

copyright(C) 2005 日本医薬品添加剤協会 all rights reserved  
Japan Pharmaceutical Excipients Council

和名 アジピン酸ポリエステル  
英文名

CAS

別名

収載公定書

用途 可塑剤

最大使用量

一般外用剤 235mg/mL

JECFAの評価

以下については該当文献なし

単回投与毒性

反復投与毒性

遺伝毒性

癌原性

生殖発生毒性

局所刺激性

その他の毒性

ヒトにおける知見

引用文献

| [メニューへ](#) |

和名 亜硝酸ジシクロヘキシルアミン

英文名 Dicyclohexylamine Nitrite

CAS 3129-91-7

別名 亜硝酸ジシクロヘキシルアミンモノウム, Dicyclohexylaminonitrite

収載公定書 薬添規(2003)

用途 防錆剤

最大使用量

記載なし 殺虫剤

JECFAの評価

記載なし

単回投与毒性

動物種	投与経路	LD50	文献
マウス	強制経口	205±15mg/kg	McOmie & Anderson, 1949 <sup>1)</sup>
ラット	強制経口	240±26mg/kg	McOmie & Anderson, 1949 <sup>1)</sup>
モルモット	強制経口	350±50mg/kg	McOmie & Anderson, 1949 <sup>1)</sup>

急性毒性試験

試験動物: マウス・ラット・モルモット

試験方法: 亜硝酸ジシクロヘキシルアミンを水溶液またはアカシア・デキストローズ懸濁液として、100-800mg/kgの用量で単回強制経口投与した。

結果: 毒性発現の傾向はマウス・ラット・モルモットで同様であり、100mg/kg以上の投与で、10分から15分後に間代性痙攣が観察された。ラットおよびモルモットでの死亡例の病理検査結果等より、死亡原因は呼吸器障害によるものと推察された。致死量以下で観察された反応は、短時間に完全に消失した。<sup>1)</sup> (McOmie & Anderson, 1949)

反復投与毒性

34日間反復投与毒性試験

試験動物: モルモットおよびラット。

試験目的: 強制経口投与による34日間反復投与毒性の有無。

試験方法: モルモットに、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンを1%濃度で水に溶解、あるいは1%デキストロース水溶液に懸濁して15mg/kgで34日間反復強制経口投与した。

ラットには、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンの500ppm水溶液を34日間飲水投与した。投与量は平均42.3mg/kg算出された。モルモット、ラットともに投与終了の5および10日後に、2例ずつ屠殺、解剖した。

結果: 剖検時にはわずかな体重減少が観察されたが、病理解剖学検査で変化は認められなかった。病理組織学的検査において、モルモットで背景病変でもある心筋でのリンパ球浸潤が認められた以外、異常は認められなかった。<sup>1)</sup> (McOmie & Anderson, 1949)

亜急性試験(吸入毒性試験)

試験動物: マウス

試験目的: 曝露による亜急性毒性の有無。

試験方法: 亜硝酸ジシクロヘキシルアミンを10%濃度で50%メタノール溶液に溶解し 50mlを動物(10例)に噴霧した。コントロールとして、50%メタノール溶液の50mlを動物(10例)に噴霧した。曝露は15日間で10回行った。一回の噴霧時間は約5分間であった。

結果: 10回の曝露終了直後には両群で全ての動物が生存していたが、曝露群において、2例は曝露終了後24時間以内に、2例は48時間以内に、3例は5日後死亡し、曝露終了2週間後には1例のみが生存していた。コントロール群では、曝露終了2週間後までに1例のみが死

亡した。各群2例を最終曝露の3日目に病理解剖した結果、両群において、肺にうっ血が観察された。病理組織学的検査では、両群ともに肺胞の広範囲な出血が認められた。肝臓におけるわずかな病理変化が認められたが、腎臓には異常は認められなかった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

□遺伝毒性  
該当文献なし

□癌原性

試験動物：ラット、マウス

試験方法：マウスに1%濃度の亜硝酸ジシクロヘキシルアミン0.1ml、12-13ヶ月間皮下投与した。ラットに2%濃度の亜硝酸ジシクロヘキシルアミン0.5mlを11-13ヶ月間皮下投与した。

結果：5例のマウスで13-20.5カ月後に腫瘍が認められた。腫瘍は、肝細胞癌、肺癌2例、肝原発性アデノーマ、海綿状肝血管腫であった。7例のラットで腫瘍の発生が認められた。6例は線維肉腫、1例は皮膚への転移を伴う肺癌であった。発症が12ヶ月後であったことから、発がん性は弱いものと考えられた。<sup>2)</sup>(Pliss,1958)

□生殖発生毒性  
該当文献なし

□局所刺激性

皮膚一次刺激試験

試験動物：ウサギ

試験方法：亜硝酸ジシクロヘキシルアミンを50%メタノールに溶解し、ガーゼ(10×10cm)に浸したものを毛刈りしたウサギの背部に24時間貼付した。コントロールとして50%メタノールをガーゼに浸したものを同様に貼付した。亜硝酸ジシクロヘキシルアミンの投与量は2.5mg/kgに設定した。

結果：観察の結果、皮膚刺激性は認められなかった。検体除去後2週間に、全身性の影響も認められなかった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

パッチテスト

試験動物：ウサギ

試験方法：Draize法に従い、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンの固体を直接もしくは10%濃度で50%メタノールに溶解したものを、ウサギ2例の無傷皮膚および擦過皮膚に投与した。さらにコントロールとして50%メタノールを、1例の無傷皮膚および擦過皮膚に投与した。

結果：紅斑・浮腫は認められなかった。検体除去1週間後、損傷皮膚に病理組織学的な障害は認められなかった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

累積刺激性試験

試験動物：ウサギ

試験方法：10%亜硝酸ジシクロヘキシルアミン溶液の10mlを20日間にわたり15回、体毛を除去した4例のウサギの背部皮膚100平方cmに塗布した。コントロールとして1例に50%メタノール液を同様の頻度で塗布した。塗布終了後塗布群の一例を屠殺して剖検を行った。

結果：炎症・紅斑・発毛停止・その他の皮膚反応は認められなかった。肺・腎臓・肝臓・皮膚に反応は見られなかった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

眼刺激試験

試験動物：ウサギ

試験方法：Draize法に従い実施した。

結果：2例のウサギにおいて軽度の結膜炎の兆候を認めたが、有意なものではなかった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

□その他の毒性

ウサギの血圧に対する作用

試験動物: ウサギ

試験方法: ペントバルビタールナトリウム麻酔下、亜硝酸ジシクロヘキシルアミン、ジイソプロピル亜硝酸塩、亜硝酸塩をウサギ耳静脈に注入後の頸動脈血圧を測定した。対照として血管拡張薬のニトログリセリンを使用した。

結果: 亜硝酸ジシクロヘキシルアミンでは明らかな血圧降下作用が認められ、その効果は亜硝酸塩よりも大きかった。作用時間はニトログリセリンより長かったが、亜硝酸塩とほぼ同様であった。<sup>1)</sup>(McOmie & Anderson,1949)

肝毒性

試験動物: ラット

試験方法: 亜硝酸ジシクロヘキシルアミン32.5mg/kgを24例のラットに3日間腹腔内投与した。同様にシクロヘキシルアミン349mg/kgの投与も行った。投与終了後に屠殺し、肝組織について電子顕微鏡観察を行った。

結果: 亜硝酸ジシクロヘキシルアミン投与群の肝実質細胞で、シクロヘキシルアミン投与群に比して有意な変化が認められた。すなわち、多くの細胞で核の膨化、クロマチン量の減少、グリコーゲン顆粒の減少が認められ、粗面小胞体の拡大も認められるなど、亜硝酸ジシクロヘキシルアミンはシクロヘキシルアミンに比してより早期かつ著明に肝障害性を示すと結論している。<sup>3)</sup>(Gordienko,1977)

□ヒトにおける知見

該当文献なし

□引用文献

1) McOmie WA, Anderson HH: The toxicity of dicyclohexylamine nitrite. In: Anderson HH, Alles, GA, Daniel TC, editors. University of California Publications in Pharmacology vol. 2 Berkery and Los Angeles California:University of California Press; 1938. p.231-240.

2) Pliss GB. On the Carcinogenic Activity of Dicyclohexylamine and Dicyclohexylaminenitrite, Voprosyl Onkologil. 1958; 4: 659-667.

3) Gordienko VM, Didenko MN. Electron microscopic study of rat hepatocytes under the effect of dicyclohexylamine nitrite and oil-soluble cyclohexylamine salt. TSITOL GENET. 1977; 11: 76-78.

| メニューへ |

和名 亜硝酸ナトリウム  
英文名 Sodium Nitrite

CAS 7632-00-0

別名

食品添加物名:

亜硝酸ナトリウム

収載公定書 食添(7) EU(E 250) CFR(Prior Sanction:181.34 GRAS:172.175)

用途 抗酸化剤

□最大使用量

使用基準: 殺虫剤

□JECFAの評価

ADI 0-0.07 mg/kg bw/日(亜硝酸イオンとして) (2002年、第59回) (ADIには、自然界から由来するすべての亜硝酸イオンを含む。但し、3ヶ月以下の乳幼児を除く。)

亜硝酸ナトリウムは、1961年に開かれたJECFAで評価され、ADI 0-0.4mg/kg bw (亜硝酸ナトリウムとして)(条件付ADI:0.4-0.8)が設定された。

その後、第17回JECFA(1973年)において、ADI 0-0.2mg/kg bw(暫定、亜硝酸ナトリウムとして)に引き下げられ、第20回(1976)年には「6ヶ月以下の乳幼児用食品へは使用すべきではない。」という条件が付された。

1995年、第44回で再評価され、ADI 0-0.06 mg/kg bw(亜硝酸イオンとして、自然界から由来するすべての亜硝酸塩を含む。)とされ、更に「3ヶ月以下の乳幼児食には使用すべきでない。」と変更された。<sup>1)</sup>

その後、2002年第59回において硝酸塩、亜硝酸塩について再評価され、ADI 0-0.07 mg/kg bw/日に変更された。<sup>2)</sup>

無作用量(NOEL): ラット(100ml/L、飲料水で投与、10mg/kg bw/dayに相当)<sup>2)</sup>

□単回投与毒性<sup>1)</sup>

動物種	投与経路	LD50	文献
ラット	経口	85 mg/kg bw	Lehman, 1958
マウス	経口	175-220 mg/kg bw	Greenberg, 1945; Lehman, 1958

これらのげっ歯類における急性症状として、血管拡張、血圧低下、肝臓中のビタミンA濃度の低下、甲状腺機能障害が認められた。

ラット<sup>1)</sup>

単回投与した場合と同量の亜硝酸ナトリウムを数回に分けて投与した場合の影響について、雌ラットを用いて比較した。メトヘモグロビン血症を指標とし、亜硝酸ナトリウム160 mg/kg bw又は320 mg/kg bwを少量に分けて(15分毎に3回、続いて30分毎に4回)投与した結果、40 mg/kg又は80 mg/kg bwをそれぞれ単回投与した場合に比較し、毒性の発現は低かった(De Vries, 1938)

同様の実験で、亜硝酸ナトリウム100 mg/kg bwをラットに投与し、2時間後に同量を再投与したところ、高い死亡率を示したが、4時間後に同量投与した場合はすべての動物が生存していた。ラットにおけるメトヘモグロビンの半減期は90分と報告されており、この毒性発現結果の差異は、メトヘモグロビンの体内半減期に起因するものと推測される(Shuval & Gruener, 1972)

1群18-24匹からなる生後45-55日齢のLong-Evans Hooded雄ラットに0、50、75、100 mg/kg bwの亜硝酸ナトリウムを投与し、行動、血液学的検査、脳の病理組織学的検査を行った。行動変化については、亜硝酸ナトリウムを75 mg/kgの割合で投与した後、25分後に観察し、脳の病理組織学的検査については投与24時間後に検査した。

検査前に10分間動物を水に浸漬すると、重篤な運動失調を生じたが、検査前10分に、脚に軽度のショックを与えた場合は発現しなかった。

亜硝酸塩投与によるメトヘモグロビンの変化は認められなかった。虚血における変化と同

様に、海馬形成細胞の延命作用が示唆された。(Isaacson & Fahey, 1987)<sup>1)</sup>

イヌ<sup>1)</sup>

イヌに亜硝酸ナトリウム1-2g/kgをソーセージと共に投与したところ、投与後1-2時間内に、呼吸数及び心拍数が増加し、ECGも変化、メトヘモグロビン血症も認められ、血清中のナトリウムが増加しカリウムが減少、ASAT活性も上昇した (Isaacson & Fahey, 1987)

#### □反復投与毒性

##### マウス

1群5匹のマウスからなる生後6又は55週齢のマウスに、亜硝酸ナトリウム0、110 mg/kg bwを7日間強制経口投与した。亜硝酸ナトリウム投与群では強制走行距離の減少、ECG(心電図)の異常、限外顕微鏡下で心筋の変化が観察された(Kinoshita et al., 1985)<sup>1)</sup>

亜硝酸ナトリウム、0、100、1000、1500又は2000 mg/Lを飲料水に添加(0、10、100、150又は200 mg/kg bw/日に相当する。)し2週間投与した結果、マウスの自発運動量が低下した (Gruener & Shuval, 1971)<sup>1)</sup>

1群10匹の雄マウスからなる5群に、0、100、1000、1500又は2000 mg/Lの亜硝酸ナトリウムを含む飲料水(0、10、100、150又は200 mg/kg bw/日に相当する。)を投与した。亜硝酸ナトリウム投与群の自発運動量は低下したが、特に最高投与群でその影響が大きかった。メトヘモグロビン血症も同様に観察された。実験者によると、投与群の鎮静効果はメトヘモグロビン血症に起因するものとは思われなしている (Behroozi et al., 1971)<sup>1)</sup>

1群雌雄10匹のB6C3F1マウスに亜硝酸ナトリウムを0、375、750、1500、3000又は5000 mg/L含有する飲料水を14週間投与した。

この量は1日平均雄では90、190、340、750、990 mg./kg bw、雌では120、240、440、840 mg./kg bwに相当する。投与後13週で、亜硝酸ナトリウム最高投与群の雄ラットでは、対照群に比較し有意に体重増加率が減少した。

対照群と比較して、雄マウスの脾臓の相対重量、雌マウスの心臓、腎臓、肝臓及び脾臓の相対及び絶対重量の増加がみられた。最高投与群の雄では精子運動能力が低下し、3高投与群の雌ラットでは対照群に比較し発情周期が有意に延長した。2高投与群の雌雄のマウスでは前胃に扁平上皮過形成が認められ、2高投与群の雄マウス及び3高投与群の雌マウスにおいては脾臓の髓外造血が観察された。又、2高投与群の雄マウスでは精巣に変性も認められた。無作用量は190mg/kgであった。(National Toxicology Program, 2001)<sup>2)</sup>

##### ラット

1群雌雄10匹からなるラットに、亜硝酸ナトリウム0、0.06、0.125、0.25、0.5又は1%濃度含有する飲料水を6週間与えた。これらの濃度は、亜硝酸ナトリウムとして0、60、125、250、500又は1000 mg/kg bw/日に相当する。1000 mg/kg bw/日投与群では中等度の体重増加の抑制が認められた。

剖検の結果、高投与量の2群で血液、脾臓にメトヘモグロビン血症による著明な色調の変化(褐色化)が認められた。飲料水で投与する場合の最大耐量は0.25%であった(Maekawa et al., 1982)<sup>1)</sup>

1群雄ラット8匹からなる4群に、亜硝酸ナトリウム0、100、300、2000 mg/L含有する飲料水を2ヶ月間与えた。これらの濃度は、亜硝酸ナトリウムとして0、10、30又は200mg/kg bw/日に相当する。最高投与群においてEEGの異常が認められたが、その他の投与群ではみられなかった。(Shuval & Gruener, 1972)<sup>1)</sup>

1群8匹の生後1ヶ月齢の雄ラットからなる2群に、亜硝酸ナトリウムを0又は200mg/Lを含む飲料水を16週間投与した。(亜硝酸ナトリウムとして0又は20mg/kg bw/日に相当する。)メトヘモグロビン濃度は対照群で0-1.2%であったのに対し、亜硝酸ナトリウム投与群では0.5-3.1%であった。同時に、亜硝酸ナトリウム投与群では肺病変が高頻度に認められた。同様の実験で、2ヶ月齢のラット(亜硝酸ナトリウム投与群12匹、対照群9匹)に、亜硝酸ナトリウムを飲料水に0、2000 mg/L添加し、14ヶ月間投与した。

メトヘモグロビン濃度は対照群が0-1%であったのに対し、亜硝酸ナトリウム投与群では1-35%とばらついていった。亜硝酸塩を摂取した動物は体重及び肝重量も小さく、血清ビタミンE濃度も減少し、グルタチオン濃度の低い赤血球も増加し、すべての動物で重症な肺病変が

認められた (Chow et al., 1980)<sup>1)</sup>

1群雌雄各10匹のラットに、亜硝酸ナトリウム0、380、750、1500、3000又は5000mg/Lを含む飲料水を14週間投与した。この量は雄ラットでは30、55、120、200、310 mg/kg bw/日、雌ラットでは40、80、130、220及び340 mg/kg bw/日に相当する。更に、1群雌雄15匹のラットを追加し、同濃度を含有する飲料水を70-71日間投与した。220 mg/kg bw/日を投与した群の雌1匹が試験終了前に死亡した。310 mg/kg bw/日を投与した雄ラットは対照群に比較し明らかに体重が少なかった。又、310 mg/kg bw/日投与群の雄及び2高投与群の雌ラットにおいては、対照群に比較し、14週に摂水量の低下がみられた。一般状態の変化として、雄で亜硝酸ナトリウムを200、310 mg/kg bw/日投与した群、雌では3高投与群の目の褐色化、口、舌、耳、足にチアノーゼが観察された。網赤血球数は雌雄とも2高投与群で増加した。エリトロンは雌雄最高投与群で、投与後19日目に低減したが、14週までに再び増加した。全ての投与群でメトヘモグロビン量は増加し、総ヘモグロビン量に対する割合は雄の対照群で0.002%、200mg/kg bw/日投与群の雄で4.4%、310 mg/kg bw/日投与群の雄で17%、雌の対照群で0.37%、220 mg/kg bw/日投与群で5.8%、340 mg/kg bw/日投与群で11%であった。実験者はこれらの影響に対するNOELを算定できなかったと報告している。2高投与群の雌雄における腎臓において網赤血球数の増加がみられ、赤血球生成能の亢進が示唆された。最高投与群の雌雄ラットでは前胃の扁平上皮細胞の過形成が有意に認められた。メトヘモグロビンが3%以下の場合には悪影響及ぼすものではないと判断し、120 mg/kg bw/日投与群の精子運動能の低下を基にNOELは55 mg/kg bw/日とした (National Toxicology Program, 2001)<sup>2)</sup>

1群8匹の雄ラットに、亜硝酸ナトリウムを0、100、1000、2000又は3000 mg/Lを含む飲料水を2年間投与した。成長、発育、死亡率、総ヘモグロビン量については亜硝酸ナトリウム投与群と対照群の間に有意な差異は見られなかった。

しかし、亜硝酸ナトリウムを1000、2000又は3000 mg/L摂取した群では総メトヘモグロビン量は試験中有意に高く、対照群に比較し、それぞれ5%、12%、22%高かった。主要な病理組織学的変化は最高投与群において肺、心臓にみられ、心筋に小さな変性と線維化が観察された。冠動脈は、通常この年齢でみられるような厚く狭くなる代わりに、薄く拡張していた。肺における変化はリンパ球が浸潤した気管支拡張、肺胞の極度の膨張が認められ、亜硝酸ナトリウムを1000、2000又は3000 mg/L摂取した群でこのような現象が認められた。この試験におけるNOELは亜硝酸ナトリウムとして100 mg/Lであり、10 mg/kg bw/日に相当し、亜硝酸イオンとして6.7mg/kg bw/日となる (Shuval & Gruener, 1972)<sup>1)</sup>

#### ウサギ<sup>1)</sup>

ラットで見られた副腎皮質球状帯の変化を裏つける現象として、亜硝酸ナトリウム10 mg/kg bw/日を非経口投与により18日間投与し、尿中ステロイドの排泄の変化をみた (Violante et al., 1973) 結果、時間の経過と共に、尿中の17-ヒドロキシー、17-ケト、17-ケトンの形をしたステロイド類の排泄量が減少した。NaNO<sub>2</sub> 20 mg/kg bw/日を14日間投与した場合でも17-ヒドロキシー及び17-ケトステロイドの排泄量が減少した。

#### □ 遺伝毒性

亜硝酸ナトリウムはSalmonella typhimuriumによるAmesテストで、復帰突然変異性を示したが、市販のSOS-chromotestでは他の変異原性物質と同様陰性であった (Brams et al., 1987)。

しかし、Nakamuraらによると、SOS-chromotest を用いたテストでは弱い遺伝毒性を示した (1987)<sup>1)</sup>。

マウス細胞によるテストで、亜硝酸ナトリウムは代謝活性化系非存在下ではsingle strand breaksの増加を認めなかったが、比較的高濃度では投与量に比例し遺伝子突然変異、染色体異常がそれぞれ増加した。この変異原性はおそらくDNAの脱アミノ化によるもので、ニトロ素アミンの生成に起因するものではないと推定される (Kodama et al., 1976)<sup>1)</sup>

V79ハムスター細胞に亜硝酸ナトリウムを約pH5の酸性下で投与すると、6-TG mutantの増加が認められた (Budayoba, 1985)<sup>1)</sup>

ハムスター培養細胞による試験では明らかに染色体異常が増加した (Tuda et al., 1976)。

End-duplicationも同様に報告されている。(Tuda & Kato, 1977)

亜硝酸ナトリウムは人胚肺組織から得た異常細胞を急激に誘導した (Stanford Research



Institute, 1972-報告書なし)。マウスリンパ腫 L5178Yによる thymidine kinase locus assay では、亜硝酸ナトリウムは0.02-1mmol/L濃度で陽性であり、既知の変異原物質、発がん物質に比較し弱い変異原性を示す (Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988) <sup>1)</sup>

Syrianハムスターの妊娠11又は12日目に、亜硝酸ナトリウムを経口投与した。ハムスター胚細胞の培養細胞で薬剤抵抗性を示す変異(8-AG、オウバイン)が増加した。同時に、用量依存性の小核形成の増加が認められたが、染色体異常発現細胞の増加は認められなかった。(Inui et al., 1979) <sup>1)</sup>

In vitroで、亜硝酸ナトリウム添加によるハムスター細胞の形態の変異が報告されている (Tsuda et al., 1973)。In vitroでは胚細胞の変異が生じるが、in-vivoでこの変異した細胞を移植すると、腫瘍細胞へ変化した (Inui et al., 1979) <sup>1)</sup>

ショウジョウバエ翅毛スポットテスト(wing spot test)で、Graf et al. (1989)は翅体細胞に大小のシングルスポットの出現頻度の変化による突然変異性を観察した。

E. coli K 12 uvr B/rec A DNA repairを用いた宿主経路試験、及びマウス小核試験の2種の in vivo テストで変異原性は認められなかった (Couchell & Friedman, 1975; Hayashi et al., 1981, 1988; Hellmer & Bolcsfoldi, 1992) <sup>1)</sup>。しかしながら、約210 mg/kg bwになるように亜硝酸ナトリウムを飲料水に溶かし、妊娠ラットの妊娠5-18日及び非妊娠ラットにそれぞれ投与したところ、両群共骨髓細胞に染色体異常を誘発し、同様に胎児の肝細胞にも染色体異常が認められた。対照群及び被験物質投与群において、この分裂中期(metaphase)の染色体異常を有する細胞数の割合は成熟ラットの骨髓に比較し、胎児の肝細胞の方が高かった (El Nahas et al., 1984; Luca et al., 1987) <sup>1)</sup>。

Zimmermann(1977)によると、亜硝酸塩は次の三段階によって突然変異を誘発するとしている。

- (1) DNA鎖中のDNA塩基から脱アミノする。しかしながら、脱アミノはしばしば自然発生的に生じ、これらの損傷に対するDNA修復システムはバクテリアに存在することが知られており、おそらく哺乳類の細胞にも存在すると考えられている。
- (2) DNA鎖のプリン残基同士のクロスリンクの形成が2重鎖DNAの場合にヘリクスの歪が生じる。このタイプの損傷の誘発はDNAの近くにポリアミン、グリコール、アルコール、フェノール等の分子が存在する場合に増強される(Thomas et al., 1979)。
- (3) 亜硝酸塩はニトロ化され易い物質と反応し、N-ニトロソ化合物をつくり、間接的に変異原性をあらわす。 <sup>1)</sup>

Alavantic et al.(1988)は、雄マウスの生殖細胞を用いて、in vivo テストで亜硝酸塩及び硝酸塩の影響を調査した。亜硝酸ナトリウム60もしくは120 mg/kg bw/日を17日間投与後、UDS (処理後17日)及び精子細胞における精子形態異常(処理後11日又は17日)を調査した。硝酸塩は600又は1200 mg/kg bw/日を3日間投与した。この結果、亜硝酸塩(硝酸塩も)はUDS反応を誘発しなかった。精子頭部形態異常試験において亜硝酸ナトリウム120 mg/kg bw/日を投与した群では投与11及び17日の検査で陽性が認められた。 <sup>1)</sup>

亜硝酸ナトリウムはSalmonella typhimuriumTA100に対して、Aroclor 1254で誘導したハムスター及びラットの肝臓酵素による代謝活性化の有無に係わらず、変異原性を示したが、TA98に対しては陰性であった。雄ラット及びマウスに亜硝酸ナトリウムを腹腔内投与し小核試験を行ったが、骨髓の小核形成は認められず、マウスの末梢血液を用いた14週にわたる小核試験でも陰性の結果が得られている(National Toxicology Program, 2001)。 <sup>2)</sup>

#### □癌原性

##### マウス

1群雌雄50匹のマウスからなる4群に、亜硝酸ナトリウムをそれぞれ0、1000、2500又は5000 mg/L含有する飲料水を18ヶ月間投与(0、200、500、1000 mg/kg bw/日にそれぞれ相当する。)した。腫瘍の発生は認められなかった (Inai et al., 1964) <sup>1)</sup>。

1群200匹からなる近交系のマウスに、0又は0.2%/L亜硝酸ナトリウムを含有する飲料水を投与した。その内、100匹は0.2%/L亜硝酸ナトリウムに子宮内暴露(妊娠中、授乳中)し、離乳後は0.2%/L亜硝酸ナトリウム飲料水を投与した。病理組織学的検査では、亜硝酸ナトリウムは暴露期間に関係なく中枢神経系の腫瘍発生に影響を及ぼさないことが示唆された。この

結果は亜硝酸ナトリウムがVMマウスで脳グリオーマの原因の可能性が高いことを示唆する先の実験結果と矛盾するものであった(Hawkes et al., 1992)<sup>1)</sup>。

1群雌雄各50匹のB6C3F1マウスに亜硝酸ナトリウムを0、750、1500又は3000 mg/Lを含む飲料水を2年間投与した。これらの投与量はそれぞれ雄では60、120、220 mg/kg bw/日、雌では45、90、160 mg/kg bw/日に相当する。投与群の生存率は対照群と変わらなかった。最高投与群の雌では実験終了まで対照群に比較し体重が小さく、投与群の摂水量も対照群に比較し少なかった。雌マウスの前胃の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められた。最高投与群の雄では対照群に比較し、前胃の腺上皮の過形成の発生頻度の増加がみられた。しかし、前胃の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生頻度の増加傾向のみでがん原性を判断することはできなかった(National Toxicology Program, 2001)<sup>2)</sup>。

#### ラット

米国FDAによる大規模試験(Newbern, 1978, 1979)で、対照群ラット573匹、亜硝酸塩投与群では1383匹のラットにそれぞれ0、25、50、100、200 mg/kg bwを餌又は飲料水に添加し投与した。亜硝酸塩投与群の一部は出生5日前から、その他は離乳から生涯投与を開始した。餌は、通常用いる動物飼料及び寒天をベースにした半合成飼料の2種類を用いた。Newbern(1978, 1979)は全ての亜硝酸塩投与群でリンパ腫の発生が増加したと報告した(投与群の発生率が10.2%に対し、対照群では5.4%であった。)。しかしながら、政府のInteragency Working Groupは同一組織プレパラートを精査し異なる結論、即ち、亜硝酸塩処理群及び対照群とも、リンパ腫の発生率は少数(約1%)であると結論した。この不一致はNewbernがリンパ腫と診断したものを、Interagency Working Groupは髄外造血、形質細胞増多症又は組織球肉腫と診断し、リンパ腫としては極少数でしかなかったことによる。その他の腫瘍の発生は認められなかった(FDA, 1980a,b)<sup>1)</sup>。

1群雌雄50匹のF344ラット3群に、亜硝酸ナトリウムを0、0.125又は0.25%濃度になるよう飲料水に加え、2年間投与した。発癌の所見は認められなかった。対照群に比較し、高投与群の雌ラットにおいて有意に腫瘍発生率の低下が観察された。この低下の理由の一つとして、この種のラットで自然発生的にみられる(約25%)単核細胞白血病(mononuclear cell leukaemia)に起因するものと思われる(Mekawa et al., 1982)<sup>1)</sup>。

1群雌雄24匹からなるF344ラットに、亜硝酸ナトリウムを2000 mg/kg添加した餌(100 mg/kg bw/日に相当する。)或いは200 mg/kg bw/日に相当する亜硝酸ナトリウムを添加した飲料水を投与した。この結果、癌原性は認められず、亜硝酸塩処理群で雌雄ともにF344系ラットに高頻度に自然発生する単球性白血病の発現頻度の低下が認められた。亜硝酸塩投与群において、その他の腫瘍発生増加は認められなかった(Lijinsky et al, 1983)<sup>1)</sup>。

1群50匹からなる生後6週齢のF344雄ラットを用いて長期投与試験を行った。亜硝酸ナトリウムの0.2又は0.5%を低たん白飼料に混合し115週間投与した。雄20匹からなる対照群は低たん白飼料のみを投与した。亜硝酸ナトリウム投与群では体重増加率が減少し、投与開始1週間後のRBC、PCV及びヘモグロビン量は減少した。RBCは8週後も引き続き減少したが、徐々に回復し52週には正常に戻った。投与量に依存して、リンパ腫、白血病、精巣間質細胞腫の発生時期、発生頻度の低下が認められた。白血病はリンパ腫を持つ動物のみに認められ、この2つの腫瘍には関連性のあることが示唆された。この実験条件では亜硝酸ナトリウムのラットにおける発癌性は認められず、むしろ、投与量に依存して腫瘍発生率が低減する傾向が見られた(Grant & Butler, 1989)<sup>1)</sup>。

1群雌雄各50匹のFisher344/Nラットに、亜硝酸ナトリウム0、750、1500、3000 mg/Lを飲料水に添加し、2年間投与した。この量は雄では35、70、130 mg/kg bw、雌では40、80、150 mg/kg bwに相当する。血漿亜硝酸及び血中ヘモグロビンのトキシコキネティクス検査を目的として、雌雄各10匹に同量の亜硝酸ナトリウムを12ヶ月間投与した。生存率に対照群との差は認められなかった。最高投与群においては対照群に比べ、試験期間を通して平均体重が低く、摂水量も低かった。又、その他の投与群における摂水量は14週以降で低かった。最高投与群の雌雄ラットにおいて、前胃の上皮に過形成が認められ、その発生頻度は対照群に比較し有意に高かった。雌ラットにおいて乳腺線維腺腫の発生は中間投与群で有意に高く、低投与の2群においても多発性の線維腺腫の増加が認められたものの、これらの腫瘍の背景値は高頻度であり、最高投与群では発生頻度の増加は認められなかった。単核細胞白血病の発生は80、150 mg/kg bw/日投与群の雌雄で有意に減少した。本試験条件下においてがん原性を示唆する結果は認められなかった(National Toxicology Program, 2001)<sup>2)</sup>。

## □生殖発生毒性

### マウス

1群約15匹からなる妊娠ICRマウスに、亜硝酸ナトリウムを0、100又は1000 mg/L濃度で含有する飲料水を妊娠7-18日間投与した。亜硝酸ナトリウム投与群と対照群を比較し、胎児数、胎児の体重、死亡胎児数に、亜硝酸ナトリウムの毒性を示唆する影響は認められなかった。

亜硝酸ナトリウム投与群の胎児の外表異常、骨格異常も対照群と比較し差は認められなかった。亜硝酸ナトリウムにより子宮内で暴露された胎児の肝細胞の染色体について観察した結果、染色体切断及びギャップの発現頻度に差は認められなかった。以上のとおり、この実験条件において亜硝酸ナトリウムの催奇形性、変異原性は認められなかった(Shimaria et al., 1989)<sup>1)</sup>。

Swiss CD-1マウスを用い、亜硝酸ナトリウムの繁殖に及ぼす影響を見た。投与量を設定する目的で、同居期間中0.06%、0.12%、0.24%(W/V)濃度の亜硝酸ナトリウムを含有する飲料水を投与した。同居期間の高投与群におけるF0の体重は減少しなかったものの、摂水量は10-17%減少した。亜硝酸ナトリウムの摂取量はそれぞれ120、260、420 mg/kg bwであった。この段階で、9匹のマウスが死亡したが、0.06%投与群で3匹、0.12%投与群で4匹、0.24%投与群は0、対照群で1匹であった。1対当りの平均産児数、同腹児数、生存児数及び体重には、投与による影響は認められなかった。妊娠期間にも影響はなかった。各母動物は同居から離乳迄、出生児を哺育させた。哺育中の死亡率には亜硝酸塩処理による影響は認められなかったが、F1動物の体重増加率は、最高投与群で生後7-21日にかけ12-17%減少した。この原因は母動物の摂水量が減少したため、結果として乳の生成が減少したことによると思われる。

この段階において、繁殖に何ら影響が認められなかったので、対照群及び最高投与群のマウスのみについて生殖能に対する影響について検査した。この試験期間中、摂水量は8%低減した。F1の交配期の初期体重は全ての群で差がなかった。

F1マウスの妊娠率、交尾率には投与による影響は認められず、生殖能も変わらなかった。産児数、生存児数、F2動物の体重は投与による減少は認められなかった。分娩後、F2動物、F1動物をと殺し検査した。最終体重は投与による影響は認められず、各臓器重量にも変化は認められなかった。発情周期も変わらず、精巣上体の精子において活動性、濃度、形態に変化は認められなかった。病理組織学的検査では、0.24%投与群のマウスの肝臓、腎臓とも対照群と変わらなかった。このように、亜硝酸ナトリウムはマウスに対し420 mg/kg 体重迄は生殖能への影響は認められず、この値が繁殖毒性のNOELと考えられる(Chapin et al., 1997)<sup>2)</sup>

1群12匹の妊娠ラットに亜硝酸ナトリウムを飲料水に0、2000又は3000 mg/L添加し投与した。この濃度は亜硝酸ナトリウムとして0、200、300 mg/kg bw/日に相当する。非妊娠ラットにも同様の処理を行った。亜硝酸ナトリウムを投与した妊娠ラットには貧血症状が現れ、同様の処理を行った非妊娠ラットと比較し血中メトヘモグロビン含量も高かった。又、亜硝酸ナトリウムを投与した母ラットにおける新生児の死亡率は対照群に比較し明らかに高く、特に、離乳前3週間において顕著であった。児ラットの死亡率は対照群で6%であったが、2000 mg投与群では30%、3000 mg投与群では53%であった。出生時体重は全ての群で同等であったが、親動物に亜硝酸ナトリウムを投与した群の児ラットの体重増加率は顕著に低かった(Shuval & Gruener, 1972)。

亜硝酸ナトリウムを2.5-50 mg/kg bw を妊娠ラットに投与した結果、胎児にメトヘモグロビンの産生がみられ、化合物の胎盤移行が示唆された (Shuval & Gruener, 1972)

2世代繁殖試験において、亜硝酸ナトリウムを0、240又は460 mg 含有する餌で妊娠時から28ヶ月間飼育したが、出生児数、死亡数、生涯成長率等に変化は認められなかった。この投与量は、それぞれ0、12、23 mg/kg bw/日に相当する。(Shank & Newberne, 1976)

妊娠Long-Evansラットに妊娠期間を通じ、亜硝酸ナトリウムを0.5、1、2又は3g/L添加した飲料水を投与した。投与群及び対照群の出産児には有意な差異は観察されなかった。その後、母動物に亜硝酸ナトリウムを2又は3g/L投与した群のF1動物は体重増加率が低下し、著しい貧血症を呈し、出生後3週間で死亡する子ラットも出た。出生後2週間で、子ラットの血中Hb、RBC、MCV(Mean corpuscular volume)は、対照群に比較し顕著に低下した。又、脂肪肝が観察され、血液塗末標本では顕著な不同血球、難染色性、乳糜様脂肪血が観察され

た。病理組織検査では中心小葉肝細胞の細胞質空胞化、骨髄・脾臓における血液形成の低下が認められた。1g/L投与群においては、血液学的変化も認められたが、成長及び死亡率への影響は認められなかった。

以上の結果から、0.5g投与群がNOELか又はそれに近い値であった。亜硝酸塩処理による影響をみるには、妊娠中よりも授乳期間中の方がより観察しやすい。(Roth et al., 1987)。

妊娠及び授乳期間中、亜硝酸ナトリウムを2又は3g/L添加した飲料水を投与したLong-Evansラットの親動物から出生した新生児及び授乳児は重篤な小球性貧血及び発育遅延、高死亡率が認められ、更に、脂肪血症、脂肪肝損傷、骨髄・脾臓における血液形成低下、血清及び組織中の鉄濃度の低下が観察された。これらは全て鉄欠乏症に係わる特徴と一致する。母動物に亜硝酸ナトリウムを投与した新生児ラットに鉄補助剤を与えると新生児の貧血は消失し、他の亜硝酸塩によって生じた悪影響も消失した(Shuval & Gruener, 1972; Roth et al., 1987)。亜硝酸塩投与をした母ラットの母乳中の鉄含量は低減し、胎児又は授乳児で顕著な鉄欠乏症が観察された。このように、亜硝酸塩投与を行った母ラットでは胎児及び新生児に対する鉄供給能力が減少することにより、新生児において重篤な鉄欠乏症を引き起こす(Roth & Smith, 1988)。

妊娠ラット10匹及び15匹からなる2群に、それぞれ妊娠9日、10日目に亜硝酸ナトリウム3g又は10gを混餌投与した。この量は150及び500mg/kg bw/日の相当する。この結果は、何ら胎児毒性、催奇形性は認められなかった(Alexandrov et al., 1990)。

#### モルモット<sup>1)</sup>

1群4匹の妊娠モルモットに、亜硝酸ナトリウム0、50又は60 mg/kg bw/日を出産前15日間、皮下投与した。50 mg/kg bw/日投与群では出産は正常であったが、60 mg/kg bw/日投与群では、投与1時間後に流産が3例発生し、続いて胎児死亡が観察された。死亡時、母動物及び胎児の血中メトヘモグロビン濃度は最高濃度に達し、胎児の血中酸素圧は対照群に比較し低かった。60 mg/kg bw/日投与群の母動物は1時間後に死亡した(Sinha & Sleight, 1971)。

次いで、1群9匹の妊娠モルモットに亜硝酸ナトリウムを0、60 mg/kg bw/日を妊娠最後に皮下注射により単回投与した。親動物は亜硝酸塩投与後0.25-56時間の間隔でと殺し検査した。投与後3時間以上経過した段階で、胎児の96%が死亡した。繁殖に影響を及ぼさない亜硝酸ナトリウムの投与量と母動物及び胎児で死亡がみられた投与量の差が小さいことが判明した(Sinha & Sleight, 1971)。

#### ウシ<sup>1)</sup>

妊娠ウシに7、9.5及び12 mg NO<sup>-</sup>/kg bw を30分間点滴静注した。亜硝酸塩を投与した母ウシの用量に依存した血中のヘモグロビンからメトヘモグロビンへの転換、平均動脈血圧の30-50%の低下、用量に依存した回復期間を伴う心拍数の増加、部分的酸素張力(pO<sub>2</sub>)の減少が認められた。胎児における変化はメトヘモグロビン量の僅かな上昇、心拍数の変化(瀕脈及び徐脈)、胎児pO<sub>2</sub>の低下が認められたが、動物間でかなり数値にばらつきが認められた。全ての胎児は生存して生まれたが、亜硝酸塩の最高投与群では、投与後2-3日後に3頭のウシが早産した。

血液学的検査データ及び心血管に関するデータから、3頭の胎児は他の胎児より更に重大な低酸素血状態であったことが示唆された(Van't Klooster et al., 1990)。

#### □局所刺激性

報告なし

#### □その他の毒性

##### 悪性腫瘍への形質転換に関する試験<sup>1)</sup>

マウスBALB/c3T3細胞に亜硝酸ナトリウム(5-20mM)を添加し、72時間培養すると、用量依存的な転座(タイプⅢ)が認められた。この細胞を取り出し、ヌードマウス(免疫不全)に皮下注射したところ(1×10<sup>6</sup>個/スポット)、腫瘍の進行性増殖が認められた。一方、亜硝酸塩未処理の細胞では腫瘍の増殖は認められなかった。亜硝酸ナトリウムが細胞内成分と反応し発がん物質のN-nitroso化合物を生成することにより腫瘍が発現するのではなく、亜硝酸ナトリ

ウム自身が細胞形質転換作用を持つことが判明した。哺乳動物の活性化されたマクロファージがNO<sub>2</sub>-を生産することが示唆される(Tsuda & Hasegawa, 1990)。

#### 抗酸化剤との相互作用に関する試験<sup>1)</sup>

Fisher雄ラットを用いた4週間投与試験により、前胃の細胞増殖に対する亜硝酸ナトリウムと抗酸化剤であるアスコルビン酸ナトリウムの相互作用について検討した。1群5匹の6週齢ラットに、カテコール0.8%、ハイドロキノン0.8%、TBHQ (tert-butylhydroquinone) 1%、gallic acid 2%又はピロガロール2%を単独或いは0.3%亜硝酸ナトリウムとともに飲料水に添加し、或いはアスコルビン酸ナトリウム1%を混餌投与した。前胃粘膜は抗酸化剤単独投与に比較して抗酸化剤とNaNO<sub>2</sub>との併用により肥厚し、アスコルビン酸ナトリウムの追加投与により更にその肥厚を高めた(Yoshida et al., 1994)。

#### 循環器系に及ぼす影響<sup>2)</sup>

亜硝酸塩及び有機硝酸塩は血管拡張作用があり(Nickerson, 1975)、亜硝酸ナトリウム100-300mg/Lを飲料水で2年間投与したラットで筋肉内冠状血管の拡張及び菲薄化が認められた(Shuval & Gruener, 1972)。亜硝酸塩を長期間摂取することにより、自然発生高血圧ラットの血圧を低下させ高血圧による二次病変の予防の有無について検討するため、96匹のラットに亜硝酸ナトリウム又は重炭酸塩50-75mmol/Lを4、8又は12ヶ月投与した。各測定時点における動脈血圧(tail-cuff法で測定)は亜硝酸ナトリウム投与群が有意に低く、亜硝酸塩に対する耐性も認められなかった。同時に、心臓肥大、及び腎臓萎縮の発現頻度の低下傾向もみられた。亜硝酸ナトリウム75mmol/Lの投与は若齢ラットでは十分耐えうる量ではなかった(Haas et al., 1999)。

#### 腫瘍誘発に対する影響<sup>2)</sup>

良く知られた発がん物質(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, phenolic compounds, catechol, 3-methoxycatechol and butylated hydroxyanisole)に、0.2-0.3%の亜硝酸ナトリウム投与(200-300mg/kgに相当)を併用投与すると、前胃における腫瘍発生が増強されることが多数報告されている。しかし、この濃度より低濃度での研究は見当たらない。前胃の腫瘍はヒトに対し限定的な影響でしかないため、これらの結果が食品中の亜硝酸塩の安全性評価に意味を持つものとは考えられない(Hirose et al., 1993; Kawabe et al., 1994; Yoshida et al., 1994; Miyauchi et al., 2002)。

最近の研究では、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol [4,5-b]pyridineで発生したラットにおける乳腺腫瘍の発生率及びその大きさに及ぼす0.2%亜硝酸ナトリウム(200mg/kg bwに相当)投与の影響を調べた結果、亜硝酸塩は腫瘍発生率に影響を及ぼさず、又、その大きさを縮小させる傾向が認められた。これは比較的高濃度の投与量における結果であり、食品中の亜硝酸塩の安全性評価に影響するものではない(Hirose et al., 2002)。

#### □ヒトにおける知見

##### メトヘモグロビン形成<sup>1)</sup>

食品中の亜硝酸塩による食中毒事故が報告されている。人の経口投与による致死量は33~250 mg NO<sub>2</sub>-/kg bwとされ、子供及び高齢者では低用量が適用される(Corre & Breimer, 1979)。メトヘモグロビン血症を誘発する毒性量は1-8.3 mg/kg bwの範囲である(Winton et al., 1971; Simon, 1970)。

亜硝酸塩の高濃度暴露による中毒については種々報告されている(Machabert et al., 1994; Dudley & Salomon, 1993; Bradberry et al., 1994; Kaplan et al., 1990; Walley & Flanagan, 1987)。亜硝酸塩の毒性は吸入によっても、経口によっても誘発される。亜硝酸イオンとして、0.4~>200 mg/kg bwの範囲で、摂取後に亜硝酸塩による中毒症状及びメトヘモグロビン血症が現れる。メトヘモグロビン血症の症状は亜硝酸塩の暴露量に応じ、呼吸困難、頻脈に続いて、チアノーゼ、多幸症、顔面紅潮、頭痛、めまい、失調症等の症状がでる。メトヘモグロビン血症の患者は酸素及び又はビタミンCとメチレンブルーの併用投与で回復するが、重症の場合には交換輸血を行う(Kalpan et al., 1990; Walley & Flanagan, 1987; Bradberry et al., 1994)。人における亜硝酸塩の毒性に関する他の亜硝酸ナトリウムの情報として、血管拡張剤としての使用或いはシアン中毒の解毒剤としての利用がある。30-300 mg/人(0.5-5 mg/kg bwに相当する。)では毒性効果を示さなかった(NAS, 1981)。

生後3ヶ月以下の乳児は別として、他の遺伝的或いは疾病の影響で生体に異常を来しているグループの人が、硝酸塩や亜硝酸塩によるメトヘモグロビン血症に罹患することがある。この例としては、妊婦(Metcalf, 1961)、グルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠乏症(Kohl,

1973)、胃酸分泌が低減している成人、遺伝的に赤血球中のNADH又はメトヘモグロビンレダクターゼ欠損患者 (Scott, 1960)、高齢者 (Spiegelhalter) で報告されている。同様に、ヘモグロビンが遺伝的に構造異常の人も、食事による亜硝酸塩や硝酸塩のリスクが高まる (Jaffe & Heller, 1964, cited in NAS, 1981)。

亜硝酸ナトリウムを0.5 mg/kg bw/日、調理した野菜に添加し9日間投与したところ、人の尿中の17-ヒドロキシ及び17-ケトステロイドの排泄が減少した。この結果は副腎におけるステロイドの生産が低減したことを示唆し、ウサギにおける報告と一致している (Violante et al., 1973)。このことは、亜硝酸塩を投与したラットにおいて副腎の球状帯細胞の肥大が認められることから支持される (Til et al., 1988, 1990; Boink et al. in press)。

□引用文献

- 1) WHO Food Additive Series 35 (NITRITE (and potential endogenous formation Of N-nitroso compounds) (1995)
- 2) WHO Food Additive Series 50 (NITRITE (and potential endogenous formation Of N-nitroso compounds) (2002)

| メニューへ |

和名 アスコルビン酸  
英文名 Ascorbic Acid

CAS 50-81-7

別名 L-アスコルビン酸、ビタミンC(110316)

収載公定書 JP(14) 食添(7) USP/NF(27/22) EP(4) FDA

用途 安定(化)剤, 緩衝剤, 矯味剤

□最大使用量

経口投与 500mg、静脈内注射 2.8g、筋肉内注射 1.68g、皮下注射 10mg、局所麻酔注射 50mg、一般外用剤 1mg/g、耳鼻科用剤 4mg/g、歯科外用及び口中用 91.1mg  
GRAS(182.3013, 182.8013)

□JECFAの評価

ADIは「特定しない」と評価されている。<sup>1)</sup> (1981年)

□単回投与毒性

動物種	投与経路	LD50	文献
マウス	経口	>5000mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>
マウス	静脈内	>1000mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>
ラット	経口	>1000mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>
ラット	静脈内	>1000mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>
モルモット	経口	>5000mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>
モルモット	静脈内	>500mg/kg	Demole, 1934 <sup>2)</sup>

□反復投与毒性

マウス

マウスにアスコルビン酸500-1000mg/kgを7日間経口、皮下又は静脈内投与した。一般行動及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。<sup>1)</sup> (Demole, 1934)

ラット

1群6匹のラットにアスコルビン酸塩0、1、5又は10%含有食を与えた。用量に依存した体重増加抑制、5%群では死亡2匹及び軟便が認められた。<sup>1)</sup> (De Albuquerque & Henriques, 1970)

モルモット

モルモットにアスコルビン酸400-2500mg/kgを6日間経口、皮下又は静脈内投与した。一般行動及び病理組織学的検査に異常は認められなかった。<sup>1)</sup> (Demole, 1934)

□遺伝毒性

in vitro

S. typhimuriumのTA98他4株、S. cerevisiaeのD4株を用いた復帰変異原試験において、代謝活性化系の有無にかかわらず、アスコルビン酸及びアスコルビン酸カルシウムは変異原性を示さなかった。<sup>1)</sup> (Litton Bionetics, 1975 & 1976)

マウスのリンパ腫L5178Y TK+/-細胞を用いて、ミリモル濃度のアスコルビン酸及びアスコルビン酸ナトリウムの変異原性を検討した。毒性用量レベルにおいても遺伝子突然変異は見られなかった。アスコルビン酸による毒性は、細胞非存在下にアスコルビン酸と培地中の成分が化学反応して形成される物質によるものと思われる。<sup>3)</sup> (Amacher & Paillet, 1981)

S. typhimuriumのTA100株を用いた復帰突然変異試験において、脱イオン水で調製した培地を用いた試験系ではアスコルビン酸は変異原性を示さなかった。<sup>4)</sup> (Norkus et al, 1983)

in vivo

組織飽和量以上のビタミンC含有食を与えたモルモットを用いたin vivo宿主経由復帰変異原試験において、変異原性は認められなかった。<sup>4)</sup> (Norkus et al., 1983)

#### □ 癌原性

ラット

1群雌雄各26匹のラットに、Lアスコルビン酸0、1000、1500又は2000mg/kg含有食を2年間与えた。血液、尿、血液生化学検査、肉眼的及び病理組織学的検査において被験物質投与に起因する変化は認められず、腫瘍発生率は対照群との間に差はなかった。<sup>1)</sup> (Surber & Cerioli, 1971)

#### □ 生殖発生毒性

in vitro

アフリカツメガエルの胞胚にアスコルビン酸、セレンナトリウム、クマリン、セロトニン及び13-cis-レチノイン酸を96時間曝露し、催奇形性を検討した。アスコルビン酸には催奇形性殆ど見られなかった。セレンナトリウムとクマリンには中等度の、セロトニンはそれらよりやや強い、13-cis-レチノイン酸では強い催奇形性が認められた。<sup>5)</sup> (DeYoung et al., 1991)

マウス

1群20-23匹のCD1マウスに妊娠6日から15日までアスコルビン酸5.2-520mg/kgを経口投与した。母獣及び胎児の生存率に対照群との間に差はなかった。胎児の外観及び骨格検査において奇形発生率の上昇は認められなかった。<sup>1)</sup> (Food & Drug Research Laboratories, 1974)

ラット

1群20-22匹のWistar系ラットに妊娠6日から15日までアスコルビン酸5.5-555mg/kgを経口投与した。母獣及び胎児の生存率に対照群との間に差はなかった。頭蓋縫合癒合不全の発生率が555mg/kg群に高かったが、胎児の外観及び骨格検査において奇形発生率の上昇は認められなかった。<sup>1)</sup> (Food & Drug Research Laboratories, 1974)

#### □ 局所刺激性

該当文献なし

#### □ その他の毒性

依存性

極めて大量のアスコルビン酸を長期投与したモルモット及びヒトに依存状態が報告されているが(Rhead & Schrauzer, 1971; Sorensen et al., 1974)、GRAS物質として評価されている。<sup>1)</sup> (SCOGS, 1979)

#### □ ヒトにおける知見

乳幼児29名、幼稚園児及び学童93名、成人20名にアスコルビン酸を6000mgまで漸増し、1400日間以上投与した。高用量群において、成人では5名に嘔気、嘔吐、下痢、顔面潮紅、頭痛、倦怠感、睡眠障害が、乳幼児では4名に発疹が認められた。<sup>1)</sup> (Widenbauer, 1936)

30名の小児(活動期リウマチ群10名、回復期リウマチ群10名、対照群10名)にアスコルビン酸5mgを3日間投与した報告に著しい尿量増加が見られているが(Abbasy, 1937)、心不全患者9名にアスコルビン酸300mgを投与した試験において利尿作用が報告されている。<sup>1)</sup> (Evans, 1938)



女性1名、男性3名にアスコルビン酸1000mgを3ヶ月間投与した。血清中、白血球中及び尿中のアスコルビン酸濃度に変化は認められなかった。有害作用も見られなかった。<sup>1)</sup> (Lowry et al., 1952)

アスコルビン酸塩を風邪治療用に使用した女性に、アスコルビン酸とワルファリンとの相互作用が認められた。<sup>1)</sup> (Rosenthal, 1971)

若い健常成人男性にアスコルビン酸塩4gをサプリメントとして投与した。投与前の尿酸の尿中排泄量は58mgであったが、投与後には622mgに上昇した。<sup>1)</sup> (Briggs, 1973)

アスコルビン酸250mgの3ヶ月間投与の二重盲検試験において、有害作用発生率はプラセボ群と同等であったが (Anderson et al. 1972)、311名の健常者を用いた大量(0-6g)かつ長期(9ヶ月間)の二重盲検試験では有害作用は認められなかった。血液生化学検査にも異常は認められなかった。<sup>1)</sup> (Lewis et al., 1975)

高用量のアスコルビン酸塩による食物中のビタミンB12破壊に関して相反する報告があるが (Newmark et al., 1976; Herbert & Jacob, 1974)、500mg以上のアスコルビン酸塩を服用した成人の2-3%にビタミンB12欠乏が発生している。<sup>1)</sup> (Hines, 1975)

14名の健常成人にアスコルビン酸を3-5日間投与した。過酸化水素による溶血性試験の感受性が上昇した。<sup>1)</sup> (Mengel & Green, 1976)

男性5名にアスコルビン酸200mgを15日間投与し、さらに2gを15日間投与した。白血球の殺菌作用が著しく低下したが、投与中止により作用は回復した。<sup>1)</sup> (Shilotri & Seetharam, 1977)

44組の学童期双生児の一方に体重に応じて500、750又は1000mgのビタミンCを、他方にプラセボを5ヶ月間投与した。血圧、身長、体重、血液および血液生化学検査において群間に著しい差はなかった。<sup>1)</sup> (Miller et al., 1977)

#### □引用文献

- 1) WHO Food Additive Series No.16 Calcium ascorbate. 1981 (accessed ; Oct. 2004 <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je06.htm>)
- 2) WHO Food Additive Series No.5 Ascorbic acid and its potassium and sodium salts. 1974 (accessed ; May. 2003 <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je20.htm>)
- 3) Amacher DE, Paillet SC. Ascorbate is detectably mutagenic in the L5178Y TK+/- cell mutation assay. *Cancer Lett.* 1981 Nov; 14: 151-8
- 4) Norkus EP, Kuenzig W, Conney AH. Studies on the mutagenic activity of ascorbic acid in vitro and in vivo. *Mutat Res.* 1983 Apr;117(1-2):183-91
- 5) DeYoung DJ, Bantle JA, Fort DJ. Assessment of the developmental Toxicity of ascorbic acid, sodium selwnate, coumarin, serotonin, and 13-cis retinoic acid using FETAX. *Drug Chem Toxicol.* 1991; 14: 127-41

|メニューへ|

和名 アセチルトリプトファン  
 英文名 Acetyltryptophan

CAS

別名

収載公定書 EP(5)

用途 安定(化)剤

最大使用量  
 静脈内注射 461mg

JECFAの評価

単回投与毒性

N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)及びL-トリプトファン(L-Trp)の急性毒性試験をJCL-ICR系マウス、Wistar系ラット及び日本白色ウサギを用いて検討した。ウサギにおける最大投与容量(静注)は200mL/kgであり、これは夫々Acetyl-L-Trp、L-Trpの2,400、2,000mg/kgに相当する。この用量でウサギに死亡は認められなかった。マウス及びラットにおけるLD50 (mg/kg)は以下の通りである。毒性症状としてマウス、ラットでは活動性低下、震顫、眼瞼下垂、チアノーゼ、体温低下が認められた。また、腹腔内投与では肝葉の癒着がみられた。<sup>1)</sup> (Kawaguchi and Kotera 1980)

動物種	投与経路	LD50 Acetyl-L-Trp	LD50 L-Trp	文献
<input type="checkbox"/> マウス♂	<input type="checkbox"/> 経口	<input type="checkbox"/> 10800	<input type="checkbox"/> 15000	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> マウス♀	<input type="checkbox"/> 経口	<input type="checkbox"/> 12500	<input type="checkbox"/> 15000	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> マウス♂	<input type="checkbox"/> 腹腔内	<input type="checkbox"/> 3700	<input type="checkbox"/> 5100	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> マウス♀	<input type="checkbox"/> 腹腔内	<input type="checkbox"/> 3580	<input type="checkbox"/> 4800	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> ラット♂	<input type="checkbox"/> 経口	<input type="checkbox"/> 15500	<input type="checkbox"/> 16000	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> ラット♀	<input type="checkbox"/> 経口	<input type="checkbox"/> 15000	<input type="checkbox"/> 16000	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> ラット♂	<input type="checkbox"/> 腹腔内	<input type="checkbox"/> 3900	<input type="checkbox"/> 2400	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>
<input type="checkbox"/> ラット♀	<input type="checkbox"/> 腹腔内	<input type="checkbox"/> 4000	<input type="checkbox"/> 2630	Kawaguchi and Kotera 1980 <sup>1)</sup>

反復投与毒性

ラット

Wistar系ラットにN-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の600、1200又は2400 mg/kg/dayを30日間腹腔内投与し、L-トリプトファン(L-Trp)の500、1000又は2000mg/kg/dayと比較した。Acetyl-L-Trpでは2400mg/kg群雌で最初の5日間に摂餌量及び体重増加の軽度抑制がみられた。それ以外、血液、血液生化学及び尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査に異常はみられなかった。L-Trpでは1000mg/kg以上の雌雄で死亡例、活動性低下、摂餌量・体重増加の抑制、摂水量・尿量の増加、立[y1]毛がみられた。血液生化学的検査では2000mg/kg群雄及び1000mg/kg以上の群の雌にGOTの上昇が、雌の全ての群にALPの上昇がみられた。雌では全群に肝及び腎重量の増加がみられ、病理組織学的には1000mg/kg以上の群で肝細胞の肥大、胸腺の萎縮が認められた。結論として、Acetyl-L-TrpはL-Trpに比し低毒性であり、その最大無作用量は1200mg/kg/dayである。<sup>2)</sup> (Kawaguchi et al., 1980)

Wistar系雄性ラットにN-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の300、600又は、1200mg/kg/dayを14週間腹腔内投与し、L-トリプトファン(L-Trp)の500又は1000mg/kg/dayと比較した。Acetyl-L-Trpでは最高用量の1200mg/kgでも死亡例はなかった。いずれの投与群においても体重、摂餌量、血液、血液生化学及び尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査に異常はみられなかった。

一方、L-Trpでは1000mg/kg群で死亡例がみられ、活動性低下、摂餌量・体重増加の抑制、摂水量・尿量の増加、立毛がみられた。血液生化学的検査では500mg/kg以上の群で尿素窒素、血糖の上昇、NEFAの低下がみられた。病理組織学的には1000mg/kg群のいくつかの例で巣状の腹膜炎が認められた。結論として、Acetyl-L-TrpはL-Trpに比し低毒性であり、その最大無作用量は1200 mg/kg/day以上である。<sup>3)</sup> (Kawaguchi et al., 1981)

#### ウサギ

1群雌雄各7匹の日本白色ウサギにN-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の600、1200又は2400mg/kg/dayを30日間2mL/kg/minの速度で点滴静注を行い、L-トリプトファン(L-Trp)の500、1000又は2000mg/kg/dayと比較した。Acetyl-L-Trpでは2400mg/kg群で軽度の摂餌量低下を伴う体重増加の抑制、貧血傾向及びLDHの上昇が、雌で貧血傾向と副腎重量の増加がみられた。その他の用量では影響はみ見られなかった。L-Trpでは2000mg/kgで、10日目までに雌雄各4匹が死亡し、一般状態が悪化したため15日目に生存例も剖検した。その結果、腎尿細管の拡張、扁平化及び胸腺の萎縮が認められた。1000mg/kgでも30日までに雄2匹、雌1匹が死亡し、生存例においても貧血が認められた。病理組織学的検査では胸腺及び精巣の萎縮が認められた。500mg/kgでは著変はみられなかった。以上の結果、Acetyl-L-TrpはL-Trpに比し毒性が低く、その最大無作用量は1200mg/kg/day付近と推察された。<sup>4)</sup> (Kawaguchi et al., 1980)

1群雄各8匹の日本白色ウサギにN-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の300、600又は1200 mg/kg/dayを90日間2mL/kg/minの速度で点滴静注を行い、L-トリプトファン(L-Trp)の500又は1000 mg/kg/dayと比較した。Acetyl-L-Trpでは1200mg/kg群で最初の1週間は軽度の体重増加の抑制がみられた。それ以外、いずれの群においても血液、血液生化学及び尿検査値に有意な変化はなく、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査にも異常はみられなかった。L-Trpでは1000mg/kg群で、死亡例、活動性低下、立毛、摂餌量及び体重増加の抑制、摂水量及び尿量の低下がみられた。同群では貧血の指標である赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットは低下し、血糖値の上昇がみられた。死亡例では腎尿細管の拡張と上皮の扁平化が認められた。以上の結果、Acetyl-L-TrpはL-Trpに比し毒性が低く、その最大無作用量は600mg/kg/day以上と推察された。<sup>5)</sup> (Kotera et al., 1981)

#### □ 遺伝毒性

N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の変異原性を、枯草菌H17(rec<sup>+</sup>)、M45(rec<sup>-</sup>)を用いた修復試験(rec-assay)及び大腸菌Sd-4、WP2hcr<sup>-</sup>、ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538を用いた復帰突然変異試験により検討した。その結果、Acetyl-L-Trpはrec-assayにおいて0.05-5,000µg/discの濃度でDNA傷害誘発能を示さなかった。復帰突然変異試験においては、大腸菌Sd-4系では0.05-5,000µg/plateの濃度で、同WP2hcr<sup>-</sup>及びネズミチフス菌の系では0.1-10,000µg/plateの濃度で有意の復帰突然変異コロニーの増加は認められなかった。また、ラット肝ミクロソーム画分(S-9)併用による代謝活性化系存在下においても大腸菌WP2hcr<sup>-</sup>系では0.1-100µg/plateの、ネズミチフス菌株の系では0.1-10,000µg/plateの濃度で復帰突然変異誘発能は認められなかった。<sup>6)</sup> (Yamasaki et al., 1981)

#### □ 癌原性

該当文献なし

#### □ 生殖発生毒性

##### マウス

JCL-ICR系妊娠マウスに、妊娠6日より15日までの10日間N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の100、300又は900mg/kgを腹腔内に、2,500又は5,000mg/kgを経口投与した。腹腔内投与した母動物の2/3及び経口投与した全母動物は剖検して胎児に及ぼす影響を検討すると共に腹腔内投与の残り1/3の母動物は自然分娩させ出産児の観察を行った。妊娠期間中、腹腔内900mg/kg群では摂餌量の減少がみられたが、全ての投与群において母動物の体重、血液及び血液生化学的検査値、妊娠期間、分娩及び保育状態に影響はみられなかった。胎児観察では、いずれの群においても死亡、体重に変化なく、外形、骨格及び内臓にも異常はみられなかった。出産児の観察では腹腔内900 mg/kg群で出生時及び離乳時までの体重はやや軽かったが、離乳後は回復した。検体投与による外形異常はなく、出産児数、骨格及び死亡率、更にはIrwin試験、Open-field試験、Water

T-maze試験においても異常はみられなかった。F1児の生殖能にも変化なく、F2世代においても異常はみられなかった。<sup>7)</sup> (Ueshima et al., 1980)

#### ラット

Wistar系ラットに、N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の150、300又は600mg/kgを雄では交配前60-80日に、雌では交配14日前から妊娠17日まで腹腔内投与した。交配率、妊娠率、体重増加、摂餌量、臓器重量に異常なく、血液及び血液生化学的検査値にも影響はみられなかった。黄体数、着床率、胎児死亡率、胎児体重に有意な変化はみられなかった。外形、骨格及び内臓にも影響はみられなかったが、変異として頸肋骨、椎体分離、第14肋骨、胸骨核非対称、胸骨未化骨等がみられたが、いずれも対照群と比べて有意な増加はなく、化骨進行度にも影響はみられなかった。<sup>8)</sup> (Maruoka et al., 1980)

Wistar系妊娠ラットに、妊娠7日から17日までの11日間N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の150、300又は600mg/kgを腹腔内に、2.5又は5.0g/kgを経口投与した。母動物の2/3は妊娠20日目に剖検して胎児の観察を、残りの1/3は自然分娩させ出産児の観察を行った。腹腔内投与群においては母動物の体重、摂餌量に変化なく、着床率、胎児の死亡率、体重、体長にも変化なく、外形、骨格及び内臓奇形も認められなかった。出生児(F1)の体重、生後発育、行動及び生殖能並びにその胎児(F2)にも影響はみられなかった。経口投与群においては5.0g/kg群で母体重の抑制、摂餌量の減少、摂水量の増加がみられ、それらの胎児では死亡及び低体重とそれに伴う化骨遅延がみられた。しかし、外形異常、骨格及び内臓奇形は認められなかった。<sup>9)</sup> (Kadota et al., 1980)

Wistar系妊娠ラットに、妊娠17日から分娩後21日までN-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の150、300又は600mg/kgを腹腔内投与した。F0母動物の半数は胎児(F1)観察の、残り半数は自然分娩させ出産児(F1)の観察を行った。F0母動物の体重増加、摂餌量、分娩、授乳、哺育に影響はみられなかった。F1胎児に奇形はみられずF1出生児の体重、生存率、死亡率、生後発育、行動及び生殖能にも影響はみられなかった。F1妊娠ラットの着床率、胎児(F2)死亡率にも有意な変化なく、F2胎児に奇形は認められなかった。唯一の変化はF2胎児の体重は対照群に比し小さかったが、自然分娩させたF2出生児の体重には抑制はみられず、Acetyl-L-Trp投与の影響とは考え難い。<sup>10)</sup> (Kadota et al., 1980)

#### ウサギ

日本白色妊娠ウサギに、妊娠6日から18日までの間N-アセチル-L-トリプトファン(Acetyl-L-Trp)の125、250、500又は10,00mg/kgを静脈内投与した。妊娠29日目に剖検し胎児を観察した。500mg/kg以下では母動物の臓器重量、血液検査所見、胎児の死亡率、体重に変化なく、外形、骨格及び内臓にも影響はみられなかった。最高用量の1,000mg/kgでは妊娠28日及び29日にそれぞれ1匹が出産した。母動物に軽度の体重抑制、摂餌量減少及び貧血傾向がみられた。同群では胎児体重の抑制がみられたが有意差はなく、外形、骨格及び内臓にも異常はなく、催奇形性は認められなかった。<sup>11)</sup> (Ueshima et al., 1980)

以下については該当文献なし

- 局所刺激性
- その他の毒性
- ヒトにおける知見

#### 引用文献

- 1) 川口義郎、小寺敬一 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第1報) マウス、ラット及びウサギにおける急性毒性試験 医薬品研究、1980; 11(4): 635-45
- 2) 川口義郎、小寺敬一、竹本義枝 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第2報) ラットにおける亜急性毒性試験 医薬品研究、1980; 11(4): 646-65
- 3) 川口義郎、林 茂尚、竹本義枝、小寺敬一 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第9報) ラットにおける慢性毒性試験 医薬品研究、1981; 12(1): 129-43
- 4) 川口義郎、小寺敬一、竹本義枝 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第3報) ウサギにおける亜急性毒性試験 医薬品研究、1980; 11(4): 666-81
- 5) 小寺敬一、川口義郎、竹本義枝 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第10報) ウサギにおける慢性毒性試験 医薬品研究、1981; 12(1): 144-62
- 6) 山崎良治、新宮平三、杉本 比 N-Acetyl-L-Tryptophanの毒性研究(第11報) 細菌変異株を