

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評価に関する研究  
平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 鰐淵 英機  
平成20（2008）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 -----14

鰐渕 英機 (大阪市立大学大学院医学研究科 教授)

2. ダンマル樹脂の発がん促進作用に関する研究 -----55

今井田 克己 (香川大学医学部腫瘍病理学) 教授

3. L-セリンの安全性に関する研究 -----62

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 -----68

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、2年間発がん性試験および多臓器中期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。前年度は、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。また、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。本年度は前年度に引き続き、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継続した。また、ダンマル樹脂の多臓器中期発がん性試験とL-セリンの90日間反復投与毒性試験を開始した。現在までに得られた研究成果は下記の通りである。

- 1) F344 ラットを用いたダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験(投与量、0、0.03%、0.125%、0.5%、2%)および2年間発がん性試験(用量、0、0.03%、0.5%、2%)を継続した。本年度は、1年間慢性毒性試験の動物実験を完了した。その結果、2%群では雌雄ともに体重増加抑制が認められた。0.5%および2%群では雌雄ともに絶対肝重量および相対肝重量が対照群と比較して有意に増加した。肉眼的病理学検査ではダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化および腫瘍性病変は認められなかった。肝臓を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した結果、腫瘍性病変は認められなかったが、雌の0.5%および2%群ではS-トランスフェラーゼ(GST-P)の発現が有意に増加したことが判明した。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。2年間発がん性試験は現在進行中であり、70週間の投与時点では、1年間慢性毒性試験と同様に、2%群の雌雄とも体重増加抑制が認められている。腫瘍の発生については散発的に認められたが、その発生頻度は各群間に有意な差はなかった。(鰐淵)。
- 2) ダンマル樹脂の肝臓以外の他の臓器に対する発がん修飾作用の有無を検討する目的で、多臓器中期発がん性試験を開始した。雄性F344ラットを5群に分け、実験開始時に全群に発がんイニシエーションを目的にDMBDD処置を行った。実験開始第5週目より、1群~5群にダンマル樹脂をそれぞれ0%、0.03%、0.125%、0.5%、2%の濃度で基礎飼料中に混じて経口投与させている。いずれの群も実験開始後32週目で屠殺剖検し、血液生化学的検査および各臓器の病理組織学的検索を行い、ダンマル樹脂の発がん修飾作用の検討を行う予定である。動物実験は進行中である。(今井田)。
- 3) L-セリンの亜慢性毒性の有無を検索する目的で、F344ラットを用いた混餌投与による90日間反復投与毒性試験を開始した。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。被験物質は、味の素株式会社(神奈川)より供与されたL-セリンを用いた。L-セリンは、経口投与によるラットのLD<sub>50</sub>が14g/kg体重以上であることから、栄養学的に添加可能な5.0%を最高とし、以下、公比を約3として1.5%、0.5%の3段階の投与用量を設定した。さらに、健康食品として市販されていてL-セリン含有量の多い製品の1日あたり推奨摂取量から換算した0.06%を、最低用量として追加した。L-セリンの飼料中の安定性を検討した結果、4~5℃保存における30日間の安定性が確認された。動物実験は現在進行中である。(中江)。

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

参事研究員

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日間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年間慢性毒性試験、2年間発がん性試験および多臓器中期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。本年度は前年度に引き続き、ダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験を続行した。ダンマル樹脂の多臓器中期発がん性試験とL-セリンの90日間反復投与毒性試験を開始した。

## B. 研究方法

### 1. ダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験および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]

投与用量は、平成18年度に行った28日間反復投与毒性試験の結果と、以前に施行された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年間慢性毒性試験では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。

#### [被験物質の安定性]

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の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。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。

#### [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群当たり雌雄各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 $50 \pm 10\%$ 、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年間慢性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週間まで週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年間慢性毒性試験では、全生存動物をと対象として、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(RBC)、白血球数(WBC)、血小板数(Plt)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を測定する。血液生化学的検査として、血清総蛋白濃度(TP)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、アルブミン濃度(ALB)、ビリルビン濃度(BIL)、トリグリセリド濃度(TG)、総コレステロール濃度(TCHO)、尿素窒素濃度(UN)、クレアチニン濃度(CRE)、ナトリウム濃度(Na)、カリウム濃度(K)、クロール濃度(Cl)、カルシウム濃度(Ca)、無機リン濃度(IP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性(AST)、

アラニンアミノトランスフェラーゼ活性 (ALT)、アルカリホスファターゼ活性 (ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性 ( $\gamma$ -GPT) を測定する。

#### [病理組織学的検査]

1年間慢性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、下線を付したの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、血液学および血清生化学的検査結果については、Barlett法による

等分散検定を行った。等分散の場合はパラメトリックのDunnett法による両側検定を行い、不等分散の場合はノンパラメトリックのSteel法による両側検定を行った。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。

#### [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. ダンマル樹脂の多臓器中期発がん性試験

5週齢のF344ラット(F344/DuCr1Crj)雄110匹を日本チャールス・リバー社(神奈川)より購入し、約1週間の馴化飼育の後、各群22匹ずつ5群に配し、Fig. 1に示す実験デザインで動物実験を施行した。動物の飼育はバリエーションシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24\pm 2$ 度、湿度 $60\pm 10\%$ 、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。各群に実験開始日に100mg/kg b.w. diethylnitrosamine (DEN, 東京化成, Cas No. 55-18-5)の腹腔内投与、第2、5、8、11日に20mg/kg b.w. N-methylnitrosourea (MNU, Sigma, Cas No. 684-93-5)の腹腔内投与、第14、17、20、23日に40mg/kg b.w. dimethylhydrazine (DMH, Aldrich, Cas No. 306-37-6)を皮下投与した。さらに、それらと並行して第1~2週に0.05% N-butyl-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN, 東京化成, Cas No. 3817-11-6)を、第3~4週に0.1% N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN, ナカライ, Cas No. 53609-64-6)をそれぞれ飲料水投与し(DMBDD 処置)、イニシエーション処置とした。実験開始第5週目から1~5群にそれぞれ27週間、ダンマル樹脂をオリエンタルMF飼料中に0%、0.03%、0.125%、0.5%、2%の濃度で混ぜて、それを自由に摂取させた。被験物質の飼料への添加および固形化をオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供した。投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は毎週1回測定している。摂餌量は、毎週1回3日間の摂取量をケージ単位で測定し、ケージの収容動物数と日数から1匹あたりの1日平均摂餌量を計算した。実験開始後32週間後に全生存例を麻酔下で、腹部大動脈から採血後に脱血致死させ、屠殺・剖検を行い、主要臓器を摘出し病理組織学的に検討する予定である。

## 3. L-セリンの90日間反復投与毒性試験

試験方法は、食品添加物の90日間反復投与毒

性試験法ガイドラインに準じている。

#### 1. 被験物質

被験物質は、味の素株式会社（神奈川）より供与されたL-セリンを用いた。

#### 2. 動物および飼育条件

動物は、F344/DuCr1Cr1j ラット系の雌雄の SPF 動物各 55 匹を、日本チャールス、リバー株式会社（神奈川）より 5 週齢で入手し、基礎飼料（改変 AIN93G 粉末飼料、オリエンタル酵母工業株式会社、東京、表 1）と細菌ろ過器を経由させた水道水を自由に摂取させる条件下で 1 週間馴化飼育を行った後、視診上健康な雌雄各 50 匹を、6 週齢で試験に供した。各群の動物数は、雌雄各 10 匹とし、投与開始日の体重をもとに、体重別層化無作為抽出法により群分けを行った。動物は、自動給水装置付きベルト式飼育棚のステンレス製懸垂式ケージに 1 匹ずつ収容し、バリアーシステム内の飼育室にて、室温 22~24℃、湿度 50~60%、換気回数毎時 10 回、12 時間蛍光灯照明の条件下で飼育している。

#### 3. 投与用量の設定

L-セリンは、経口投与によるラットの LD<sub>50</sub> が 14 g/kg 体重以上であることから、栄養学的に添加可能な 5.0%を最高とし、以下、公比を約 3 として 1.5、0.5%の 3 段階の投与用量を設定した。さらに、本試験においては、L-セリンが栄養補助食品として摂取されている現実を踏まえ、ヒト摂取相当量での検索も必要であると考え、いわゆる健康食品として市販されていて L-セリン含有量の多い製品の 1 日あたり推奨摂取量から換算した 0.06%を、最低用量として追加した。

#### 4. 被験物質の調整および投与

L-セリンは、基礎飼料である前述の改変 AIN93G 粉末飼料に、0（対照）、0.06、0.5、1.5、5.0%の濃度で添加した飼料を、オリエンタル酵母工業株式会社に試験期間中 3 回に分けて製造させ、投与する（表 1）（第 1 回製造分使用中）。L-セリン添加飼料は、投与までの期間を 4~5℃の保冷庫に保存し、細菌ろ過器を経由させた水道水と共に、動物に自由摂取させる。

#### 5. 添加飼料中の被験物質の濃度および安定性

添加飼料中の L-セリン濃度は、3 回に分けて製造した飼料のそれぞれについて、作製時に測定する。添加飼料中の L-セリン安定性は、以下の通り確認する。保存条件下での安定性については、第 1 回製造分の 0.06%および 5.0%添加飼料の保存

30 日目に中層部より試料を採取する。給餌条件下での安定性については、同飼料の一部を動物飼育室内において通常の飼料交換期間放置したのから試料を採取する。安定性は、それらの試料中の L-セリン濃度を測定し、初期値（理論濃度に見合う値であることを予め確認）に対する比率を算出し、90-110%である場合に確保されたものと判定する。

#### 6. 検索項目

検索項目は、以下の通りである。

【一般状態、体重、摂餌、摂水量】

全動物の一般状態は毎日観察し、体重および摂餌、摂水量は週 1 回測定している。

【血液学的検索】

全動物は、採血前日の 16 時より絶食させた後、解剖時にエーテル麻酔下に開腹し、腹部大動脈より採血して、血液学および血清生化学的検索を行う。血液学的検索は、抗凝固剤 EDTA-2K を入れた試験管に試料を採取し、多項目自動血球計数装置（KX-21NV、シスメックス株式会社、兵庫）にて、赤血球数（RBC）、白血球数（WBC）、血色素量（HGB）、ヘマトクリット値（HCT）、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）、血小板数（PLT）を測定する。さらに、May-Gi1nwald-Giemsa 染色した血液塗沫標本を用いては、光学顕微鏡下において、血球形態の観察と白血球分画の検索を行う。

【血清生化学的検索】

血清生化学的検索は、血清を用い、自動分析装置（TBA-120FR、東芝メディカルシステムズ株式会社、東京）にて、血清総蛋白濃度（TP）、アルブミン/グロブリン比（A/G）、アルブミン濃度（ALB）、ビリルビン濃度（BIL）、トリグリセリド濃度（TG）、総コレステロール濃度（TCHO）、尿素窒素濃度（UN）、クレアチニン濃度（CRE）、ナトリウム濃度（Na）、カリウム濃度（K）、クロール濃度（Cl）、カルシウム濃度（Ca）、無機リン濃度（IP）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性（ALT）、アルカリホスファターゼ活性（ALP）、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性（ $\gamma$ -GPT）を測定する。

【尿性状検索】

尿性状は、解剖直前にエームス尿検査試験紙（N-マルチスティックス、バイエルメディカル株式会社、東京）を用いて、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン体、糖、蛋白、亜硝酸のレベル

と、pHを判定する。呈色の判定には、尿分析装置（クリニテック 200+、マイルス三共株式会社、東京）を用いる。

#### 【病理学的検索】

剖検においては、以下に示す組織、器官を採取し、肉眼的な検索を行い、下線を付したものについて重量を測定した後、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定する。採取した組織、器官は、脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、鼻腔、唾液腺、甲状腺/上皮小体（固定後重量測定）、胸腺、気管、肺、心臓、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）、脾臓、肝臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、皮膚、精巣、精巣上体、精囊/凝固腺、前立腺、包皮腺、卵巣、卵管、子宮、膣、乳腺、リンパ節（頸部、腸間膜）、胸腔内大動脈、坐骨神経、大腿筋、脊髄（頸部、腰部）、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）、頭蓋骨と、その他の肉眼的異常部位とする。

組織学的検索は、全動物について、採取した組織、器官の固定標本から切片を切り出し、定法に従いパラフィン包埋し、薄切後にヘマトキシリン、エオジン染色して、光学顕微鏡下において観察する。

#### 7. 統計学的解析

体重、摂餌量、摂水量、器官重量、血液学的および血清生化学的検索結果の統計学的解析に当たっては、各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合に一元配置の分散分析により、不等分散の場合に Kruskal-Wallis の方法により、それぞれ検定を行う。群間に有意差が認められた場合の多重比較は、Dunnett の方法で有意差検定を行う。尿性状および病理組織学的検索結果については、対照群との間で、Fisher の直接確立検定を行う。

#### 8. 倫理面への配慮

本研究は、当センターの研究調整委員会および動物実験委員会による事前審査を受け、そのモニター下に、実験動物の適切な扱いに関する国内外の法規、規則、ガイドライン等に準拠して行っている。

#### C. 研究結果

##### 1. ダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験

1年間慢性毒性試験において、雌雄の2%群で体重増加抑制が認められた。一方、雌雄の0.03%、0.125%、0.5%群では体重増加促進が認められた。血液検査においては、白血球数では雄の0.125%、

0.5%および2%群に有意な低値を認めた。赤血球数では雄の2%群に有意な低値を認めた。ヘモグロビン量では雌雄の0.5%および2%群に有意な低値を認めた。血小板数では雌雄の0.5%および2%群に有意な低値を認めた。 $\gamma$ -GTPでは雌の0.5%と2%群に有意な高値を認めた。血清総蛋白濃度では雌の0.125%、0.5%および2%群に有意な高値を認めた。トリグリセリド濃度では雄の0.5%と2%群に有意な低値を認めた。総コレステロール濃度では雄の2%群、雌の0.5%および2%群に有意な高値を認めた。臓器重量では、肝臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が雌雄の0.5%および2%群に認められた。脾臓の絶対重量の有意な高値が雌雄の2%群に認められた。肉眼的病理学検査では腫瘍性病変およびダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化は認められなかった。次に、ラット肝前がん病変の指標であるS-トランスフェラーゼ（GST-P）の発現を免疫組織化学的に検索した。雄ラットにおいて、その発生を定量的に解析した結果、単位面積あたりのGST-P陽性細胞巢の数は各群間に有意な差はなかったが、直径0.4mm以上の陽性細胞巢は2%群でのみ認められた。雌ラットにおいて、GST-Pは0.5%と2%群では瀰漫性に発現しており、その発現量を4段階で定性的に評価した結果、0.5%と2%群で対照群と比較してGST-Pの発現は用量依存的に有意に増加した。なお、0.03%、0.125%では対照群との間に有意な差はなかった。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。

2年間発がん性試験において、ダンマル樹脂投与に関連した一般状態への影響は現在のところみられていない。平成20年4月現在（第70週）までに死亡あるいは瀕死による切迫屠殺を行った動物は13例であり、生存率、死亡時期および腫瘍の発生頻度は各群間に有意な差はなかった。雌雄の2%群で体重増加抑制が認められた。一方、雌雄の0.03%、0.125%、0.5%群では体重増加促進が認められた。摂餌量は、雄ラットにおいて、0.03%および0.5%群の摂餌量では、第1週から対照群と比較して有意な高値ないし高値傾向を示した。2%群では、第2週から第62週まで対照群と比較して有意な高値ないし高値傾向を示した。雌ラットにおいて、0.03%および0.5%群の摂餌量は対照群と比較して有意な増加が断続的に認められた。2%群では、有意な高値が第1、2、34週に認められたが、継続的な有意な変化はみられなかったことから、偶発的な変化と判断した。

##### 2. ダンマル樹脂の多臓器発がん性試験

現在、実験はDMBDD処置を終了し、各用量のダンマル樹脂の経口投与を開始している。第4群

の1例が第5週目に死亡した。また、1群で5匹、2群で9匹、3群で9匹、4群で8匹、5群で5匹、DMH投与開始後の第3~4週において、皮下投与穿刺部に潰瘍を形成したが、いずれも第6週で癒痕治癒傾向となった。これはDMHの皮下投与に伴う変化であり、病変の発生において群間に有意な差は見られていない。

第6週目の体重において、被験物質投与群の第5群(2%投与群)では、2群(0.03%投与群)、3群(0.125%投与群)および4群(0.5%投与群)と比べて、有意な減少が認められた( $p < 0.05$ )が、対照群と比較すると有意差は見られなかった。また、摂餌・飲水量では被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

現在、動物実験は進行中であり、実験開始後から6週目の段階で、動物実験は順調に進行している。

### 3. L-セリンの90日間反復投与毒性試験

本研究においては、現在、試験が進行中であり、現時点において報告すべき結果を得るに至っていない。

## D. 考察

### 1. ダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験

1年間慢性毒性試験において、雌雄の2%群で体重増加抑制が認められた。一方、雌雄の0.03%、0.125%、0.5%群では体重増加促進が認められた。2年間発がん性試験においても同様な経過が観察された。体重変化と摂餌量との関係については、1年間慢性毒性試験ではサンプル数が少ないため明らかではなかったが、2年間発がん性試験では、2%の雌雄群で摂餌量の減少はみられなかったことと、ダンマル樹脂投与による明らかな毒性所見が認められなかったことから、2%群での体重増加抑制は高濃度の被験物質添加による餌栄養成分の低下によるものと考えられた。一方、摂餌量の増加が0.03%、0.5%群の雌雄とも認められたことから、これらの群の体重増加促進に関与すると考えられる。

1年間慢性毒性試験では、肝臓の絶対重量および相対重量の有意な増加が雌雄の0.5%および2%群に認められた。また、雌ラットの0.5%および2%群ではGST-Pの発現が有意に増加した。しかし、すべての群において肝臓腫瘍性病変はみられなかったため、ダンマル樹脂の肝発がん性の有無については、2年間発がん性試験の結果により最終的に判定する予定である。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。2年間反発がん性試験において、70週間の投与時

点では、腫瘍の発生が散発的に認められたが、その発生頻度は各群間に有意な差はなかった。

### 2. ダンマル樹脂の多臓器発がん性試験

今回、既存添加物であるダンマル樹脂の発がん修飾作用についてラット多臓器中期発がん試験法を用いて検討している。第4群の1例が第5週目に死亡した。死亡後剖検を行ったが、肉眼的に腫瘍形成などは認めず、死因はイニシエーション目的のDMBDD処置による急性毒性と考えられた。現在、動物実験は進行中であり、ダンマル樹脂の発がん修飾作用の有無については、すべての実験結果により最終的に判定する予定である。

### 3. L-セリンの90日間反復投与毒性試験

本研究においては、諸般の事情により、被験物質選定が遅れたため、用量設定・被験物質供給を経て、動物への被験物質投与を開始したばかりである。試験は来年度の早い段階で終了する予定であり、その結果については来年度に別途予定されている試験と併せて報告する。

## E. 結論

### 1. ダンマル樹脂の1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験

1年間慢性毒性試験では2%群では雌雄ともに体重増加抑制が認められた。また、0.5%および2%群の雌雄ともに肝重量の増加が認められた。肉眼的病理学検査では腫瘍性病変およびダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化は認められなかった。肝臓を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した結果、腫瘍性病変が認められなかったが、雌ラットの0.5%および2%群ではGST-Pの発現が有意に増加した。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。2年間発がん性試験は現在進行中である。

### 2. ダンマル樹脂の多臓器発がん性試験

ダンマル樹脂による発がん修飾作用の有無についてラット多臓器中期発がん試験法を用いて検討している。動物は6週齢のF344ラットを用い、それを5群に分け、全群に発がんイニシエーション目的にDMBDD処置を行った。実験開始第5週目より、1群~5群にダンマル樹脂をそれぞれ0%、0.03%、0.125%、0.5%、2%の濃度で基礎飼料中に混じて経口投与させている。いずれの群も実験開始後32週目で屠殺剖検し、血液生化学的検査および各臓器の病理組織学的検索を行い、ダンマル樹脂の発がん修飾作用の検討を行う予定である。動物実験は現在進行中である。



### 3. L-セリンの90日間反復投与毒性試験

本研究は、L-セリンのラット90日間反復投与毒性試験を実施している。本研究の結果は、将来、適当な学術集会演題および論文として発表する予定である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Kang J S, Wanibuchi H, Murai T, Morimura K, Kinoshita A and Fukushima S. Analysis of gene expression in different stages of MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis. *Oncology Reports*, 17, 747-752, 2007.

Anetor J. I, Wanibuchi H and Fukushima S. Arsenic exposure and its health effects and risk of cancer in developing countries: micronutrients as host defence. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 8, 13-23, 2007.

福島昭治、鰐淵英機、魏 民. 食品に含まれる発がん物質には閾値がある. *ILSI*, 89, 37-43, 2007.

Kinoshita A, Wanibuchi H, Wei M, Yunoki T and Fukushima S. Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell proliferation via generation of oxidative stress by organic arsenicals contributes to their carcinogenicity in the rat liver and bladder. *Toxicol and Applied Pharmacology*, 221, 295-305, 2007.

Fukushima S, Wanibuchi H, Wei M, Morimura K and Kinoshita A. Low dose carcinogenicity of genotoxic carcinogens. *FFI Journal*, 212, 455-459, 2007.

鰐淵英機、魏 民、梯アンナ、福島昭治. 慢性ヒ素汚染-がんと烏脚病-. *病理と臨床*, 別冊, 25, 780-785, 2007.

福島昭治、鰐淵英機、魏 民. 発がん物質には閾値が存在する. *病理と臨床*, 25, 751-756, 2007.

Kinoshita A, Wanibuchi H, Morimura K, Wei M, Nakae D, Arai T, Minowa O, Noda T, Nishimura S and Fukushima S. Carcinogenicity of

dimethylarsinic acid in Ogg1-deficient mice. *Cancer Sci*, 98, 803-814, 2007.

Kang J S, Wanibuchi H, Morimura K, Gonzalez F J, and Fukushima S. Role of CYP2E1 in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis *in vivo*. *Cancer Res*, 67: (23), 11141-11146, 2007.

Kang, J S, Wanibuchi H, Salim E I, Kinoshita A, and Fukushima S. Evaluation of the toxicology of mastic gum with 13 weeks dietary administration to F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 45 (3), 494-501, 2007.

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.

Imaida K, Yokohira Y, Kuno T. Detection of Carcinogenic and Modifying Potentials by Test Compounds Using a Mouse Lung Carcinogenesis Bioassay. *J. Toxicol. Pathol.*, 20, 117-123, 2007.

Matsuda Y, Saoo K, Yamakawa K, Yokohira M, Suzuki S, Kuno T, Kamataki T, Imaida K. Overexpression of CYP2A6 in Human Colorectal Tumors. *Cancer Sci*, 98, 1582-1585, 2007.

Matsuda Y, Yamakawa K, Saoo K, Hosokawa K, Yokohira M, Kuno T, Iwai J, Shirai T, Obika K, Kamataki T, Imaida K. CYP2A6 overexpression in human lung cancers correlates with a high malignant status. *Oncol Rep*, 18, 53-57, 2007.

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-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol-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.
- Yokohira M, Kuno T, Yamakawa K, Hosokawa K, Matsuda Y, Hashimoto N, Suzuki S, Saoo K, Imaida K. Lung toxicity of 16 fine particles on intratracheal instillation in a bioassay model using F344 male rats. *Toxicol Pathol*, 2008. in press.
- Yokohira M, Hosokawa K, Yamakawa K, Saoo K, Matsuda Y, Zeng Y, Kuno T, Imaida K. Potential inhibitory effects of D-allose, a rare sugar, on liver preneoplastic lesion development in a F344 rat medium-term bioassay. *J. Biosci Bioeng*, 2008. in press.
- Yokohira M, Yamakawa K, Hosokawa K, Matsuda Y, Kuno T, Saoo K, Imaida K. Promotion potential of madder color in a medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay model in F344 rats. *J. Food Sci*, 2008. in press.
- Ikeda M, Yamakawa K, Saoo K, Matsuda U, Hosokawa K, Takeuchi H, Li J-Q, Zeng Y, Yokohira M, Imaida K. Induction of multiple granulomas in the liver with severe hepatocyte damage by montan wax, a natural food additive, in a 90-day toxicity study in F344 rats. *Food Chem Toxicol*, 46, 654-661, 2008.
- Matsuda Y, Yokohira M, Suzuki S, Hosokawa K, Yamakawa K, Zeng Y, Ninomiya F, Saoo K, Kuno T, Imaida K. One-year chronic toxicity study of *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger in Wistar Hannover rats. A pilot study. *Food Chem. Toxicol*, 46, 733-739, 2008.
- Goto R, Hoshikawa H, Fujii T, Indo K, Yoshino K, Imaida K, and Mori N. Clinicopathological significance of cyclooxygenase-2 expression in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*, 19, 645-650, 2008.
- Tsukasa Kitahashi, Mami Takahashi, Yutaka Yamada, Yoichi Oghiso, Masanao Yokohira, Katsumi Imaida, Masahiro Tsutsumi, Nobuo Takasuka, Takashi Sugimura, and Keiji Wakabayashi. Occurrence of mutations in the epidermal growth factor receptor gene in X-ray-induced rat lung tumors. *Cancer Sci*, 99, 241-245, 2008.
- Nakae D, Ogata A, Uehara S, Takahashi Mas, Totsuka Y, Takahashi Mam, Wakabayashi K. Assessment of carcinogenic risks of chemicals applicable for cancer high-risk groups. *Organohalogen Compounds*, 69, 1821-1824, 2007.
- Tada Y, Fujitani T, Yano N, Takahashi H, Yuzawa K, Ando H, Kubo Y, Nagasawa A, Kamimura H, Ogata A, Nakae D, Uehara S. Effects of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, on the liver of ICR mice. *Organohalogen Compounds*, 69, 2643-2646, 2007.
- Igarashi M, Yoshida M, Watanabe M, Yamada T, Sakurai R, Endo Y, Miyajima N, Maekawa A, Oikawa T, Sugano S, Nakae D. Involvement of mutation-based inhibition of  $\beta$ -catenin phosphorylation at ser33 in the malignant progression of lung (pre)neoplastic lesions induced by *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in male Fischer 344 rats. *Lung*, 185, 271-278, 2007.
- Floyd RA, Kotake Y, Towner RA, Guo W-X, Nakae D, Konishi Y. Nitric oxide and cancer development. *J Toxicol Pathol*, 20, 77-92, 2007.
- Denda A, Kitayama W, Kishida H, Murata N, Tamura K, Kusuoka O, Tsutsumi M, Nishikawa F, Kita E, Nakae D, Konishi Y, Kuniyasu H. Expression of inducible nitric oxide (NO) synthase but not prevention by its gene ablation of hepatocarcinogenesis with fibrosis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet in rats and mice. *Nitric Oxide*, 16, 164-176, 2007.

Satoh K, Nonaka R, Ogata A, Nakae D, Uehara S. Effects of oseltamivir phosphate (Tamiflu) and its metabolite (GS4071) on monoamine neurotransmission in the rat brain. *Biol Pharm Bull*, 30, 1816-1818, 2007.

Nakae D, Onodera H, Fueki O, Urano T, Komiyama N, Sagami F, Kai S, Nishimura C, Inoue T. Points to consider on the non-clinical safety evaluation of anticancer drugs. *J Toxicol Sci* 33, 2008, in press; ONLINE SUPPLEMENTAL DATA, Questions and answers for points to consider on the non-clinical safety evaluation of anticancer drugs.

Abe M, Suzuki N, Yoshida M, Usuda K, Furukawa S, Juneja LR, Okubo T, Nakae D. Possible carcinogenic risks of copper gluconate and their prevention by co-administered green tea catechins evaluated by a rat medium-term multi-organ carcinogenicity bioassay protocol. *Food Chem Toxicol*, 46, 2008, in press.

Abe M, Usuda K, Hayashi S, Ogawa I, Furukawa S, Igarashi M, Nakae D. Carcinogenic risk of copper gluconate evaluated by a rat medium-term liver carcinogenicity bioassay protocol. *Arch Toxicol*, 82, 2008, in press.

## 2. 学会発表

Omori M, Wei M, Morimura K, Kinoshita A, Masumura K, Nohmi T, Fukushima S and Wanibuchi H. Carcinogenicity and *in vivo* mutagenicity of 1, 4-dioxane in *gpt* delta rat. 7th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (2007. 1, Waikoloa, Hawaii, U. S. A.)

鰐淵英機, 木下アンナ, 魏 民, 森村圭一朗, 福島昭治. 酵素誘導及び酸化的DNA傷害と肝発がん. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

土井賢一郎, 田中雅彰, 魏 民, 森村圭一朗, 渡辺恭良, 福島昭治, 鰐淵英機. ラット疲労モデルの病理学的解析: ストレス疲労が生体に及ぼす影響、更に胃発がんにも及ぼす影響について. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

中江 大, 増村健一, 坂元康晃, 高橋正一, 鰐淵

英機, 梅村隆志, 西川秋佳, 広瀬雅雄, 能美健彦. *gpt* delta ラットにおける食餌アミノ酸食化による突然変異の誘発と肝発がん早期段階における遺伝子突然変異の発生と役割の発がん機構、系統による差異. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

大森雅子, 魏 民, 木下アンナ, 増村健一, 能美健彦, 福島昭治, 鰐淵英機. 1, 4-ジオキサンの *gpt* delta ラットにおける肝発がん性および変異原性の検討. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

加藤あゆみ, 木下アンナ, 魏 民, 森村圭一朗, 森 聖, 福島昭治, 鰐淵英機. マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーの検索. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

木下アンナ, 魏 民, 森村圭一朗, 林 修次, 福島昭治, 鰐淵英機. フェノバルビタール投与の肝発がんにおける誘発したラット GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

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23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

串田昌彦, 魏 民, 木下アンナ, 尾崎圭介, 須方督夫, 宇和川 賢, 福島昭治, 鰐淵英機. MeIQx 誘発大腸発がんに対するエタノールの影響. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

村井 隆, 森 聖, Jin Seok Kang, 森村圭一朗, 鰐淵英機, 戸塚ゆ加里, 福島昭治. 2-Amino-3, 8-dimethylimidazo [4, 5-f] quinoxaline の低用量におけるラット発がん性の検討. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

Doi K, Wei M, Yunoki T, Kinoshita A, Morimura K, Fukushima S and Wanibuchi H. Effect of a genotoxic carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b] pyridine on the variation of 3D-microarray-determined gene expression in colonic adenocarcinomas of rats initiated with azoxymethane. 98<sup>th</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research (2007. 4, Los Angeles, CA, U. S. A.)

Kato A, Kinoshita A, Wei M, Doi K, Morimura K and Wanibuchi H. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in *Ogg1*-deficient mice. 98<sup>th</sup> Annual Meeting, American Association for Cancer Research (2007. 4, Los Angeles, CA, U. S. A.)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、鰐淵英機、福島昭治. ラット肝中期発がんモデル (伊東法) におけるバレリアンによる肝発がん抑制作用. 日本食品化学学会第 13 回総会、学術大会 (2007 年 5 月, 東京)

魏 民、山口貴嗣、アルサリミ ハムード、鰐淵英機、福島昭治. 臭素酸カリウムのラット腎臓における変異原性と発がん性の閾値の存在. 日本食品化学学会第 13 回総会、学術大会 (2007 年 5 月, 東京)

鰐淵英機. 発がんリスク評価に有用な新規がんマーカーとヒトがん診断薬の開発. 第 6 回国際バイオ EXPO&国際バイオフィォーラム (2007 年 6 月, 東京)

木下アンナ、森村圭一朗、魏 民、鰐淵英機、ロマネンコ アリーナ、福島昭治. チェルノブイリ原発事故後の長期低用量放射線暴露による膀胱がん発生とその機序. がん予防大会 in Tokyo 2007 (2007 年 7 月, 東京)

魏 民、木下アンナ、土井賢一郎、森村圭一朗、鰐淵英機. ラット中期肝発がん性試験法を用いたジフェニルアルシン酸の肝発がん修飾作用の検討. がん予防大会 in Tokyo 2007 (2007 年 7 月, 東京)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、鰐淵英機、福島昭治. ラット肝中期発がんモデル (伊東法) におけるバレリアン (*Valeriana sitchensis*) の肝発がん抑制作用の検討. がん予防大会 in Tokyo 2007 (2007 年 7 月, 東京)

土井賢一郎、鰐淵英機. ラット肝中期発がん性試験法 (伊東モデル) を用いたマスティックの肝発がん性の検討. 第 4 回日本病理学会カンファレンス (2007 年 7 月, 北海道旭川市)

魏 民、森村圭一朗、木下アンナ、福島昭治、鰐淵英機. 膀胱発がん物質の早期検出マーカーの検討. 第 22 回発癌病理研究会 (2007 年 8 月, 神奈

川)

Fukushima S, Wei M, Omori M, Morimura K, Kinoshita A, Masumura K, Nohmi T and Wanibuchi H. Carcinogenicity and in vivo mutagenicity of 1,4-dioxane in gpt delta rats. 5th European Congress of Toxicologic Pathology 6th International Congress of the IFSTP (2007. 9, Basel, Switzerland)

Kushida M, Sukata T, Uwagawa S, Ozaki K, Morimura K, Wanibuchi H and Fukushima S. A novel marker, alpha2-macroglobulin and GRP78, characteristic of rat hepatocellular preneoplastic and neoplastic lesions undetectable by Glutathione S-transferase placental form. 5th European Congress of Toxicologic Pathology 6th International Congress of the IFSTP (2007. 9, Basel, Switzerland)

土井賢一郎、魏 民、梯アンナ、今中麻幸代、当真香織、鰐淵英機. ラット肝中期発癌性試験法を用マスティックの発癌性評価. 第 66 回日本癌学会学術総会 (2007 年 10 月, 横浜)

魏 民、北野光昭、土井賢一郎、森村圭一朗、当真香織、鰐淵英機: Promoting Effects of Diphenylarsinic Acid on Hepatocarcinogenesis Induced by Diethylnitrosamine in Rats. 第 66 回日本癌学会学術総会 (2007 年 10 月, 横浜)

大西真里子、大森雅子、魏 民、増村健一、能美健彦、鰐淵英機、福島昭治: Existence of thresholds for carcinogenicity and *in vivo* mutagenicity of 1,4-dioxane in liver of rats. 第 66 回日本癌学会学術総会 (2007 年 10 月, 横浜)

山野荘太郎、柚木孝之、串田昌彦、森 聖、森村圭一朗、福島昭治、鰐淵英機: ロイシン及びイソロイシンによるラット膀胱発癌修飾作用の検討. 第 66 回日本癌学会学術総会 (2007 年 10 月, 横浜)

加藤あゆみ、梯アンナ、魏 民、当真香織、植松真美、鰐淵英機: マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーの検索. 第 66 回日本癌学会学術総会 (2007 年 10 月, 横浜)

梯アンナ、ロマネンコ アリーナ、森村圭一朗、林 修次、福島昭治、鰐淵英機: チェルノブイリ原発事故後の長期低用量放射線暴露による膀胱

がん発生とその機序. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

鰐淵英機、梯アンナ、今中麻幸代、當真香織、魏民、森村圭一朗、福島昭治: ラットを用いたプロポリスの発がん性試験. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

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-methylsulfinylhexylisothiocyanate. 第7回日本癌学会、米国癌学会合同会議 (2007. 1, U. S. A.)

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 (2007年1月, 東京)

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 (2007年1月, 東京)

松田陽子、横平政直、竿尾光祐、久野壽也、今井田克己. A/J 雌マウスに NNK を投与した際に見られる遺伝子発現の経時変化と 8-MOP が与える影響. 第96回日本病理学会総会 (2007年3月, 大阪)

竿尾光祐、松田陽子、横平政直、久野壽也、中野正行、今井田克己, Hep-per 1 に陽性反応を示した細胆管細胞癌の1例. 第96回日本病理学会総会 (2007年3月, 大阪)

久野壽也、横平政直、松田陽子、今井田克己, タバコ由来ニトロサミン暴露マウスの気道及び上部消化管における性ホルモンの影響. 第96回日本病理学会総会 (2007年3月, 大阪)

横平政直、細川京子、山川けいこ、松田陽子、久野壽也、竿尾光祐、今井田克己. ラット肝中期発癌性試験 (伊東法) を用いた酵素処理イソクエルシトリンによる肝発癌の修飾作用, がん予防大会 in Tokyo 2007 (2007年7月, 東京)

Kuno T, Saoo K, Yokohira M, Yamakawa K,

Hashimoto N, Hosokawa K, Matsuda Y, Imaida K. Modulation effects of NNK-induced lung tumor by CYP2A inhibitor, 8-MOP administrated during promotion or progression phase. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Hosokawa K, Yokohira M, Yamakawa K, Saoo K, Matsuda Y, Suzuki S, Kuno T, Imaida K. Enzymatically modified isoquercitrin and isoquercitorin, in a rat medium-term liver carcinogenesis bioassay. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Yamakawa K, Yokohira M, Kuno T, Matsuda Y, Hashimoto N, Hosokawa K, Saoo K, Imaida K. Potential of inhibitory effects by D-allose, a rare sugar, on liver carcinogenesis in a rat medium-term bioassay. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Yokohira M, Kuno T, Saoo K, Yamakawa K, Suzuki S, Hosokawa K, Matsuda Y, Kinouchi S, Imaida K. Establishment of a bioassay for lung tumorigenesis due to fine particles instilled intratracheally in F344 rats. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Hashimoto N, Yachida S, Okano K, Wakabayashi H, Imaida K. Suzuki Y. Expression of p27 Skp2 predicts postoperative survival for patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Matsuda Y, Yamakawa K, Saoo K, Yokohira M, Hosokawa K, Kuno T, Naito Z, Imaida K. Short-Term Effect of Various Chemicals on NNK-Induced Lung Tumorigenesis in A/J Female Mice. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

Suzuki S, Yokohira M, Kuno T, Yamakawa K, Hosokawa K, Matsuda Y, Shiooka T, Imaida K. A study on threshold for 2-Amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline (MeIQx) carcinogenesis in lung using A/J mice. 第66回日本癌学会学術総会 (2007年10月, 横浜)

横平政直、橋本 希、久野壽也、今井田克己. ラット気管内投与方法による微粒子の肺毒性評価への挑戦. 第24回日本毒性病理学会 (2008年2月, 名古屋)

橋本希、横平政直、山川けいこ、細川京子、鈴木智、久野壽也、今井田克己。L-asparagine のラット 90 日間反復経口投与毒性試験。第 24 回日本毒性病理学会 (2008 年 2 月, 名古屋)

阿部正義、臼田浩二、古川 賢、Raj JL、大久保勉、中江 大。ラットにおけるグルコン酸銅およびカテキンの単独または複合投与による肝発がんリスクの検索。第 34 回日本トキシコロジー学会 学術年会 (2007 年 6 月, 東京都江戸川区)

辰巳公平、大橋一夫、柴田 優、嶋 緑倫、片岡美穂、立野知世、吉里勝利、久永倫聖、金廣裕道、中島祥介、中江 大、吉岡 章。血友病 B 新規治療法としての細胞治療の実現化をめざした肝細胞増殖系の確立。第 14 回肝細胞研究会 (2007 年 6 月, 鹿児島県鹿児島市)

中江 大、阿部正義、臼田浩二、古川 賢、鈴木紀子、吉田 緑、Juneja LR、大久保 勉。ラット中期多臓器発がん性試験法により検出されたグルコン酸銅の肝、前胃発がん性に対する緑茶カテキンの抑制効果。第 14 回日本がん予防学会 (がん予防大会 in TOKYO 2007) (2007 年 7 月, 東京都千代田区)

Nakae D, Ogata A, Uehara S, Takahashi Mas, Totsuka Y, Takahashi Mam, Wakabayashi K. Assessment of carcinogenic risks of chemicals applicable for cancer high-risk groups. 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. (DIOXIN2007) (2007 年 9 月, 東京都港区)

Tada Y, Fujitani T, Yano N, Takahashi H, Yuzawa K, Ando H, Kubo Y, Nagasawa A, Kamimura H, Ogata A, Nakae D, Uehara S. Effects of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, on the liver of ICR mice. 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. (DIOXIN2007) (2007 年 9 月, 東京都港区)

Abe M, Jeneja LR, Nakae D. Evaluation of carcinogenic risks of copper gluconate and catechins in a medium-term rat liver bioassay. 第 66 回日本癌学会総会 (2007 年 10 月, 神奈川県横浜市)

Igarashi M, Yoshida M, Watanabe M, Abe M,

Sugano S, Nakae D. Lung carcinogenesis induced by NNK in *Ogg1* knockout mice. 第 66 回日本癌学会総会 (2007 年 10 月, 神奈川県横浜市)

Maruyama H, Tsutsumi M, Kuniyasu H, Nakae D, Kameya T, Tatsumi M. Expression of insulin-like growth factor II by a stomach cancer associated with hypoglycemia. 第 66 回日本癌学会総会 (2007 年 10 月, 神奈川県横浜市)

西川秋佳、鰐淵英機、原田孝則、田村一利、中江 大、玉野静光、小川勝洋。肝臓の増殖性病変。第 8 回日本毒性病理学会教育セミナー (2007 年 11 月, 東京都文京区)

多田幸恵、矢野範男、高橋 博、湯澤勝廣、安藤弘、久保喜一、長澤明道、小縣昭夫、上原眞一、中江 大。ラットにおける L-アスパラギン酸の 90 日間反復投与毒性試験。第 24 回日本毒性病理学会年次学術集会 (2008 年 2 月, 愛知県名古屋市)

五十嵐麻希、吉田 緑、渡邊 学、阿部正義、菅野純夫、中江 大。Ogg1 欠損マウスにおける NNK 誘発肺増殖性病変の EGFR 突然変異。第 24 回日本毒性病理学会年次学術集会 (2008 年 2 月, 愛知県名古屋市)

Floyd RA, Kotake Y, Towner RA, Nakae D, Konishi Y. The role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide in cancer development. 第 24 回日本毒性病理学会年次学術集会 (2008 年 2 月, 愛知県名古屋市)

佐藤かな子、野中良一、小縣昭夫、中江 大、上原眞一。リン酸オセルタミビア (タミフル) とその生体内活性体 (GS4071) のラット脳モノアミン神経伝達系におよぼす影響。第 128 回日本薬学会年会 (2008 年 3 月, 神奈川県横浜市)

不破 達、小縣昭夫、福森信隆、久保喜一、湯澤勝廣、安藤 弘、矢野範男、長澤明道、高橋 博、中江 大、上原眞一、児玉 亨、本多芳子。違法ドラッグ PMMA の中枢神経作用。第 128 回日本薬学会年会 (2008 年 3 月, 神奈川県横浜市)

<その他>

II. 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 19 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年間慢性毒性試験および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、1年間慢性毒性試験の動物実験を完了した。その結果、本年度は、1年間慢性毒性試験の動物実験を完了した。その結果、2%群では雌雄ともに体重増加抑制が認められた。絶対肝重量および相対肝重量では0.5%および2%群の雌雄で対照群と比較して有意に増加した。肉眼的病理学検査ではダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化および腫瘍性病変は認められなかった。肝臓を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した結果、腫瘍性病変は認められなかったが、雌の0.5%および2%群ではS-トランスフェラーゼ(GST-P)の発現が有意に増加したことが判明した。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。

2年間発がん性試験は現在進行中であり、70週間の投与時点では、1年間慢性毒性試験と同様に、2%群の雌雄とも体重増加抑制が認められている。腫瘍の発生については散発的に認められたが、その発生頻度は各群間に有意な差はなかった。

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年間慢性毒性試験および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]

投与用量は、平成18年度に行った28日間反復

投与毒性試験の結果と、以前に施行された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年間慢性毒性試験では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。

[被験物質の安定性]

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の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。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。

[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年間慢性毒性試験について1群当たり雌雄各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 $50\pm 10\%$ 、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年間慢性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周後まで週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、摂餌量の結果より算出する。

#### [血液学および血液生化学的検査]

1年間慢性毒性試験では、全生存動物をと対象として、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(RBC)、白血球数(WBC)、血小板数(Plt)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を測定する。血液生化学的検査として、血清総蛋白濃度(TP)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、アルブミン濃度(ALB)、ビリルビン濃度(BIL)、トリグリセリド濃度(TG)、総コレステロール濃度(TCHO)、尿素窒素濃度(UN)、クレアチニン濃度(CRE)、ナトリウム濃度(Na)、カリウム濃度(K)、クロール濃度(Cl)、カルシウム濃度(Ca)、無機リン濃度(IP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性(ALT)、アルカリホスファターゼ活性(ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性( $\gamma$ -GPT)を測定する。

#### [病理組織学的検査]

1年間慢性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、下線を付したの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、陰、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、ヘマトキシリン/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、陰、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、血液学および血液生化学的検査結果については、Barlett法による等分散検定を行った。等分散の場合はパラメトリックのDunnett法による両側検定を行い、不等分散の場合はノンパラメトリックのSteel法による両側検定を行った。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。

#### [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

#### 1. 1年間慢性毒性試験

##### [一般状態]

実験期間中、全動物が生存した。ダンマル樹脂投与に関連した一般状態への影響は認められなかった。

##### [体重]

実験期間中の各群における平均体重を Table 1 および Figure 1 (A, 雄; B, 雌) に示した。

雄ラットにおいて、2%群で投与第 2 週以降に对照群と比較して有意な低値を示した。一方、0.03%群では投与第 9 週以降に对照群と比較して有意な高値を示した。0.125%群および 0.5%群では全期間に对照群と比較して有意な差はなかったが、第 4 週以降に高値傾向を示した。

雌ラットにおいて、2%群で投与第 7 週以降に对照群と比較して有意な低値ないし低値傾向を示した。一方、0.03%群および 0.125%群では投与第 29 週以降に对照群と比較して有意な高値ないし高値傾向を示した。0.5%群では全期間に对照群と比較して有意な差はなかったが、第 29 週以降に高値傾向を示した。

最終体重は、雌雄の 2%群で对照群と比較して有意な低値が認められた。一方、雄の 0.03%群で、雌の 0.03%および 0.125%群で对照群と比較して有意な高値を示した。雄の 0.125%と 0.5%群で、雌の 0.5%群で对照群と比較して高値傾向を示した。

#### [摂餌量および被験物質摂取量]

平均摂餌量を Table 2 および Figure 2 (A, 雄; B, 雌) に示した。

雄ラットにおいて、摂餌量の有意な高値が 0.03%群で第 10、11、12、14、22、30、38、46、50 週に、0.125%群で第 38 週に、0.5%群で第 7、38、42、46、50 週に認められた。2%群で摂餌量の有意な低値が第 10 週に認められたが、一回だけの変化であり、投与とは関連のない偶発的な変化と判断した。

雌ラットにおいて、0.5%群で摂餌量の有意な高値が第 1、30 週に認められたが、継続的な有意な変化はみられなかった。他の群では有意な変化はみられなかった。

実験期間中における 1 匹 1 日あたりの平均ダンマル樹脂摂取量を Table 3 に示した。ダンマル樹脂の摂取量はその投与量にほぼ相関した。

#### [血液学的検査および血清生化学的検査]

血液学的検査の結果を Table 4 に、血清生化学的検査の結果を Table 5 に示した。对照群と比較して統計学的に有意な下記の変化を認めた。

白血球数では雄の 0.125%、0.5%および 2%群に有意な低値を認めた。赤血球数では雄の 2%群に有意な低値を認めた。ヘモグロビン量では雌雄の 0.5%および 2%群に有意な低値を認めた。血小板数では雌雄の 0.5%および 2%群に有意な低値を認めた。MCV では雄の 2%群、雌の 0.5%および 2%群に有意な低値を認めた。MCH と MCHC では雄の 0.03%、

0.125%、0.5%、2%群に、雌の 0.125%、0.5%、2%群に有意な低値を認めた。

AST、ALT および ALP では雌雄の 0.5%と 2%群に有意な低値を認めた。γ-GTP では雌の 0.5%と 2%群に有意な高値を認めた。血清総蛋白濃度では雌の 0.125%、0.5%および 2%群に有意な高値を認めた。トリグリセリド濃度では雄の 0.5%と 2%群に有意な低値を認めた。総コレステロール濃度では雄の 2%群、雌の 0.5%および 2%群に有意な高値を認めた。その他の項目で散発的に有意差がみられたが、用量相関性がみられないため毒性学的意義に乏しい所見とみなした。

#### [臓器重量]

各群の臓器の絶対重量および相対重量を Table 6 に示した。

肝臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が雌雄の 0.5%および 2%群に認められた。脾臓の絶対重量の有意な高値が雌雄の 2%群に認められた。腎臓の相対重量の有意な低値が雌の 0.03%、0.125%および 0.5%群に認められた。心臓の絶対重量の有意な高値が雄の 0.03%群に認められた。心臓の相対重量の有意な高値が雄の 2%群、雌の 0.125%群に認められた。脳相対重量の有意な高値が雄の 2%群、雌の 0.03%群に認められた。精巣の相対重量の有意な高値が雄の 2%群に認められた。

#### [病理学的検査]

肉眼的病理学検査では腫瘍性病変およびダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

病理組織学的検索では、肝臓において、雄の对照群、0.03%、0.125%、0.5%群で中等度ないし高度の胆管増生が認められたが、2%群ではその程度が有意に軽減した (Table 7)。炎症細胞の浸潤および肉芽腫はすべての群に散発的に認められ、各群間に有意な差はなかった (Table 7)。

ラット肝前がん病変の指標である S-トランスフェラーゼ (GST-P) の発現を免疫組織化学的に検索した。雄ラットにおいて、その発生を定量的に解析した結果、単位面積あたりの GST-P 陽性細胞巢の数は各群間に有意な差はなかったが、直径 0.4mm 以上の陽性細胞巢は 2%群でのみ認められた (Table 8)。雌ラットにおいて、GST-P は 0.5%と 2%群では瀰漫性に発現しており、定量解析が困難のため、その発現量を 4 段階で定性的に評価した。その結果、0.5%と 2%群で对照群と比較して GST-P の発現は用量依存的に有意に増加した。なお、0.03%、0.125%では对照群との間に有意な差はなかった (Figure 3, Table 9)。

他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。

## 2. 2年間発がん性試験

### [一般状態]

ダンマル樹脂投与に関連した一般状態への影響は現在のところみられていない。平成20年4月現在(第70週)までに死亡あるいは瀕死による切迫屠殺を行った動物は13例であり、その死亡時期および死因はTable 10に示した。生存率および腫瘍の発生頻度は各群間に有意な差はなかった。

### [体重]

実験期間中の各群における平均体重をTable 11およびFigure 4(A,雄;B,雌)に示した。

雄ラットにおいて、2%群で第1週から対照群と比較して有意な低値ないし低値傾向を示した。一方、0.03%および0.5%群では第3週以降に対照群と比較して有意な高値を示した。

雌ラットにおいて、2%群で第5週以降に対照群と比較して有意な低値ないし低値傾向を示した。一方、0.03%群では第8週以降に、0.5%群では第29週以降に対照群と比較して有意な高値を示した。

実験第69週における体重は、雌雄とも2%群に対照群と比較して有意な低値が認められた。一方、雌雄とも0.03%および0.5%群に対照群と比較して有意な高値が認められた。

### [摂餌量]

70週現在までの平均摂餌量をTable 12およびFigure 5(A,雄;B,雌)に示した。

雄ラットにおいて、0.03%および0.5%群の摂餌量は、第1週から対照群と比較して有意な高値ないし高値傾向を示した。2%群では、第2週から第62週まで対照群と比較して有意な高値ないし高値傾向を示した。

雌ラットにおいて、0.03%および0.5%群の摂餌量は対照群と比較して有意な増加が断続的に認められた。2%群では、有意な高値が第1、2、34週に認められたが、継続的な有意な変化はみられなかったことから、偶発的な変化と判断した。

## D. 考察

1年間慢性毒性試験において、雌雄の2%群で体重増加抑制が認められた。一方、雌雄の0.03%、0.125%、0.5%群では体重増加促進が認められた。2年間発がん性試験においても同様な経過が観察された。体重変化と摂餌量との関係については、1年間慢性毒性試験ではサンプル数が少ないため

明らかではなかったが、2年間発がん性試験では、2%の雌雄群で摂餌量の減少はみられなかったこと、ダンマル樹脂投与による明らかな毒性所見が認められなかったことから、2%群での体重増加抑制は高濃度の被験物質添加による餌栄養成分の低下によるものと考えられた。一方、摂餌量の増加が0.03%、0.5%群の雌雄とも認められたことから、これらの群の体重増加促進に関与すると考えられる。

1年間慢性毒性試験では、肝臓の絶対重量および相対重量の有意な増加が雌雄の0.5%および2%群に認められた。また、雌ラットの0.5%および2%群ではGST-Pの発現が有意に増加した。しかし、すべての群において肝臓腫瘍性病変はみられなかったため、ダンマル樹脂の肝発がん性の有無については、2年間発がん性試験の結果により最終的に判定する予定である。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。

2年間発がん性試験において、70週間の投与時点では、腫瘍の発生が散発的に認められたが、その発生頻度は各群間に有意な差はなかった。

## E. 結論

本年度は、1年間慢性毒性試験の動物実験を完了した。その結果、2%群では雌雄ともに体重増加抑制が認められた。0.5%および2%群の雌雄ともに絶対肝重量および相対肝重量が対照群と比較して有意に増加した。肉眼的病理学検査では腫瘍性病変およびダンマル樹脂投与に起因すると思われる変化は認められなかった。肝臓を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した結果、腫瘍性病変が認められなかったが、雌ラットの0.5%および2%群ではGST-Pの発現が有意に増加したことが判明した。他の臓器における病理組織学的変化については、現在検索中である。

2年間発がん性試験は現在順調に進行中である。

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。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kang J S, Wanibuchi H, Murai T, Morimura K, Kinoshita A and Fukushima S. Analysis of gene expression in different stages of MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis. *Oncology Reports*, 17, 747-752, 2007.

Anetor J. I, Wanibuchi H and Fukushima S. Arsenic exposure and its health effects and risk of cancer in developing countries: micronutrients as host defence. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 8, 13-23, 2007.

福島昭治、鰐淵英機、魏 民. 食品に含まれる発がん物質には閾値がある. *ILSI*, 89, 37-43, 2007.

Kinoshita A, Wanibuchi H, Wei M, Yunoki T and Fukushima S. Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell proliferation via generation of oxidative stress by organic arsenicals contributes to their carcinogenicity in the rat liver and bladder. *Toxicol and Applied Pharmacology*, 221, 295-305, 2007.

Fukushima S, Wanibuchi H, Wei M, Morimura K and Kinoshita A. Low dose carcinogenicity of genotoxic carcinogens. *FFI Journal*, 212, 455-459, 2007.

鰐淵英機、魏 民、梯アンナ、福島昭治. 慢性ヒ素汚染-がんと鳥脚病-. *病理と臨床・別冊*, 25, 780-785, 2007.

福島昭治、鰐淵英機、魏 民. 発がん物質には閾値が存在する. *病理と臨床*, 25, 751-756, 2007.

Kinoshita A, Wanibuchi H, Morimura K, Wei M, Nakae D, Arai T, Minowa O, Noda T, Nishimura S and Fukushima S. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in Ogg1-deficient mice. *Cancer Sci*, 98, 803-814, 2007.

Kang J S, Wanibuchi H, Morimura K, Gonzalez F J, and Fukushima S. Role of CYP2E1 in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis *in vivo*. *Cancer Res*, 67: (23), 11141-11146, 2007.

Kang, J S, Wanibuchi H, Salim E I, Kinoshita A, and Fukushima S. Evaluation of the toxicology of mastic gum with 13 weeks dietary administration to F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 45 (3), 494-501, 2007.

## 2. 学会発表

Omori M, Wei M, Morimura K, Kinoshita A,

Masumura K, Nohmi T, Fukushima S and Wanibuchi H. Carcinogenicity and *in vivo* mutagenicity of 1, 4-dioxane in *gpt* delta rat. 7th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (2007. 1, Waikoloa, Hawaii, U. S. A.)

鰐淵英機、木下アンナ、魏 民、森村圭一郎、福島昭治. 酵素誘導及び酸化的DNA傷害と肝発がん. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

土井賢一郎、田中雅彰、魏 民、森村圭一郎、渡辺恭良、福島昭治、鰐淵英機. ラット疲労モデルの病理学的解析: ストレス疲労が生体に及ぼす影響、更に胃発がんにも及ぼす影響について. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

中江 大、増村健一、坂元康晃、高橋正一、鰐淵英機、梅村隆志、西川秋佳、広瀬雅雄、能美健彦. *gpt* delta ラットにおける食餌アミノ酸食化による突然変異の誘発と肝発がん早期段階における遺伝子突然変異の発生と役割の発がん機構・系統による差異. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

大森雅子、魏 民、木下アンナ、増村健一、能美健彦、福島昭治、鰐淵英機. 1, 4-ジオキサンの *gpt* delta ラットにおける肝発がん性および変異原性の検討. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、森村圭一郎、森 聖、福島昭治、鰐淵英機. マウス肝発がんにおける前がん病変マーカーの検索. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

木下アンナ、魏 民、森村圭一郎、林 修次、福島昭治、鰐淵英機. フェノバルビタール投与の肝発がんにおける誘発したラット GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析. 第23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

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23回日本毒性病理学会 (2007年1月, 東京)

串田昌彦、魏 民、木下アンナ、尾崎圭介、須方督夫、宇和川 賢、福島昭治、鰐淵英機. MeIQx