

厚生労働科学研究費補助金  
食品の安心・安全確保推進研究事業

既存添加物の安全性評価に関する研究  
平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 鰐淵 英機

平成19 (2007) 年 4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

既存添加物等の安全性に関する研究 ----- 1

鰐渕 英機（大阪市立大学大学院医学研究科 教授）

### II. 分担研究報告

1. ダンマル樹脂の発がん性等に関する研究 ----- 8

鰐渕 英機（大阪市立大学大学院医学研究科 教授）

2. L-アスパラギンの安全性評価に関する研究 ----- 19

今井田 克己（香川大学医学部腫瘍病理学 教授）

3. L-アスパラギン酸の安全性評価に関する研究 ----- 34

中江 大（東京都健康安全研究センター 参事研究員）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 59

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)  
総括研究報告書

既存添加物等の安全性に関する研究

主任研究者 鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

本研究では安全性が確認されていない既存添加物のうち、ラット肝発がん促進作用が明らかになったダンマル樹脂について、1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験をラットに施行し、3年間かけてその安全性を評価することとした。また、栄養強化剤の用途として既存添加物名簿に記載されているいくつかのアミノ酸に関しては、健康増進指向によりサプリメントとしても大量に摂取されるようになってきており、近年その基本的な安全性評価が求められている。そこで、本研究では、これらのアミノ酸のうち、これまでに亜慢性毒性試験である90日間反復投与毒性試験を実施されていない(L-シスチン、L-アスパラギン、L-アスパラギン酸、L-プロリン、L-セリン、L-チロシン)について、90日間反復投与毒性試験を実施し、基本的な安全性評価を行うこととした。現在まで得られた研究成果は下記の通りである。

- 1) ダンマル樹脂について、F344ラットを用いた1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験を開始した。本年度は、品質性の保証された標準検体の入手と本試験の用量の設定、添加飼料での安定性等が検討された。ダンマル樹脂の飼料への添加、安定性を検索した結果、固形飼料の1ヶ月保存品に含量のばらつきや減少が認められなかったため、本実験では固形飼料での投与と決定した。投与用量は、本年度に行った28日間反復投与毒性試験の結果と、これまでに施行された90日間反復投与毒性試験およびラット肝中期発がん性試験の結果に基づいて、1年間反復投与毒性試験では0、0.03%、0.125%、0.5%、2%を、2年間発がん性試験では0、0.03%、0.5%、2%を設定した。F344の雌雄ラット計500匹を用いた本試験を平成18年11月より開始し、現在動物実験は順調に進行中である(鰐淵)。
- 2) L-アスパラギンの90日間反復投与毒性試験をF344ラットを用いて実施した。5%、2.5および1.25%のL-アスパラギン混餌飼料を90日間自由に摂取させ、対照群にはL-アスパラギンをコーンスターチで置き換えた合成基礎飼料のみを摂取させた。その結果、5%投与群で雄では脳、腎臓、精巣で相対重量の増加が、雌ではGLU、PL、K、ALTなどの有意な上昇が見られた。病理学的所見に有意差は見られなかった。以上の結果より、本試験条件下における無毒性量(NOEL)は飼料中濃度2.5%(雄1.65g/kg体重/day、雌1.73g/kg体重/day)と結論された。(今井田)。
- 3) L-アスパラギン酸の90日間反復投与毒性試験をF344ラットを用いて実施した。L-アスパラギン酸を0・0.05・1.25・2.5・5.0%の濃度で飼料に混じり、90日間投与した。その結果、死亡例および一般状態の異常は、雌雄の全群で観察されなかった。血清生化学的検索においては、雄の2.5%以上群と雌の5.0%群の尿素窒素濃度、雄の2.5%以上群と雌の1.25%以上群のクレアチニン濃度、雌の1.25%以上群の尿酸濃度に減少がみられた。これらに関連しては、尿性状検索において、雄の5.0%群のビリルビン陽性と、1.25%以上群のケトン体および蛋白陽性の発生頻度、雌の1.25および2.5%群のケトン体陽性と、2.5%以上群の蛋白陽性の発生頻度が増加したほか、雄の5.0%群で腎臓の相対重量が増加し、病理組織学的検索において、雄の2.5%以上群の腎臓で、管腔の拡張を伴った再生尿細管が高頻度に認められた。雌については、相応する臓器重量の変動や病理組織学的変化がなかった。これらの変化は、L-アスパラギン酸投与に関係する毒性影響としての生物学的有意性を持つものと判断した。病理組織学的検索においては、さらに、雌雄の5.0%群で顎下腺の腺房細胞の軽度な肥大が、雌雄の2.5および5.0%群で耳下腺の腺房細胞の肥大が、それぞれ認められた。以上の結果より、本試験条件下におけるL-アスパラギン酸の無毒性量(NOEL)は雌雄とも0.05%(27.9 mg/kg体重/day相当)であるものと結論した。(中江)。

参事研究員

分担研究者

今井田 克己 香川大学医学部 教授

中江 大 東京都健康安全センター

A. 研究目的

ダンマル樹脂の主成分は多糖類であり、飲料、

冷菓、チューインガムなどに既存食品添加物質（増粘安定剤、ガムベース）として使用されている。一方、ダンマル樹脂の90日反復投与毒性試験においては0.125%および2%群でラット肝重量の有意な増加が認められた。また、ラット肝中期発がん性試験においては0.125%から肝発がんプロモーション作用を示した。これらの結果を踏まえて、さらにダンマル樹脂が食品添加物としてヒトが長期にわたって摂取する可能性があることを考慮すると、ダンマル樹脂の安全性については、さらに長期間の投与による評価を行う必要がある。そこで、本研究では1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験をラットに施行し、3年間かけてその安全性を評価することとした。また、栄養強化剤の用途として既存添加物名簿に記載されているいくつかのアミノ酸に関しては、健康増進指向によりサプリメントとしても大量に摂取されるようになってきており、近年その基本的な安全性評価が求められている。そこで、本研究では、これらのアミノ酸のうち、これまで亜慢性毒性試験である90日間反復投与毒性試験を実施されていない(L-シスチン、L-アスパラギン、L-アスパラギン酸、L-プロリン、L-セリン、L-チロシン)について、90日間反復投与毒性試験を実施し、基本的な安全性評価を行うこととした。本年度はL-アスパラギン酸とL-アスパラギンについて、90日間反復投与毒性試験を実施した。

## B. 研究方法

### 1. ダンマル樹脂の1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験

#### <被験物質>

ダンマル樹脂粉末は、三栄源エフ・エフ・アイ株式会社により供与された。

#### <投与量の設定>

1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験に用いるダンマル樹脂の最高用量を設定するために、28日間反復投与毒性試験を行った。すなわち、雌雄のF344ラットにダンマル樹脂を0、2%および5%の用量で混餌投与した。その結果、雌雄の5%群では強い体重増加の抑制が認められ、5%群は1年間反復投与毒性試験あるいは2年間発がん性試験には応用できないことが明らかとなった。したがって、本試験に用いるダンマル樹脂の投与量は、90日反復投与毒性試験およびラット肝中期発がん性試験の結果に基づき、最高用量をダンマル樹脂含量として2%として、1年間反復投与毒性試験には0、0.03%、0.125%、0.5%、2%を、2年間発がん性試験には0、0.03%、0.5%、2%の用量に設定した。

#### <被験物質の安定性>

28日間反復投与毒性試験を行った同時に、初発と一ヶ月保存後の各濃度のダンマル樹脂添加の粉末飼料および固形基礎飼料中のその含量をガスクロマトグラフィー法にて測定し、検体の飼料への添加、安定性を検索した。ダンマル樹脂はオリエンタルMF基礎飼料に規定量混ぜたものを検体として使用した。被験物質の飼料への添加、固形化はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供した。

#### <動物並びに飼育条件>

5週齢のF344ラット雌雄各250匹を日本チャールズリバー株式会社から入手し、約1週間の馴化飼育後、6週齢にて試験に供した。動物数は、1年間反復投与毒性試験について1群当り雌雄各10匹、2年間発がん性試験について1群当たり雌雄各50匹を用いる。動物の飼育は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設のバリアーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ 、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行う。動物はプラスチックケージに3匹ずつ飼育し、飲料水として、水道水を自由摂取させる。ケージおよびチップを週1回交換する。

#### <観察並びに検索方法>

食品添加物の1年間反復投与毒性試験法ガイドラインならびにがん原性試験法ガイドラインに準じて行う。観察並びに検索項目は以下の通りである。

#### [一般状態、体重、摂餌量]

全動物は、一般状態を毎日観察し、投与開始の13週後まで週1回体重および摂餌量を測定し、その後について1ヶ月に1回測定する。1日あたりのダンマル樹脂摂取量(mg/kg/day)は、その結果より算出する。

#### 【血液学および血液生化学的検査】

1年間反復投与毒性試験では、全生存動物を対象として、血液学的及び血液生化学的検査を実施する。動物は、採血の前日午後5時より絶食させ、解剖時腹部大動脈より採血する。血液学的検査として、赤血球数、白血球数、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値等を測定する。血液生化学的検査として、総蛋白、アルブミン、A/G比、コレステロール、中性脂肪、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、アルカリホスファターゼ、電解質等を測定する。

#### [病理組織学的検査]

1年間反復投与毒性試験については12ヶ月の投与終了後に、2年間発がん性試験については24ヶ月の投与終了後に、それぞれ全生存例を安楽死させて詳細な剖検を行う。

剖検においては、以下に示す器官・臓器を採取し、下線を付したものについて重量を測定した後、全てを 10%中性緩衝ホルマリン液により固定する。ただし、精巣および眼球については、必要に応じて適切な固定液を用いることがある。採取する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体(固定後)・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・肝・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上体・卵巣および卵管・子宮・膣・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・大腿骨・胸骨・頭蓋骨および鼻腔・その他の肉眼的異常部位である。

死亡例および瀕死による切迫屠殺例については、上記と同様に解剖し死因を究明するが、重量の測定は実施しない。切迫例については、可能な限り末梢血の塗抹標本を作製する。

病理組織学的検索は、対照群および高用量群の全動物について、以下に示す器官・組織の固定標本から切り出しを行い、通常の方法でパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキリシン/エオジン染色を施して鏡検する。該当する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・鼻腔・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・肝・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上体・卵巣および卵管・子宮・膣・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・その他の肉眼的異常部位である。その他の用量群の全動物については、胸腺・肺・肝・脾・腎・副腎・精巣・卵巣とその他の肉眼的異常部位および高用量群において投与に関連した異常が観察された器官・組織について、上述と同様の方法で病理組織学的検査を行なう。

#### [統計学的解析]

体重・摂餌量・臓器重量・血液学的および血清生化学的検査結果については、ANOVA による解析を行い、群間に有意差が観察された場合に、Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群の間で検定を行なう。尿検査と病理組織学的検査結果については、Fischer の直接確率検定法を用いて統計学的解析を実施する。なお、腫瘍および前がん病変については、必要に応じて別途検定方法を選択して行う。

#### <倫理面への配慮>

大阪市立大学の動物飼育施設における動物実験取り扱い規約に基づき、動物を飼育する。屠殺

は動物に苦痛を与えないためにエーテル麻酔下にて実施する。

2. L-アスパラギンの 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

3. L-アスパラギン酸の 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

#### C. 研究結果

1. ダンマル樹脂の 1 年間反復投与毒性試験および 2 年間発がん性試験

28 日間反復投与毒性試験の結果により、5%群は 1 年間反復投与毒性試験あるいは 2 年間発がん性試験には応用できないことが明らかとなった。ダンマル樹脂の投与量は、1 年間反復投与毒性試験では 0、0.03%、0.125%、0.5%、2%に、2 年間発がん性試験では 0、0.03%、0.5%、2%に決定した。また、各添加量の固形飼料中のダンマル樹脂の含量を検索した結果、初期値はいずれも配合値通りであった。一ヶ月保存品においても含量の低下は認められなかった。よって、本実験では、固形飼料で投与することとした。平成 18 年 11 月より試験を開始し、雌雄とも 2%ダンマル樹脂投与群で摂水量の増加と、体重増加の抑制が認められているものの、動物の一般状態は良好で試験は順調に進行している。

2. L-アスパラギンの 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

3. L-アスパラギン酸の 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

#### D. 考察

1. ダンマル樹脂の 1 年間反復投与毒性試験および 2 年間発がん性試験

天然添加物のダンマル樹脂の 1 年間反復投与毒性試験および 2 年間発がん性試験を開始した。本研究で得られた結果はダンマル樹脂の毒性、安全性に関する基礎的なデータが得られるもとと期待される。

2. L-アスパラギンの 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

3. L-アスパラギン酸の 90 日間反復投与毒性試験  
分担報告書参照

#### E. 結論

1. ダンマル樹脂の 1 年間反復投与毒性試験お

## よび2年間発がん性試験

ダンマル樹脂の安全性評価のために1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験を開始した。最高用量は2%に設定した。ダンマル樹脂は固形飼料調製にともなう熱処理過程においても安定であるものと確認し、固形飼料で投与することとした。現在、順調に試験が遂行されている。

### 2. L-アスパラギンの90日間反復投与毒性試験 分担報告書参照

### 3. L-アスパラギン酸の90日間反復投与毒性試験 分担報告書参照

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Wei, M., Hori, T., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kang, J. S., Puatanachokchai, R. and Fukushima, S.: Existence of no-observed effect levels for 2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4, 5-f]quinoxaline on hepatic preneoplastic lesion development in BN rats. *Cancer Letters*, 231, 304-308, 2006.

Romanenko, A., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Vozianov, A. and Fukushima, S.: Aberrant expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in association with transforming growth factor- $\beta$ 1 in urinary bladder lesions in humans after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.*, 97, 45-50, 2006.

Shen, J., Wanibuchi, H., Waalkes, M. P., Salim, E. I., Kinoshita, A., Yoshida, K., Endo, G. and Fukushima, S.: A comparative study of the sub-chronic toxic effects of three organic arsenical compounds on the urothelium in F344 rats; gender-based differences in response. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 210, 171-180, 2006.

Kang, J. S., Morimura, K., Toda, C., Wanibuchi, H., Wei, M., Kojima, N. and Fukushima, S.: Testicular toxicity of DEHP, but not DEHA, is elevated under conditions of thioacetamide-induced liver damage. *Reproductive Toxicology*, 21, 253-259, 2006.

Romanenko, A. M., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M., Zaparin, W. K., Vinnichenko, W. I., Vozianov, A. F. and Fukushima, S.: Involvement of ubiquitination and sumoylation in bladder lesions induced by persistent long-term low dose ionizing radiation in humans. *The Journal of Urology*, 175, 739-743, 2006.

Hagihara, A., Wanibuchi, H., Puatanachokchai, R., Kang, J. S., Miyazi, N., Seki, S. and Fukushima, S.: Difference in sensitivity of F344 rats from different breeders to phenobarbital hepatocarcinogenicity. *J Toxicol Pathol*, 19, 29-36, 2006.

Kang, J. S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Totsuka, Y., Yoshimura, I. and Fukushima, S.: Existence of a no effect level for MelQx hepatocarcinogenicity on background of thioacetamide-induced liver damage in rats. *Cancer Sci*, 97, 453-458, 2006.

Kushida, M., Aiso, S., Morimura, K., Wei, M., Wanibuchi, H., Nagano, K. and Fukushima, S.: Absence of  $\beta$ -Catenin Alteration in Hepatic Tumors Induced by p-Nitroanisole in Crj:BDF1 Mice. *Toxicologic Pathology*, 34, 237-242, 2006.

Wanibuchi, H., Wei, M., Karim, M. R., Morimura, K., Doi, K., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Existence of no hepatocarcinogenic effect levels of 2-amino-3, 8-dimethylimidazo [4, 5-f] quinoxaline with or without coadministration with ethanol. *Toxicologic Pathology*, 34, 232-236, 2006.

Waddell, W. J., Fukushima, S. and Williams, G. M.: Concordance of thresholds for carcinogenicity of N-nitrosodierhylamine. *Arch Toxicol*, 80, 305-309, 2006.

Uda, N., Kashimoto, N., Sumioka, I., Kyo, E., Sumi, S. and Fukushima, S.: Aged garlic extract inhibits development of putative preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *American Society for Nutrition*, 855S-860S, 2006.

Kitano, M., Chen, Tian-Xin., Morimura, K., Wei, M., Hidaka, T., Hosoe, K. and Fukushima, S.:

Biphasic increase of epithelial DNA synthesis in the urinary bladder of rats treated with a tumor promoter, sodium L-ascorbate. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 53-56, 2006.

Kitano, M., Wada, J., Ariki, Y., Kato, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T., Hosoe, T. and Fukushima, S.: Possible tumor development from double positive foci for TGF- $\alpha$  and GST-P observed in early stages on rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci.*, 97, 478-483, 2006.

Mori, S., Murai, T., Wanibuchi, H., Hagihara, A., Puatanachokchai, P. and Fukushima, S.: Susceptibility of four F<sub>1</sub> hybrids of male rats to the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J. Toxicol. Pathol.* 19, 87-91, 2006.

Puatanachokchai, R., Morimura, K., Wanibuchi, H., Oka, M., Kinoshita, A., Fukui, M., Yamaguchi, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. *Cancer Lett.*, 240, 102-113, 2006.

Nakajima, Y., Endo, Y., Inoue, Y., Yamanaka, K., Kato, K., Wanibuchi, H. and Endo, G.: Ingestion of Hijiki seaweed and risk of arsenic poisoning<sup>+</sup>. *Appl. Organometal Chem.*, 20, 557-564, 2006.

Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M. and Fukushima, S.: Hormesis in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 111-122, 2006.

Romanenko, A. M., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Takahashi, S., Zaporin, W. K., Vinnichenko, W. K., Vozianov, A. F. and Fukushima S.: Upregulation of fibroblast growth factor receptor 3 and epidermal growth factor receptors, in association with Raf-1, in urothelial dysplasia and carcinoma in situ after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.* 97, 1168-1174, 2006.

Yokohira M, Takeuchi H, Yamakawa K, Saoo K,

Matsuda Y, Zeng Y, Hosokawa K, Maeta H, and Imaida K. A COX-2 Inhibitor, SC58125, Promotes Liver Carcinogenesis in a Rat Medium-Term Liver Bioassay, Possibly due to Induction of CYP 2B1 and 3A1, *Journal of Toxicologic Pathology* 19: 37-45, 2006.

Kinoshita Y, Kuratsukuri K, Landas S, Imaida K, Rovito PM Jr, Wang CY, Haas GP. Expression of prostate-specific membrane antigen in normal and malignant human tissues. *World J Surg.*, 30:628-636, 2006.

Takeuchi H, Saoo K, Matsuda Y, Yokohira M, Yamakawa K, Zeng Y, Miyazaki M, Fujieda M, Kamataki T, Imaida K. Dose dependent inhibitory effects of dietary 8-methoxypsoralen on NNK-induced lung tumorigenesis in female A/J mice. *Cancer Lett.*, 234: 232-238, 2006.

Matsuda Y, Saoo K, Hosokawa K, Yamakawa K, Yokohira M, Zeng Y, Takeuchi H, Imaida, K. Post-initiation chemopreventive effects of dietary bovine lactoferrin on 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis in female A/J mice. *Cancer Letters*, 246:41-46, 2007.

Yokohira M, Takeuchi H, Yamakawa K, Saoo K, Matsuda Y, Zeng Y, Hosokawa K, Imaida K. Bioassay by intratracheal instillation for detection of lung toxicity due to fine particles in F344 male rats. *Exp Toxicol Pathol.* 58: 211-221, 2007.

## 2. 学会発表

Wanibuchi, H., Wei, M., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Carcinogenicity of Dimethylarsenic Acid and its Underlying Mechanisms. APOCP General Assembly Satellite Meeting 'Modeling for Detection of Environmental Carcinogens and Modifying Agents in the Asian Pacific', November. 6-7, Chiang Mai Orchid Hotel, Thailand, 2006.

魏 民、鰐淵英機、木下アンナ、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治：ジメチルアルシン酸による誘発ラット膀胱がんの遺伝子発現解析。第22回日本病理学会，4月30日-5月2日，東京，

2006 (日本病理学会誌第 95 巻第 1 号 P1-H-3, p. 247)

土井賢一郎、魏 民、柚木孝之、萩原淳司、鰐淵英機、福島昭治：AOM-PhIP 誘発ラット大腸腺癌組織における、3 次元マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析。第 95 回日本病理学会総会，4 月 30 日-5 月 2 日，東京，2006 (日本病理学会誌第 95 巻第 1 号 P2-I-135, p. 339)

鰐淵英機：ヒ素による発がん発がん機序。平成 17 年度お茶の水女子大学「化学・生物総合管理の再教育講座」化学物質総合評価学持論 1，6 月 21 日，東京，2006

鰐淵英機：ラット肝発がんにおける誘発した GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析。第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会，7 月 3-5 日，名古屋，2006 (第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会プログラムランチョン 1, p. 72)

木下アンナ、魏 民、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝中期発癌モデル (伊東法) におけるバレリアンによる肝発癌抑制作用の検討。第 13 回日本がん予防学会，7 月 6-7 日，京都，2006 (第 13 回日本がん予防学会プログラム・抄録集 p-30, p. 37)

柚木孝之、魏 民、木下アンナ、土井賢一郎、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：イソロイシン、ロイシンの膀胱発癌修飾作用の検討。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-001, p. 66)

大森雅子、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、土井賢一郎、加藤あゆみ、増村健一、能美健彦、福島昭治、鰐淵英機：gpt delta ラット肝における 1,4-ジオキサンの発がん性および変異原性。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-006, p. 66)

木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝発がんにおいて誘発した GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-044, p. 67)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：マウ

ス肝発がんにおけるバイオマーカーの検索。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-045, p. 68)

土井賢一郎、田中雅彰、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、渡辺恭良、福島昭治、鰐淵英機：ラット水浸疲労モデルの病理学的解析：疲労が生体に及ぼす影響、ならびに胃発がんを促進する可能性について。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-396, p. 105)

魏 民、柚木孝之、木下アンナ、土井賢一郎、福島昭治、鰐淵英機：BBN 誘発ラット膀胱発癌におけるジメチルアルシン酸による発癌促進作用に対するアスコルビン酸の修飾効果。第 65 回日本癌学会学術総会，9 月 28-30 日，横浜，2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-774, p. 176)

今井田克己、松田陽子、竿尾光祐、横浜政直、鎌滝哲也、ワークショップ 7「個別化医療に向けた肺癌研究の最前線」、ヒト肺癌組織における CYP2A6 の発現、第 95 回日本病理学会総会、東京 (2006. 4)

松田陽子、竿尾光祐、横浜政直、中野正行、今井田克己、神経内分泌分化を示す腺構造と広範な肉腫様変化を示した胃悪性腫瘍の一例、第 95 回日本病理学会総会、東京 (2006. 4)

山川けいこ、松田陽子、竿尾光祐、横浜政直、大内里恵、長谷川和子、木内重巳、中野正行、今井田克己、肉腫様変化と神経内分泌分化を示す胃低分化腺癌の 1 例、第 47 回日本臨床細胞学会総会、横浜 (2006. 6)

横平政直、山川けいこ、細川京子、松田陽子、谷内田真一、竿尾光祐、久野壽也、今井田克己、ラット中期多臓器発がん性試験法を用いたアカネ色素の発がん修飾作用、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006. 9)

久野壽也、山田泰広、廣瀬善信、浅野奈美、尾山武、富田弘之、原明、今井田克己、森 幸雄、森秀樹、1,2-dimethylhydrazine (DMH) 誘発ラット大腸前がん病変に対する 6-Methylsulfinylhexylisothiocyanate (6-MSITC) の抑制効果、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006. 9)



細川京子、松田陽子、山川けいこ、横平 政直、竿尾光祐、久野壽也、今井田克己、A/J 雌マウスにおける MeIQx 誘発肺腫瘍と大腸 aberrant crypt foci (ACF) に対する高脂肪食の影響、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006.9)

山川けいこ、横平政直、竹内聖、松田陽子、竿尾光祐、細川京子、久野壽也、鎌滝哲也、今井田克己、CYP2A6 阻害剤 8-methoxypsoralen による NNK 誘発肺腺癌の抑制作用の検討、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006.9)

松田陽子、細川京子、山川けいこ、横平政直、竿尾光祐、久野壽也、今井田克己、MeIQx で誘発される肺および大腸の腫瘍性病変に対する bovine lactoferrin の抑制作用、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006.9)

谷内田真一、岡野圭一、若林久男、横平政直、竿尾光祐、今井田克己、肝多段階発癌過程における p27 とその関連細胞周期シグナル(Jab1 と Skp2) の遺伝子発現とその臨床的意義、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006.9)

北橋宗、高橋真美、板野克久、山川けいこ、横平政直、今井田克己、杉村隆、若林敬二、肺発がん動物モデルにおける EGFR および K-ras 遺伝子変異の検索、第 65 回日本癌学会学術集会、横浜 (2006.9)

横平政直、山川けいこ、細川京子、松田陽子、竿尾光祐、久野壽也、今井田克己、経気管内各種微粒子の肺に対する毒性評価～投与量および投与方法の検討、第 23 回日本毒性病理学会、東京 (2007.1)

松田陽子、横平政直、鈴木智、細川京子、山川けいこ、久野壽也、今井田克己、キダチアロエ抽

出物の 1 年間慢性毒性試験、第 23 回日本毒性病理学会、東京 (2007.1)

Imaida K, "Lung models for risk assessment" in "Modeling for Detection of Environmental Carcinogens and Modifying Agents in the Asian Pasific", APOCP General Assembly Satellite Meeting, Chiang Mai, Thailand (2006.11)

Kuno T, Yokohira M, Matsuda Y, Mori H, Mori Y, Imaida K, "Chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic preneoplastic lesion development in Fischer rats by a Wasabi derivative, 6-methylsulfinyl heyl-isothiocyanate" in "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" 7th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Hawaii, USA (2007.1)

Yokohira M, Yamakawa K, Kuno T, Saoo K, Matsuda Y, Zeng Y, Hosokawa K, Imaida K, "Modifying potentials of dietary D-psicose and D-allose, rare sugars, on liver carcinogenesis in a rat medium-term bioassay" in "International Symposium on Rare Sugar", Takamatsu, Japan (2006.11)

#### <その他>

H. 知的所有権の取得状況  
特許取得  
なし  
実用新案登録  
なし  
その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)  
既存添加物等の安全性に関する研究  
平成 18 年度分担研究報告書

ダンマル樹脂の発がん性等に関する研究

分担研究者：鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科教授

研究要旨：本研究では安全性が確認されていない既存添加物のうち、ラット肝発がん促進作用が明らかになったダンマル樹脂について、1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験をラットに施行し、3年間かけてその安全性を評価することとした。本年度は、品質性の保証された標準検体の入手と本試験の用量の設定、添加飼料での安定性等が検討された。ダンマル樹脂粉末（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社供与）を入手した。ダンマル樹脂の飼料への添加、安定性を検索した結果、固形飼料の一ヶ月保存品に含量のばらつきや減少が認められなかったため、本実験では固形飼料での投与と決定した。投与用量は、本年度に行った28日間反復投与毒性試験の結果と、これまでに施行された90日間反復投与毒性試験およびラット肝中期発がん性試験の結果に基づいて、1年間反復投与毒性試験では0、0.03%、0.125%、0.5%、2%を、2年間発がん性試験では0、0.03%、0.5%、2%を設定した。F344の雌雄ラット計500匹を用いた本試験を平成18年11月より開始し、現在動物実験は順調に進行中である。

#### A. 研究目的

ダンマル樹脂はフタバガキ科又はナンヨウスギ科の分泌液より、熱時エタノール又は酢酸エチルで抽出し、ろ液から溶媒を留去し、乾燥して得られたものである。ダンマル樹脂の主成分は多糖類であり、飲料、冷菓、チューインガムなどに天然食品添加物質（増粘安定剤、ガムベース）として使用されている。

一方、ダンマル樹脂の90日反復投与毒性試験においては0.125%および2%群でラット肝重量の有意な増加が認められた。また、ラット肝中期発がん性試験においては0.125%から肝発がんプロモーション作用を示した。これらの結果を踏まえて、さらにダンマル樹脂が食品添加物としてヒトが長期にわたって摂取する可能性があることを考慮すると、ダンマル樹脂の安全性については、さらに長期間の投与による評価を行う必要がある。そこで、本研究では1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験をラットに施行し、3年間かけてその安全性を評価することとした。

#### B. 研究方法

##### <被験物質>

ダンマル樹脂粉末は、三栄源エフ・エフ・アイ株式会社により供与された。

##### <投与量の設定>

これまでに2%以上の用量を用いたダンマル樹脂の安全性評価試験まだ行われていない。1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験に用いるダンマル樹脂の最高用量を設定するために、28日間反復投与毒性試験を行った。すなわち、雌

雄のF344ラットにダンマル樹脂を0、2%および5%の用量で混餌投与した。その結果、雄の5%群では強い体重増加の抑制が認められ(表1)、5%群は1年間反復投与毒性試験あるいは2年間発がん性試験には応用できないことが明らかとなった。したがって、本試験に用いるダンマル樹脂の投与量は、90日反復投与毒性試験およびラット肝中期発がん性試験の結果の結果に基づき、最高用量をダンマル樹脂含量として2%として、1年間反復投与毒性試験には0、0.03%、0.125%、0.5%、2%を、2年間発がん性試験には0、0.03%、0.5%、2%の用量に設定した。

##### <被験物質の安定性>

28日間反復投与毒性試験を行った同時に、初発と一ヶ月保存後の各濃度のダンマル樹脂添加の粉末飼料および固形基礎飼料中のその含量をガスクロマトグラフィー法にて測定し、検体の飼料への添加、安定性を検索した。ダンマル樹脂はオリエンタルMF基礎飼料に規定量混ぜたものを検体として使用した。被験物質の飼料への添加、固形化はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供した。

##### <動物並びに飼育条件>

5週齢のF344ラット雌雄各250匹を日本チャールズリバー株式会社から入手し、約1週間の馴化飼育後、6週齢にて試験に供した。動物数は、1年間反復投与毒性試験について1群当り雌雄各10匹、2年間発がん性試験について1群当たり雌雄各50匹を用いる。動物の飼育は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設のバリアーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度24

±2℃、湿度 60±10%、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行う。動物はプラスチックケージに 3 匹ずつ飼育し、飲料水として、水道水を自由摂取させる。ケージおよびチップを週 1 回交換する。

#### <観察並びに検索方法>

食品添加物の 1 年間反復投与毒性試験法ガイドラインならびにがん原性試験法ガイドラインに準じて行う。観察並びに検索項目は以下の通りである。

##### [一般状態、体重、摂餌量]

全動物は、一般状態を毎日観察し、投与開始の 13 週後まで週 1 回体重および摂餌量を測定し、その後について 1 ヶ月に 1 回測定する。1 日あたりのダンマル樹脂摂取量 (mg/kg/day) は、その結果より算出する。

##### 【血液学的および血液生化学的検査】

1 年間反復投与毒性試験では、全生存動物を対象として、血液学的及び血液生化学的検査を実施する。動物は、採血の前日午後 5 時より絶食させ、解剖時腹部大動脈より採血する。血液学的検査として、赤血球数、白血球数、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値等を測定する。血液生化学的検査として、総蛋白、アルブミン、A/G 比、コレステロール、中性脂肪、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、アルカリホスファターゼ、電解質等を測定する。

##### [病理組織学的検査]

1 年間反復投与毒性試験については 12 ヶ月の投与終了後に、2 年間発がん性試験については 24 ヶ月の投与終了後に、それぞれ全生存例を安楽死させて詳細な剖検を行う。

剖検においては、以下に示す器官・臓器を採取し、下線を付したものについて重量を測定した後、全てを 10%中性緩衝ホルマリン液により固定する。ただし、精巣および眼球については、必要に応じて適切な固定液を用いることがある。採取する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・**胸腺**・気管・**肺**・**心**・甲状腺および上皮小体(固定後)・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・**肝**・**膵**・**脾**・**腎**・**副腎**・膀胱・精囊・前立腺・**精巣**・**精巣**上体・**卵巣**および卵管・子宮・**膈**・**脳**・下垂体・坐骨神経・大腿筋・**脊髄**(頸部および腰部)・**眼球**およびハーダー腺・**大腿骨**・**胸骨**・**頭蓋骨**および**鼻腔**・その他の肉眼的異常部位である。

死亡例および瀕死による切迫屠殺例については、上記と同様に解剖し死因を究明するが、重量の測定は実施しない。切迫例については、可能な限り末梢血の塗抹標本を作製する。

病理組織学的検索は、対照群および高用量群の全動物について、以下に示す器官・組織の固定標本から切り出しを行い、通常の方法でパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキリシン/エオジン染色を施して鏡検する。該当する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・鼻腔・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・肝・膵・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上体・卵巣および卵管・子宮・膈・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・その他の肉眼的異常部位である。その他の用量群の全動物については、胸腺・肺・肝・脾・腎・副腎・精巣・卵巣とその他の肉眼的異常部位および高用量群において投与に関連した異常が観察された器官・組織について、上述と同様の方法で病理組織学的検査を行なう。

##### [統計学的解析]

体重・摂餌量・臓器重量・血液学的および血清生化学的検査結果については、ANOVA による解析を行い、群間に有意差が観察された場合に、Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群の間で検定を行なう。尿検査と病理組織学的検査結果については、Fischer の直接確率検定法を用いて統計学的解析を実施する。なお、腫瘍および前がん病変については、必要に応じて別途検定方法を選択して行う。

#### <倫理面への配慮>

大阪市立大学の動物飼育施設における動物実験取り扱い規約に基づき、動物を飼育する。屠殺は動物に苦痛を与えないためにエーテル麻酔下にて実施する。

#### C. 研究結果

28 日間反復投与毒性試験の結果により、5%群は 1 年間反復投与毒性試験あるいは 2 年間発がん性試験には応用できないことが明らかとなった(表 1)。ダンマル樹脂の投与量は、1 年間反復投与毒性試験では 0、0.03%、0.125%、0.5%、2%に、2 年間発がん性試験では 0、0.03%、0.5%、2%に決定した。また、各添加量の粉末および固形飼料中のダンマル樹脂の含量を検索した結果、初期値はいずれも配合値通りであった。一ヶ月保存品においても含量の低下は認められなかった(表 2)。よって、本実験では、固形飼料で投与することとした。平成 18 年 11 月より試験を開始し、雌雄とも 2%ダンマル樹脂投与群で体重増加の抑制(表 3、表 6)と、摂水量の増加が認められているものの(表 5、表 8)、動物の一般状態は良好で試験は順調に進行して

いる。

#### D. 考察

天然添加物のダンマル樹脂の1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験を開始した。本研究で得られた結果はダンマル樹脂の毒性、安全性に関する基礎的なデータが得られるものと期待される。

#### E. 結論

ダンマル樹脂の安全性評価のために1年間反復投与毒性試験および2年間発がん性試験を開始した。最高用量は2%に設定した。ダンマル樹脂は固形飼料調製にともなう熱処理過程においても安定であるものと確認し、固形飼料で投与することとした。

F. 健康危険情報  
なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Wei, M., Hori, T., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kang, J. S., Puatanachokchai, R. and Fukushima, S.: Existence of no-observed effect levels for 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline on hepatic preneoplastic lesion development in BN rats. *Cancer Letters*, 231, 304-308, 2006.

Romanenko, A., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Vozianov, A. and Fukushima, S.: Aberrant expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in association with transforming growth factor- $\beta$ 1 in urinary bladder lesions in humans after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.*, 97, 45-50, 2006.

Shen, J., Wanibuchi, H., Waalkes, M. P., Salim, E. I., Kinoshita, A., Yoshida, K., Endo, G. and Fukushima, S.: A comparative study of the sub-chronic toxic effects of three organic arsenical compounds on the urothelium in F344 rats; gender-based differences in response. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 210, 171-180, 2006.

Kang, J. S., Morimura, K., Toda, C., Wanibuchi, H., Wei, M., Kojima, N. and Fukushima, S.: Testicular toxicity of DEHP, but not DEHA, is elevated under conditions of thioacetamide-induced liver damage.

*Reproductive Toxicology*, 21, 253-259, 2006.

Romanenko, A. M., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M., Zaparin, W. K., Vinnichenko, W. I., Vozianov, A. F. and Fukushima, S.: Involvement of ubiquitination and sumoylation in bladder lesions induced by persistent long-term low dose ionizing radiation in humans. *The Journal of Urology*, 175, 739-743, 2006.

Hagihara, A., Wanibuchi, H., Puatanachokchai, R., Kang, J. S., Miyazi, N., Seki, S. and Fukushima, S.: Difference in sensitivity of F344 rats from different breeders to phenobarbital hepatocarcinogenicity. *J Toxicol Pathol*, 19, 29-36, 2006.

Kang, J. S., Waniuchi, H., Morimura, K., Totsuka, Y., Yoshimura, I. and Fukushima, S.: Existence of a no effect level for MeIQx hepatocarcinogenicity on background of thioacetamide-induced liver damage in rats. *Cancer Sci*, 97, 453-458, 2006.

Kushida, M., Aiso, S., Morimura, K., Wei, M., Wanibuchi, H., Nagano, K. and Fukushima, S.: Absence of  $\beta$ -Catenin Alteration in Hepatic Tumors Induced by p-Nitroanisole in Crj:BDF1 Mice. *Toxicologic Pathology*, 34, 237-242, 2006.

Wanibuchi, H., Wei, M., Karim, M. R., Morimura, K., Doi, K., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Existence of no hepatocarcinogenic effect levels of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline with or without coadministration with ethanol. *Toxicologic Pathology*, 34, 232-236, 2006.

Waddell, W. J., Fukushima, S. and Williams, G. M.: Concordance of thresholds for carcinogenicity of N-nitrosodierhylamine. *Arch Toxicol*, 80, 305-309, 2006.

Uda, N., Kashimoto, N., Sumioka, I., Kyo, E., Sumi, S. and Fukushima, S.: Aged garlic extract inhibits development of putative preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *American Society for Nutrition*, 855S-860S, 2006.

Kitano, M., Chen, Tian-Xin., Morimura, K., Wei, M., Hidaka, T., Hosoe, K. and Fukushima, S.: Biphasic increase of epithelial DNA synthesis in the urinary bladder of rats treated with a tumor promoter, sodium L-ascorbate. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 53-56, 2006.

Kitano, M., Wada, J., Ariki, Y., Kato, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T., Hosoe, T. and Fukushima, S.: Possible tumor development from double positive foci for TGF- $\alpha$  and GST-P observed in early stages on rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci.*, 97, 478-483, 2006.

Mori, S., Murai, T., Wanibuchi, H., Hagihara, A., Puatanachokchai, P. and Fukushima, S.: Susceptibility of four F<sub>1</sub> hybrids of male rats to the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 87-91, 2006.

Puatanachokchai, R., Morimura, K., Wanibuchi, H., Oka, M., Kinoshita, A., Fukui, M., Yamaguchi, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. *Cancer Lett.*, 240, 102-113, 2006.

Nakajima, Y., Endo, Y., Inoue, Y., Yamanaka, K., Kato, K., Wanibuchi, H. and Endo, G.: Ingestion of Hijiki seaweed and risk of arsenic poisoning<sup>+</sup>. *Appl. Organometal Chem.*, 20, 557-564, 2006.

Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M. and Fukushima, S.: Hormesis in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 111-122, 2006.

Romanenko, A. M., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Takahashi, S., Zaporin, W. K., Vinnichenko, W. K., Vozianov, A. F. and Fukushima, S.: Upregulation of fibroblast growth factor receptor 3 and epidermal growth factor receptors, in association with Raf-1, in urothelial dysplasia and carcinoma in situ after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.*, 97, 1168-1174, 2006.

## 2. 学会発表

Wanibuchi, H., Wei, M., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Carcinogenicity of Dimethylarsenic Acid and its Underlying Mechanisms. APOCP General Assembly Satellite Meeting 'Modeling for Detection of Environmental Carcinogens and Modifying Agents in the Asian Pacific', November. 6-7, Chiang Mai Orchid Hotel, Thailand, 2006.

魏 民、鰐淵英機、木下アンナ、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治：ジメチルアルシン酸による誘発ラット膀胱がんの遺伝子発現解析。第22回日本病理学会，4月30日-5月2日，東京，2006（日本病理学会誌第95巻第1号P1-H-3，p.247）

土井賢一郎、魏 民、柚木孝之、萩原淳司、鰐淵英機、福島昭治：AOM-PhIP 誘発ラット大腸腺癌組織における、3次元マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析。第95回日本病理学会総会，4月30日-5月2日，東京，2006（日本病理学会誌第95巻第1号P2-I-135，p.339）

鰐淵英機：ヒ素による発がん発がん機序。平成17年度お茶の水女子大学「化学・生物総合管理の再教育講座」化学物質総合評価学持論1，6月21日，東京，2006

鰐淵英機：ラット肝発がんにおける誘発したGST-P陽性細胞巢のプロテオーム解析。第33回日本トキシコロジー学会学術年会，7月3-5日，名古屋，2006（第33回日本トキシコロジー学会学術年会プログラムランチョン1，p.72）

木下アンナ、魏 民、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝中期発癌モデル（伊東法）におけるバレイアンによる肝発癌抑制作用の検討。第13回日本がん予防学会，7月6-7日，京都，2006（第13回日本がん予防学会プログラム・抄録集 p-30，p.37）

柚木孝之、魏 民、木下アンナ、土井賢一郎、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：イソロイシン、ロイシンの膀胱発癌修飾作用の検討。第65回日本癌学会学術総会，9月28-30日，横浜，2006（第65回日本癌学会学術総会プログラム P-001，p.66）

大森雅子、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、土井賢一郎、加藤あゆみ、増村健一、能美健彦、福島

昭治、鰐淵英機：gpt delta ラット肝における 1,4-ジオキサンの発がん性および変異原性. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-006, p. 66)

木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝発がんにおいて誘発した GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-044, p. 67)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：マウス肝発がんにおけるバイオマーカーの検索. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-045, p. 68)

土井賢一郎、田中雅彰、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、渡辺恭良、福島昭治、鰐淵英機：ラット水浸疲労モデルの病理学的解析：疲労が生体に及

ぼす影響、ならびに胃発がんを促進する可能性について. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-396, p. 105)

魏 民、柚木孝之、木下アンナ、土井賢一郎、福島昭治、鰐淵英機：BBN 誘発ラット膀胱発癌におけるジメチルアルシン酸による発癌促進作用に対するアスコルビン酸の修飾効果. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-774, p. 176)

<その他>

H. 知的所有権の取得状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

表 1. 28 日間反復投与毒性試験における最終体重、肝臓、腎臓および脾臓重量

Danmar (g)	Liver weight		kidney weight		Spleen weight		
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)	
Male							
0	235 ± 7	9.65 ± 0.53	4.10 ± 0.18	1.75 ± 0.11	0.74 ± 0.04	0.57 ± 0.03	0.24 ± 0.01
2%	218 ± 7*	10.04 ± 0.54	4.62 ± 0.19*	1.68 ± 0.10	0.77 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.25 ± 0.02
5%	199 ± 9*	10.63 ± 0.61*	5.34 ± 0.21*	1.60 ± 0.10*	0.80 ± 0.06*	0.48 ± 0.03*	0.24 ± 0.01
Female							
0	148 ± 3	5.13 ± 0.15	3.47 ± 0.04	1.11 ± 0.05	0.75 ± 0.03	0.39 ± 0.03	0.27 ± 0.01
2%	144 ± 3	7.12 ± 0.42 <sup>Δ</sup>	4.94 ± 0.24 <sup>Δ</sup>	1.14 ± 0.05	0.79 ± 0.04	0.39 ± 0.03	0.27 ± 0.02
5%	140 ± 7 <sup>Δ</sup>	7.61 ± 0.51 <sup>Δ</sup>	5.43 ± 0.31 <sup>Δ</sup>	1.12 ± 0.10	0.80 ± 0.05 <sup>Δ</sup>	0.38 ± 0.03	0.27 ± 0.01

\* Significantly different from group 1

<sup>Δ</sup> Significantly different from group 4

表 2. 調整試料中におけるダンマル樹脂の濃度および安定性

飼料	添加濃度(%)	採取区	基礎飼料中ダンマル樹脂濃度(%)	
			初発	1ヶ月
粉末	0	—	0.000±0.000	0.000±0.000( — )
	0.03	上	0.031±0.002	—
		中	0.031±0.002	0.031±0.001(100)
		下	0.031±0.002	—
	0.125	上	0.129±0.001	—
		中	0.129±0.001	0.125±0.001( 97)
		下	0.133±0.001	—
	0.5	上	0.50 ±0.006	—
		中	0.48 ±0.006	0.48 ±0.006(100)
		下	0.48 ±0.000	—
	2	上	2.07 ±0.030	—
		中	2.01 ±0.012	2.02 ±0.032(100)
下		2.12 ±0.026	—	
5	上	5.07 ±0.046	—	
	中	5.13 ±0.054	4.98 ±0.053( 97)	
	下	5.03 ±0.078	—	
固形	0.03		0.032±0.002	0.031±0.002( 97)
	0.125		0.127±0.006	0.128±0.001(101)
	0.5		0.46 ±0.006	0.48 ±0.006(104)
	2		2.12 ±0.021	2.02 ±0.031( 95)
	5		4.91 ±0.055	5.05 ±0.053(103)

表中( )内の数値は、初発に対する残存率(%)を示す。



表3. 1年間反復投与毒性試験におけるラットの体重

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	10	115.1	163.4	195.3	222.1	237.9	261.4	278.7	290.3	300.8	309.9	318.6	327	334.8	338.4	360
MALE	2	0.03	10	115.1	165.5	199.4	227.3	245.2	270	287.1	301.2	314.6	326.6	336.4	346	354.7	359.4	384.6
MALE	3	0.125	10	115.6	165.1	198.5	226.9	244.4	269.3	284.9	299.4	310.8	320.7	329.6	338.2	346.2	349.2	374.1
MALE	4	0.5	10	114.9	162.6	196.4	223.2	240.8	264.6	281.1	294.4	305	315.5	325.3	333.1	340.5	345.9	370
MALE	5	2	10	115.9	156.6	184.5	209.8	224.5	247.1	260	271	280.3	287.4	295.1	302.3	307.9	311.3	332.3
FEMALE	6	0	10	92.4	117.1	130	140.9	146.2	158.3	164.4	168.7	172.1	174.4	179.3	182.2	184.9	184.7	190.2
FEMALE	7	0.03	10	93.2	118	133.2	142.2	149.2	159.1	167.2	171.1	175.2	179.9	182.5	185.9	188.7	188.6	197.2
FEMALE	8	0.125	10	92.8	116.8	131.4	141	148.8	160.8	167.3	171.9	176.5	180	183.6	185.9	188.1	190.4	197.9
FEMALE	9	0.5	10	92.1	116.4	130.2	141	145.9	156.9	164.3	167.8	173.6	176.8	179.4	182.6	185.1	186.5	192
FEMALE	10	2	10	92.1	112.2	127.7	137	141.4	150.4	155.4	159	162.9	166.1	168.6	172.8	175.9	175.3	181.7

表4. 1年間反復投与毒性試験におけるラットの摂餌量

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	10	12.9	14.0	15.0	15.1	15.2	15.3	13.9	13.9	13.7	13.1	13.5	12.9	13.1	12.6	13.5
MALE	2	0.03	10	13.4	14.7	15.7	15.1	15.9	14.5	15.1	14.6	14.7	14.0	14.5	13.9	14.3	13.9	14.4
MALE	3	0.125	10	13.7	14.8	15.5	15.4	15.9	14.8	15.3	14.8	14.0	13.5	14.1	13.2	13.6	13.1	14.0
MALE	4	0.5	10	13.8	14.5	15.4	15.6	15.9	14.3	15.1	14.5	14.6	13.5	14.0	13.5	12.9	12.5	14.0
MALE	5	2	10	13.1	14.5	14.7	15.4	15.0	13.3	14.0	13.7	12.7	12.0	13.1	12.1	13.2	12.0	13.9
FEMALE	6	0	10	9.8	9.8	10.6	9.3	10.5	9.6	9.5	9.2	9.0	10.2	9.1	8.8	8.7	8.0	8.5
FEMALE	7	0.03	10	10.3	10.5	10.8	10.4	10.3	10.3	9.7	9.9	9.4	9.2	9.0	8.8	9.4	8.1	9.1
FEMALE	8	0.125	10	9.9	10.2	10.8	10.0	10.8	10.7	10.1	10.6	9.3	9.0	9.0	9.3	9.7	9.2	9.6
FEMALE	9	0.5	10	10.7	10.2	10.9	10.5	10.5	8.6	9.7	9.6	9.6	9.3	9.5	8.9	10.0	8.3	9.1
FEMALE	10	2	10	10.0	10.0	10.4	10.5	10.3	9.1	9.2	8.9	8.8	8.9	8.9	8.7	9.0	8.3	9.2

表5. 1年間反復投与毒性試験におけるラットの飲水量

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	10	19.3	20.85	21.95	21.65	22.1	20.78	19.95	20.45	20.28	19.9	21.85	19.33	19.4	18.48	18.45
MALE	2	0.03	10	20.6	21.78	23.18	23.3	23.2	22.08	21.13	21.13	21.83	21.18	21.4	20.25	20.15	19.25	18.83
MALE	3	0.125	10	20.23	21.55	22.38	22.83	22.7	21.7	21.1	20.98	20.98	20.73	20.63	19.65	19.93	18.93	18.13
MALE	4	0.5	10	20.43	22.68	24.18	24.25	24.2	22.7	21.9	22.28	22.18	22.13	22.2	21.25	21.6	19.65	19.9
MALE	5	2	10	18.78	21.28	23.53	24.13	24.15	23.05	22.13	23.48	23.38	22.4	24.83	22.65	23.8	22.25	21.88
FEMALE	6	0	10	16.45	17.15	16.3	16.35	16.95	16.13	15.53	15.38	16.78	16.05	16.75	15.3	15	14.4	14.63
FEMALE	7	0.03	10	16.98	17.48	16.68	16.8	16.55	16.35	15.43	15.58	16.18	15.95	15.85	14.9	15.4	13.78	14.45
FEMALE	8	0.125	10	15.68	16.6	16.15	15.78	15.93	15.88	14.78	15.6	16.4	15.33	15.43	14.88	15.03	13.98	13
FEMALE	9	0.5	10	16.45	16.55	16.43	16.33	16.55	15.68	14.85	15.7	16.73	16.25	16.25	15.33	15.5	14.43	13.48
FEMALE	10	2	10	14.7	15.48	17.18	17.28	18.55	17.2	15.58	16.28	19.58	17.35	18.1	16	17.13	16.03	15.1

表6. 2年間発がん性試験におけるラットの体重

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	50	112.7	162.1	195.5	222.3	241.1	260.9	275.7	288.4	299.2	308.8	315.9	323.1	329.6	334.5	354.5
MALE	2	0.03	50	113	163.5	198.7	227.7	246.1	267.4	284.3	298.5	309.9	321	328.9	338.2	345.8	352.6	376.8
MALE	3	0.5	50	113.2	164.1	200	228.4	248.6	269.8	287	300.4	312.9	323.3	330.7	339	344.9	351.1	373.7
MALE	4	2	50	113.2	156.3	189.8	216.7	235.4	254.2	268.6	282	292.2	302.1	308	315.4	321.1	327.9	346.6
FEMALE	5	0	50	94.1	117.5	132.1	141.1	146.4	158.6	165.1	169.2	172.5	176.9	181.3	183.5	185.8	185.4	191.7
FEMALE	6	0.03	50	93.5	117.5	133	142.5	149	160.6	167.6	171.7	176.5	181.3	185.2	187	190	190.7	199.2
FEMALE	7	0.5	50	93.8	118.3	133.6	144.1	150.6	161	167.8	172.5	175.7	179.7	183.3	185.9	188.6	188	195.2
FEMALE	8	2	50	93.9	114.8	131.2	141	146.1	155.7	161.6	166.5	169.1	173.4	175.8	178.5	181.5	181.8	187.5

表7. 2年間発がん性試験におけるラットの摂餌量

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	50	12.64	13.95	15.04	14.88	15.31	14.45	14.34	14.17	13.91	13.20	13.66	13.06	13.01	12.93	13.65
MALE	2	0.03	50	13.18	14.61	15.45	15.73	16.28	15.35	15.25	15.11	14.78	14.22	14.51	13.79	14.03	13.74	15.02
MALE	3	0.5	50	13.55	15.05	16.11	16.09	16.62	15.62	15.66	15.48	14.95	14.44	14.56	13.95	14.02	13.58	15.24
MALE	4	2	50	12.89	14.57	15.47	15.41	15.94	15.16	14.70	14.92	14.34	13.69	14.02	13.22	13.66	13.02	14.82
FEMALE	5	0	50	9.68	7.09	10.10	9.27	10.10	9.79	9.31	9.10	10.16	8.69	8.95	8.62	8.50	7.95	8.19
FEMALE	6	0.03	50	10.15	9.39	10.51	10.17	10.49	10.01	9.71	9.67	9.45	9.11	9.26	8.88	9.14	8.40	9.00
FEMALE	7	0.5	50	10.54	10.22	10.33	10.26	10.52	9.90	9.73	9.59	9.24	8.85	9.02	8.84	9.12	7.88	8.82
FEMALE	8	2	50	10.19	9.86	10.19	9.72	9.94	9.85	9.21	9.19	8.96	8.43	9.05	8.59	8.72	7.80	8.46

表8. 2年間発がん性試験におけるラットの飲水量

SEX	GROUP	DOSE	No. of rats	WEEK 0	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEEK 17
MALE	1	0	50	19.3	20.38	21.4	21.47	20.88	21.38	20.09	20.3	20.41	19.81	19.74	18.86	19.37	18.19	17.99
MALE	2	0.03	50	20.19	21.26	22.56	22.76	21.85	22.15	21.08	20.95	21.08	20.99	20.18	19.56	20.48	18.81	18.42
MALE	3	0.5	50	20.84	22.88	24.17	23.7	22.66	23.21	21.64	21.81	21.9	21.64	21.19	20.23	20.89	19.22	18.82
MALE	4	2	50	20.06	21.68	23.22	23.7	22.88	24.35	22.25	23.07	23.33	22.67	22.14	21.03	22.55	21.15	20.97
FEMALE	5	0	50	17.39	17.55	16.97	17.52	17.93	17.36	16.38	16.36	17.16	16.18	16.69	15.23	15.7	15.02	14.05
FEMALE	6	0.03	50	17.04	17.25	17.02	17.41	17.37	16.55	15.75	16.12	16.65	16.35	16.22	14.78	15.38	14.37	14.06
FEMALE	7	0.5	50	16.76	17.06	16.81	16.69	16.91	16.25	15.42	15.7	16.36	15.91	16.44	15.08	15.26	14.48	13.61
FEMALE	8	2	50	15.28	16.09	17.36	17.73	18.62	17.48	16.11	16.96	17.67	16.95	18.08	15.48	16.26	15.19	14.39