

表 3-2 雄の血液学的検査値(ジャマイカカシミア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	20		20		20		20	
No. of animals								
RBC	10 ⁶ /μl	10.07 ± 0.37	10.04 ± 0.47	10.00 ± 0.99	10.22 ± 0.24	9.94 ± 0.35		
Hb	g/dl	16.1 ± 0.7	16.0 ± 0.8	16.1 ± 1.0	16.2 ± 0.4	15.4 ± 0.4 *		
Ht	%	53.1 ± 2.0	52.9 ± 2.3	53.1 ± 3.6	53.6 ± 1.4	51.5 ± 1.6 *		
MCV	fl	52.7 ± 0.5	52.7 ± 0.5	53.3 ± 2.5	52.4 ± 0.6	51.8 ± 0.4 **		
MCH	pg	16.0 ± 0.4	16.0 ± 0.4	16.2 ± 0.9	15.9 ± 0.4	15.6 ± 0.3 **		
MCHC	g/dl	30.3 ± 0.6	30.3 ± 0.6	30.3 ± 0.7	30.2 ± 0.5	30.1 ± 0.6		
Plt	10 ⁶ /μl	0.53 ± 0.10	0.57 ± 0.08	0.56 ± 0.07	0.53 ± 0.10	0.55 ± 1.20		
WBC	10 ³ /μl	6.81 ± 0.55	6.95 ± 0.81	7.01 ± 1.16	7.75 ± 1.02 *	7.33 ± 0.81		
Differential counts (%)								
Baso.		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Eosino.		2.1 ± 1.7	1.6 ± 1.0	1.7 ± 0.8	1.7 ± 0.9	2.1 ± 1.1		
Neut-B		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Neut-S		34.1 ± 6.1	37.0 ± 4.4	35.7 ± 5.9	38.8 ± 4.6	35.5 ± 4.7		
Lympho.		62.4 ± 6.3	60.3 ± 4.9	61.7 ± 5.9	58.1 ± 4.5	60.6 ± 4.9		
Mono.		1.4 ± 1.0	1.1 ± 0.8	0.9 ± 0.7	1.4 ± 0.8	1.8 ± 1.0		

Each value represents mean ± SD.

Significantly different from the control : * P<0.05, ** P<0.01.

RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, Plt: platelet count, WBC: white blood cell count, Baso: basophil, Eosino: eosinophil, Neut-B: band neutrophil, Neut-S: segmented neutrophil, Lympho: lymphocyte, Mono: monocyte.

表3-3 雌の血液学的検査値(ジャマイカカシミア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		5 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	20		20		20		20		18	
No. of animals										
RBC	10 ⁶ /μl		9.01 ± 1.29		9.50 ± 1.94		9.01 ± 0.54		8.70 ± 0.94	
Hb	g/dl		16.0 ± 2.3		16.7 ± 3.5		15.9 ± 1.0		14.7 ± 1.6 **	
Ht	%		51.5 ± 7.4		53.8 ± 10.9		51.3 ± 3.1		47.8 ± 4.9 *	
MCV	fl		57.1 ± 0.5		56.7 ± 0.4		56.9 ± 0.6		54.9 ± 0.6 **	
MCH	pg		17.7 ± 0.3		17.6 ± 0.4		17.7 ± 0.4		16.9 ± 0.3 **	
MCHC	g/dl		31.0 ± 0.5		31.1 ± 0.7		31.1 ± 0.6		30.8 ± 0.5	
Plt	10 ⁶ /μl		0.44 ± 0.10		0.46 ± 0.17		0.46 ± 0.11		0.48 ± 0.13	
WBC	10 ³ /μl		4.41 ± 1.56		4.76 ± 1.38		4.93 ± 1.71		5.18 ± 1.72	
Differential counts (%)										
Baso.			0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	
Eosino.			1.3 ± 0.6		1.4 ± 1.1		1.4 ± 0.9		1.1 ± 0.9	
Neut-B			0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0	
Neut-S			28.9 ± 5.9		27.1 ± 6.5		26.6 ± 7.4		27.1 ± 5.9	
Lympho.			68.2 ± 6.7		70.5 ± 6.9		71.0 ± 7.7		71.2 ± 5.6	
Mono.			1.3 ± 1.1		1.1 ± 0.8		1.0 ± 0.8		0.6 ± 0.4	

Each value represents mean ± SD.

Significantly different from the control : * P<0.05. ** P<0.01.

RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, Plt: platelet count, WBC: white blood cell count, Baso: basophil, Eosino: eosinophil, Neut-B: band neutrophil, Neut-S: segmented neutrophil, Lympho: lymphocyte, Mono: monocyte.

表3-4 雄の血液生化学的検査値(ジャマイカカシミア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		5 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals	
TP		7.0 ± 0.2		7.0 ± 0.2		7.1 ± 0.2		7.2 ± 0.2		7.5 ± 0.2
Alb	g/dl	4.4 ± 0.1		4.4 ± 0.1		4.4 ± 0.1		4.5 ± 0.1		4.7 ± 0.2
A/G	g/dl	1.7 ± 0.1		1.7 ± 0.1		1.7 ± 0.1		1.6 ± 0.1		1.7 ± 0.1
BUN	mg/dl	16.6 ± 1.3		16.9 ± 1.3		16.3 ± 1.3		16.9 ± 1.3		17.2 ± 1.3
CRN	mg/dl	0.36 ± 0.07		0.35 ± 0.05		0.36 ± 0.07		0.36 ± 0.06		0.34 ± 0.04
UA	mg/dl	0.43 ± 0.12		0.41 ± 0.12		0.44 ± 0.17		0.43 ± 0.12		0.40 ± 0.13
Glc	mg/dl	135 ± 7		138 ± 7		142 ± 15		137 ± 8		142 ± 12
NEFA	mEq/l	0.51 ± 0.06		0.53 ± 0.08		0.51 ± 0.09		0.50 ± 0.08		0.48 ± 0.08
PL	mg/dl	183 ± 19		188 ± 19		192 ± 23		197 ± 29		178 ± 17
TG	mg/dl	155 ± 24		176 ± 38		191 ± 48 *		184 ± 55		187 ± 37 *
T-Cho	mg/dl	124 ± 11		124 ± 10		127 ± 12		132 ± 18		115 ± 11
T-Bil	mg/dl	0.08 ± 0.03		0.08 ± 0.02		0.08 ± 0.03		0.08 ± 0.03		0.05 ± 0.02
AIP	mu/ml	516 ± 99		511 ± 79		505 ± 100		511 ± 115		371 ± 61
AIT	mu/ml	95 ± 20		99 ± 25		104 ± 29		94 ± 22		69 ± 11
AsT	mu/ml	96 ± 16		100 ± 18		108 ± 20		97 ± 19		67 ± 9
ChE	mu/ml	881 ± 76		889 ± 75		882 ± 69		887 ± 82		743 ± 91
γ-GTP	mu/ml	6.26 ± 4.69		5.98 ± 3.40		6.19 ± 3.75		7.19 ± 4.69		4.65 ± 2.80
LAP	mu/ml	54 ± 5		54 ± 3		54 ± 4		54 ± 4		52 ± 3
LDH	mu/ml	453 ± 338		382 ± 244		586 ± 568		524 ± 424		387 ± 211
Ca	mg/dl	10.6 ± 0.2		10.5 ± 0.2		10.7 ± 0.5		10.6 ± 0.2		10.7 ± 0.2
P	mg/dl	4.5 ± 0.4		4.4 ± 0.6		4.3 ± 0.4		4.3 ± 0.4		4.7 ± 0.5
Na	mEq/l	142 ± 2		143 ± 2		143 ± 3		142 ± 2		143 ± 2
K	mEq/l	4.2 ± 0.3		4.3 ± 0.3		4.3 ± 0.3		4.3 ± 0.4		4.3 ± 0.3
Cl	mEq/l	101 ± 2		102 ± 2		102 ± 3		101 ± 2		101 ± 2

Each value represents mean ± SD.

Significantly different from the control : * P<0.05, ** P<0.01.

TP: total protein, Alb: albumin, A/G: albumin-globulin ratio, BUN: blood urea nitrogen, CRN: creatinine, UA: uric acid, Glc: glucose.

NEFA: non-esterified fatty acid, PL: phospholipid, TG: triglyceride, T-Cho: total cholesterol, T-Bil: total bilirubin, AIP: alkaline phosphatase.

AIT: alanine aminotransferase, AsT: aspartate aminotransferase, ChE: cholinesterase, γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase.

LAP: leucine aminopeptidase, LDH: lactate dehydrogenase, Ca: calcium, P: inorganic phosphorus, Na: sodium, K: potassium, Cl: chloride.

表 3-5 雌の血液生化学的検査値(ジャマイカカシミア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	20		20		20		18	
No. of Animals								
TP	g/dl	7.4 ± 0.3	7.2 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.3	8.0 ± 0.3 **		
Alb	g/dl	4.9 ± 0.2	4.8 ± 0.3	4.9 ± 0.3	4.9 ± 0.2	5.2 ± 0.2 **		
A/G		2.0 ± 0.2	19.4 ± 0.2	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1		
BUN	mg/dl	16.6 ± 2.3	16.9 ± 1.9	16.7 ± 1.8	17.0 ± 1.9	17.6 ± 3.0		
CRN	mg/dl	0.35 ± 0.08	0.37 ± 0.09	0.37 ± 0.07	0.35 ± 0.05	0.33 ± 0.08		
UA	mg/dl	0.48 ± 0.13	0.48 ± 0.16	0.58 ± 0.34	0.50 ± 0.16	0.57 ± 0.23		
Glc	mg/dl	116 ± 9	122 ± 13	121 ± 15	121 ± 8	129 ± 19 **		
NEFA	mEq/l	0.73 ± 0.11	0.69 ± 0.11	0.75 ± 0.14	0.69 ± 0.10	0.64 ± 0.09		
PL	mg/dl	236 ± 25	263 ± 43	262 ± 26	263 ± 27	289 ± 25 *		
TG	mg/dl	193 ± 71	211 ± 94	213 ± 77	220 ± 58	157 ± 63		
T-Chol	mg/dl	143 ± 17	144 ± 21	142 ± 14	145 ± 18	176 ± 10 **		
T-Bil	mg/dl	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.05	0.04 ± 0.03 **		
AIP	mu/ml	229 ± 79	236 ± 124	198 ± 29	195 ± 34	150 ± 23 **		
AIT	mu/ml	43 ± 10	44 ± 12	44 ± 7	46 ± 13	40 ± 5		
AsT	mu/ml	70 ± 10	76 ± 25	74 ± 11	94 ± 81	64 ± 9		
ChE	mu/ml	3343 ± 134	3376 ± 342	3452 ± 148	3528 ± 263 **	3207 ± 207		
γ-GTP	mu/ml	3.02 ± 3.60	3.49 ± 4.56	1.56 ± 1.76	2.24 ± 2.41	6.02 ± 3.79 *		
LAP	mu/ml	46 ± 4	47 ± 4	46 ± 4	44 ± 4	46 ± 8		
LDH	mu/ml	466 ± 193	457 ± 341	506 ± 285	451 ± 302	526 ± 350		
Ca	mg/dl	10.6 ± 0.2	10.4 ± 0.2	10.5 ± 0.3	10.5 ± 0.3	10.8 ± 0.3		
P	mg/dl	3.6 ± 0.7	3.5 ± 0.7	3.6 ± 0.7	3.4 ± 0.6	3.6 ± 0.5		
Na	mEq/l	143 ± 1	143 ± 1	143 ± 1	144 ± 2	146 ± 1		
K	mEq/l	4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.3		
Cl	mEq/l	102 ± 2	102 ± 2	102 ± 2	102 ± 2	101 ± 2		

Each value represents mean ± SD.

Significantly different from the control : * P<0.05, ** P<0.01.

TP: total protein, Alb: albumin, A/G: albumin-globulin ratio, BUN: blood urea nitrogen, CRN: creatinine, UA: uric acid, Glc: glucose, NEFA: non-esterified fatty acid, PL: phospholipid, TG: triglyceride, T-Chol: total cholesterol, T-Bil: total bilirubin, AIP: alkaline phosphatase, AIT: alanine aminotransferase, AsT: aspartate aminotransferase, ChE: cholinesterase, γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase, LAP: leucine aminopeptidase, LDH: lactate dehydrogenase, Ca: calcium, P: inorganic phosphorus, Na: sodium, K: potassium, Cl: chloride.

表 3-6 雌雄の尿検査値(ジャマイカカシア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	No.	pH					Protein ¹⁾			Ketone body ²⁾			Glucose ³⁾			Occult blood			Billrubin			Urobilinogen ⁴⁾		
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	-	+	++	+++	-	+	++	-	+	++	+	++	+++	-	+	++	0.1	2
Male																								
0 ppm	20	1	11	7	1	1	4	15	1	5	14	1	20	19	0	1	0	0	0	20	20			
5 ppm	20	1	6	9	4	4	4	14	2	5	14	1	20	20	0	0	0	0	0	20	20			
50 ppm	20	2	7	5	5	3	15	2	4	12	4	20	20	0	0	0	1	1	20	20				
500 ppm	20	2	6	7	5	2	14	4	3	13	4	20	18	0	0	1	1	1	20	20				
5000 ppm	20	0	7	8	5	1	5	12	3	15	2	20	19	1	0	0	0	0	20	20				
Female																								
0 ppm	20	7	9	3	1	0	2	15	3	0	16	4	20	19	1	1	0	0	20	20				
5 ppm	20	3	14	2	0	1	0	16	4	0	14	6	20	20	0	0	0	0	20	20				
50 ppm	20	2	13	4	1	0	2	14	4	0	15	5	20	20	0	0	0	0	20	20				
500 ppm	20	4	13	1	0	2	0	12	8	0	13	7	20	20	0	0	0	0	20	20				
5000 ppm	19	3	9	6	1	0	0	2	13	4	14	5	19	19	0	0	0	0	19	19				

1) - : 陰性, +- : ±, + : 30 mg/dL, ++ : 100 mg/dL, +++ : 300 mg/dL

2) - : 陰性, +- : 5 mg/dL, + : 15 mg/dL

3) - : 陰性, + : 100 mg/dL

4) Ehrlich unit /dL

表 3-7 雄の臓器重量(ジヤマイカカシシア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		5 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals	
Body weight (g)	20	433.1 ± 21.2	20	432.0 ± 16.8	20	435.6 ± 26.0	20	439.3 ± 21.7	20	436.1 ± 22.4
Brain (g)		2.05 ± 0.04		2.05 ± 0.05		2.03 ± 0.06		2.03 ± 0.08		2.02 ± 0.06
(g/100g bw)		0.47 ± 0.03		0.47 ± 0.02		0.47 ± 0.02		0.46 ± 0.03		0.47 ± 0.02
Heart (g)		1.13 ± 0.07		1.14 ± 0.07		1.15 ± 0.04		1.15 ± 0.05		1.17 ± 0.08
(g/100g bw)		0.26 ± 0.02		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01		0.27 ± 0.01
Lung (g)		1.13 ± 0.05		1.13 ± 0.05		1.14 ± 0.05		1.15 ± 0.05		1.15 ± 0.05
(g/100g bw)		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01		0.26 ± 0.01
Liver (g)		10.46 ± 0.85		10.46 ± 0.79		10.65 ± 1.24		11.29 ± 1.31 *		12.88 ± 0.94 **
(g/100g bw)		2.42 ± 0.16		2.42 ± 0.14		2.44 ± 0.19		2.57 ± 0.24 *		2.95 ± 0.14 **
Kidney (g)		2.16 ± 0.11		2.16 ± 0.12		2.14 ± 0.14		2.22 ± 0.13		2.32 ± 0.14 **
(g/100g bw)		0.50 ± 0.02		0.50 ± 0.02		0.49 ± 0.02		0.51 ± 0.03		0.53 ± 0.02 **
Spleen (g)		0.74 ± 0.06		0.73 ± 0.04		0.74 ± 0.04		0.76 ± 0.06		0.76 ± 0.06
(g/100g bw)		0.17 ± 0.01		0.17 ± 0.01		0.17 ± 0.01		0.17 ± 0.01		0.17 ± 0.01
Testis (g)		3.37 ± 0.10		3.32 ± 0.18		3.29 ± 0.29		3.38 ± 0.25		3.33 ± 0.45
(g/100g bw)		0.78 ± 0.04		0.77 ± 0.04		0.76 ± 0.07		0.77 ± 0.06		0.76 ± 0.11
Adrenal (mg)		33.6 ± 3.0		34.1 ± 3.0		34.7 ± 3.0		35.5 ± 3.0		38.8 ± 4.1 **
(mg/100g bw)		7.8 ± 0.7		7.9 ± 0.7		8.0 ± 0.9		8.1 ± 0.6		8.9 ± 0.9 **
Pituitary (mg)		8.7 ± 2.2		9.6 ± 1.0		9.5 ± 0.6		9.5 ± 0.9		9.5 ± 1.1
(mg/100g bw)		2.0 ± 0.5		2.2 ± 0.3		2.2 ± 0.2		2.2 ± 0.2		2.2 ± 0.3
Thyroid (mg)		19.1 ± 2.2		20.9 ± 2.1		20.4 ± 1.9		21.1 ± 2.0		24.6 ± 1.9 **
(mg/100g bw)		4.4 ± 0.5		4.8 ± 0.5		4.7 ± 0.4		4.8 ± 0.5		5.7 ± 0.5 **

Each value represents mean ± SD.

Significantly different from the control : * P<0.05. ** P<0.01.

表3-8 雌の臓器重量(ジヤマイカカシア抽出物のラットによる1年間反復投与毒性試験)

Group	0 ppm		5 ppm		50 ppm		500 ppm		5000 ppm	
	No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals		No. of Animals	
Body weight (g)	20	228.7 ± 19.2	20	227.7 ± 12.5	20	223.4 ± 14.6	20	230.5 ± 13.4	18	222.9 ± 11.4
Brain (g)		1.87 ± 0.05		1.87 ± 0.04		1.86 ± 0.03		1.86 ± 0.06		1.86 ± 0.04
(g/100g bw)		0.82 ± 0.07		0.82 ± 0.05		0.84 ± 0.06		0.81 ± 0.04		0.83 ± 0.05
Heart (g)		0.73 ± 0.05		0.71 ± 0.04		0.72 ± 0.04		0.74 ± 0.04		0.77 ± 0.05 *
(g/100g bw)		0.32 ± 0.02		0.31 ± 0.02		0.32 ± 0.02		0.32 ± 0.02		0.35 ± 0.02 **
Lung (g)		0.80 ± 0.03		0.77 ± 0.08		0.78 ± 0.03		0.84 ± 0.18		0.82 ± 0.04
(g/100g bw)		0.35 ± 0.03		0.34 ± 0.03		0.35 ± 0.02		0.36 ± 0.07		0.37 ± 0.02 *
Liver (g)		5.23 ± 0.64		5.14 ± 0.58		5.05 ± 0.44		5.55 ± 0.96		7.54 ± 0.75 **
(g/100g bw)		2.29 ± 0.20		2.25 ± 0.21		2.26 ± 0.17		2.41 ± 0.40		3.38 ± 0.23 **
Kidney (g)		1.33 ± 0.11		1.35 ± 0.08		1.32 ± 0.07		1.35 ± 0.07		1.45 ± 0.09 **
(g/100g bw)		0.58 ± 0.04		0.59 ± 0.03		0.59 ± 0.04		0.59 ± 0.02		0.65 ± 0.03 **
Spleen (g)		0.45 ± 0.03		0.46 ± 0.06		0.45 ± 0.03		0.61 ± 0.60		0.49 ± 0.06
(g/100g bw)		0.20 ± 0.02		0.20 ± 0.02		0.20 ± 0.01		0.26 ± 0.25		0.22 ± 0.02 *
Ovary (mg)		48.0 ± 8.0		53.0 ± 27.0		54.0 ± 30.0		47.0 ± 10.0		52.0 ± 5.0
(mg/100g bw)		21.0 ± 3.0		23.0 ± 12.0		24.0 ± 13.0		21.0 ± 4.0		23.0 ± 2.0
Adrenal (mg)		41.0 ± 4.0		41.0 ± 4.0		41.0 ± 4.0		44.0 ± 4.0		49.0 ± 5.0 **
(mg/100g bw)		18.0 ± 1.5		17.8 ± 1.5		18.5 ± 1.8		19.2 ± 1.9		21.9 ± 1.8 **
Pituitary (mg)		15.1 ± 2.3		13.9 ± 2.3		14.3 ± 2.4		14.2 ± 2.0		14.6 ± 1.8
(mg/100g bw)		6.7 ± 1.1		6.1 ± 0.9		6.4 ± 1.0		6.1 ± 0.8		6.6 ± 0.8
Thyroid (mg)		14.8 ± 2.5		14.6 ± 1.6		14.1 ± 2.2		14.9 ± 1.8		17.2 ± 1.6 *
(mg/100g bw)		6.5 ± 1.9		6.4 ± 0.8		6.3 ± 0.8		6.4 ± 0.7		7.7 ± 0.9 **

Each value represents mean ±SD.

Significantly different from the control : * P<0.05. ** P<0.01.

既存添加物の発がん性等に関する研究

-ホコッシ抽出物のラットによる1年間反復投与毒性/発がん性併用試験-

主任研究者 神谷研二 広島大学原爆放射線医科学研究所 教授

研究協力者 榎本尚樹 同 大学院生
水野久美子 同 技能補佐員

研究要旨

オランダピユ（マメ科）の種からエタノール抽出して得られた食品添加物ホコッシ抽出物を長期反復摂取した場合の慢性毒性、及び発がん性を検索する目的で、Wistar Hannover系ラットを用いて1年間反復投与毒性/発がん性併用試験を実施した。その結果、雄ラットで1%以上、雌ラットでは0.2%以上のホコッシ抽出物の投与で体重の増加抑制が認められ、雌雄ラットの1%以上で摂餌量の低下が認められた。一方、血液・生化学検査や病理学的検査では、ホコッシ抽出物に起因すると考えられる毒性所見は認められなかった。F344ラットを用いた90日間反復投与毒性試験では病理検査で精巣と卵巣への毒性が認められたがWistar Hannover系ラットでは、異常所見を認めなかった。以上より1年間反復投与毒性試験におけるホコッシ抽出物の無毒性量は、雄ラット0.2%、雌ラット0.04%であると考えられた。また、発がん性試験の研究経過は順調である。

A. 研究目的

ホコッシ抽出物は、マメ科の植物オランダピユ (*Psoralea corylifolia* L.) の成熟果実であるホコッシをエタノール抽出した天然素材由来の食品添加物であり、その成分はエタノール60%、水分20%、エタノールおよび水分を除いた乾熱残分が20%である。主成分の一つであるバクチオールはこの乾熱残分に含まれており、ホコッシ抽出物に6.5%含まれている。バクチオールは強い抗菌作用を有し、その用途として唐揚げ等の食品の日持ち向上剤として使用されている。ホコッシには、冠動脈拡張、抗菌、抗がん作用などに活性があることが知られ、白斑、疥癬の局所治療薬等として用いられる。現在までに、マウス単回経口投与による急性毒性試験におけるホコッシ抽出物におけるLD₅₀値は雄ラットで6113mg/kg、雌ラットで5300 mg/kgである。Salmonella及びEsherichia coliに対する変異原性は陰性、マウス小核試験は陰性であるが、染色体異常試験は陽性であることが確認され

ている。一方、90日反復投与毒性試験では、体重増加抑制や γ -GTPの有意な増加が認められ、病理学的解析では精巣におけるライディッヒ細胞の萎縮と精細管内伸長精子細胞の消失並びに円形精子細胞の減少、雌ラットでは卵巣の黄体形成不全が観察され、明らかな毒性変化が認められている。本研究では、ホコッシ抽出物の長期間投与の影響に関する安全性評価を行う事を目的としてWistar Hannover (GALAS)系ラットを用いた1年間反復投与毒性/発がん性併用試験を実施する。

B. 研究方法

1. 被験物質：

ホコッシ抽出物はヒガシマル醤油株式会社より提供されたホコッシエタノールエキスを用いた。基礎飼料 (CRF-1 粉末飼料：オリエンタル酵母工業 (株)) にホコッシエタノールエキスを混入し目的の濃度の混餌飼料を作成した。

2. ラットおよび飼育条件

Wistar Hannover (GALAS)系ラットを日本クレア (株) より購入し、基礎飼料 (CRF-1 粉末飼料) と水道水で1週間馴化飼育後、健康な雌雄ラットを実験に用いた。

飼育は温度 21.0~25.0°C、湿度 40~70%、換気回数 10~25 回/時間、蛍光照明 12 時間に制御された動物室で、ポリカーボネート製ケージ (床敷使用) に2~3 匹ずつ収容して行った。

3. 予備試験

ラット 90 日反復投与毒性試験では、F344 ラットを用いて試験が行われ、精巣と卵巣への毒性が有ることが確認された。従って、1年間反復投与毒性/発がん性併用試験では、ホコッシ抽出物の精巣と卵巣への影響を検討する必要がある。しかし、F344 雄ラットには、自然発生の精巣間細胞腫が非常に高頻度に発生するため、この目的に適したラット系統を用いる必要がある。そのため今回の実験では Wistar Hannover (GALAS)系ラットを用いて試験を行うが、ホコッシ抽出物の投与量に関する資料は、F344 ラット以外には存在しない。従って、Wistar Hannover (GALAS)系ラットに16週間の混餌試験を別途実施し適切な投与量を決定する必要がある。予備試験に於ける投与量は、先に実施されたラット 90 日反復投与毒性試験 (食品添加物規格基準設定試験 食品添加物安全性再評価試験 ホコッシ抽出物の 90 日反復投与毒性試験 平成 10 年度最終報告書 平成 12 年 5 月 30 日) の資料を基に決定した。ホコッシ抽出物を混餌投与した F344 ラットは、雄ラット 0.75%、雌ラット 0.38%以上の混餌飼料で体重増加抑制がみられた。一方、雌雄ラットの 1.5%以上で精巣の組織学的異常が認められ、この変化が慢性投与でどうなるかを検討する必要がある。以上の事から、予備試験としては最高濃度投与量を 1%として、以下公比 5 で減じ 0.2%、0.04%とした。試験方法は、4 週齢の Wistar Hannover (GALAS)系ラットの雌雄ラット各 10 匹を日本クレア株式会社より購入し、7 日間の馴化飼育後、雌雄ラットとも各群 10 匹ずつ 4 群に分け試験を実施した。対照群には、基礎飼料を、被験物質投与群には前述の各濃度のホコッシ抽

出物混餌飼料を自由に摂取させた。一般状態及び死亡ラットの有無を毎日観察し、体重及び摂餌量については週 1 回測定した。

4. 1 年間反復投与毒性/発がん性併用試験
1 年間反復投与毒性/発がん性併用試験では、4 週齢の Wistar Hannover (GALAS) ラット雌雄ラット各 260 匹を日本クレア株式会社より購入し、11 日間の馴化飼育後、各実験群を設定した。1 年間反復投与毒性試験、及び発がん性試験における各実験群の被験物質投与濃度とラット数を表 1、及び表 2 に示した。

表 1. 1 年間反復投与毒性試験

	実験群 (添加濃度)	雄ラット (n=60)	雌ラット (n=60)
①	0%	10	10
②	0.04%	10	10
③	0.2%	10	10
④	1.0%	10	10
⑤	1.5%	20	20

表 2. 発がん性試験

	実験群 (添加濃度)	雄ラット (n=200)	雌ラット (n=200)
①	0%	50	50
②	0.04%	50	50
③	0.2%	50	50
④	1.0%	50	50

1 年間反復投与毒性試験では、4 群の被験物質投与群を設定し 1.5%、1%、0.2%、および 0.04%の割合でホコッシ抽出物を混合した飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業 (株)) を試験期間中自由に摂取させた。発がん性試験では、3 群の被験物質投与群を設定し同様に 1%、0.2%、および 0.04%の割合でホコッシ抽出物を混合した飼料を試験期間中自由に摂取させた。両実験の対照群では、雌雄ラット各 1 群にホコッシ抽出物を含まない基礎飼料 (CRF-1 飼料) を同期間自由に摂取させた。ホコッシ抽出物混合飼料は、使用時まで 4°C で保存し、動物に与えた飼料は安定性が確保されている期間内に適宜交換した。一般状態及び死亡動物の有無を毎日観察し、体重及び摂餌量については投与開始後 3 ヶ月まで週 1 回、以後は 4 週に 1 回測定した。摂餌量は、体重測定日に

ケージ単位に、7日分（最初の1週間は3あるいは4日）の累積摂取量を測定し、計算により1日1匹当たりの摂取量（g/ラット/日）を求めた。被験物質摂取量（mg/kg/日）は、当該測定日の平均体重、平均摂取量および被験物質添加濃度から、計算により求めた。

1) 1年間反復投与毒性試験：

投与開始50週前後に尿量、尿pH、蛋白、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、比重、電解質（Na, K, Cl, Ca）について検査を実施し、投与開始52週後に全生存動物を屠殺剖検した。剖検は、エーテル麻酔下で開腹、腹部大動脈より採血し、瀉血により屠殺後剖検した。諸臓器は、肉眼的に観察した後摘出し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、下垂体、精巣及び卵巣については重量測定後、甲状腺、胃、小腸、大腸、子宮については摘出後直ちに10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。その後、各臓器および組織を切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン

(H. E.)染色を施して、病理組織学的に検査を行った。採血した血液は広島市医師会臨床検査センターに依頼し白血球（WBC）、赤血球（RBC）、ヘモグロビン（Hg）、ヘマトクリット（Ht）、血小板（PLT）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、ならびに好中球（Neutro）、リンパ球（Lymph）、単球（Mono）、好酸球（Eosino）、および好塩基球（Baso）の白血球分画を測定した。また、血清を分離し、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、アルブミン・グロブリン比（A/G比）、総コレステロール（T-CHO）、中性脂肪（TG）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ナトリウム（Na）、クロール（Cl）、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、 γ -glutamyl transpeptidase（ γ -GTP）、総ビリルビン（T-Bil）を測定した。

2) 発がん性試験：投与開始24ヶ月後に全生存動物を屠殺剖検し、器官・組織の肉眼的

観察及び病理組織学的検索を行う。剖検の方法や病理標本の作製は前述の通りである。剖検に先立ち生存ラットを採血し血液検査と血液塗抹標本の作製を行う。

5. 統計学的解析：

体重、摂取量、飲水量、血液学的検査、血清生化学的検査及び臓器重量の各測定値について群毎に平均値及び標準偏差を求め、予備試験では各群間の直接比較検定（F-t検定など）を、本試験では対照群と投与群で多重比較検定（Dunnettの検定など）を行う。いずれの検定においても有意水準は危険率5%以下とする。

（倫理面の配慮）

本試験は、国立医薬品食品衛生研究所の動物倫理規定に従った毒性試験法ガイドラインに準じて行われる試験であり、動物からの採血や解剖においては麻酔下で行うなどの動物への苦痛を軽減するなどの配慮を行った。また、広島大学動物実験施設の動物実験倫理規定を遵守して行った。

C. 研究結果

（1）予備試験

Wistar Hannover (GALAS)系ラットに16週間の混餌試験を別途実施し、適切な投与量を決定する予備試験を実施した。その結果、全ての濃度のホコッシ抽出物混合飼料による16週間の飼育でラットの全身状態に変化は認められなかった。体重は、0.2%、及び0.04%ホコッシ抽出物混合飼料群では対照群に比べ有意な変化を認めなかった。しかし、1.0%群では、体重増加の抑制を認めた（図1）。一方、ホコッシ抽出物を混餌投与したF344ラットでは、雄ラット0.75%、雌ラット0.38%以上の混餌飼料で体重増加抑制がみられ、1.5%以上では精巣及び卵巣の組織学的異常を認めている。以上の結果より、1年間反復投与毒性試験では、精巣及び卵巣の組織学的異常を確認する必要があるためホコッシ抽出物混合飼料濃度の最高用量を1.5%とし、以下の用量を1%、0.2%、及び0.04%とした。一方、発がん性試験では、長期飼育をする必要から、ホコ

ッシ抽出物混合飼料濃度の最高用量を1.0%とし、以下の用量を0.2%、及び0.04%とした。

(2) 1年間反復投与毒性試験

1) 一般状態

試験期間中の動物の一般状態は、いずれの実験群においてもホコッシ抽出物に起因すると考えられる特記すべき変化は認められなかった。

2) 体重

試験期間中の各群の体重推移を図2と表3に示した。雄ラットでは、1%投与群で投与開始4週間目から、1.5%投与群で投与開始1週間目から体重の増加抑制が認められた。また、雌ラットでは、0.2%群で投与開始11週間目から、1%並びに1.5%投与群で投与開始1週間目から体重の増加抑制が認められた。雌雄ラット共に認められた体重の増加抑制は、0%投与群に対して統計学的に有意であり、試験終了まで同様な推移であった。

3) 摂餌量および被験物質摂取量

各群の摂餌量の推移を表4に示した。雄ラットでは、0.2、1、1.5%投与群で投与開始3週間目より0%群に対して摂餌量の有意な低下が認められたが、その差は、0.2%投与群で4週間目、1%投与群は16週間目に消失した。1.5%投与群では、試験終了時まで継続した。雌ラットでは、投与開始3週間目より1および1.5%投与群で摂餌量の低下が認められ、1%投与群では、9週目まで継続し、1.5%投与群では、試験終了時まで認められた。

試験期間中におけるラット一匹一日当たりの平均の摂餌量と体重1kg一日当たりの被験物質摂取量を表5に示した。ラット一匹一日当たりの平均摂餌量については、雌雄ラットとも1および1.5%投与群で0%投与群に対して有意な摂餌量の低下が認められた。またホコッシ抽出物の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ関連していた。

4) 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学的及び血清生化学的検査の結果を表6、7に示した。0%投与群に対する有意差検定の結果、血液生化学的検査では、GOT(雌雄ラット1.5%)の低下、TGの低下(雌

雄ラット1%以上)が認められ、血液学的検査では、白血球数の増加(雌雄ラット0.04%)、リンパ球の増加(雌ラット1%以上)が認められた。その他、雌雄ラットいずれにおいてもいくつかの検査項目で有意差が認められたが、これらの値はすべて正常範囲であり、明らかな用量相関性は認められなかった。

5) 臓器重量

実験終了時における雄ラットの臓器絶対重量および相対重量の結果を表8に、雌ラットのそれを表9に示した。0%投与群に対する有意差検定の結果、雌雄ラットともにいくつかの臓器で有意差が認められたが、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あった。

6) 病理組織学的検索

検索した全ての臓器において、0%投与群に比べ、ホコッシ抽出物の投与群に特異的な変化は認められなかった。また、ホコッシ抽出物の投与量に相関して変化する病理組織学的な病変も認められなかった。

(3) 発がん性試験

1) 一般状態

現在、ラットにホコッシ抽出物の反復投与を継続しており順調に経過している。雌雄ラット共に0%投与群を除く全てのホコッシ抽出物投与群で死亡例が認められるが、投与量に相関した衰弱や死亡例は認められていない。詳細な死因等については、現在病理標本を作製し検索中である。その他、試験期間中の動物の一般状態は、いずれの実験群においてもホコッシ抽出物に起因すると考えられる特記すべき変化は認められていない。

2) 体重

試験開始からの各群の体重推移を図3と表10に示した。雄ラットでは、1%投与群で投与開始1週間目から体重の増加抑制が認められた。また、雌ラットでは、0.2%投与群が投与開始2週間目から、1%投与群で投与開始1週間目から体重の増加抑制が認められた。雌雄ラット共に認められた体重の増加抑制は、0%投与群に対して統計学的に有意であり、試験終了まで同様な推移で

あった。

3) 摂餌量および被験物質摂取量

各群の摂餌量の推移を表 11 に示した。雄ラットでは、1%投与群で投与開始 5 週間目より 0%群に対して摂餌量の有意な低下が認められたが、その差は、25 週間目に消失した。雌ラットでは、投与開始 2 週間目より 1%投与群で、3 週目より 0.2%投与群で摂餌量の低下が認められ、0.2%投与群は断続的に、1%投与群は、63 週目まで継続して低下が認められている。

試験期間中におけるラット一匹一日当たりの平均の摂餌量と体重 1kg 一日当たりの被験物質摂取量を表 12 に示した。ラット一匹一日当たりの平均摂餌量については、雌雄ラットとも 1%投与群で 0%投与群に対して有意な摂餌量の低下が認められている。またホコッシ抽出物の摂取量も被験物質の用量段階にほぼ関連していた。

D. 考察

ホコッシ抽出物は、オランダピユ(マメ科)の種をエタノール抽出して得られた、食品の日持ち向上剤である。元来、冠状動脈拡張、抗菌、抗癌作用が示唆されており、白斑、疥癬の局所治療薬として使用されてきた。その主成分は抗菌作用を有するバクチオールである。このようにホコッシ抽出物は、既に食品にも日持ち向上剤として使用されており、安全性は高いと考えられる。ホコッシ抽出物については、これまでの安全性評価の結果から、マウス単回経口投与による急性毒性試験におけるホコッシ抽出物における LD₅₀ 値は雄ラットで 6113mg/kg、雌ラットで 5300 mg/kg である。AMES 試験は陰性、マウス小核試験は陰性であるが、染色体異常試験は陽性であることが確認されている。また、ホコッシ抽出物のラット 90 日反復投与毒性試験では、F344 ラットに精巣と卵巣への毒性が有ることが確認された。しかし、F344 雄ラットラットには、自然発生の精巣間細胞腫が非常に高頻度に発生するため、この目的に適したラット系統を用いて慢性毒性試験をする必要がある。本検討では、自然発生の精巣腫瘍の発生頻度が低い Wistar Hannover (GALAS) 系ラット

を用いて 1 年間反復投与毒性/発がん性併用試験を実施した。現在までに、1 年間反復投与毒性試験を終了し、発がん性試験については、現在、投与継続中である。

1 年間反復投与毒性試験では、ホコッシ抽出物に起因すると考えられる一般状態の変化は試験期間を通して認められなかった。体重増加及び摂餌量は雄ラットで高用量 1%以上、雌ラットで中用量 0.2%以上の用量で体重増加抑制が認められ、摂餌量も雌雄ラットともに中用量 0.2%以上で減少した。血液生化学的検査では、GOT (雌雄ラット 1.5%) の低下、TG の低下 (雌雄ラット 1%以上) が認められ、血液学的検査では、白血球数の増加 (雌雄ラット 0.04%)、リンパ球の増加 (雌ラット 1%以上) が認められた。しかし、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、他の関連するパラメーターにも変化が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。剖検所見では、腎、心臓や肝臓等の各臓器に変化は認められず、対照群との間に差を認めなかった。臓器重量では、各臓器の絶対重量値にいくつかの臓器で有意差 (絶対重量低下) が認められたが、相対重量値の結果 (相対重量増加) を鑑みて、ホコッシ投与群の低体重に起因するものと考えられた。また、精巣重量にも変化は認められず、萎縮も確認されなかった。病理組織学的検査においても、対照群に比べホコッシ抽出物に起因すると考えられる特異的な組織学的変化は認められず、精巣および卵巣の器質的な変化も認められなかった。このことから、F344 ラットを用いた報告と同様の変化は Wistar Hannover 系ラットでは確認できず、F344 ラットでのホコッシ抽出物による精巣と卵巣への障害は系統差によるものと考えられた。

現在進行中の発がん性試験では、一般状態において試験開始から数例の死亡例が認められた。当該個体の病理検索は終了しておらず、詳細な衰弱および死亡の原因は不明であるが、投与量に関連したものではない。しかしながら、0%投与群を除く雌雄ラット全てのホコッシ投与群で、死亡あるいは衰弱した個体が認められていることから、

今後の経過観察に注意を要する。また、体重および摂餌量においても1年間反復投与試験と同様に、0.2%投与群以上で統計学的に有意な低下が認められており、1年間を越えるホコッシ抽出物の摂取による生体への影響について、今後の経過を注意して観察したいと考えている。

E. 結論

オランダピユ(マメ科)の種からエタノール抽出して得られた食品添加物ホコッシ抽出物を長期反復摂取した場合の慢性毒性、及び発がん性を検索する目的で、Wistar Hannover系ラットを用いて1年間反復投与毒性/発がん性併用試験を実施した。その結果、雄ラットで1%以上、雌ラットでは0.2%以上のホコッシ抽出物の投与で体重の増加抑制が認められ、雌雄ラットの1%以上で摂餌量の低下が認められた。一方、血液・生化学検査や病理学的検査では、ホコッシ抽出物に起因すると考えられる毒性所見は認められなかった。F344ラットを用いた90日間反復投与毒性試験では病理検査で精巣と卵巣への毒性が認められたがWistar Hannover系ラットでは、異常所見を認めなかった。以上より1年間反復投与毒性試験におけるホコッシ抽出物の無毒性量は、雄ラット0.2%、雌ラット0.04%であると考えられた。また、発がん性試験の研究経過は順調である。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案特許：なし
3. その他

図1 ホコッシ抽出物の予備試験 16週間反復投与毒性試験

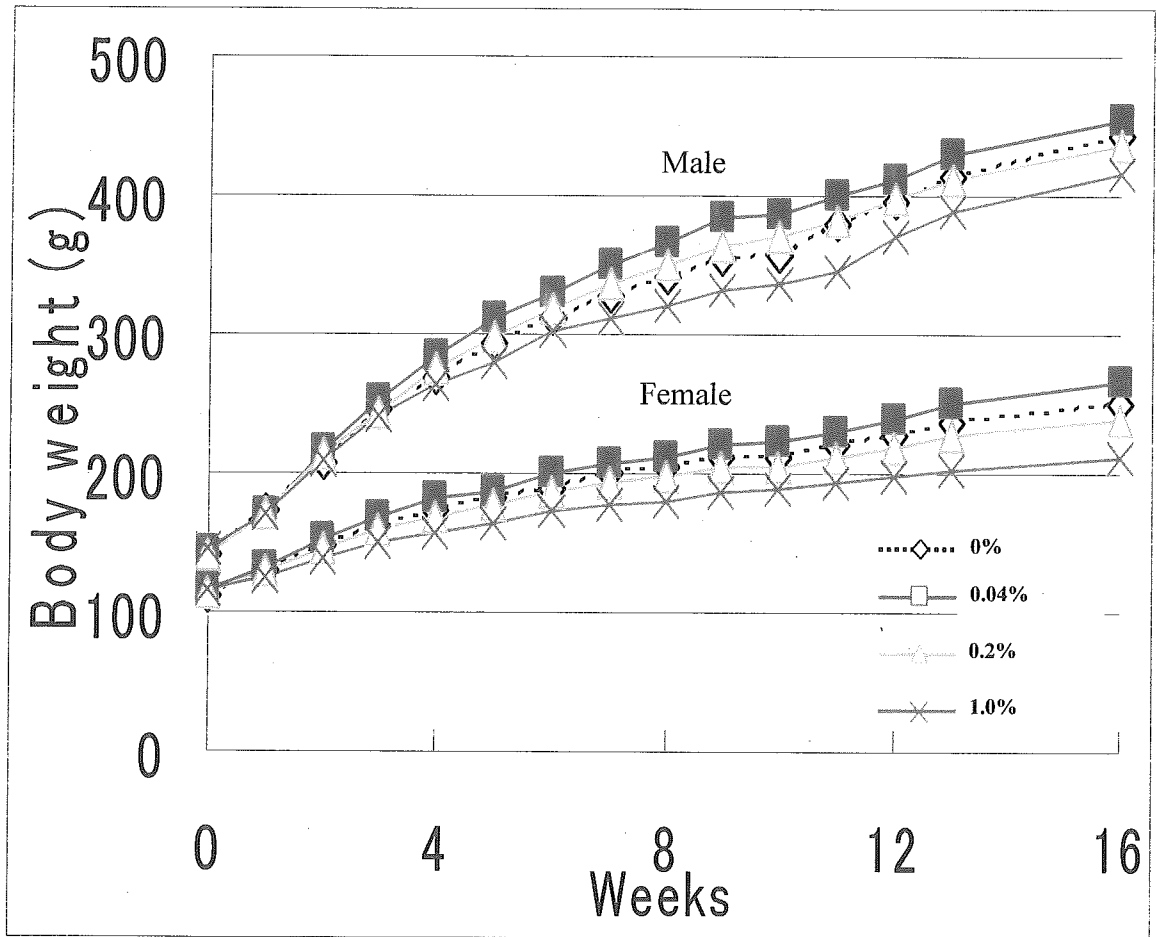


図2 ラット体重の推移(ホコッシ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

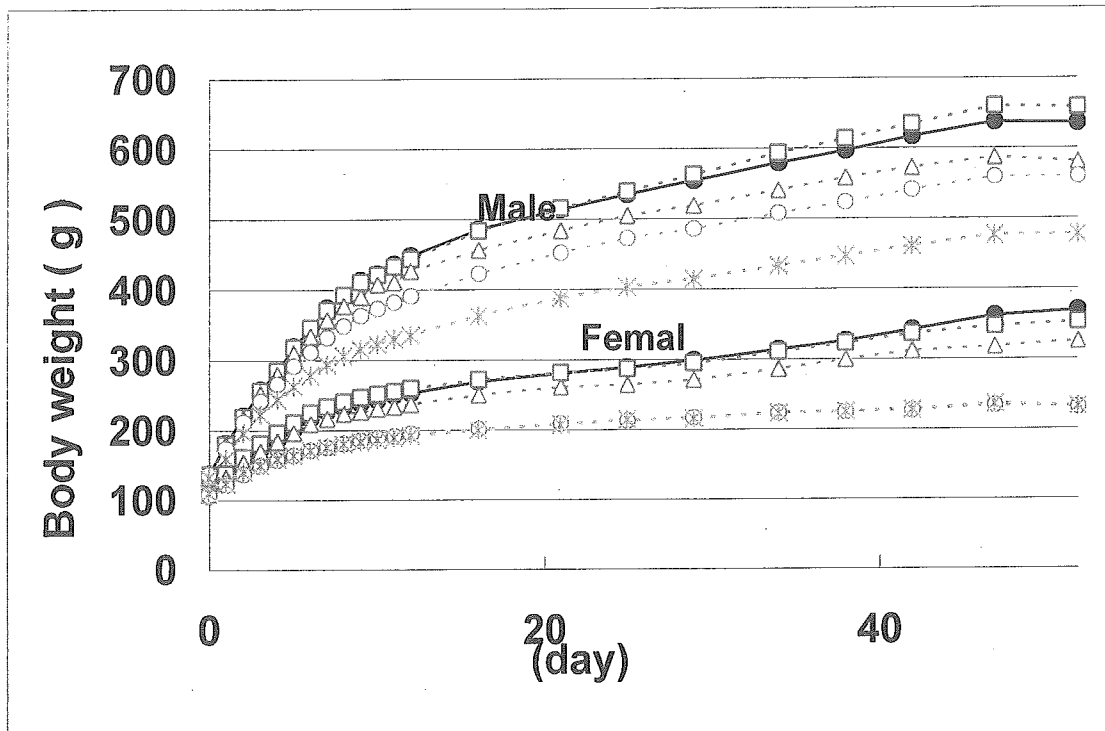


表3 ラット体重の推移(ホコッソ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

Sex	Group	Weeks						
		0w	1w	2w	3w	4w	5w	
Male	0	137.4 ± 9.3 ^a	181.0 ± 9.7	220.6 ± 9.5	257.5 ± 12.3	284.2 ± 15.2	319.1 ± 21.5	
	0.04	136.5 ± 13.3	179.3 ± 16.0	218.6 ± 17.8	255.9 ± 21.7	284.8 ± 23.0	317.6 ± 26.5	
	0.2	138.0 ± 7.4	179.2 ± 10.2	216.8 ± 14.4	252.1 ± 18.2	279.1 ± 20.5	309.7 ± 24.6	
	1.0	136.5 ± 9.7	173.5 ± 14.7	211.1 ± 16.3	241.3 ± 22.8	265.8 ± 26.4*	290.9 ± 29.6**	
	1.5	132.6 ± 7.7	159.8 ± 9.6**	196.3 ± 10.6**	222.8 ± 11.9**	244.2 ± 12.6**	262.8 ± 14.7**	
		6w	7w	8w	9w	10w	11w	
	0	345.6 ± 25.6	374.1 ± 31.0	392.4 ± 33.9	413.5 ± 35.8	422.2 ± 37.3	436.3 ± 38.9	
	0.04	345.4 ± 31.0	370.6 ± 35.0	391.9 ± 35.8	410.6 ± 38.5	420.5 ± 40.4	432.8 ± 42.6	
	0.2	334.2 ± 28.1	357.4 ± 31.3	377.4 ± 33.8	390.0 ± 31.1	407.4 ± 37.9	410.9 ± 32.5	
	1.0	310.9 ± 33.8**	331.6 ± 35.9**	348.0 ± 39.4**	362.9 ± 41.8**	372.8 ± 42.8**	382.1 ± 44.0**	
	1.5	278.2 ± 15.6**	293.9 ± 16.4**	306.2 ± 17.5**	315.9 ± 17.6**	322.5 ± 18.8**	330.2 ± 19.4**	
		12w	16w	21w	25w	29w	34w	
	0	448.2 ± 40.3	485.4 ± 46.8	513.9 ± 46.94	534.9 ± 50.0	554.4 ± 51.1	579.2 ± 56.2	
	0.04	443.3 ± 47.0	483.3 ± 49.5	515.4 ± 59.16	538.7 ± 69.2	562.8 ± 75.4	592.6 ± 83.4	
	0.2	426.8 ± 41.4	456.3 ± 42.2	483.6 ± 46.30	504.7 ± 51.7	518.9 ± 54.8	540.4 ± 61.0	
	1.0	390.5 ± 45.9**	422.4 ± 49.6**	452.0 ± 56.6**	472.4 ± 62.9**	485.8 ± 70.4**	507.4 ± 78.2*	
	1.5	335.4 ± 20.6**	363.4 ± 23.3**	387.9 ± 25.5**	403.4 ± 27.2**	414.8 ± 29.8**	433.1 ± 32.1**	
		38w	42w	47w	52w			
	0	596.5 ± 58.2	616.6 ± 62.6	637.0 ± 65.8	635.4 ± 63.4			
	0.04	613.2 ± 87.5	633.8 ± 90.8	659.5 ± 96.1	657.5 ± 98.4			
0.2	558.0 ± 66.3	572.1 ± 69.1	586.8 ± 69.5	580.4 ± 75.1				
1.0	522.9 ± 82.0*	540.3 ± 88.7*	558.4 ± 93.3*	559.0 ± 93.7*				
1.5	447.2 ± 33.1**	460.8 ± 34.2**	476.5 ± 36.3**	477.3 ± 37.8**				
Female	0	106.3 ± 6.3	131.1 ± 8.8	154.5 ± 9.9	172.7 ± 11.6	186.7 ± 14.1	201.3 ± 15.8	
	0.04	109.6 ± 5.4	137.5 ± 7.4	161.1 ± 9.1	180.8 ± 11.3	195.6 ± 12.0	210.1 ± 12.1	
	0.2	108.1 ± 7.1	133.0 ± 9.8	153.6 ± 11.4	169.8 ± 11.7	183.8 ± 13.2	196.4 ± 15.0	
	1.0	106.7 ± 6.5	121.4 ± 7.4**	137.0 ± 7.5**	148.7 ± 7.5**	157.0 ± 9.4**	163.3 ± 9.7**	
	1.5	110.6 ± 5.2	124.0 ± 6.6*	140.0 ± 8.5**	150.0 ± 9.9**	159.2 ± 10.2**	164.1 ± 11.8**	
		6w	7w	8w	9w	10w	11w	
	0	216.3 ± 16.4	226.8 ± 17.2	232.5 ± 18.9	238.4 ± 20.0	242.8 ± 18.3	249.4 ± 20.7	
	0.04	224.5 ± 14.1	233.2 ± 14.8	240.1 ± 16.2	246.5 ± 16.1	251.0 ± 15.7	254.7 ± 18.1	
	0.2	209.2 ± 16.3	216.2 ± 17.8	223.3 ± 18.7	226.5 ± 18.0	230.3 ± 20.2	233.1 ± 19.3*	
	1.0	170.5 ± 11.2**	174.8 ± 10.3**	180.4 ± 12.0**	184.8 ± 12.5**	188.3 ± 10.5**	190.9 ± 12.0**	
	1.5	171.0 ± 13.3**	176.2 ± 12.9**	180.7 ± 13.9**	183.2 ± 14.3**	186.6 ± 12.9**	189.4 ± 13.0**	
		12w	16w	21w	25w	29w	34w	
	0	252.9 ± 21.2	268.6 ± 26.1	280.5 ± 29.8	288.5 ± 34.3	298.6 ± 35.6	313.3 ± 45.8	
	0.04	259.2 ± 17.5	271.7 ± 19.0	281.0 ± 18.1	285.9 ± 21.6	294.4 ± 19.3	310.5 ± 24.6	
	0.2	236.8 ± 20.0*	250.1 ± 22.6**	260.9 ± 26.9*	264.0 ± 31.2*	270.5 ± 32.8*	285.6 ± 38.9*	
	1.0	194.3 ± 9.9**	200.7 ± 11.9**	208.4 ± 13.3**	212.3 ± 14.7**	216.4 ± 13.7**	222.6 ± 15.1**	
	1.5	192.0 ± 14.0**	200.4 ± 14.4**	207.4 ± 15.2**	214.4 ± 13.7**	215.8 ± 15.6**	223.4 ± 18.6**	
		38w	42w	47w	52w			
	0	325.9 ± 48.0	341.3 ± 54.0	361.3 ± 63.4	368.8 ± 69.0			
	0.04	322.7 ± 25.6	335.8 ± 31.8	346.6 ± 35.4	352.4 ± 35.6			
0.2	299.2 ± 46.6*	311.2 ± 55.5*	317.7 ± 59.0**	324.7 ± 67.1*				
1.0	223.8 ± 13.5**	225.7 ± 15.2**	233.3 ± 13.8**	230.6 ± 15.4**				
1.5	225.2 ± 16.4**	227.7 ± 16.5**	236.0 ± 17.9**	232.3 ± 20.2**				

^a: Mean±SD

*,** : Significantly different from the untreated control value at the levels of $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively.

表4 ラットの平均摂餌量(ホコッソ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

Sex	Group	Weeks							
		1w	2w	3w	4w	5w	6w	7w	
Male	0	15.46 ± 0.73 ^a	16.66 ± 0.67	18.08 ± 0.60	19.20 ± 0.50	17.67 ± 0.92	24.00 ± 0.93	21.38 ± 0.71	
	0.04	14.82 ± 1.12	16.71 ± 0.85	19.16 ± 1.06	19.41 ± 1.25	18.01 ± 1.16	24.49 ± 2.24	22.13 ± 2.19	
	0.2	13.98 ± 1.26	16.06 ± 1.07	16.54 ± 1.14*	17.40 ± 0.51*	16.64 ± 0.54	21.73 ± 0.67	19.76 ± 0.48	
	1.0	14.68 ± 1.26	16.85 ± 1.07	16.31 ± 1.14*	16.61 ± 0.51**	15.69 ± 0.54*	20.89 ± 0.67	18.84 ± 0.48*	
	1.5	13.29 ± 2.76	15.77 ± 0.79	15.88 ± 0.47**	15.66 ± 0.80**	14.24 ± 0.53**	19.00 ± 2.07**	16.93 ± 0.62**	
		8w	9w	10w	11w	12w	16w	21w	
	0	20.93 ± 0.71	21.18 ± 0.59	20.97 ± 0.85	20.78 ± 0.81	20.39 ± 0.67	20.05 ± 0.41	19.01 ± 0.56	
	0.04	22.12 ± 1.57	21.67 ± 1.54	21.22 ± 1.61	20.83 ± 1.79	20.05 ± 1.34	19.96 ± 1.11	19.73 ± 0.25	
	0.2	19.97 ± 0.20	19.66 ± 1.07	19.76 ± 0.99	18.92 ± 0.54	18.73 ± 0.28	19.08 ± 0.26	17.99 ± 0.48	
	1.0	18.61 ± 0.20*	18.89 ± 1.07*	18.25 ± 0.99*	17.88 ± 0.54*	17.96 ± 0.28*	18.28 ± 0.26*	17.86 ± 0.48	
	1.5	17.42 ± 0.77**	17.08 ± 0.61**	16.56 ± 0.45**	16.67 ± 1.10**	16.61 ± 1.12**	16.66 ± 0.41**	16.15 ± 0.35**	
		25w	29w	34w	38w	42w	47w	52w	
	0	20.26 ± 0.66	17.52 ± 0.85	18.43 ± 1.19	19.63 ± 1.23	19.55 ± 1.10	19.67 ± 1.40	18.98 ± 0.61	
	0.04	20.96 ± 1.09	19.49 ± 2.18	19.88 ± 1.10	20.33 ± 1.51	20.22 ± 1.61	21.33 ± 1.70	22.38 ± 2.62*	
	0.2	19.81 ± 0.64	16.97 ± 0.76	18.24 ± 1.09	18.84 ± 0.94	18.52 ± 1.27	18.67 ± 1.15	20.09 ± 1.25	
1.0	19.64 ± 0.64	16.77 ± 0.76	17.58 ± 1.09	18.57 ± 0.94	17.90 ± 1.27	18.62 ± 1.15	20.58 ± 1.25		
1.5	17.84 ± 0.52**	15.81 ± 1.87	16.18 ± 0.56*	16.68 ± 0.51**	16.84 ± 0.41*	16.97 ± 0.34*	19.20 ± 0.44		
Female	0	11.54 ± 2.13	12.29 ± 0.39	13.26 ± 0.40	13.80 ± 0.79	12.93 ± 2.73	16.28 ± 0.97	14.14 ± 1.13	
	0.04	11.31 ± 0.91	13.25 ± 0.67	13.76 ± 0.21	14.36 ± 0.06	12.57 ± 0.29	16.76 ± 0.14	15.11 ± 0.31	
	0.2	10.77 ± 2.52	11.41 ± 0.78	12.27 ± 0.31	12.52 ± 1.27	11.20 ± 0.74	15.16 ± 1.01	13.68 ± 1.00	
	1.0	10.31 ± 2.52	11.67 ± 0.78	12.05 ± 1.14*	10.96 ± 1.05**	10.39 ± 2.26	14.37 ± 2.12	10.91 ± 2.33*	
	1.5	12.44 ± 4.11	11.18 ± 0.97	11.24 ± 0.50**	9.91 ± 1.05**	8.45 ± 1.18**	11.93 ± 1.49**	10.28 ± 0.88**	
		8w	9w	10w	11w	12w	16w	21w	
	0	13.79 ± 1.69	13.76 ± 0.08	13.58 ± 0.16	13.05 ± 0.28	12.92 ± 0.16	13.04 ± 0.33	12.55 ± 0.15	
	0.04	14.64 ± 0.44	14.57 ± 0.25	14.04 ± 0.73	13.76 ± 0.70	13.77 ± 0.73	13.33 ± 0.73	13.40 ± 1.69	
	0.2	13.35 ± 0.65	12.74 ± 0.55	12.92 ± 0.68	12.45 ± 0.59	12.93 ± 0.95	12.70 ± 0.99	12.15 ± 0.93	
	1.0	10.26 ± 1.50**	11.23 ± 0.11**	12.26 ± 1.46	11.95 ± 1.44	11.82 ± 1.43	11.44 ± 1.44	11.66 ± 1.26	
	1.5	10.47 ± 0.98**	10.86 ± 0.93**	11.56 ± 1.96	11.54 ± 1.49	11.97 ± 2.33	11.96 ± 1.45	13.04 ± 3.40	
		25w	29w	34w	38w	42w	47w	52w	
	0	15.00 ± 0.09	11.48 ± 0.20	12.32 ± 0.74	13.36 ± 0.56	13.58 ± 0.48	13.60 ± 0.66	14.30 ± 0.91	
	0.04	15.17 ± 0.63	11.75 ± 0.81	13.21 ± 0.99	13.60 ± 1.11	13.28 ± 0.84	13.28 ± 0.39	14.45 ± 0.77	
	0.2	14.93 ± 0.60	10.94 ± 0.43	12.23 ± 0.59	13.09 ± 1.01	12.38 ± 0.96	12.59 ± 0.48	14.27 ± 0.92	
1.0	14.41 ± 1.81	11.03 ± 1.46	11.58 ± 0.99	11.48 ± 0.80	11.24 ± 0.31*	11.72 ± 1.41	12.50 ± 0.37		
1.5	14.50 ± 2.71	11.41 ± 2.85	11.80 ± 2.93	12.13 ± 3.49	10.65 ± 1.04**	12.62 ± 1.58	14.81 ± 1.11		

^a: Mean±SD

*,** : Significantly different from the untreated control value at the levels of $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively.

表5 ラットの平均被験物質摂取量(ホコッシ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

Sex	Group	Final body weight (g)	Mean food consumption (g/day/rat)	Mean daily intake of Hokosshi (mg/day/kg)
Male	0	635.4 ± 63.4 ^a	19.06 ± 1.99	0 ± 0
	0.04	657.5 ± 98.4	19.14 ± 2.38	15.82 ± 4.04
	0.2	580.4 ± 75.1	18.29 ± 2.25	76.27 ± 18.09
	1.0	559.0 ± 93.7*	17.92 ± 1.93*	405.28 ± 93.02
	1.5	477.3 ± 37.8**	16.46 ± 1.74**	644.84 ± 135.60
Female	0	368.8 ± 69.0	13.07 ± 1.61	0 ± 0
	0.04	352.4 ± 35.6	13.40 ± 1.64	19.20 ± 3.72
	0.2	324.7 ± 67.1*	12.54 ± 1.70	97.48 ± 15.41
	1.0	230.6 ± 15.4**	11.58 ± 1.64**	572.61 ± 92.35
	1.5	232.3 ± 20.2**	11.93 ± 2.63*	875.32 ± 170.16

^a: Mean ± SD

*,** : Significantly different from the untreated control value at the levels of p<0.05, p<0.01, respectively

表6 血液学的検査値(ホコッソ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

	Group				
	0	0.04	0.2	1	1.5
Males					
No. of rats examined	12	11	12	12	23
RBC count($10^4/\text{mm}^3$)	866.7 ^a ± 41.0	804.1 ± 188.8	883.3 ± 32.3	847.4 ± 39.8	835.9 ± 34.4
Hb(g/dl)	15.0 ± 0.7	14.3 ± 2.6	15.3 ± 0.5	15.0 ± 0.5	14.9 ± 0.5
Ht(%)	41.3 ± 1.8	39.4 ± 6.9	42.0 ± 1.3	41.7 ± 1.2	41.6 ± 1.3
Plt count($10^4/\text{mm}^3$)	114.2 ± 15.0	94.4 ± 25.1**	111.7 ± 14.6	95.7 ± 11.8**	93.2 ± 11.3**
MCV(fl)	47.7 ± 1.4	51.0 ± 9.5	47.6 ± 1.5	49.2 ± 1.6	49.9 ± 1.6
MCH(pg)	17.3 ± 0.4	18.4 ± 3.0	17.4 ± 0.5	17.8 ± 0.5	17.9 ± 0.5
MCHC(g/dl)	36.4 ± 0.4	36.2 ± 0.7	36.5 ± 0.5	36.1 ± 0.4	35.8 ± 0.3**
WBC count(/ mm^3)	1617.5 ± 758.0	2210.9 ± 1138.1	2115.8 ± 778.2	1940.8 ± 590.6	1379.6 ± 529.3
No. of rats examined	12	11	12	12	23
neutrophils(%)	32.6 ± 9.0	36.3 ± 18.8	36.5 ± 8.8	38.5 ± 9.5	34.6 ± 8.3
Lymphocytes(%)	61.5 ± 9.8	56.8 ± 19.1	57.3 ± 9.3	55.9 ± 9.1	59.9 ± 8.6
Monocytes(%)	3.7 ± 1.8	4.8 ± 4.9	4.4 ± 2.0	3.9 ± 2.6	3.6 ± 1.7
Eosinophils(%)	2.1 ± 0.7	2.1 ± 1.6	1.9 ± 0.6	1.7 ± 0.7	1.9 ± 1.0
Females					
No. of rats examined	12	11	12	12	24
RBC count($10^4/\text{mm}^3$)	765.6 ± 34.5	766.7 ± 40.1	756.5 ± 40.7	755.7 ± 52.0	747.2 ± 38.3
Hb(g/dl)	14.6 ± 0.6	14.6 ± 0.6	14.5 ± 0.7	14.2 ± 0.8	13.8 ± 0.8*
Ht(%)	40.7 ± 1.9	40.7 ± 1.6	40.8 ± 1.8	40.2 ± 2.2	39.1 ± 2.2
Plt count($10^4/\text{mm}^3$)	96.0 ± 8.4	87.5 ± 9.2	88.2 ± 10.7	91.0 ± 16.0	94.7 ± 10.6
MCV(fl)	53.2 ± 1.5	53.1 ± 1.9	54.1 ± 2.7	53.3 ± 2.2	52.4 ± 1.8
MCH(pg)	19.0 ± 0.4	19.1 ± 0.6	19.2 ± 0.7	18.8 ± 0.6	18.5 ± 0.6*
MCHC(g/dl)	35.9 ± 0.4	36.0 ± 0.5	35.6 ± 0.6	35.4 ± 0.5*	35.3 ± 0.4**
WBC count(/ mm^3)	794.2 ± 223.8	1100.9 ± 386.2*	862.5 ± 329.3	782.5 ± 138.4	637.9 ± 224.4
No. of rats examined	12	11	12	12	24
neutrophils(%)	44.4 ± 13.1	38.0 ± 14.6	39.4 ± 10.9	27.8 ± 8.1**	30.5 ± 8.0**
Lymphocytes(%)	48.2 ± 13.1	55.1 ± 15.6	52.5 ± 11.8	66.9 ± 9.4**	64.4 ± 9.9**
Monocytes(%)	4.9 ± 4.7	4.9 ± 2.5	5.2 ± 4.6	2.9 ± 1.5	2.3 ± 2.9
Eosinophils(%)	2.5 ± 0.9	2.0 ± 1.0	3.0 ± 1.3	2.5 ± 1.5	2.8 ± 2.7

^a: Mean±SD

*,** : Significantly different from the untreated control value at the levels of $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively.

表7 血液生化学的検査値(ホコッシ抽出物の1年間反復投与毒性試験)

	Dose level(%)				
	0	0.04	0.2	1	1.5
Males					
No. of rats examined	12	11	12	12	24
TP(g/dl)	6.8 ± 0.3 ^a	6.7 ± 0.2	6.8 ± 0.2	6.7 ± 0.2	6.5 ± 0.2**
Alb(g/dl)	4.8 ± 0.2	4.6 ± 0.3*	4.7 ± 0.1	4.6 ± 0.1	4.6 ± 0.1*
A/G	2.4 ± 0.3	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.1	2.6 ± 0.3
GOT(IU/l)	102.6 ± 31.7	89.1 ± 11.2	102.4 ± 16.0	93.9 ± 12.2	78.9 ± 11.4**
GPT(IU/l)	49.6 ± 62.9	40.6 ± 7.1	42.4 ± 20.4	38.8 ± 10.2	29.3 ± 5.3
ALP(IU/l)	276.8 ± 59.6	297.1 ± 55.2	297.9 ± 75.5	236.8 ± 49.9	269.6 ± 69.3
γ-GTP(IU/l)	1.3 ± 0.5	3.5 ± 1.8**	3.0 ± 1.5*	1.9 ± 0.9	2.3 ± 1.9
CRE(mg/dl)	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.06	0.33 ± 0.04
BUN(mg/dl)	15.6 ± 1.8	15.4 ± 2.7	14.4 ± 1.7	15.4 ± 1.9	16.0 ± 2.1
Glu(mg/dl)	138.9 ± 22.2	139.5 ± 12.5	129.8 ± 15.1	129.3 ± 13.0	142.5 ± 13.5
TG(mg/dl)	198.6 ± 38.5	200.5 ± 83.7	151.7 ± 41.5	131.7 ± 57.9*	127.2 ± 55.1**
T-Cho(mg/dl)	97.6 ± 17.6	115.7 ± 25.5	113.3 ± 29.2	107.8 ± 36.2	91.0 ± 16.9
Na(mEQ/l)	140.6 ± 1.1	140.3 ± 1.1	140.7 ± 1.1	141.8 ± 1.5*	141.2 ± 0.9
K(mEQ/l)	5.5 ± 0.3	5.6 ± 0.4	5.4 ± 0.4	4.9 ± 0.3**	5.1 ± 0.4**
Cl(mEQ/l)	102.3 ± 1.6	104.0 ± 2.0*	103.3 ± 1.3	104.8 ± 1.1**	103.5 ± 1.1*
Ca(mg/dl)	10.2 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.2 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.3 ± 0.3
IP(mg/dl)	4.5 ± 0.5	4.5 ± 0.5	5.0 ± 0.6*	5.0 ± 0.5*	5.1 ± 0.4**
Total Bil(mg/dl)	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
Female					
No. of rats examined	12	12	12	12	24
TP(g/dl)	7.1 ± 0.3	7.2 ± 0.3	7.2 ± 0.3	7.2 ± 0.4	7.2 ± 0.4
Alb(g/dl)	5.4 ± 0.3	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.2 ± 0.3
A/G	3.1 ± 0.3	3.5 ± 0.6**	3.3 ± 0.4	3.2 ± 0.2	2.7 ± 0.3**
GOT(IU/l)	84.8 ± 19.6	89.8 ± 18.3	102.0 ± 33.1	73.7 ± 13.4	66.1 ± 9.9*
GPT(IU/l)	32.3 ± 7.0	31.6 ± 8.2	42.6 ± 14.8**	26.1 ± 5.4	28.9 ± 5.9
ALP(IU/l)	79.9 ± 41.8	81.6 ± 38.4	74.7 ± 13.4	83.9 ± 50.2	94.0 ± 29.0
γ-GTP(IU/l)	1.5 ± 0.9	2.2 ± 0.8	2.6 ± 0.8**	3.1 ± 1.0**	2.0 ± 0.9
CRE(mg/dl)	0.38 ± 0.04	0.40 ± 0.07	0.42 ± 0.05	0.40 ± 0.06	0.38 ± 0.04
BUN(mg/dl)	18.3 ± 3.7	15.3 ± 3.2	16.4 ± 2.8	17.5 ± 2.8	18.7 ± 4.4
Glu(mg/dl)	129.8 ± 12.2	131.3 ± 16.7	114.8 ± 14.7	115.8 ± 18.4	120.3 ± 17.6
TG(mg/dl)	217.8 ± 109.0	165.3 ± 126.6	181.5 ± 103.9	52.0 ± 31.9**	104.3 ± 42.1**
T-Cho(mg/dl)	84.5 ± 22.0	88.1 ± 23.6	91.8 ± 20.4	58.3 ± 19.7**	58.8 ± 16.2**
Na(mEQ/l)	137.7 ± 1.5	138.5 ± 1.9	137.3 ± 1.5	137.7 ± 1.0	139.4 ± 1.4**
K(mEQ/l)	5.9 ± 0.6	4.8 ± 0.8**	5.3 ± 0.3**	4.8 ± 0.3**	5.0 ± 0.5**
Cl(mEQ/l)	102.8 ± 2.1	103.0 ± 2.4	102.6 ± 1.8	101.9 ± 1.7	104.2 ± 1.9
Ca(mg/dl)	10.3 ± 0.4	10.5 ± 0.5	10.3 ± 0.3	10.4 ± 0.2	10.2 ± 0.3
IP(mg/dl)	3.7 ± 0.8	4.1 ± 0.5	3.1 ± 0.5*	4.6 ± 0.6**	3.8 ± 0.8
Total Bil(mg/dl)	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.00

^a: Mean±SD*,** : Significantly different from the untreated control value at the levels of $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively.