素が阻害した結果であり、これにより、 T_4 からの T_3 生成および rT_3 の脱ヨウ素化が低下する¹⁾ (Braverman & DeVito, 1988)。

7.1.3 ラット 60日間反復投与毒性試験(甲状腺毒性)

雄の Sprague-Dawley ラット 80匹から成る3群に本色素を0.0、0.03、0.06、4.0% (0.0、17.5、35.8、2671.7 mg/kg 体重/日に相当)で最高60日間混餌投与した。对照群(雄100匹)には標準的な試験動物用飼料を投与した。試験前、および試験中には毎週、全試験動物の一般状態観察および体重・摂餌量測定を実施した。ベースラインデータを測定するにあたり、对照ラット20匹を TSH、 T_4 、 T_3 、 rT_3 のラジオイムノアッセイ用に放血させ、試験0日目の投与開始前に屠殺した。追加の剖検実施は不定期であったため、7、21、30、60日目の各時期に各群20匹のラットを放血死させ、ラジオイムノアッセイ試料を得た。脳、脳下垂体、甲状腺の重量を測定し、全動物の臓器/体重比および臓器/脳重量比を算出した。全動物の甲状腺、脳下垂体、および脳について、肉眼による剖検を実施した。4%本色素混餌投与群では、試験1週間目には、おそらく食餌の嗜好に起因すると考えられる大幅な体重減少