

- delta ラットを用いたアカネ色素成分による *in vivo* 突然変異誘発性の検討。第 37 回日本環境変異原学会，沖縄，第 37 回日本環境変異原学会講演要旨集：p130 (P-047)，12 月，2008
- 4) 井上 薫，渋谷 淳，禹 桂炯，禹 麻美，五十嵐勝秀，黒岩敬子，富士本仁，広瀬雅雄：アカネ色素によるラット腎発がん過程における酸化的ストレスの関与について，第 22 回日本毒性病理学会，鹿児島，第 22 回日本毒性病理学会講演要旨集：p83 (P-58)，1 月，2006
- 5) 井上 薫，渋谷 淳，禹 桂炯，禹 麻美，五十嵐勝秀，富士本仁，広瀬雅雄：食品添加物として使用されていたアカネ色素のラット腎発がん機序：特に酸化的ストレスの関与について，第 141 回日本獣医学会学術集会，つくば，第 141 回日本獣医学会学術集会講演要旨集：BP-092，p. 200，3 月，2006
- 6) 井上 薫，渋谷 淳，梅村隆志，高橋美和，禹 麻美，富士本仁，禹 桂炯，広瀬雅雄：食品添加物として使用されていたアカネ色素のラット腎発がんへの酸化的ストレスの関与に関する検討，第 21 回発癌病理研究会，徳島，第 21 回発癌病理研究会プログラム：p21，8 月，2006
- 7) 井上 薫，渋谷 淳，高橋美和，禹 麻美，富士本仁，禹 桂炯，梅村隆志，広瀬雅雄：アカネ色素によるラット腎発がんに対する酸化的 DNA 損傷とその成分の関与についての検討，第 23 回日本毒性病理学会，東京，第 23 回日本毒性病理学会講演要旨集：p44 (O-6)，1 月，2007
- 8) Kaoru Inoue，Makoto Shibutani，Miwa Takahashi，Hitoshi Fujimoto，Gye-Hyeong Woo，Takashi Umemura，Masao Hirose，Akiyoshi Nishikawa：Renal Toxicity analysis of madder color constituents and metabolites for the development of renal carcinogenicity in rats. International Conference of Food Factors for Health 2007. Kyoto, Japan, Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition (2007) 41 (supplement): p93 (P074), November, 2007.
- 9) 井上 薫，渋谷 淳，吉田 緑，高橋美和，広瀬雅雄，西川秋佳：アカネ色素成分とその代謝産物の中期多臓器発がん性試験による腎発がんプロモーション作用の検索。第 24 回日本毒性病理学会，名古屋，第 24 回日本毒性病理学会講演要旨集：p87 (P-79)，2 月，2008
- 10) 井上 薫，渋谷 淳，吉田 緑，高橋美和，富士本仁，広瀬雅雄，西川秋佳：腎障害性を有するアカネ色素成分あるいは代謝産物の腎発がんプロモーション作用について，第 145 回日本獣医学会学術総会，神奈川，第 145 回日本獣医学会学術総会講演要旨集：pp176 (BP-27)，3 月，2008
- 11) Kaoru Inoue，Midori Yoshida，Miwa Takahashi，Hitoshi Fujimoto，Makoto Shibutani，Masao Hirose，Akiyoshi Nishikawa：Potent carcinogenicity of madder-color-related alizarin and rubiadin in a rat medium-term multi-organ bioassay. 6th European Congress of Toxicologic Pathology, Edinburgh, Scotland, 6th European

Congress of Toxicologic Pathology
Final Program: P66 (P16), September,
2008.

- 12) Kaoru Inoue, Midori Yoshida, Miwa
Takahashi, Makoto Shibutani, Masao
Hirose, Akiyoshi Nishikawa: A rat
medium-term multi-organ assay for a
madder color component and

metabolite. 第 67 回日本癌学会学術集
会, 名古屋市, 第 67 回日本癌学会学術
集会講演要旨集 : p116 (P-1012), 10 月,
2008

- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

オゾケライトの慢性毒性・発がん性に関する研究

研究分担者	西川 秋佳	国立医薬品食品衛生研究所	病理部長
研究協力者	梅村 隆志	国立医薬品食品衛生研究所	病理部室長
研究協力者	石井 雄二	国立医薬品食品衛生研究所	病理部
研究協力者	木島 綾希	国立医薬品食品衛生研究所	病理部

研究要旨

既存添加物として使用されているオゾケライトの長期投与の影響を検索する目的で、ラットを用いた1年間の慢性毒性試験および2年間の発がん性試験を実施した。雌雄F344ラットに、慢性毒性試験では0.2, 0.1 および0.05%, 発がん性試験では0.2 および0.1%の用量で混餌投与した。慢性毒性試験では、すべての検査項目について解析を終了した。雄の0.1%以上の投与群で投与開始15週目以降、体重増加抑制がみられた。血液学的検査では、雌雄ともに0.05%以上で貧血所見がみられた。血小板は雌雄ともに0.1%以上で減少し、白血球は雄で0.2%, 雌で0.1%以上の投与群で増加した。血清生化学的検査では、AST およびALTが雌雄ともに全投与群において対照群の値より約2倍以上の増加を示した。臓器重量では、肺の実重量が雌雄ともに0.05%以上で、相対重量が雄の0.1%以上、雌の0.2%の投与群で増加した。肝臓および脾臓では、雌雄ともに0.1%以上の群で実重量・相対重量ともに増加した。病理組織学的検査では、雌雄ともに全ての投与群で肝臓、脾臓および全身諸リンパ節に肉芽腫の形成が認められた。これらの結果から、難分解性化合物であるオゾケライトの長期反復投与によってラット肝臓、脾臓および全身諸リンパ節に肉芽腫を形成することが示された。なお、発がん性試験においては、動物実験が終了した。雄の0.1%以上の投与群で投与開始15週以降、雌の0.1%以上の投与群で試験開始65週以降、体重増加抑制がみられた。臓器重量では、雌雄の肺、脾臓、肝臓、腎臓の実重量・相対重量の有意な増加がみられた。現在、病理組織学的検査を実施中である。

A. 研究目的

オゾケライトはワックスシュールの鋳脈に含まれるロウを精製したもので、成分はC₂₉～C₃₃の炭化水素である。既存添加物としては主にチューインガムのガムベースとして使用されている他、口紅、リップクリーム等の化粧品の油性成分の固化剤として

も使用されている。しかし、その安全性についてはこれまでほとんど報告はなく、90日間反復投与毒性試験が近年報告された。そこで今回、さらに長期投与の影響を検索する目的でラットを用いた1年間の慢性毒性および2年間の発がん性試験を実施した。

B. 研究方法

1. 被験物質および実験動物

オゾケライトは原体として株式会社加藤洋行（大阪）から供与を受けた。投与濃度は、既に行われた予備試験の結果に基づき、慢性毒性試験では最高用量を 0.2% とし、以下の用量を公比 2 で除して、0.1, 0.05% に設定し、発がん性試験では 0.2, 0.1% に設定した。オゾケライトは CRF-1 粉末基礎飼料にオリーブ油を溶剤とし飼料に添加して自由に摂取させ、対照群にはオリーブ油のみを添加した粉末飼料を摂取させた。

また被験物質の添加飼料中の安定性を検討するため、本試験での最高濃度である 0.2% オゾケライト混餌飼料、0% オゾケライト混餌飼料（オリーブ油のみを添加）、オゾケライトをオリーブ油に懸濁したもの（混合濃度 0.27%）を調整し、4℃・遮光下で、調整から 1 日後、1 週間後、1 ヶ月後、3 ヶ月後まで保存した。各サンプルを国立医薬品食品衛生研究所・食品添加物部に依頼し GC / MS 分析を行った結果、トータルイオンクロマトグラフ（TIC）で、オゾケライトの成分の減少や、新たなピークの出現は認められなかった。また、オゾケライトの主成分である直鎖飽和炭化水素含有量の経時測定の結果、CRF-1 粉末基礎飼料中およびオリーブ油中で、調整から 1 日後、1 週間、1 ヶ月および 3 ヶ月後で大きな変化は認められなかった。これらの結果を基に、オゾケライト添加飼料はオリエンタル酵母株式会社に 3 ヶ月ごとに作製を依頼し、使用時まで 4℃・遮光下で保存した。

動物は 5 週齢の F344/DuCrj ラット雌雄各 190 匹を日本チャールス・リバー社（神奈

川）より購入し CRF-1 粉末基礎飼料（オリエンタル酵母株式会社、東京）と水道水で約 1 週間の馴化飼育のあと、慢性毒性試験は雌雄とも各群 10 匹ずつ 4 群に、発がん性試験は雌雄とも各群 50 匹 3 群に配した。動物の飼育はバリエーションシステムの動物舎で行い、室内の環境条件は温度 24±1℃、湿度 55±5%、換気回数 18 回 / 時間、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行った。雄は 3 匹ずつ、雌は 4 匹ずつポリカーボネート製箱型ケージに収容し、床敷には三協ラボサービス株式会社（東京）のソフトチップを用い、週 2 回交換した。また、飲料水として水道水を自由に摂取させた。

2. 試験方法

2-1. 慢性毒性試験

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開始から 5 週目までは毎週 1 回測定し、5 週目以降からは毎月 1 回測定した。動物は、剖検日前日より一晩絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺・剖検した。

血液学的検査は、自動血球計数装置（Sysmex M-2000、東亜医用電子社；東京）を用いて、白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、ヘモグロビン量（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）および血小板数（PLT）について測定した。

血清生化学的検査は、分離した血清を凍結保存し、総蛋白（TP）、アルブミン・グロブリン比（A/G）、アルブミン（Alb）、総ビリルビン（T.Bil）、トリグリセリド（TG）、総コレステロール（T.Cho）、尿素窒素

(BUN)、クレアチン (CRN)、ナトリウム (Na)、塩素 (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アルカリフォスタファラーゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチターゼ (γ -GTP) について SRL 社 (東京) にて測定した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓、副腎および精巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、鼻腔を含む頭蓋骨、下垂体、眼球、ハーダー腺、脊髄、唾液腺、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、子宮、卵巣および膣を 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定した。

2-2. 発がん性試験

慢性毒性試験と同様に一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量を開始から 5 週目までは毎週 1 回、5 週目以降からは毎月 1 回測定した。動物は、エーテル麻酔下で腹部大動脈を切断・放血屠殺後、剖検した。

諸臓器は肉眼的に観察後摘出し、脳、肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓、副腎および精巣の重量を測定した。上記の臓器に加え、鼻腔を含む頭蓋骨、下垂体、眼球、ハーダー腺、脊髄、唾液腺、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、子宮、卵巣および膣を 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定した。

3. 統計学的処理方法

血液学的検査値、血清生化学的検査値お

よび臓器重量については、各群の分散比を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置分散分析を行い、不等分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定を行った。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、対照群と被験物質投与群との間で有意差検定を行った。

(倫理面への配慮)

投与実験は混餌による経口投与が主体であり、動物の苦痛を最小限に留めた。また、動物はすべてエーテル麻酔下で大動脈からの脱血により屠殺し、動物に与える苦痛は最小限に留めた。実験動物に関しては、「国立医薬品食品衛生研究所動物実験の適正な実施に関する規定」に基づき、動物実験計画書を作成し、国立医薬品食品衛生研究所動物実験委員会による審査を受けた後、実施した。

C. 研究結果

1. 一般状態および生存率

1-1. 慢性毒性試験

投与期間中の死亡動物は認められず、いずれの動物においても一般状態の異常は認められなかった。

1-2. 発がん性試験

投与期間中の生存率の推移を Fig. 1-1, 1-2 に示す。雄の対照群、0.1% 群、0.2% 群の生存率は、それぞれ 86%、78%、68% で、雌の対照群、0.1% 群、0.2% 群の生存率は、それぞれ 86%、74%、80% であった。また、投与期間中、全投与群において、消瘦、腹部膨満、貧血等の一般状態の異常が認められていた。

2. 体重

2-1. 慢性毒性試験

慢性毒性試験期間中の体重の推移を Fig. 2 に示す。雄の 0.1 および 0.2% 群で、体重増加抑制が認められ、投与 25 週目に 0.2% 群で、45 週目より 0.1% 以上の投与群で有意な増加率の減少を認めた。雌では投与期間を通じて、投与群と対照群との間に有意な変化は認められず、全ての群で同様な推移を示した。

2-2. 発がん性試験

発がん性試験期間中の体重の推移を Fig. 3 に示す。雌雄の全ての投与群で体重増加抑制が認められ、雄の 0.2% 群では投与 15 週目より、0.1% 群では 20 週目より、雌の 0.2% 群では投与 65 週目より、0.1% 群では投与 75 週目より有意な増加率の減少を認めた。

3. 摂餌量

3-1. 慢性毒性試験

摂餌量の推移を Fig. 4 に示す。摂餌量は、雄では全ての群において投与期間を通じて約 12 g から 16 g の間で推移し、雌では全ての群において投与期間を通じて、約 7 g から 10 g の間で推移した。雌雄各群の摂餌量および被験物質摂取量を Table 1 に示す。1 日当りの平均摂餌量は、雄の 0, 0.05, 0.1 および 0.2% 群で、それぞれ 13.8, 13.7, 13.8 および 14.0 g、雌の 0, 0.05, 0.1 および 0.2% 群では、それぞれ 8.9, 9.1, 9.0 および 9.0 g であり、雌雄ともに、対照群と投与群との間に明らかな差は見られなかった。

1 日当りの被験物質の摂取量は、雄の

0.05, 0.1 および 0.2% 群で 25.5, 50.3 および 104.2 mg/kg 体重/day、雌の 0.05, 0.1 および 0.2% 群で 27.8, 54.9 および 110.6 mg/kg 体重/day であった。52 週間での総摂取量は、雄の 0.05, 0.1 および 0.2% 群で 9.3, 18.4 および 38.0 g、雌の 0.05, 0.1 および 0.2% 群では 10.1, 20.0 および 40.4 g であり、雌雄ともに用量公比にほぼ関連していた。

3-2. 発がん性試験

投与開始から、現在までの摂餌量の推移を Fig. 5 に示す。摂餌量は、雄では全ての群において投与期間を通じて約 8g から 15g の間で推移し、雌では全ての群において投与期間を通じて、約 7g から 11g の間で推移した。雌雄各群の摂餌量および被験物質摂取量を Table 2 に示す。1 日当りの平均摂餌量は、雄の 0, 0.1 および 0.2% 群で、それぞれ 13.0, 12.8 および 12.9 g、雌の 0, 0.1 および 0.2% 群では、それぞれ 8.9, 9.1 および 9.3 g であり、雌雄ともに、対照群と投与群との間に明らかな差は見られなかった。

1 日当りの被験物質の摂取量は、雄の 0.1 および 0.2% 群で 42.8 および 86.7 mg/kg 体重/day、雌の 0.1 および 0.2% 群で 47.8 および 97.9 mg/kg 体重/day であった。104 週間での総摂取量は、雄の 0.1 および 0.2% 群で 31.2 および 63.3 g、雌の 0.1 および 0.2% 群では 34.9 および 71.5 g であり、雌雄ともに用量公比にほぼ関連していた。

4. 血液学的検査および血清生化学的検査

慢性毒性試験での血液学および血清生化学的検査の結果を Table 3-1, 3-2 および 4-1, 4-2 に示す。

血液学的検査の結果、対照群と比較して、

雄では全ての投与群で HGB および MCHC の有意な減少が認められた。また 0.1 および 0.2% 群で HCT, MCV, MCH および PLT の有意な減少が認められ、WBC の有意な増加が 0.2% 群で認められた。雌では、0.1 および 0.2% 群で HGB, HCT, MCH および PLT の有意な減少が認められ、全ての投与群で MCV の有意な減少が認められた。また、WBC の有意な増加が 0.1 および 0.2% 群で認められた。白血球百分比については現在検索中である。

血清生化学的検査では、雄の全ての投与群で TP, Alb および TG の有意な減少が、CRN, AST および ALT の有意な増加が認められた。また T.Bil の有意な増加が 0.2% 群で、Cl の有意な増加が 0.1 および 0.2% 群で、K の有意な増加が全ての投与群で認められた。γ-GTP の有意な減少が 0.1% 群で認められたが、これは投与濃度に相関した変化ではなかった。雌では、全ての投与群で TP, A/G 比, Alb および TG の有意な減少が、AST, ALT および P の有意な増加が認められた。また BUN および CRN の有意な増加が 0.2% 群で、T.Bil, ALP, γ-GTP および K の有意な増加が 0.1% および 0.2% 群で、Cl の有意な増加が 0.1% 群で認められたが、これは投与濃度に相関した変化ではなかった。

5. 臓器重量

5-1. 慢性毒性試験

慢性毒性試験における臓器重量の結果を Table 5-1, 5-2 に示す。臓器実重量では、雌雄ともに全ての投与群で肺の重量が有意に増加し、0.1 および 0.2% 群で脾臓、肝臓の重量が有意に増加した。また雄では、腎臓の重量が 0.2% 群で有意に増加し、精巣の重量

が 0.1 および 0.2% 群で、有意に減少した。雌では心臓の重量が 0.05% 群で有意に減少した。臓器相対重量では、雌雄ともに 0.1 および 0.2% 群で、脾臓および肝臓の重量の有意な増加が認められた。その他、雄では肺の重量が 0.1 および 0.2% 群で、腎臓の重量が 0.2% 群で有意に増加した。また、脳の重量が 0.1% 群で有意に増加した。雌では肺の重量が 0.2% 群で有意に増加した。

5-2. 発がん性試験

発がん性試験における臓器重量の結果を Table 6-1, 6-2 に示す。臓器実重量では、雌雄ともに全ての投与群で肺、脾臓、肝臓および腎臓の重量が有意に増加した。また雄では、精巣の重量が 0.2% 群で有意に減少し、心臓の重量が有意に増加した。雌では心臓および副腎の重量が全ての投与群で有意に増加した。臓器相対重量では、雌雄ともにすべての投与群で、肺、脾臓、肝臓、副腎および腎臓の重量が有意に増加した。その他、雄の全ての投与群、雌の 0.2% 投与群で脳の重量の有意な増加が認められ、雄の 0.2% 投与群、雌の全ての投与群で心臓の重量の有意な増加が認められた。

6. 病理組織学的検索

慢性毒性試験における病理組織学的検査の結果より、肉芽腫の形成について Table 7 に、その他の病理所見について Table 8 に示す。肉芽腫の形成は、雌雄の全投与群に認められた。肝臓では投与群の動物全例で肉芽腫形成が認められ、ヒスチオサイトーシスも認められた。脾臓、腸間膜リンパ節では、雄のほぼ全例、雌の全例で肉芽腫形成が認められ、雌雄の脾リンパ節、消化管関連リンパ組織、肺門リンパ節、雌の気管支

周囲リンパ組織、顎下リンパ節では高頻度に認められた。雄の気管支周囲リンパ組織、顎下リンパ節、雌雄の消化管関連リンパ組織では、0.2%群で肉芽腫の形成が認められた。その他の病理所見として、塩基性変異肝細胞巣、腎臓の硝子滴、硝子円柱、脾臓の髓外造血、子宮の内膜間質ポリープ、下垂体のう胞様病変が比較的高頻度に認められた。

発がん性試験の病理組織学的検査は、今後実施する。

D. 考察

今回、F344 ラットを用いてオゾケライトの混餌投与による慢性毒性試験および発がん性試験を実施した。

慢性毒性試験の結果、試験期間中死亡動物は認められず、一般状態の異常も認められなかった。体重推移では、雄では0.1%以上の投与群で体重増加抑制がみられ、25週目に0.2%群で、45週目からは0.1および0.2%で有意な差が認められた。雌では、投与期間を通じて対照群と投与群の間に有意な差は認められず、同様な推移を示した。

摂餌量では、雌雄ともに対照群と投与群の間に明らかな差はなくほぼ同じ値であり、単位体重当りの被験物質摂取量も、用量相関性をもって増加した。また、対照群と投与群の摂取量に差がないことから、雄の0.1および0.2%群での体重抑制は被験物質投与に起因するものと考えられた。

血液学的検査では、赤血球系項目、血小板および白血球の値にそれぞれ変化がみられた。赤血球系項目では、雌雄ともにHGB、HCT、MCVおよびMCHで0.1および0.2%群で有意な減少が認められ、雄のHGBおよ

びMCHC、雌のMCVでは0.05%群から有意な減少が認められたことから、雌雄ともに0.05%以上の投与群で軽度の貧血が起きていると考えられた。血小板では雌雄ともに0.1および0.2%群で有意な減少が、白血球では雄の0.2%、雌の0.1および0.2%群で有意な増加が認められた。なお、白血球については現在白血球百分比を検索中である。

血清生化学的検査では、雌雄ともに全ての投与群でASTおよびALTの有意な増加が認められ、全ての投与群において対照群の値より約2倍以上の高値を示した。これらは投与濃度に相関した変化ではなかったが、0.05%以上の投与群で明らかな肝障害が引き起こされていると考えられた。また、TP、AlbおよびTGの有意な減少が雌雄全ての投与群で認められた。雄の0.2%群ではT.Billの有意な増加が認められた。雌の0.1%および0.2%群ではT.Bill、ALPおよび γ -GTPの有意な増加が認められた。これらの変化、さらには前述の血小板数の減少および白血球の増加は、前述の肝障害を原因としたものである可能性も考えられた。その他、雄ではCRNの有意な増加が全ての投与群で認められ、雌ではBUNおよびCRNの有意な増加が0.2%投与群で認められたことから、腎毒性が引き起こされている可能性が示唆された。電解質系における種々の変化はこれに起因している可能性が考えられた。

臓器重量では、血液学および血清生化学的検査で有意な変化を示した項目の関連臓器として、肝臓、脾臓および腎臓の重量が変化した。肝臓および脾臓では雌雄ともに0.1および0.2%群で実重量・相対重量ともに有意に増加した。相対重量においては、

雌雄ともに投与濃度に相関性が認められた。また、腎臓では雄の 0.2%群で、実重量・相対重量ともに有意に増加した。その他の臓器では、雌雄ともに肺の実重量が全ての投与群で有意に増加し、相対重量では雄では 0.1 および 0.2%群で、雌では 0.1%群で有意に増加した。また、雄の脳相対重量と、雌の心臓の実重量の変化は、それぞれ投与濃度に相関性は認められず、被験物質投与に起因する変化ではないと考えられた。

病理組織学的検査では、血液学および血清生化学的検査で有意な変化を示し、臓器重量でも有意に増加した肝臓、脾臓において、全ての投与群で肉芽腫の形成が認められた。他にも、全身諸リンパ節で肉芽腫の形成が認められ、肺の臓器重量の有意な増加は、気管支周囲リンパ組織に肉芽腫が形成したことによると考えられた。オゾケライトは難分解性高分子化合物であることから、その大量投与により体内に吸収されたオゾケライトに対してヒストサイトーシスが惹起され、全身性の肉芽腫性炎に移行したものと考えられた。また、雄の 0.1%群、雌の 0.1 および 0.2%群で脾臓の髄外造血が少数例認められ、血液学的検査から示唆された貧血傾向と一致したが、その程度は弱いと考えられた。その他、各臓器で病変が認められたが、自然発生によると考えられた。腎臓においても、自然発生と考えられる病変のみであったため、血清生化学的検査および臓器重量から示唆された腎毒性は無いもしくは軽微であると考えられた。

発がん性試験の結果、試験期間中、全ての投与群において、消瘦、腹部膨満、貧血等の一般状態の異常が認められており、こ

れらは投薬の影響であると考えられた。体重推移では、慢性毒性試験と同じく、雄の 0.1%以上の投与群で体重増加抑制が認められ、雌においても 0.2%群では投与 65 週より、0.1%群では投与 75 週より有意な増加率の減少を認めた。対照群と投与群との摂餌量に明らかな差は認められなかったため、この体重抑制は、被験物質投与に起因するものと考えられた。

臓器重量において、慢性毒性試験と同じく、雌雄の全ての投与群の肺、脾臓、肝臓で重量の有意な増加が認められた。おそらくこれらの臓器内で肉芽腫性炎症が進行していると考えられた。その他に、雌雄の脳、心臓、副腎、腎臓の重量が有意な増加を示したが、病理組織学的検査と併せて、今後考察する。

E. 結論

オゾケライトを雌雄の F344 ラットに、0, 0.05, 0.1, 0.2%の用量で 52 週間混餌投与した結果、0.05%以上の雌雄で肉芽腫形成による肝臓、脾臓および全身諸リンパ節の障害が引き起こされる可能性が示された。これらの血液学的検査、血清生化学的検査および臓器重量の結果をふまえ、無毒性量 (NOAEL) は、0.05%未満であると考えられた。

また、発がん性試験に関しては、オゾケライトを雌雄の F344 ラットに、0, 0.1, 0.2%の用量で投与し、現在病理組織学的検査を実施中である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2.学会発表

鈴木裕太, 木島綾希, 田崎雅子, 井上知紀, 岡村俊也, 石井雄二, 梅村隆志, 西川秋佳: ラットにおけるオゾケライトの慢性反復投与毒性試験. 第25回日本毒性病理学会

2009年1月28日

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

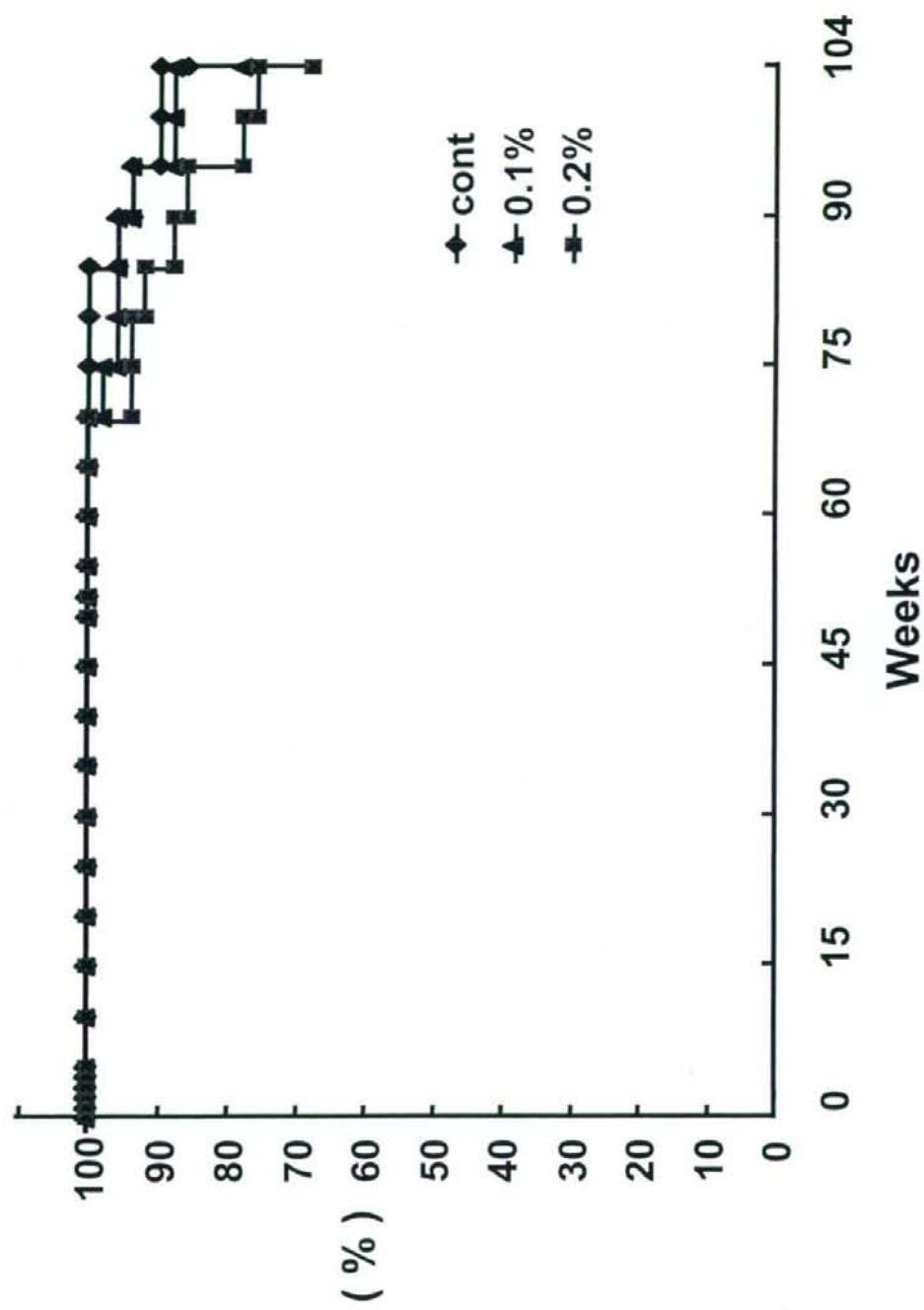


Fig.1-1 Survival rate for F344 rats treated with Ozokerite 104 weeks in the 2-year carcinogenic study (Male)

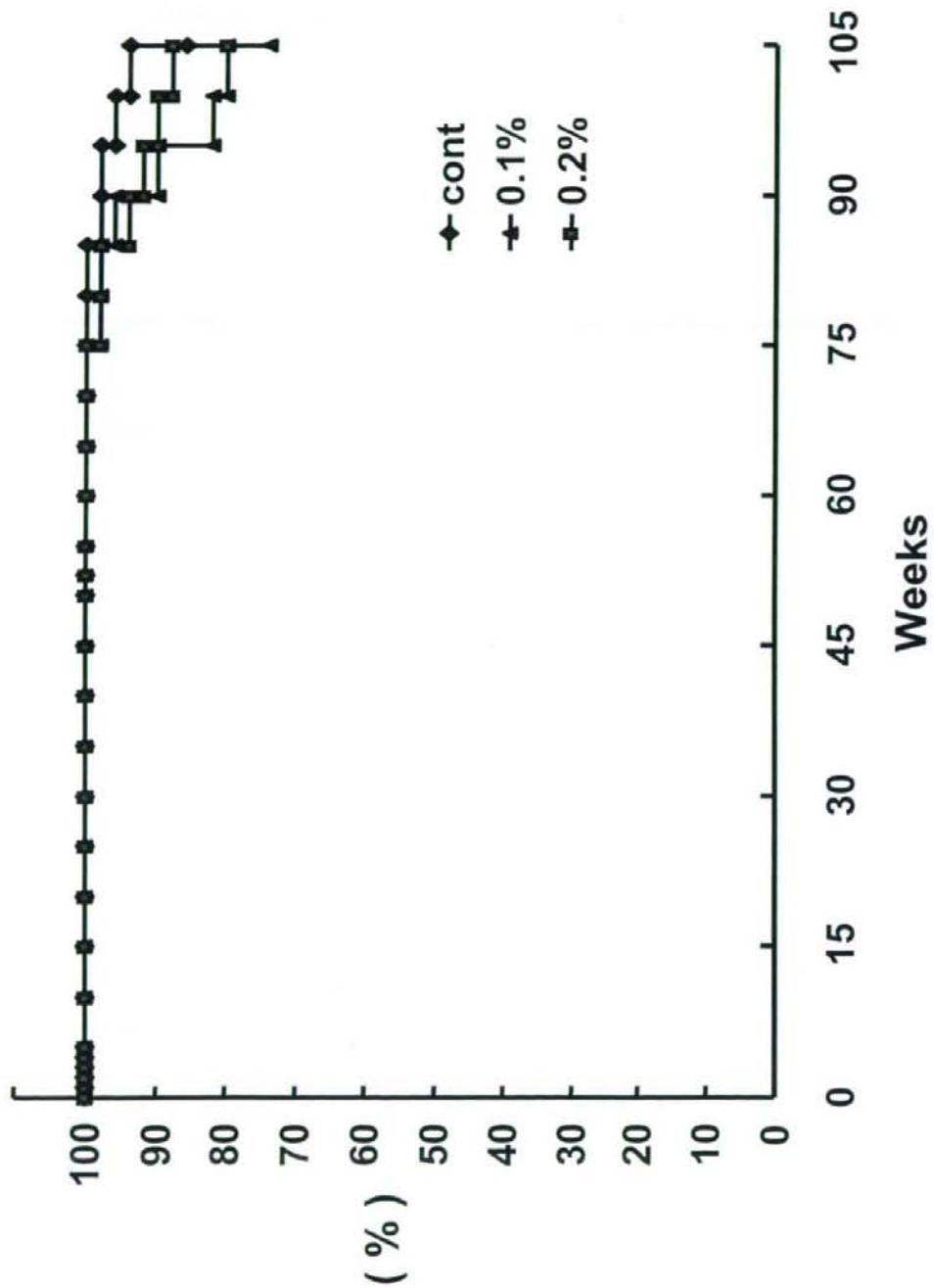


Fig.1-2 Survival rate for F344 rats treated with Ozokerite 104 weeks in the 2-year carcinogenic study (Female)

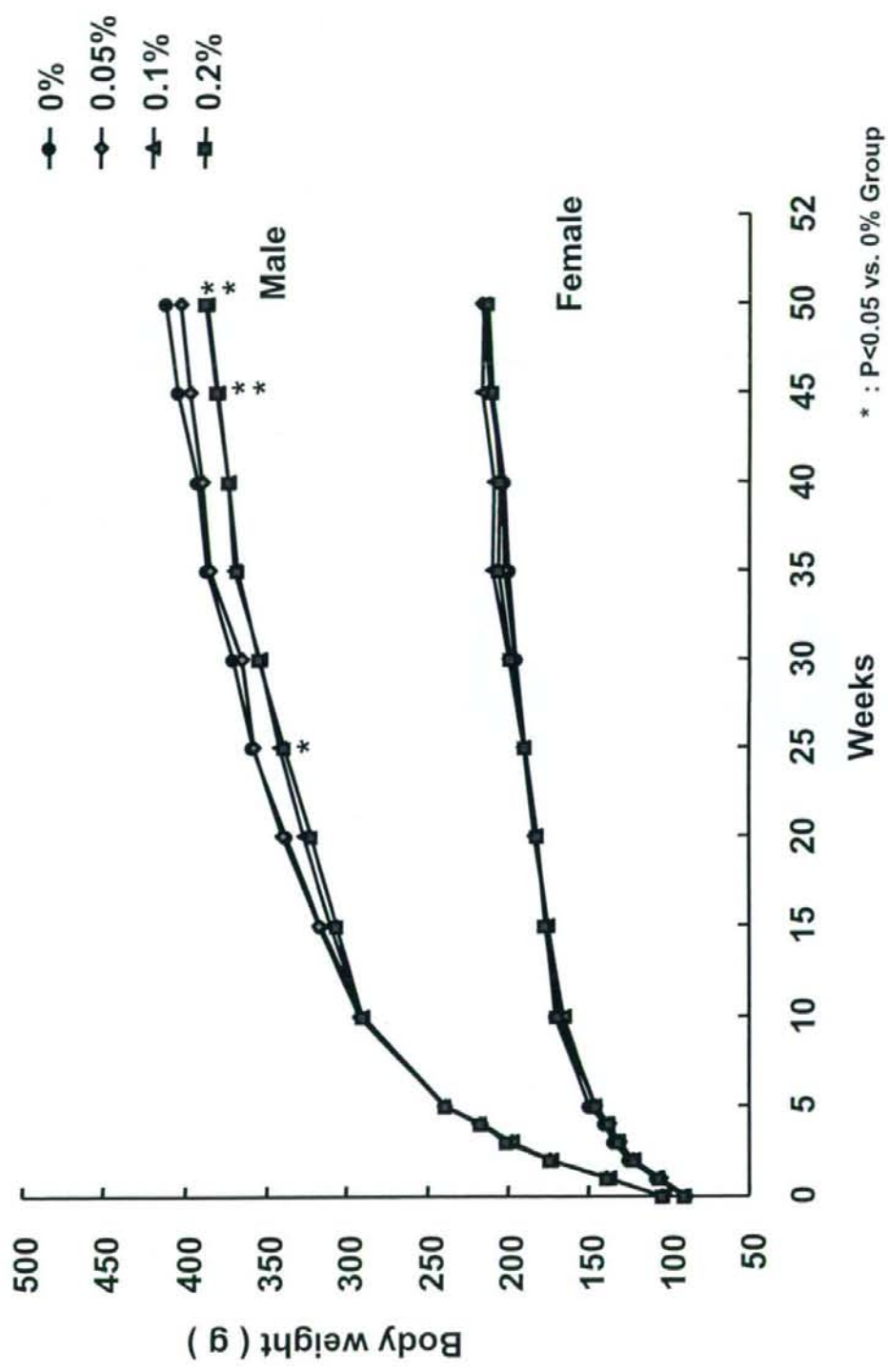


Fig.2 Growth curve for F344 rats treated with Ozokerite 52 weeks in the 1-year chronic study

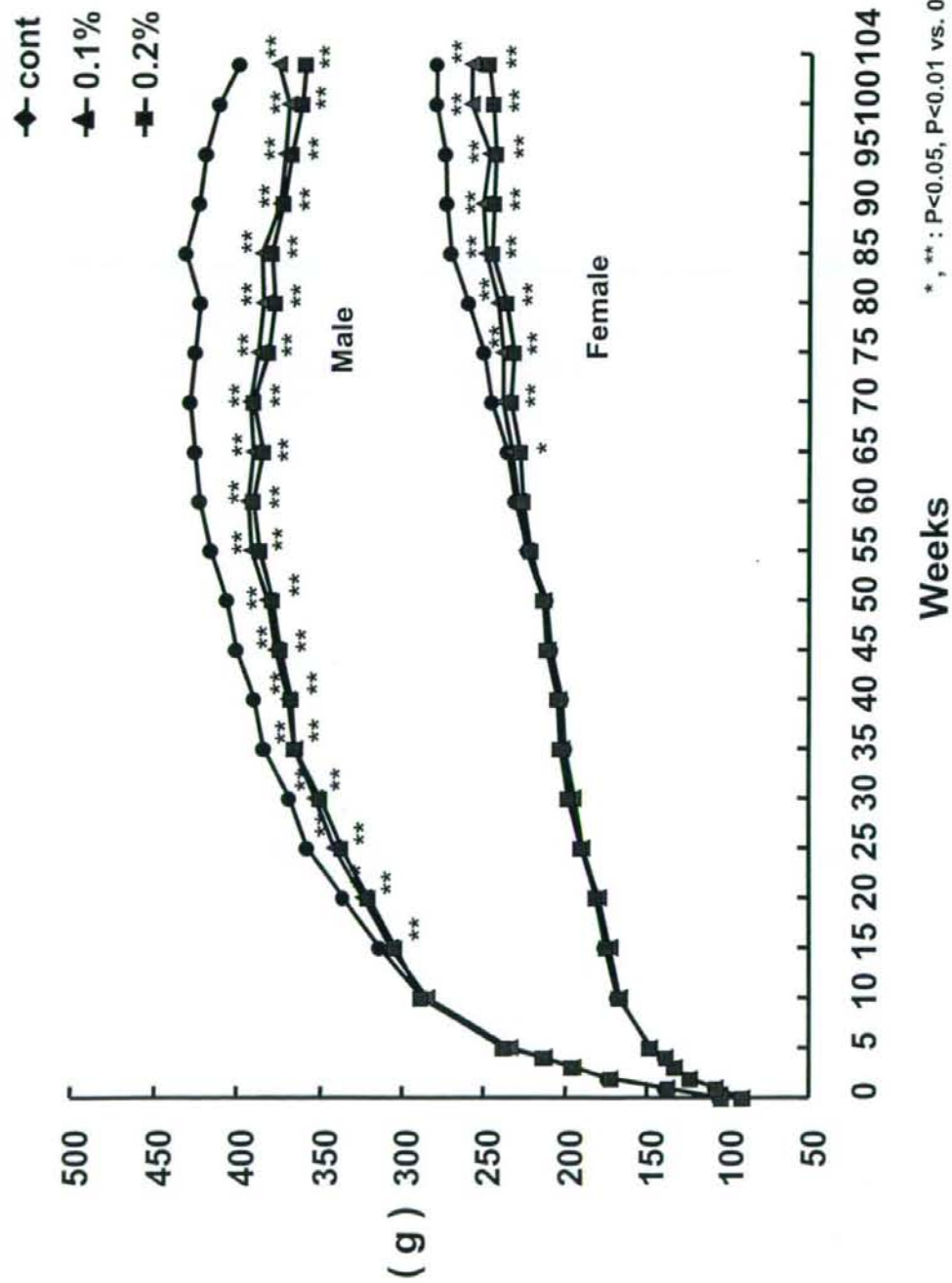


Fig.3 Growth curve for F344 rats treated with Ozokerite 104 weeks in the 2-year carcinogenic study

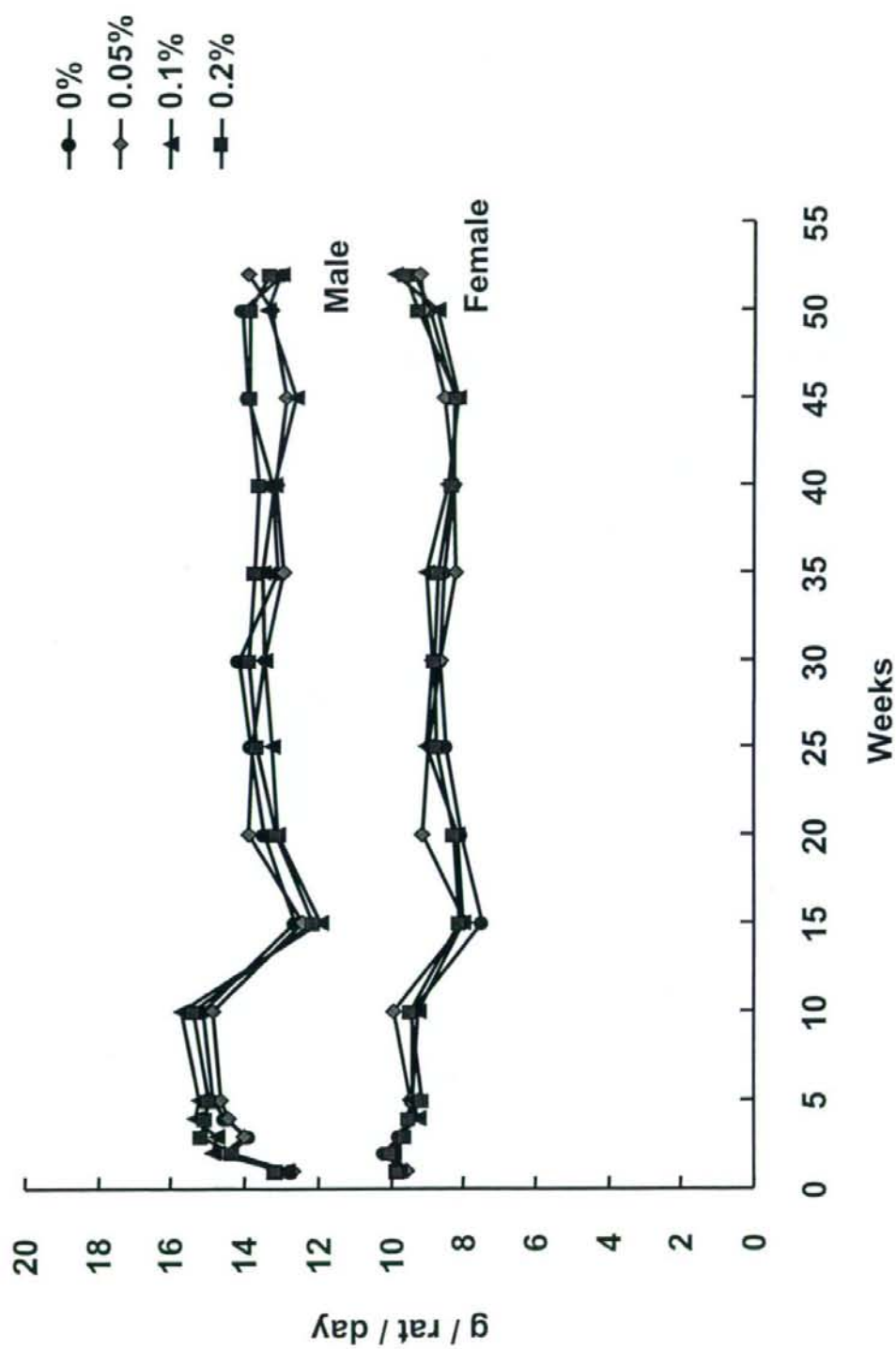


Fig.4 Food consumption for F344 rats treated with Ozokerite 52 weeks in the 1-year chronic study

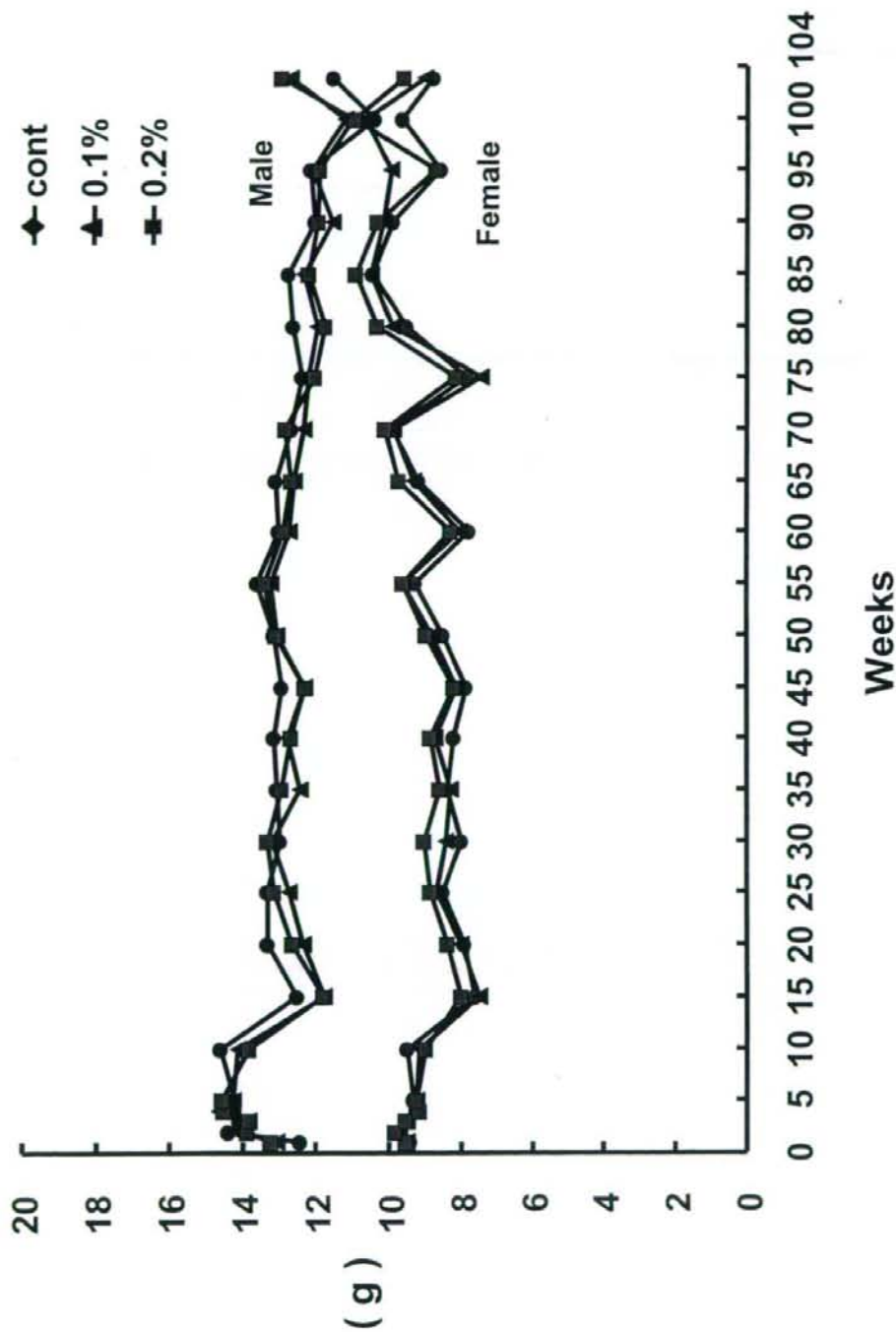


Fig.5 Food consumption for F344 rats treated with Ozokerite 104 weeks in the 2-year carcinogenic study

Table 1 Food consumption and intake of Ozokerite in F344 rats treated for 52 weeks

Group	Food consumption (g/rat/day)		Intake of Ozokerite			
	Male	Female	Daily (mg/kg bw/day)		Total (g/kg bw)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
0%	13.8	8.9	—	—	—	—
0.05%	13.7	9.1	25.5	27.8	9.3	10.1
0.1%	13.8	9.0	50.3	54.9	18.4	20.0
0.2%	14.0	9.0	104.2	110.6	38.0	40.4

All values are group means.

Table 2 Food consumption and intake of Ozokerite in F344 rats treated for 104 weeks

Group	Food consumption (g/rat/day)		Intake of Ozokerite			
	Male	Female	Daily (mg/kg bw/day)		Total (g/kg bw)	
			Male	Female	Male	Female
0%	13.0	8.9	—	—	—	—
0.1%	12.8	9.1	42.8	47.8	31.2	34.9
0.2%	12.9	9.3	86.7	97.9	63.3	71.5

All values are group means.

Table 3-1 Hematological data for F344 rats treated with Ozokerite for 52 weeks (Male)

Sex	Male				
	Item / Dose	0%	0.05%	0.1%	0.2%
No. of animals	10	10	10	10	10
RBC ($10^4 / \mu\text{L}$)	967.1 \pm 58.3 a	941.4 \pm 111.0	974.9 \pm 42.5	967.9 \pm 21.0	
HGB (g/dL)	16.2 \pm 0.9	14.7 \pm 0.4 **	13.5 \pm 1.1 **	13.2 \pm 0.9 **	
HCT (%)	51.4 \pm 3	48.3 \pm 1.2	45.8 \pm 3.3 **	45.4 \pm 1.9 **	
MCV (fL)	53.2 \pm 0.5	49.9 \pm 1.2	47.0 \pm 2.3 **	46.9 \pm 1.9 **	
MCH (pg)	16.8 \pm 0.2	15.2 \pm 0.6	13.9 \pm 1.0 **	13.6 \pm 0.8 **	
MCHC (g/dL)	31.5 \pm 0.3	30.4 \pm 0.7 **	29.5 \pm 0.8 **	29.1 \pm 0.8 **	
PLT ($10^4 / \mu\text{L}$)	58.2 \pm 13.5	56.8 \pm 4.7	52.2 \pm 5.2 *b	47.0 \pm 10.3 **c	
WBC ($10^2 / \mu\text{L}$)	34.7 \pm 10.5	39.1 \pm 6.3	51.5 \pm 16.5	63.8 \pm 27.1 **	

a : Mean \pm S.D.

b : n = 8

c : n = 9

*, ** : P < 0.05, 0.01 vs. 0% group

Table 3-2 Hematological data for F344 rats treated with Ozokerite for 52 weeks (Female)

Sex	Female				
	Item / Dose	0%	0.05%	0.1%	0.2%
No. of animals	10	10	10	10	10
RBC ($10^4 / \mu\text{L}$)	930.6 \pm 62.3 a	938.3 \pm 47.2	859.3 \pm 101.7	855.0 \pm 79.7	
HGB (g/dL)	16.6 \pm 1.2	15.7 \pm 1.2	13.6 \pm 2.3 **	13.3 \pm 2.0 **	
HCT (%)	52.8 \pm 3.5	50.4 \pm 2.7	44.8 \pm 5.9 **	43.8 \pm 5.7 **	
MCV (fL)	56.8 \pm 0.3	53.7 \pm 1.0 *	52.1 \pm 1.4 **	51.1 \pm 4.1 **	
MCH (pg)	17.8 \pm 0.5	16.8 \pm 0.8	15.7 \pm 0.9 **	15.5 \pm 1.4 **	
MCHC (g/dL)	31.3 \pm 0.9	31.2 \pm 1.1	30.2 \pm 1.3	30.3 \pm 0.8	
PLT ($10^4 / \mu\text{L}$)	58.1 \pm 18.5	57.0 \pm 3.7	48.6 \pm 10.6 **	46.7 \pm 7.2 **c	
WBC ($10^2 / \mu\text{L}$)	26.7 \pm 4.9	31.1 \pm 14.5	58.8 \pm 38.6 *	48.8 \pm 19.9 **	

a : Mean \pm S.D.

b : n = 8

c : n = 9

* , ** : P < 0.05 , 0.01 vs. 0% group