

内閣府食品安全委員会事務局
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る
食品健康影響評価に関する調査報告書

オイゲノール

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー

はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、オイゲノールについて、FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)と最新の評価を行っている欧州食品安全委員会(以下「EFSA」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月
株式会社三菱化学テクニサーチ

目 次

オイゲノール

1. 調査の目的	5
2. 作業の概要	5
2.1. 調査対象物質	5
2.2. 評価書の翻訳	7
2.2.1. 評価書	7
2.3. 翻訳の整理	7
3. 評価書和訳	7
3.1 JECFA(1982年)	9
3.2 JECFA(1979年)	23
3.3 JECFA(1967年)	33
3.4 JECFA(2006年)	41
3.5 EFSA(2009年)	101

海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

オイゲノール

1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちオイゲノールの調査について報告した。

表 1 調査対象の農薬等

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤

番号	物質名	主な用途
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ピオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2.2. 評価書の翻訳

2.2.1. 評価書

オイゲノールに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JECFA と EFSA における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JECFA	1982	FAS 17-JECFA 26/82, 1982
JECFA	1979	FAS 14-JECFA 23/44, 1979
JECFA	1967	FAS 68.33/NMRS 44A-JECFA 11/41, 1967
JECFA	2006	FAS56; Eugenol and related hydroxyallylbenzene derivatives, 2006
EFSA	2009	EFSA Journal 965, 2009

2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・JECFA の評価書について、評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・JECFA 及び EFSA の評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所の全訳を、評価書ごとに掲載した。

オイゲノール 評価書和訳と情報整理

JECFA: 1982

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je10.htm>

FAS 17-JECFA 26/82, 1982

オイゲノール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1982) 目次

説明	13
生物学的データ	13
生化学的側面	13
吸収、代謝、及び分布	13
毒性学的試験	15
発がん性に関する特殊試験	15
変異原性に関する特殊試験	17
急性毒性	17
亜慢性試験	18
コメント	19
評価	19
毒性学的に無影響なレベル	19
ヒトの推定一日摂取許容量	19
オイゲノールの毒性試験の概要（評価書:JECFA 1967）	20
略称	20

原文 目次

原文ページ

オイゲノール	1
生物学的データ	2
生化学的側面	2
急性毒性試験	2
短期毒性試験	2
長期毒性試験	2
コメント	2
評価	2
毒性学的無影響量	3
ヒトに対する推定一日摂取許容量	3
今後必要とされる研究	3
引用文献	3
EUGENOL	1
Biological Data	2
Biochemical aspects	2
Acute toxicity	2
Short-term studies	2
Long-term studies	2
Comments	2
EVALUATION	2
Level causing no toxicological effect	3
Estimate of acceptable daily intake for man	3
Further work required	3
REFERENCES	3

オイゲノール

説明

本物質は、食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門家会議により、1967 年及び 1979 年にヒトの一日摂取許容量が評価された(附属書 I 文献 14 及び 15 参照)。毒性モノグラフは 1980 年に発行された(附属書 I 文献 52 を参照のこと)。

追補データが利用可能になり、以下のモノグラフで要約され、検討されている。前回のモノグラフに追加され、完全な形で以下に示されている。

生物学的データ

生化学的側面

吸収、代謝、及び分布

450 mg/kg の ^{14}C メキシン標識したオイゲノールを単回腹腔内した結果[※]、全ての臓器に速やかに分布した。エーテル及び水に可溶性の物質がほとんどの組織及び排泄物から回収された。投与量のわずか 0.2-1.0 % が呼気中の (expired) $^{14}\text{CO}_2$ として排出された (Weinberg et al., 1972)。オイゲノールは致死量の 70 % 以上が死亡したウサギの尿から回収された (Schroder&Vollmer, 1932)。

※原文には投与対象動物の記載がない

ラットにオイゲノール 200 mg を単回投与した結果、投与後 12 時間に尿中に排泄されたエーテルグルクロニド (ethereal glucuronides) は、33-35 mg/ラットで、対照群 (4 mg/ラット) より増加した。グルクロニドエステルの値は変化しなかった (Yuasa, 1974)。

Fischer ラット及び CD-1 マウスの雄雌由来の肝ミクロソーム溶液で行われた試験では、オイゲノールからオイゲノール 2',3'-エポキシドの産生は、検出可能な量で発生した (Swanson et al., 1981)。

ラット肝細胞培養によるオイゲノールのエポキシ化が報告されている。オイゲノールで前処理されたラットの肝臓ホモジネート及び尿から、オイゲノールのジヒドロジオール代謝物が分離された。これら代謝物はオイゲノールエポキシドにおけるエポキシドヒドラーゼの作用によるものの可能性がある (Delaforge et al., 1980)。

オイゲノールをラットの肝臓上皮細胞と培養した結果、4-(2'-3'-ジヒドロキシ)プロピル-2-メキシンフェノール

(4-(2'-3'-dihydroxy)propyl-2-methoxyphenol)が産生された(Janiaud, 1936)。

酵素への作用及びに他の生化学的パラメータ

オイゲノールの薬理学的影響として、前回検討されたオイゲノール 150 mg/匹を投与されたラットにおける β -D-グルコシドウロン酸抱合の阻害などがある(Hartiala et al., 1966)。

ジメチルアミノピリン又はヘキサバルビタールの肝臓ホモジネートによる水酸化活性は、オイゲノール 160 mg/kg を投与し、投与1時間後にと殺されたマウス由来の組織では抑制された(Jaffe et al., 1968)。

オイゲノールのLD50の約10%を2~3日間毎日3回投与されたラットの肝臓において、アミノピリン-N-脱メチル化活性の影響はみられなかった。ヘキサバルビタールの横軸方向への偏向時間及び尿中アスコルビン酸含量にわずかな減少があった(Gruebner,1972)。

オイゲノールは、チャールスリバーラット成獣の雄の肝臓から分離したミトコンドリアにおいて、*in vitro* で呼吸を抑制することが報告された。懸濁培地中のオイゲノールは0.11 から 3.50 mM 濃度で存在したが、呼吸抑制は0.88 mM 濃度から開始された(Cotmore et al., 1979)。

1 mM 濃度では、オイゲノールは、ハムスター成獣から分離した褐色脂肪細胞においてノルアドレナリン誘発性酸化的代謝を61%抑制すると報告された(Peterson et al., 1980)。

雄のスイスアルビノマウスに200 mg/kg のオイゲノールを腹腔内投与すると麻酔作用を誘発し、一群10匹の投与群での平均睡眠時間は17分であった。そのうち2匹は投与後24時間以内に死亡した(Sell & Carlini, 1976)。またオイゲノールの腹腔内投与はラットの低体温(hypothermia)やマウスの筋弛緩(myrolaxtion※)及び抗痙攣(anticonvulsant)作用とも関連がある(Dallmeier & Carlini, 1981)。

※原文では myrolaxtion となっているが myrolaxation の間違いと考え「筋弛緩」と訳した。

オイゲノールは歯科鎮痛剤として使用されている(Tyler et al., 1977)。化合物は炎症や病変のある歯髄の痛みを軽減するが、真の局所麻酔薬ではない(Sticht & Smith, 1971)。

部分的に肝切除した雄のチャールスリバーラットに毎日50 mg(総投与量1,365 mg/kg 体重)のオイゲノールを7日間皮下投与した結果、肝臓再生率(rate of liver regeneration)には何の影響も見られなかった(Gershbein, 1977)。

ウォルターリード白ラット(Walter Reed white rats)の成獣に0.1 mLの精製オイゲノールを皮下投与したと

ころ、投与部位の壊死(necrosis)及び炎症が起こった(Webb & Bussel, 1981)。

その他の影響は以下のとおり。

動物	用量	投与経路	影響	参照
イヌ	約(ca.) 50 mg/kg	静脈内投与	胆汁分泌(cholersis)	Chabrol,1931
マウス	100-340 mg/kg	腹腔内投与	直腸温度低下	Caujolle & Meynier, 1960
マウス	50 mg/kg	腹腔内投与	睡眠時間増加 ペントバルビタール -130 % エタノール-120 %	Seto & Kemp, 1969
ラット	100 mg/kg	腹腔内投与	自発行動に影響なし	deMello et al., 1973
	160 mg/kg	腹腔内投与	重度の抑制(severe depression)及び後躯の麻痺(paralysis of hind quarters)	
	200 mg/kg	腹腔内投与	緊張病(catatonia)	
カエル	0.1-100 %	神経の直接的暴露 (direct exposure of nerve)	露出した座骨神経における誘発刺激伝達の阻害(blockage of transmission of evoked impulses in exposed sciatic nerve)	Kozam, 1977

毒性学的試験

発がん性に関する特殊試験

若い成獣 CD-1 マウス(一群雌約 30 匹)にオイゲノール濃度が 0 又は 0.5 %の飼料を 12 ヶ月間混餌投与した。他の投与群は飲水中に 0.05 %のフェノバルビタール、0.05 %フェノバルビタール又は 0.5 %のオイゲノールを混餌投与した。動物には試験飼料投与後さらに 6 ヶ月間対照飼料を与えた。フェノバルビタールのみの投与群において、29 匹中 3 匹で肝腫瘍が出来たが、他の 3 群において肝腫瘍は認められなかった。肝臓は腫瘍発生を調べた唯一の器官であった。2 番目の試験では、CD-1 マウス(一群雄雌各 40~60 匹)に 0 又は 2.5 μmol のオイゲノールの強制経口投与を週 2 回、4 日齢から 36 日齢まで続けた。その後動物への投与を中止し 14 ヶ月で試験を終了した。肝腫瘍の発生に関する投与の影響は雄雌ともに認められなかった。3 番目の試験では、CD-1 マウス(一群雄 40~50 匹)の 1、8、15 及び 22 日齢に、それぞれ 0.63、1.26、2.52 及び 5.04 μmol のオイゲノール又はオイゲノール 2',3'-エポキシドを腹腔内投与した。同時に行われた溶媒のトリオクタノインのみを投与した対照群と比較すると、どちらの投与群も肝腫瘍発生の増加は認められなかった(Miller et al.,1979)。

ICR/HA Swiss マウス(一群雌 20 匹)を用いてオイゲノールの皮膚腫瘍のプロモーション作用が調べられた。一群には、7,12-ジメチルベンズアントラセン(DMBA)を背中に単回皮膚投与によるイニシエートした。この投

与群及びDMBAをイニシエートしていないもう一群に63週間、オイゲノール5 mgを週3回皮膚に塗布した。癌(carcinoma)はいずれの群でも認められず、オイゲノールのみを投与した動物では乳頭腫(papilloma)はみられなかった。DMBAをイニシエートし、さらにオイゲノールも投与した群では動物3匹で乳頭腫が発生した。DMBAをイニシエートし、その後週3回対照溶媒であるDMSOを投与した対照群では、2匹で乳頭腫が発生し、1匹で腫瘍が発生した(Van Duuren et al., 1966)。同じ試験機関で実施された別の試験では、オイゲノールは、発がん性物質の皮膚塗布試験において同時に用いた場合には、ベンゾピレンの発がん性に対して部分的に抑制作用を有することが報告された(Van Duuren & Goldschmidt, 1976)。

マウスにおける限定的試験において、オイゲノールはメチルコラントレンの腫瘍形成の作用を増強しなかった(Hitchcock,1952)。

F-344 ラット(一群雄50匹)にオイゲノール濃度が3,000又は6,000 ppm(0.3又は0.6%)飼料を103週間混餌投与した。動物を最終的にと殺する前のもう1週間はオイゲノール無しの飼料を与えた。F-344 ラット(一群雌50匹)にはオイゲノールの6,000又は12,500 ppm(0.6又は1.25%)飼料を103週間混餌投与した。動物を最終的にと殺する前のもう1又は2週間はオイゲノール無しの飼料を与えた。同時に対照群(雌雄各40匹)では、105週間オイゲノール無しの飼料で飼育した。

体重増加量において、用量相関性のある影響が特に雌においてみられた。また、投与動物において摂餌量のわずかな減少も見られた。生存率に関し、この化合物に関連した有意な影響はみられなかった。雌ラットで子宮内膜間質ポリープの発生頻度が増加した。発生頻度は、対照群で6/40、低用量群で6/50、高用量群で16/50であった。雄における肺の肺胞-細気管支腺腫(alveolar-bronchiolar adenomas)の発生頻度は、対照群で0/40、低用量群で5/49、高用量群で2/50であった。試験を実施した機関での、F-344ラット対照群の雄におけるこの腫瘍の背景的な発生頻度は6/299(2%)であった。高用量群の雄又は雌のどの投与群においても、この腫瘍に統計学的に有意な増加は観察されなかった。甲状腺のC細胞腺腫(C-cell adenomas of the thyroid gland)が雌において以下の発生頻度で観察された: 対照群で3/40、低用量群で11/49、**対照群で2/50***であった。低用量群における増加は統計学的に有意であった。雄では、どの投与群においてもこの腫瘍の発生頻度は増加しなかった。報告書の結論において、オイゲノールはラットに対する発がん性はないとしている(NTP, 1980)。

※原文は **contorols** だが本来「**high dose 高用量で**」となるべきところだと思われる。原文確認の必要があると思われる。

B6C3F1 マウス(一群雄雌各50匹)にオイゲノール濃度が0、3,000又は6,000 ppm(0、0.3、又は0.6%)の飼料を103週間混餌投与した。動物は最終と殺の直前のもう2週間は対照飼料で飼育された。試験全体を通じ、雄雌両方で体重増加量にわずかな用量依存性のある低下が認められた。化合物に関連する臨床症状は報告されなかった。しかしながら、生存率は高用量群の雄及び低用量群の雌においてわずかに低かったが、その影響は統計学的に有意ではなかった。肝細胞腫瘍(癌、腺腫)の発生頻度は、雄では、対照群で14/50、

低用量群で 39/45 及び高用量群で 19/49 であった。対する雌の発生頻度は、対照群で 2/50、低用量群で 7/49、及び高用量群で 9/49 であった。雄においては、高用量群ではなく低用量群が肝細胞腫瘍の統計学的に有意な増加を示した。報告書の結論において、B6C3F₁ マウスにおいてオイゲノールは肝腫瘍を増加させたという証拠はあったが、この証拠の重要性が限定的であることを考えると、この結果はどちらとも解釈できると判断される、と記載されている(NTP, 1981)。

変異原性に関する特殊試験

オイゲノールは、四つの変異株 (TA-1530、TA-1531、TA-1532、TA -1964) を用いたサルモネラ試験で、直接法及びマウスの肝ポストミトコンドリア分画の使用下での活性化法の両方において陰性であった。宿主経由試験においても陰性であった (Green & Savage, 1978)。

オイゲノールはまた、アラクロール誘導ラットの肝臓の S9 画分の存在の有無に関わらず、懸濁液アッセイで、サルモネラ TA-100 において変異原性は認められないと報告された (Eder et al., 1980)。サルモネラ株 TA-98、TA-1535 及び TA-100 を用いたプレートアッセイ系でも、アラクロール又は 3-メチルコラントレン誘導ラットの肝活性化の有無に関わらず、結果は陰性であった。オイゲノールの 2',3'-エポキシドは肝活性化系無しの場合、TA-1535 株に対し変異原性を示した (Swanson et al., 1979)。

オイゲノールはサルモネラ株の 1535、1537 又は 1538 に対してラット肝活性化系の有無に関わらず変異原性は認められないと報告されている。オイゲノールの 2',3'-エポキシ誘導体は肝活性化の有無に関わらず TA-1535 株に対して変異原性を示した (Delaforge, 1977)。

急性毒性変化としては、イヌにおける胃粘膜の剥離 (Hitchcock, 1952) 及び点状出血 (punctate haemorrhages) (Hartiala et al., 1966)、胃の炎症及び胃液分泌 (secretory capacity) の低下 (Sober, 1950)、ラットにおける肝の斑状の変色 (liver discoloration and mottling) (Taylor et al., 1964)、イヌにおける肝のうっ血 (liver congestion) (Lauber & Hollander, 1950) があげられる。

急性毒性

動物	投与経路	用量 (mg/kg 体重)	参照
マウス	経口投与	3,000	Jenner et al., 1964
	腹腔内投与	500	Caujolle & Meynier, 1960
	腹腔内投与	630	Fujii et al., 1970
ラット	経口投与	1,930	Sober et al., 1950
	経口投与	2,680	Taylor et al., 1964
モルモット	経口投与	2,130	Jenner et al., 1964

亜慢性試験

ラット(一群雄雌各 10 匹)にオイゲノール 89.7 mg/kg を 12 週間投与した結果、何ら有害な影響は認められなかった(Trubek 研究所、1958)。

ラット(雄 20 匹)に 1,400 mg/kg 体重から 4,000 mg/kg 体重までを 34 日間漸増法で投与した。明らかな死亡率の増加、軽度の肝臓腫大及び副腎腫大がみられた。病理組織学的検査では肝細胞の腫大がみられた。前胃では重層扁平上皮の中程度～重度の過形成及び過角化症が、巣状潰瘍とともにみられた(Hagan et al., 1965)。

また別の試験では、一群雄雌各 10 匹※に、オイゲノール濃度が 0、0.1、及び 1.0 %の飼料を 19 週間混餌投与した結果、成長率、血液学的所見、臓器重量及び主要な組織の病理組織学的所見において有害な影響はなかった(Hagan et al.,1967)。

※原文に記載はないが、ラットだと思われる。

F-344 ラット(一群雄雌各 5 匹)にオイゲノール濃度が 6,000、12,500、25,000、50,000 又は 100,000 ppm (0.6、1.25、2.5、5 又は 10 %)を 14 日間混餌投与した。同時並行の対照群はなかった。試験中に高用量群の雄 1 匹及び全ての雌が死亡した。体重増加量の用量相関性の減少がみられた(NTP, 1981)。

F-344 ラット(一群雌雄各 10 匹)にオイゲノール濃度が 6,000、12,500、25,000、50,000 又は 100,000 ppm(0.6、1.25、2.5、5、又は 10%)を 90 日間混餌投与した。死亡率、あるいは肉眼的又は顕微鏡的病変に関して化合物に関連した影響は報告されていない。対照動物と比較して、体重増加は高用量群の雄において 12%抑制された(NTP,1981)。

B6C3F₁ マウス(一群雄雌各 5 匹)にオイゲノール濃度が 6,000、12,500、25,000、50,000 又は 100,000 ppm(0.6、1.25、2.5、5 又は 10 %)の飼料を 14 日間混餌投与した。同時並行の対照群はなかった。雌雄とも、体重増加量に用量相関性の減少があった。100,000 ppm(10 %)群の 5 匹全てが試験終了までに死亡した。雌では、100,000 ppm(10 %)群の全てが試験終了までに死亡した(NTP, 1981)。

B6C3F₁ マウス(一群雄雌各 10 匹)にオイゲノール濃度が 0、400、800、1,500、3,000 又は 6,000 ppm(0、0.04、0.08、0.15、0.3 又は 0.6 %)の飼料を 13 週間混餌投与した。死亡は無く、化合物に関連した肉眼的又は顕微鏡的病変はみられなかった(NTP, 1981)。

コメント

急性では、高用量のオイゲノールはイヌやラットに対し肝臓毒性がある。

代謝試験データは限定的である。*in vitro*システム系で、オイゲノールから少量のオイゲノール 2',3-エポキシドが生成されることが報告されている。

サルモネラ株を用いた変異原性試験では、活性化の有無に関わらずオイゲノールは陰性であったが、これらの試験系において、2',3-エポキシド化合物は活性(active)であった。

オイゲノールは、ラットの生涯試験において発がん性を示さなかった。B6C3F₁ マウスの生涯試験で肝腫瘍の発生頻度が増加するという所見がみられた。その結果を統計学的に分析すると、雄のマウスにおいて陽性傾向が示された。雌のマウスでは、低用量で腫瘍の発生頻度は増加したが、その影響は用量相関的ではなかった。この結果の意義を解釈するのは難しく、どちらとも言えないと判断された。この点に関しては、オイゲノールと構造的に関連する化合物、すなわち、estrogol 及び saffrole の発がん性を比較した CD1 マウスの試験で、オイゲノールは陰性であったが saffrole は陽性であったことに留意することが重要である。このように、利用できる証拠のほとんどが、オイゲノールには発がん性がないことを示唆している。

催奇形性や生殖に関する試験は入手できなかった。

ラットの混餌投与による生涯試験において、ヒトの一日摂取許容量を評価するための追加的情報が得られた。このデータは、以前の暫定的一日摂取許容量を(正式な)一日摂取許容量に切り替える裏付けとなるものである。

評価

毒性学的に無影響なレベル

ラット： 飼料中に250 mg/kg体重

ヒトの推定一日摂取許容量

0-2.5 mg/kg体重

オイゲノールの毒性試験の概要（評価書：JECFA 1967）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性(経口)	マウス	記載なし	LD ₅₀ : 3,000 mg/kg
急性毒性(腹腔内投与)	マウス	記載なし	LD ₅₀ : 500 mg/kg
急性毒性(腹腔内投与)	マウス	記載なし	LD ₅₀ : 630 mg/kg
急性毒性(経口)	ラット	記載なし	LD ₅₀ : 1,930 mg/kg
急性毒性(経口)	ラット	記載なし	LD ₅₀ : 1,930 mg/kg
急性毒性(経口)	モルモット	記載なし	LD ₅₀ : 2,130 mg/kg
12週間亜慢性試験	ラット	89.7 mg/kg	
34日間亜慢性試験	ラット	1,400 mg/kg 体重から 4,000 mg/kg 体重まで	死亡率増加、軽微な肝臓腫大及び副腎腫大。肝細胞腫大。前胃で重層扁平上皮の中程度～重度の過形成及び過角化症、巣状潰瘍。
19週間亜慢性試験	ラット	0、0.1、1.0 %	成長率、血液学的所見、臓器重量、主要組織の病理組織学的所見において有害影響なし
14日間亜慢性試験	ラット	6,000、12,500、 25,000、50,000、 100,000 ppm (0.6、 1.25、2.5、5、10 %)	高用量群の雄1匹と全ての雌が死亡。 用量相関性のある体重増加の抑制。
14日間亜慢性試験	マウス	6,000、12,500、 25,000、50,000、 100,000 ppm (0.6、 1.25、2.5、5、10 %)	雌雄:用量相関性のある体重増加の抑制 雄:100,000 ppm (10 %) で死亡 雌:100,000 ppm (10 %) で死亡
13週間亜慢性試験	マウス	0、400、800、1,500、 3,000、6,000 ppm (0、0.04、0.08、 0.15、0.3、0.6 %)	死亡なし。 肉眼的又は顕微鏡的病変なし。
1年間発がん性試験(経口)	ラット	0、0.5 %	発がん性なし
63週間発がん性試験(経皮)	マウス	5 mg・週 3回塗布	オイゲノールのみ投与:陰性。 ベンゾピレンの発がん性を部分的に抑制
発がん性試験	マウス	記載なし	限定的試験:メチルコラントレンの腫瘍形成の効果を増強しない
103週間発がん性試験	ラット	雄: 3,000、6,000 ppm (0.3、0.6 %) 雌: 6,000、12,500 ppm (0.6、1.25 %)	発がん性なし
103週間発がん性試験	マウス	0、3,000、6,000 ppm (0、0.3、0.6 %)	B6C3F1 マウスで肝腫瘍を増加させた証拠はあったが、この証拠の重要性が限定的であることを考えると、この結果はどちらとも解釈できる
繁殖毒性試験			記載なし
催奇形性試験			記載なし
変異原性:	サルモネラ菌	懸濁法、プレート法	陰性
その他	毒性学的無影響量	ラット	飼料中に 250 mg/kg 体重
	暫定ADI	ヒト	0-2.5 mg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関

WHO	World Health Organization	世界保健機関
LD ₅₀	50 % Lethal Dose	半数致死量
s.c.	subcutaneous	皮下投与
i.p.	intraperitoneal	腹腔内投与
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量

オイゲノール 評価書和訳と情報整理

JECFA: 1979

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v14je11.htm>

FAS 14-JECFA 23/44. 1979

オイゲノール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1979) 目次

オイゲノール	27
説明 (原文 p.1)	27
生物学的データ (原文 p.1)	27
生化学的側面 (原文 p.1)	27
毒性学的試験 (原文 p.2)	28
変異原性に関する特殊試験(原文 p.2)	28
急性毒性(原文 p.2)	29
亜慢性試験(原文 p.2)	29
発がん性に関する試験(原文 p.2)	29
コメント(原文 p.3)	30
評価(原文 p.3)	30
毒性学的無影響量(原文 p.3)	30
ヒトに対する暫定的な一日摂取許容量の推定(原文 p.3)	30
今後の作業と情報(原文 p.3)	30
オイゲノールの毒性試験の概要 (評価書:JECFA 1979)	31
略称	32

原文 目次

原文ページ

オイゲノール	1
説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
毒性試験	2
変異原性に関する試験	2
急性毒性試験	2
亜慢性毒性試験	2
発がん性に関する試験	2
コメント	3
評価	3
毒性学的無影響量	3
ヒトに対する一時的な一日摂取許容量の推定	3
今後の作業と情報	3
引用文献	3
EUGENOL	1
Explanation	1
BIOLOGICAL DATA	1
BIOCHEMICAL ASPECTS	1
TOXICOLOGICAL STUDIES	2
Special studies on mutagenicity	2
Acute toxicity	2
Subchronic studies	2
Special studies on carcinogenicity	2
Comments	3
EVALUATION	3
Level causing no toxicological effect	3
Estimate of temporary acceptable daily intake for man	3
FURTHER WORK OR INFORMATION	3
REFERENCES	3

オイゲノール

説明 (原文 p.1)

オイゲノールは第11回食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門家会議において再検討され、仕様が準備され、条件付き一日摂取許容量(ADI)が 0-5 mg/kg 体重と設定された (Anon., 1967)。

前回の検討以来、新しいデータが利用可能となり、本概要に含まれている。

生物学的データ (原文 p.1)

生化学的側面 (原文 p.1)

450 mg/kg の ^{14}C メキシシ標識したオイゲノールを単回腹腔内投与した結果※、全ての臓器に速やかに分布した。エーテル及び水に可溶性の物質がほとんどの組織及び排泄物から回収された。投与量のわずか 0.2-1.0 % が呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ として排泄された (Weinberg et al., 1972)。オイゲノールは致死量の 70 % 以上が死亡したウサギの尿から回収された (Schroder & Vollmer, 1932)。

※原文には投与の対象動物の記載がない

ラットにオイゲノール 200 mg を単回投与した結果、投与後 12 時間に尿中に排泄されたグルクロニドエーテルは 33-35 mg/ラットで、対照群(4 mg/ラット)より増加した。グルクロニドエステルの値は変化しなかった (Yuasa, 1974)。

オイゲノールをラットの肝臓上皮細胞とともに培養した結果、4-(2'-3'-ジヒドロキシ)プロピル-2-メキシフェノールが産生された (Janiaud, 1936)。

オイゲノールの薬理学的影響として、前回検討されたオイゲノール 150 mg/ラットを投与されたラットにおける β -D-グルコシドウロン酸抱合の阻害作用などがある (Hartiala et al., 1966)。

ジメチルアミノピリン又はヘキソバルビタールの肝臓ホモジネートによる水酸化活性は、オイゲノール 160 mg/kg を投与し、投与1時間後にと殺されたマウスの組織では抑制された (Jaffe et al., 1968)。

ラットにオイゲノールの LD_{50} の約 10 % を 2-2/3 日※の間、毎日 3 回投与されたラットの肝臓において、アミノピリン-N-脱メチル化活性の影響はみられなかった。ヘキソバルビタールの横軸方向への偏向時間 (lateral deflection time) 及び尿中アスコルビン酸含量にわずかな減少があった (Gruebner, 1972)。

※原文の記載通り

その他の影響:

動物	用量	投与経路	影響	参照
イヌ	約50 mg/kg	静脈内投与	胆汁分泌(cholersis)	Chabrol,1931
マウス	100-350 mg/kg	腹腔内投与	直腸温度低下	Caujolle & Meynier,1960
マウス	50 mg/kg	腹腔内投与	睡眠時間増加 ペントバルビタール-130 % エタノール-120 %	Seto, 1969
ラット	100 mg/kg	腹腔内投与	自発運動に影響なし	de Mello et al., 1973
	160 mg/kg	腹腔内投与	重度の抑制と後躯の麻痺	
	200 mg/kg	腹腔内投与	緊張病(catatonia)	
カエル	0.1-100 %	神経の直接的 暴露	露出した座骨神経における誘発 刺激伝達の阻害	Kozam, 1977

毒性学的試験 (原文 p.2)

変異原性に関する特殊試験 (原文 p.2)

オイゲノールは、四つの変異株 (TA1530、TA1531、TA1532、TA1964) を用いたサルモネラ試験の直接法及びマウス肝ポストミトコンドリア画分を用いた活性化法とも陰性であった。宿主経由試験においても活性はなかった (Green & Savage, 1978)。

急性毒性(原文 p.2)

動物	投与経路	用量(mg/kg)	参照
マウス	経口投与	3,000	Jenner et al., 1964
	腹腔内投与	500	Caujolle&Meynier, 1960
	腹腔内投与	630	Fujii et al., 1970
ラット	経口投与	1,930	Sober et al., 1950
	経口投与	2,680	Taylor et al., 1964
モルモット	経口投与	2,130	Jenner et al., 1964

急性毒性影響としては、イヌにおける胃粘膜の剥離(Hitchcock, 1952)、点状出血 (Hartiala et al., 1966)、胃の炎症及び胃液分泌能の低下(Sobers, 1950)、ラットにおける肝臓の斑状の変色(discoloration and mottling)(Taylor et al., 1964)、イヌにおける肝臓のうっ血(Lauber & Hollander, 1950)があげられる。

亜慢性試験(原文 p.2)

ラット(一群雌雄各 10 匹)にオイゲノール 89.7 mg/kg を 12 週間投与した結果、何ら有害影響は認められなかった(Trubek 研究所、1958)。

ラット(雄 20 匹)にオイゲノール 1,400 mg/kg から 4,000 mg/kg までを 34 日間漸増法で投与した。明らかな死亡率の増加、軽度な肝臓腫大及び副腎腫大がみられた。病理組織学的検査では肝細胞の腫大がみられた。前胃では、重層扁平上皮の中程度～重度の過形成及び過角化症が、巣状潰瘍とともにみられた(Hagan et al., 1965)。

別の試験では、ラット*(雌雄各 10 匹)にオイゲノール濃度が 0、0.1 及び 1.0 %の飼料を 19 週間混餌投与した結果、成長率、血液学的所見、臓器重量及び主要な組織の病理組織学的所見において有害な影響はなかった(Hagan et al., 1967)。

※原文に対象動物の記載がないが文脈から考えてラットと思われる。

発がん性に関する試験(原文 p.2)

マウスにオイゲノールを経口又は注入投与した実施中の試験では、対照群と異なる影響はみられていない

(Miller, 1979)。

現行の基準を満たしていない試験であるが、オイゲノールはメチルコラントレンの腫瘍形成作用を増強しなかった(Hitchcock, 1952)。米国国立がん研究所(NCI)において、ラット及びマウスの発がん性試験を実施中である。

コメント(原文 p.3)

イヌ及びラットに対するオイゲノールの高用量投与で肝毒性が認められる。短期試験では毒性学的評価の根拠が示されている。代謝に関するデータは不完全であるが、特記すべき懸念は示されていない。種々の変異原性試験の結果は陰性であった。発がん性試験は現在進行中である。

評価(原文 p.3)

毒性学的無影響量(原文 p.3)

ラット: 飼料中 1% 500 mg/kg 体重相当

ヒトに対する暫定的な一日摂取許容量の推定(原文 p.3)

0-2.5 mg/kg

今後の作業と情報(原文 p.3)

1989年までに必要とされるもの

進行中の発がん性試験の完了

オイゲノールの毒性試験の概要（評価書：JECFA 1979）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	マウス	記載なし	3,000 mg/kg
急性毒性 (腹腔内)	マウス	記載なし	500 mg/kg
急性毒性 (腹腔内)	マウス	記載なし	630 mg/kg
急性毒性 (経口)	ラット	記載なし	1,930 mg/kg
急性毒性 (経口)	ラット	記載なし	2,680 mg/kg
急性毒性 (経口)	モルモット	記載なし	2,130 mg/kg
12 週間亜急性試験	ラット	89.7 mg/kg	雌雄：有害影響は認められなかった
34 日間亜急性試験	ラット	1,400-4,000 mg/kg	雄：高い死亡頻度、軽度な肝臓腫大及び副腎腫大。肝細胞腫大。前胃では重層扁平上皮の中程度～重度の過形成及び過角化症、巣状潰瘍。
19 週間亜急性試験	ラット	0、0.1、1.0 %含有混餌	雄雌の群：成長率、血液学的所見、臓器重量、組織学的所見で有害影響なし
発がん性試験	マウス	記載なし	進行中の経口投与や注入試験：影響なし
発がん性試験	マウス	記載なし	メチルコラントレンの腫瘍形成作用を増強しない
慢性毒性			記載なし
繁殖			記載なし
催奇形性			記載なし
変異原性： 復帰突然変異	サルモネラ菌	記載なし	陰性
変異原性： 宿主経由試験	サルモネラ菌	記載なし	不活性
その他	毒性学的無影響量		ラット：飼料中 1% 500 mg/kg 体重相当
	暫定ADI	ヒト	0-2.5 mg/kg

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
ca.	circa	約
i.v.	intravenous	静脈内投与
i.p.	intraperitoneal	腹腔内投与

オイゲノール 評価書和訳と情報整理

JECFA: 1967

ウェブサイト: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v56je09.pdf>
FAS 68.33/NMRS 44A-JECFA 11/41, 1967

オイゲノール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1967) 目次

オイゲノール (原文 p.1)	37
生物学的データ (原文 p.2)	37
生化学的側面 (原文 p.2)	37
急性毒性試験 (原文 p.2)	38
短期毒性試験 (原文 p.2)	38
長期毒性試験 (原文 p.2)	39
コメント 原文 (原文 .2)	39
評価 (原文 p.2)	39
毒性学的無影響量 (原文 p.3)	39
ヒトに対する推定一日摂取許容量 (原文 p.3)	39
今後必要とされる研究 (原文 p.3)	39
オイゲノールの毒性試験の概要 (評価書:JECFA 1967)	40
略称	40

原文 目次

原文ページ

オイゲノール	1
生物学的データ	2
生化学的側面	2
急性毒性試験	2
短期毒性試験	2
長期毒性試験	2
コメント	2
評価	2
毒性学的無影響量	3
ヒトに対する推定一日摂取許容量	3
今後必要とされる研究	3
引用文献	3
EUGENOL	1
Biological Data	2
Biochemical aspects	2
Acute toxicity	2
Short-term studies	2
Long-term studies	2
Comments	2
EVALUATION	2
Level causing no toxicological effect	3
Estimate of acceptable daily intake for man	3
Further work required	3
REFERENCES	3

FAO 栄養学会 (Nutrition Meetings)

報告書*シリーズNo.44A

WHO/食品添加物 (Food Add.)/68.3

※原文ではResortとなっているがReportの間違いと考えて報告とした

香料物質及び非栄養甘味料の毒性学的評価

ジュネーブ、1967年8月21日～28日

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議の第 11 回報告書が FAO 栄養学会報告書シリーズ 1967 年 No.44;WHO 技術報告書シリーズ (Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.), 1968, 383. として発行された。この報告書には評価のために適用される原則及び多くの食品添加物の評価の結果の概要をも含む一般的事項が記載されており、同会議で考察された生物学的データや毒性学的評価などの追加的情報が記載されている。

国連食糧農業機関 (FAO)

世界保健機関 (WHO)

1967 年

オイゲノール (原文 p.1)

化学名 4-アリル-2-メキシフェノール;
4-アリル-グアイアコール

実験式 $C_{10}H_{12}O_2$

構造式

分子量 164.21

定義 オイゲノールは $C_{10}H_{12}O_2$ としてのフェノールを少なくとも98 %含むこと

説明 オイゲノールはカーネーション、シナモンリーフ及びクローブ油の主要な成分である。オイゲノールはクローブ油及びその他物質から得られる。無色から薄黄色の液体で、強いクローブの芳香及び刺激的でスパイシーな味を持つ。空気に曝されると暗く濃くなる。

生物学的データ (原文 p.2)

生化学的側面 (原文 p.2)

ラット及びモルモットにオイゲノール 150 mg/動物を経口投与すると、グルコシドウロン酸抱合の抑制が 24 時間以上みられる。この抑制は、胃では完全に、十二指腸でもほぼ完全であったが、肝臓では事実上みられなかった。胃の上皮は剥離し、幽門腺領域では点状出血が認められた。胃、十二指腸又は肝臓の組織を 0.025 オイゲノールで培養するとグルコシドウロン酸抱合の 75 %が抑制されたが、それは胃潰瘍の発現に関連する組織中のムコ多糖体の形成の阻害を示唆している(Hartiala et al., 1966)。

急性毒性試験 (原文 p.2)

動物	投与方法	LD ₅₀ (mg/kg)	参照
マウス	経口投与	3,000	Jenner et al., 1964
ラット	経口投与	1,930-2,680	Sober et al., 1950 Jenner et al., 1964
	皮下投与	5,000 (LD)	Binet, 1896
	腹腔内投与	800-1,000 (LD)	Binet, 1896
モルモット	経口投与	2,130	Jenner et al., 1964

ラット(雌雄各 3 匹)にオイゲノール 900 mg/kg を 4 日間毎日胃内投与すると、著しい肝障害が認められた(Taylor et al., 1964)。

イスにオイゲノール約 500 mg/kg 体重を単回胃内投与すると、4 匹中 2 匹の結果となった^{*}。250 mg/kg 投与では嘔吐のみがみられ、200 mg/kg 投与では無影響であった(Lauber & Hollander, 1950)。

^{*}原文は Single intragastric doses of about 500 mg/kg body-weight in the dog resulted in 2 of the 4 animals to which given.試験結果は原文を確認する必要があると思われる。

短期毒性試験 (原文 p.2)

ラット(雄 20 匹)にオイゲノール 1,400 mg/kg 体重から 4,000 mg/kg までを 34 日間、用量を漸増しながら投与した。顕著な死亡率、軽度な肝臓腫大及び副腎腫大^{*}がみられた。病理組織学的検査では肝細胞の腫大がみられた。前胃では重層扁平上皮の重度の過形成及び過角化症が、巣状潰瘍とともにみられた(et al.,^{*}1965)。

ラット(雌雄各 15 匹)にオイゲノール 79.3 mg/kg/日を 12 週間混餌投与した場合には有害影響は観察されなかった(Oser, 1967)。また別の試験でラット(一群雌雄各 10 匹)にオイゲノール濃度が 0、0.1 及び 1.0 %の飼料を 19 週間混餌投与したが、成長率、血液学的所見、臓器重量及び主要な臓器の病理組織学的所見において有害な影響はなかった(Hagan et al.,1967)。

^{*}原文では enlargnment となっていたが、enlargement の間違いと考え肥大と訳した。

^{*}原文では et al.,の前に名前の記載がなかった。

長期毒性試験（原文 p.2）

利用可能なものはなかった。

コメント 原文（原文 .2）

代謝に関して利用可能な情報はごくわずかである。イヌ及びラットに対する高用量投与では肝臓への毒性があり、短期毒性試験は評価可能である。代謝試験は必要である。

評価（原文 p.2）

毒性学的無影響量（原文 p.3）

ラット： 飼料中 1 % (10,000 ppm)、500 mg/kg 体重/日相当。

ヒトに対する推定一日摂取許容量（原文 p.3）

条件付き許容量 0-5 mg/kg 体重

今後必要とされる研究（原文 p.3）

生化学的代謝試験及び長期毒性試験（胃粘膜上皮及び肝臓への影響に重点をおいたもの）

オイゲノールの毒性試験の概要（評価書：JECFA 1967）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	マウス	記載なし	LD ₅₀ : 3,000 mg/kg
急性毒性 (経口)	ラット	記載なし	LD ₅₀ : 1,930 -2,680 mg/kg
急性毒性 (皮下)	ラット	記載なし	LD ₅₀ : 5,000 mg/kg
急性毒性 (腹腔内)	ラット	記載なし	LD ₅₀ : 800-1,000 mg/kg
急性毒性 (経口)	モルモット	記載なし	LD ₅₀ : 2,130 mg/kg
急性毒性 (経口)	イヌ	約 500、250、200 mg/kg	250 mg/kg: 嘔吐 200 mg/kg: 無影響
4日間亜急性試験	ラット	900 mg/kg	雄雌: 肝障害
34日間亜急性試験	ラット	1,400-4,000 mg/kg	雄: 高い死亡頻度、軽度な肝臓腫大及び副腎腫大。肝細胞腫大。前胃では重層扁平上皮の重度過形成及び過角化症、巣状潰瘍。
12週間亜急性試験	ラット	89.7 mg/kg	雄雌: 有害影響は認められなかった
長期毒性試験			利用可能な情報はなかった
繁殖			記載なし
催奇形性			記載なし
変異原性:			記載なし
その他	毒性学的無影響量	ラット	飼料中 1% (10,000 ppm)、500 mg/kg 体重/日相当。
	条件付許容量	ヒト	条件付き許容量 0-5 mg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
LD ₅₀	50 % Lethal Dose	半数致死量
s.c.	subcutaneous	皮下投与
i.p.	intraperitoneal	腹腔内投与
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量

オイゲノール及び関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体
評価書和訳と情報整理

JECFA: 2006

ウェブサイト:<ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-8-diclazuril.pdf>

FNP 41/8-JECFA 45/67

オイゲノール及び関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体
評価書訳と情報整理 JECFA (2006) 目次

1. 評価 (p. 155)	46
1.1 緒言 (p. 155)	46
1.2 一人あたりの推定一日暴露量 (p. 158)	50
1.3 吸収、分布、代謝及び排泄 (p. 158)	50
1.4 香料の安全性評価実施手順の適用 (p. 158)	52
1.5 二次的成分に関する考察 (p. 161)	53
1.6 香料としての使用による複合的暴露に関する考察 (p. 161)	53
1.7 結論 (p. 161)	53
2. 関連背景情報 (p. 161)	53
2.1 説明 (p. 161)	53
2.2 暴露に関する追加考察 (p. 161)	54
2.3 生物学的データ (p. 162)	54
参考文献 (p. 195)	90
オイゲノールの毒性試験と結果の概要 (評価書: JECFA 2006)	91
ギ酸オイゲニルの毒性試験と結果の概要 (評価書: JECFA 2006)	100
略称	100

原文 目次

原文ページ

Evaluation	155
Introduction	155
Estimated dally per capita exposure	158
Absorption, distribution, metabolism and elimination	158
Application of the Procedure for the Safety Evaluation of Flavouring Agents	158
Consideration of combined exposure from use as flavouring agents	161*
Consideration of secondary compounds	161*
Conclusions	161
Relevant background Information	161
Explanation	161
Additional considerations on exposure	161
Biological data	162
Biochemical data	162
Hydrolysis	162
Absorption, distribution and elimination	164
Metabolism	165
Other biochemical studies	172
Toxicological studies	174
Acute toxicity	174
Short-term studies of toxicity	174
Long-term studies of toxicity and carcinogenicity	179
Genotoxicity	184
References	195

*この 2 つは、本文ではこの逆の順序であるが、原文のままとした

オイゲノール及び関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体

第 1 草稿

著者： I. G. Sipes (教授)¹、A. Mama (博士)²

¹ アリゾナ大学医学部薬理学講座、米国アリゾナ州トゥーソン

² 米国食品医薬品庁、米国メリーランド州カレッジパーク

評価	155
緒論	155
一人あたりの推定一日暴露量	158
吸収、分布、代謝及び排泄	158
香料の安全性評価実施手順の適用	158
香料としての使用による複合的暴露に関する考察	161
二次的成分に関する考察	161
結論	161
関連背景情報	161
説明	161
暴露に関する追加考察	161
生物学的データ	162
生化学的データ	162
加水分解	162
吸収、分布及び排泄	164
代謝	165
その他の生化学的試験	172
毒性試験	174
急性毒性	174
短期毒性試験	174
長期毒性試験及び発がん性試験	179
遺伝毒性試験	184
参考文献	195

1. 評価(p. 155)

1.1 緒言(p. 155)

本委員会は、一連のヒドロキシアリルベンゼン香料[表1、オイゲノール(No. 1529)を含む7品目]について評価した。評価は、香料の安全性評価実施手順(170 ページ、図1参照)に従って実施された。これらの香料のうち1品目については、これまでに本委員会で評価を実施してきた。すなわち、オイゲノール(No. 1529)については、本委員会の第26回の会議で評価し(付属書1、参考文献59)、その際、ADIを0~2.5 mg/kg 体重とした。

表 1. オイゲノール及びその関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体の安全評価の結果の要約

香料	No.	CAS No. 及び構造	ステップ A3a 摂取量はヒトの摂取量の閾値を超過しているか?	ステップ A4 当該物質又はその代謝物は内因性か?	ステップ A5 当該物質又はその関連物質の NOEL は適正か?	コメント	現在の摂取量に基づく結論
構造別クラス I							
4-アリルフェノール (4-Allylphenol)	1527	501-92-8	超過なし 欧州: 0.09 ^a 米国: 0.2 ^a	NR	NR	注 1、注 2、注 3を参照	安全性に問題なし(条 件付き)
2-メトキシ-6-(2-プロペニ ル)フェノール (2-Methoxy-6-(2-propen yl)phenol)	1528	579-60-2	超過なし 欧州: 0.1 ^a 米国: 0.2 ^a	NR	NR	注 1、注 2、注 3を参照	安全性に問題なし(条 件付き)
オイゲノール (Eugenol)	1529	97-53-0	超過している 欧州: 1,107 米 国: 3,364	No	適正。NOEL は 1 日あたり 300 mg/kg 体重 (National Toxicology Program, 1983) であり、これはオイゲノールを香料として用いた場合の欧州における推定一日摂取量である 18 µg/kg 体重の >16,000 倍、米国における推定一日摂取量である 56	注 1、注 2、注 3を参照	オイゲノールの ADI は 2.5 mg/kg 体重と設定され(付属書 1、参考文献 59)、それが今回の会議でもそのままとされた。

香料	No.	CAS No. 及び構造	ステップ A3a 摂取量はヒトの摂取量の閾値を超過しているか?	ステップ A4 当該物質又はその代謝物は内因性か?	ステップ A5 当該物質又はその関連物質の NOEL は適正か?	コメント	現在の摂取量に基づく結論
					µg/kg 体重の 5,000 倍である。		
ギ酸オイゲニル (Eugenyl formate)	1530	10031-96-6	超過なし 欧州: 0.01 米国: 0.05	NR	NR	注 1、注 2、注 3、注 4 を参照	安全性に問題なし
酢酸オイゲニル (Eugenyl acetate)	1531	93-28-7	超過なし 欧州: 23 米国: 90	N/R	N/R	注 1、注 2、注 3、注 4 を参照	安全性に問題なし
48 イソ吉草酸オイゲニル (Eugenyl isovalerate)	1532	61114-24-7	超過なし 欧州: 0.4 ^a 米国: 0.5 ^a	N/R	N/R	注 1、注 2、注 3、注 4 を参照	安全性に問題なし (条件付き)
安息香酸オイゲニル (Eugenyl benzoate)	1533	531-26-0	超過なし 欧州: 0.003 米国: 0.9	N/R	N/R	注 1、注 2、注 3、注 4 を参照	安全性に問題なし

CAS、ケミカル・アブストラクト・サービス; N/R、香料の安全性評価実施手順のステップ A3 で当該物質の消費量では安全性に問題なしとされたため、評価の必要がない。

ステップ 1: このグループの化学物質はすべて構造別クラス I に分類される (Cramer et al., 1978)。

ステップ 2: このグループの化学物質はすべて、無害な代謝物に代謝されると予測することが可能である。

^a 構造別クラス I の物質のヒトにおける摂取量の閾値は、1,800 µg/日である。すべての摂取量は µg/日単位で表現する。構造別クラス I の香料の一人あたりの合計摂取量は、欧州では 1,130 µg/日、米国では 3,456 µg/日である。

ᵇ年間予期生産量から推定した摂取量

注 1:フェノール性水酸基はグルクロン酸と抱合体を生成し、容易に尿中に排泄される。

注 2:アリル基エポキシドが微量生成し、それが加水分解を受けたのち抱合され、排泄される

注 3:キノメチドが生成する可能性があり、これはグルタチオンによる抱合を受ける。

注 4:エステル基は、カルボキシルエステラーゼによって加水分解される。

これらの香料 7 品目のうち 3 品目 (No. 1527、No. 1529、No. 1531) については、種々の食品中に天然に存在することが報告されている。それらは、小麦のパン、チョウジの芽、葉及び幹、オレガノ、タラゴン、イノンド、メボウキ、ローズマリー、アマトウガラシ葉及び漿果、シナモン樹皮及び葉、ゲッケイジュ、リンゴ、サクランボ、ウイスキー並びに赤及び白ワインで検出されている (Nijssen et al., 2004)。

1.2 一人あたりの推定一日暴露量 (p. 158)

このグループの香料 7 品目のうちの 4 品目 (No. 1529～No. 1531 及び No. 1533) については年間生産量が報告されている。残りの 3 品目 (No. 1527、No. 1528 及び No. 1532) については、それらの香料としての使用予定から年間生産量が予測されている。これらの報告された実績量及び予測量から算出したオイゲノールと 6 種の関連ヒドロキシアリルベンゼン類の年間総生産量は、欧州では約 7,925 kg (International Organization of the Flavor Industry, 1995)、米国では 26,227 kg である (National Academy of Sciences, 1982, 1987; Lucas et al., 1999)。報告又は予測されたこれらの年間総生産量のうち、欧州においては約 98 %が、また米国においては約 97 %がオイゲノールの生産量である (No. 1529)。オイゲノールへの一人あたりの推定暴露量は、欧州では 1,107 µg/日、また米国では 3,364 µg/日である。このグループのその他の香料 (No. 1527、No. 1528、No. 1530～No. 1533) の一人あたりの推定暴露量は、それらの実績又は予測年間総生産量に基づき、欧州では 0.003～23 µg/日、米国では 0.05～90 µg/日であり (National Academy of Sciences, 1982, 1987; International Organization of the Flavor Industry, 1995; Lucas et al., 1999)、ほとんどのが香料の値は、上記の範囲の下限近くにある。個々の香料への一人あたりの推定暴露量は、表 2 に示した。

1.3 吸収、分布、代謝及び排泄 (p. 158)

ヒト及びげっ歯類においては、オイゲノール及び関連アリルヒドロキシフェノール誘導体を経口投与すると、胃腸管から速やかに吸収され、肝臓に効率的に取り込まれ、そこで主として第 II 相反応である抱合反応を受ける。その結果、グルクロニド又は硫酸抱合体となり、それらは尿中に排泄される。抱合反応を受ける割合よりも少ないが、オイゲノールの一部は、いくつかの極性代謝物へと代謝される。それらの極性代謝物のいくつかは親化合物より反応性に富んでいる。極性代謝物はまた、抱合反応を受け、主として尿中に排泄される。オイゲノールの微量 (<1 %) は、未変化のまま排泄される。オイゲノール以外の香料の主要尿代謝物で未置換のフェノール基を有するものは、またグルクロン酸又は硫酸抱合を受ける。オイゲニルエステルは、加水分解されて、オイゲノールと対応するカルボン酸になる。これらの代謝物は、容易に主として尿中に排泄される。

表2. 欧州及び米国における香料料としての使用又は使用予定のオイゲノール及び関連したヒドロキシアシルベンゼン誘導体の年間生産量

化学物質 (No.)	年間生産量(kg)の 実績値 ^a /予測値	摂取量 ^b		天然食品中の年 間量(kg) ^c	消費量比 ^d
		µg/日	µg/kg 体重/日		
4-アリルフェノール(No. 1527)					
欧州 ^e	0.6	000	0.001		
米国 ^e	0.6	0.1	0.002	+	NA
2-メキシ-6-(2プロペニル)フェノール(No. 1528)					
欧州 ^e	1	0.1	0.002		
米国 ^e	1	0.2	0.003	—	NA
オイゲノール(No. 1529)					
欧州	7,761	1,107	18		
米国	25,537	3,364	56	139,422	5
ギ酸オイゲニル(No. 1530)					
欧州	0.1	000	0.0002		
米国 ^f	0.3	000	0.001	—	NA
酢酸オイゲニル(No. 1531)					
欧州	159	23	0.4		
米国	680	90	1	19,228	28
イソ吉草酸オイゲニル(No. 1532)					
欧州 ^e	3	0.4	0.007		
米国 ^e	3	0.5	0.009	—	NA
安息香酸オイゲニル(No. 1533)					
欧州	0.02	0.003	0.00005		
米国 ^f	5	0.9	000	—	NA
合計					
欧州	7,925				
米国	26,227			—	

NA、入手不能;ND、摂取量データなし; +、天然食品に検出されるが(Njissen et al., 2004)、定量的なデータはなし; —、天然食品中に検出されたという報告なし

^a 出典:International Organization of the Flavor Industry (1995)、Lucas et al. (1999)、National Academy of Sciences (1970, 1982, 1987)

^b 摂取量(µg/人/日)の計算には、次式を用いた: [(年間生産量、kg) × (1 × 10⁹ µg/kg) / (人口 × 調査補正係数 × 365 日)]。ここで、人口(10%、「食べる人のみ」)は欧州では 32 × 10⁶、米国では 26 × 10⁶、調査補正係は欧州では 0.6、米国では 0.8 とした。これは、香料の年間生産量のポンド重量による実績量調査(International Organization of the Flavor Industry, 1995; Lucas et al., 1999; National Academy of Sciences, 1982)や予測量で報告されているのは欧州の場合は実際の 60%、米国の場合は 80%であると仮定している。

摂取量(µg/kg 体重/日あたり)の計算には、次式を用いた: [(一人あたりの一日量、µg) / 体重]。ここで、体重は 60 kg。若干の変動は、数値の丸めにより起こり得る。

^c Stofberg と Grundschober(1987)により報告された米国における定量的データ

^d 摂取量比の計算には、次式を用いた: (食物からの年間摂取量、kg) / (その香料について最新の実績生産量、kg)

^e ここに示した生産量は、予測年間生産量であり、その物質が香料料としての使用が申請された時、その製造業者による推定された最大年間使用量である。その香料について国による調査(National Academy of Sciences, 1970,

1982, 1987; Lucas et al., 1999)が実施されている場合は、香料料としての使用の事例が報告されていないものである。

f 米国における前回調査で報告された年間生産量(National Academy of Sciences, 1970, 1982)

1.4 香料料の安全性評価実施手順の適用(p. 158)

年間生産量の実績値及び予測値がともに明らかにされている香料料に対して、その安全性評価実施手順を適用するにあたっては、本委員会では、年間生産量の実績値から推定される摂取量とその予測値から推定される摂取量を上回る場合は実績値を基に評価し、安全性評価の判断を無条件で適用した。逆に、年間生産量の予測値から推定される摂取量とその実績値から推定される摂取量を上回る場合は予測値を基に評価するが、2007年12月までの使用レベルの情報又はポンド単位の重量データが得られるまでという「条件付き」で安全性評価の判断を示した。年間生産量の予測値しかない香料料に対して安全性評価実施手順を適用するにあたっては、安全性評価の判断は同様に条件付きとした。

ステップ 1. 安全性評価実施手順の適用にあたって本委員会では、7つの化学物質(No. 1527~No. 1533)の全てを構造別クラス I に割り当てた(Cramer et al., 1978)。

ステップ 2. このグループの香料料はいずれも代謝されて無害なものになると予想されるので、安全性評価は実施手順の A 側で進めた。

ステップ A3. 構造別クラス I の 7 つの香料料のうちの 6 つへの一人あたりの推定一日暴露量は、問題となる閾値(すなわち、1,800 µg/日)より低い。これら 6 つの化学物質のうちの 3 つ(No. 1530、No. 1531 及び No. 1533)については香料料としての使用が報告されているが、安全性評価実施手順によると、これらの 3 つの化学物質の使用により推定一日暴露量に関連した安全性に関する問題は生じることはない。他の 3 つの化学物質(No. 1527、No. 1528、No. 1532)については香料料としての使用が申請されている。安全性評価実施手順によると、予測年間生産量に基づく推定暴露量ではこれらの 3 つの化学物質の使用により安全性に関する問題は全く生じないが、もう少し確かな推定暴露量が必要である。このグループの残りの化学物質であるオイゲノール(No. 1529)への推定一日暴露量は、欧州では一人あたり 1,107 µg/日、米国では一人あたり 3,364 µg/日であり、クラス I の問題となる閾値を上回っている。従って、オイゲノールの評価はステップ A4 に進んだ。

ステップ A4. オイゲノール及びその代謝物は内因性物質ではないので、オイゲノールの評価はステップ A5 に進んだ。

ステップ A5. 本委員会は、その第 26 回会議で、ラットにおける 19 週試験の結果に基づいてオイゲノールの ADI を 0~2.5 mg/kg 体重/日と設定した(付属書 1、引用文献 59)。今回の会議で本委員会は、NOEL が 300 mg/kg 体重/日が得られたげっ歯類における生物学的試験の結果を考慮した(National Toxicology Program 1983)。オイゲノールのこの NOEL の値は、ADI を設定した

前回の評価と矛盾することはなく、欧州及び米国における香料料としての使用による推定一日暴露量(それぞれ 18 及び 56 µg/kg 体重)のそれぞれ 16,000 倍以上及び 5,000 倍にあたる。従って、本委員会では、オイゲノールは推定一日暴露量について安全性に関する問題はないと結論した。

手順によるオイゲノール及びそれに関連した 6 つのヒドロキシアリルベンゼン誘導体の評価に用いた暴露量及びその他の情報に関する考察を表 1 に要約した。

1.5 二次的成分に関する考察(p. 161)

このグループの香料料の 1 つであるギ酸オイゲニル(No. 1530)の純度は < 95 % である。No. 1530 のギ酸オイゲニルの二次的成分はオイゲノール(No. 1529)であるが、これについては今回の会議で評価し、現在の推定暴露量では安全性に関する問題は生じないと考えられた。

1.6 香料料としての使用による複合的暴露に関する考察(p. 161)

日常生活はほとんどない状況と思われるが、構造別クラス I の 7 つの化学物質のすべてを同時に摂取した場合、推定複合暴露量は、クラス I の化学物質に対するヒトの暴露量の閾値(1 人あたりの 1,800 µg/日)を上回るものと考えられる。しかしながら、このグループの 7 つの化学物質はいずれも効率的に代謝され、代謝経路が飽和することはないものと考えられる。さらに、7 つの化学物質のすべてに対する複合暴露量は、オイゲノールの ADI である 0~2.5 mg/kg 体重を下回ると考えられる。データの総合的な評価では、複合暴露により安全性に関する問題は生じないことが示された。

1.7 結論(p. 161)

本委員会では、前回の会議で 0~2.5 mg/kg 体重と設定されたオイゲノールの ADI をこのままとすることにした。オイゲノール及びそれに関連したヒドロキシアリルベンゼン誘導体のグループに属する香料料の使用により推定される暴露量に安全性に関する問題は生じないと結論した。3 つの香料料(No. 1527、No. 1528、No. 1532)については、予測年間生産量に基づいて暴露量が推定されたため、それらの評価は条件付きとした。これらの化合物についての使用レベル又はポンド重量データが 2007 年 12 月までに得られない場合は、これらの 3 つの化学物質についての安全評価の結論は撤回されることになる。本委員会は、今回の手順を用いた安全評価の結果がヒドロキシアリルベンゼン類の毒性及び代謝に関する入利用可能なデータと矛盾しないことを確認している。

2. 関連背景情報(p. 161)

2.1 説明(p. 161)

関連背景情報として、香料料として使われるオイゲノール及びそれに関連した 6 つのヒドロキシアリルベンゼン誘

導体の安全性評価に適用できる重要な科学的データを要約した(表 1 参照)。

2.2 暴露に関する追加考察(p. 161)

天然に存在する量及び消費量の比に関する定量的なデータは、このグループの 2 つの化学物質、オイゲノール(No. 1529)及び酢酸オイゲニル(No. 1532)について報告されており、これらの化合物への暴露は主に伝統的な食品から起こることが示されている(すなわち、消費量比 > 1) (Stofberg & Kirschman., 1985; Stofberg & Grunschober., 1987) (表 2)。伝統的な食品を摂取することによるオイゲノール及び酢酸オイゲニルに対する暴露は、香味料としての添加による摂取量を少なくとも 10,000 倍上回る(Stofberg & Kirschman, 1985; Stofberg & Grunschober, 1987)。

2.3 生物学的データ(p. 162)

2.3.1 生化学的データ(p. 162)

(a) 加水分解(p. 162)

このグループには 4 つのオイゲニルエステル類があり、それらのエステルは胃液や腸液で加水分解を受けると考えられる。一般に、芳香族エステル類は *in vivo* でカルボキシルエステラーゼの触媒作用により加水分解される。カルボキシルエステラーゼのなかで最も重要なのは A-エステラーゼである(Heymann, 1980)。カルボキシルエステラーゼは、ほとんどのほ乳動物組織の小胞体に存在するが(Hosokawa et al, 2001)、肝臓細胞中に最も多く存在する(Heymann, 1980; Graffner-Nordberg et al., 1998; Hosokawa et al., 2001)。

酢酸オイゲニルは、速やかに加水分解されてオイゲノールと酢酸になる。種々の生体試料との 20 分間のインキュベーションでの加水分解率は次のとおり; ラットの肝細胞で(100 %)、肝ミクロソームで(100 %)、血液で(87 %)及び血漿で(72 %); ヒトの肝ミクロソームで(79-91 %)、血液で(100 %)及び血漿(86 %) (Castro et al., 2004)。表 3 に示した最高速度及び結合定数から、酢酸オイゲニルはげっ歯類とヒトでほぼ同じ加水分解速度であることが分かる(図 1 参照)。

構造的に関連性のあるエステルである酢酸フェニル¹の豚肝臓カルボキシルエステラーゼによる加水分解試験において、基質としての酢酸フェニルの濃度が 0.2~3 mmol/L のときの K_m 値は 0.43 mmol/L、 V_{max} 値は 438 $\mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$ タンパク質であったと報告されている(Junge & Heymann, 1979)。2 つ目のフェノールエステルとして酢酸オルソ-トリル(酢酸オルソ-メチルフェニル)を *in vitro* でパンクレアチンと 37 °C で 2 時間インキュベーションしたところ、その 60 % が加水分解された(Grundschober, 1977)。2-ヒドロキシ安息香酸フェニル(サリチル酸フェニル)はヒトでフェノール及び 2-ヒドロキシ安息香酸に加水分解される(Fishbeck et al., 1975)。男性ボランティアにサリチル酸フェニルの 90 mg カプセルを 1 時間ごとに 8 時間与え、尿を初回投与後 72 時間まで、8 時間ごとに採取した。尿中総フェノール(フェノール+その抱合体)を分析したところ、2 回目の採取期間にピークとなり、その濃度は 472 ppm (5 mmol/L フェノール)であった。この期間の尿中の遊離のフェノール濃度もピークとなり、その量は 25 ppm (0.3 mmol/L フェノール)であった。初回投与後 60 時間までに、尿中の総フ

ェノール及び遊離のフェノールはともにベースライン濃度に戻った(総フェノールは 8 ppm 及び遊離フェノールは 1 ppm)。

表 3. 酢酸オイゲニルの加水分解の反応速度パラメータ*

細胞亜分画	V_{max} (nmol/分/mg タンパク質)	K_m ($\mu\text{mol/L}$)	V_{max}/K_m (mL/分)
ラット肝ミクロソーム	3,829	96.6	39.6
ヒト男性肝ミクロソーム	3,656	88.6	41.3
ヒト女性肝ミクロソーム	2,748	51.9	52.9

Castro et al. (2004) から引用

*原文では **Kinetics** となっているが、反応速度パラメータと訳した。

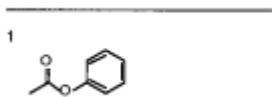
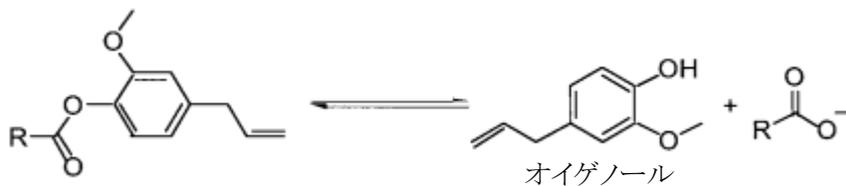
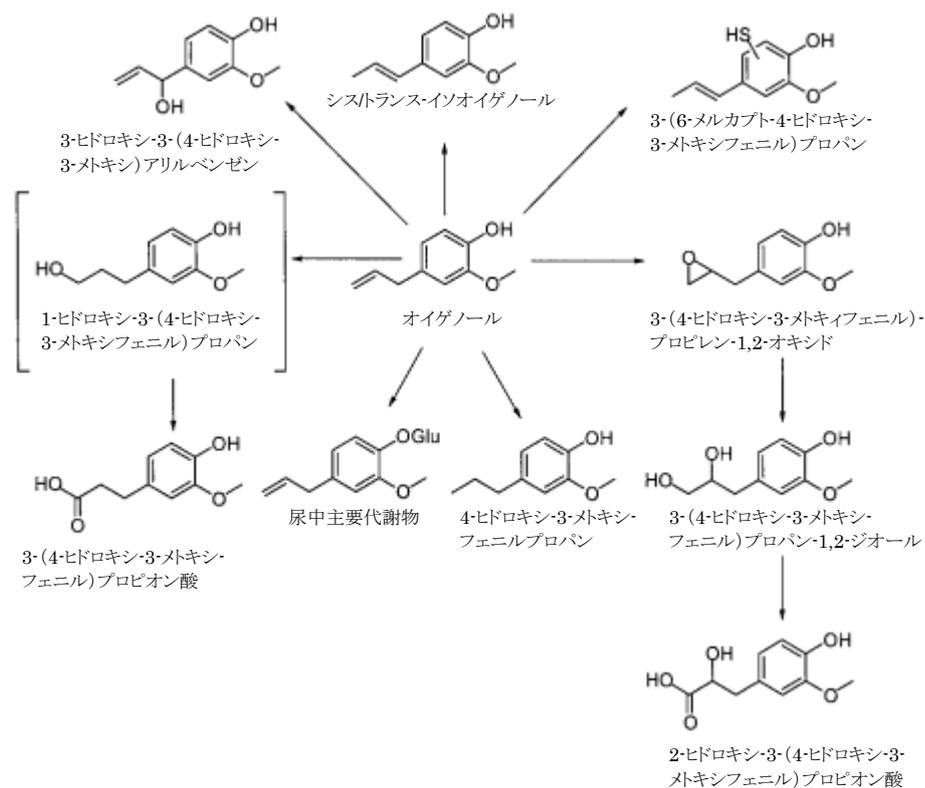


図 1. オイゲニルエステルの加水分解



酢酸オイゲニルそのもの及びそれと構造的に関連したフェノール誘導体の酢酸エステルについてのこれらの知見は、オイゲニルエステル(ギ酸オイゲニル、酢酸オイゲニル、イソ吉草酸オイゲニル及び安息香酸オイゲニル)は模擬的にシミュレーションされた腸液、肝細胞及び血液により速やかに加水分解されて、オイゲノール及び対応したカルボン酸になることを示している(図 2 参照)。一度加水分解で生じた芳香族のフェノール及びカルボン酸は容易に吸収され、よく知られた生化学的経路により代謝される。

図 2. ヒトにおけるオイゲノールの代謝



Fischer et al. (1990)から引用

(b) 吸収、分布及び排泄 (p. 164)

ヒト及びげっ歯類では、オイゲノール及びそれに関連するアリルヒドロキシフェノール誘導体を経口投与すると、それらは速やかに胃腸管から吸収され、主として第 II 相反応である抱合反応を受け尿中に排泄される。これよりは少ないが、一部のオイゲノールは代謝されて極性の代謝物になるが、これらもまた抱合され、主として尿中に排泄される。微量のオイゲノール (<1 %) は、未変化体のまま排泄される。オイゲノールの尿中の主代謝物は、フェノール性水酸基のグルクロン酸及び硫酸の抱合体である。

ヒト健常ボランティア (男女各 4 名、体重: 52~86 kg) におけるオイゲノール (50 mg 含有ゼラチンカプセル 3 つ、総用量: 150 mg、1.7~2.9 mg/kg 体重) の単回経口投与試験が実施された。オイゲノールの投与は、通常の朝食 (茶とビスケット 2 枚) とともに行ない、投与後 3、6、12 及び 24 時間に尿を採取し、また投与 0、15、20、25、30、40、50、60、80、100 及び 120 分後に静脈血を採取した。分析したいずれの体液においても、オイゲノールは主に抱合体として検出された。投与量 150 mg の 71.3 % (3 名のボランティアの平均値) が 3 時間以内に尿中にオイゲノール及びオイゲノール代謝物の抱合体として排泄された。投与後 6 時間には投与量の >87 %、24 時間には 94 % が尿中に排泄された (Fischer et al., 1990)。

ヒトの場合と同様に、げっ歯類でも経口又は腹腔内投与されたオイゲノールは速やかに吸収され、代謝され、排

泄された。Wistar 系雌ラット(匹数不明)に環を ^{14}C で標識したオイゲノール(媒体: トリオクタノイン、0.5、5、50 又は 1,000 mg/kg 体重)を胃管を用いて投与した。投与した放射標識の 75 %以上が投与後 72 時間蓄積した尿中に認められ、糞中に 10 %が認められた。24 時間尿中には主としてグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体がみられ、低用量では硫酸抱合体が、1,000 mg/kg 体重ではグルクロン酸抱合体が主であった(Sutton et al., 1985)。

^{14}C -オイゲノールを 50 mg/kg 体重で Wistar ラット(雌 4 匹)に腹腔内投与した場合も、また Fischer 344 ラット(雌 8 匹)にトリオクタノインを媒体として強制経口投与した場合も、投与後 24 時間以内ほぼ完全に排泄された。尿中への排泄(腹腔内投与後は 91.2 ± 4.3 %、経口投与後は 75.1 ± 9.4 %)は、糞中排泄(腹腔内投与後は 3.9 ± 1.6 %、経口投与後は 7.4 ± 5.0 %)を大幅に上回っていた。ラットで観察された吸収及び排泄のパターンは、マウスで観察されたものとはほぼ同じであった。CD-1 マウス(8 匹)にオイゲノール(50 mg/kg 体重)を腹腔内投与したところ、投与後 24 時間の尿中には 76.3 ± 4.1 %が、また糞中には 4.9 ± 2.7 %が排泄された(Sutton, 1986)。

Wistar ラットの雄に ^{14}C -オイゲノールを 450 mg/kg 体重で単回腹腔内投与すると、すべての器官へ速やかに分布し、組織内濃度は 10~20 ng/mg に達した。血清より循環している赤血球において放射能は高く、投与 4 時間後に放射能は著しく減少した。呼気中への $^{14}\text{CO}_2$ としての排泄は、投与された総放射能の 1 %未満であった(Weinberg et al., 1972)。

ラットにオイゲノール(500 mg、約 1,250 mg/kg 体重に相当。媒体: ゴマ油)を強制経口投与したところ、化合物は胃、腸及び糞に検出されたが、肝臓及び腎臓には少量しか検出されなかった。ウサギにオイゲノール(1,500、2,500 又は 5,000 mg。それぞれ約 750、1,250 及び 2,500 mg/kg 体重に相当。媒体: ゴマ油)を強制経口投与した場合にも同様な結果が得られた。ウサギではいずれの用量でもオイゲノールは主に胃、腸及び尿に検出され、2,500 mg/kg 体重の用量では主に肺、肝臓、腎臓、筋肉及び血液に検出された(Schröder & Vollmer, 1932)。

Donyu ラット(一群雄 8 匹)にオイゲノール(0 又は 200 mg。0 及び約 500 mg/kg 体重に相当。媒体: オリーブ油)を単回経口投与し、投与後 12 時間間隔で尿を採取した。尿中に含まれる総グルクロン酸量は、対照群のラットから採取した 0~12 時間尿試料(10.9 ± 4.9 mg/12 時間/ラット)よりもオイゲノール投与群の 0~12 時間尿試料(45.4 ± 13.2 mg/12 時間/ラット)及び 12~24 時間尿試料(42.9 ± 9.1 mg/12 時間/ラット)において多かった。対照群に比べてオイゲノール投与群で多かったグルクロニドの量は、オイゲノールグルクロニドが排泄されたことに起因していると考えられた。従って、ラットにおいて経口投与されたオイゲノールは速やかにグルクロン酸抱合を受けて排泄される(Yuasa, 1974)。

まとめると、オイゲニルエステルは加水分解されてオイゲノール及び対応するカルボン酸になる。オイゲノールは吸収され、肝臓初回通過時に速やかに第 I 相及び第 II 相反応の代謝を受ける。これらの代謝物は、主として尿中に容易に排泄され、一部は糞中に排泄される。

(c) 代謝(p. 165)

オイゲノール及びその他のヒドロキシアリルベンゼン誘導体の解毒機構には、いくつかの代謝経路がある。ヒトにおける試験結果では、ほとんどのオイゲノールはグルクロン酸又は硫酸塩によって速やかに抱合されることが示されている(Sutton, 1986; Fischer et al., 1990)。オイゲノールのごく一部は、(1)異性化を受けてイソオイゲノールとなり、イソオイゲノールはアリル酸化及び二重結合の還元反応を受ける；(2)アリル二重結合がエポキシ化されてエポキシドとなり、それが加水分解されて対応するジオール体になり、さらにそれが酸化されて対応する乳酸誘導体になる；(3)キノン-メチド型の間体がグルタチオン(GSH)による抱合を受ける；(4)アリル位が水酸化されて、1-ヒドロキシオイゲノールとなる。これらの代謝物には、いずれも遊離のフェノール性 OH 基又は酸素添加反応で生成したその他の極性の官能基があるので、それらは容易にグルクロン酸又は硫酸抱合を受け、尿中に排泄される。ヒトにおいては、摂取したオイゲノールの 95%が 24 時間以内に抱合体として尿中に排泄される(Fischer et al., 1990)。

健常ボランティア(男女各 4 名)におけるオイゲノールの代謝試験が実施された。この試験では、通常の朝食後にオイゲノール(オイゲノール 50 mg 含有ゼラチンカプセルを 3 カプセルで、計 150 mg)を経口投与した。投与後 24 時間以内に投与量の >55 %がオイゲノールのグルクロン酸又は硫酸抱合体として尿中に排泄された。その他に二重結合の異性化によって生成したシス-及びトランス-イソオイゲノール(7 %)、オイゲノール又はイソオイゲノールが還元されて生成した 3-(4-オキシ-3-メトキシフェニル)プロパン及びイソオイゲノールのアリル位が水酸化され、二重結合が NADH 依存性反応で還元されて生成したと考えられる 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロピオン酸(4.6 %)が尿中代謝物として同定された。オイゲノールのエポキシ化反応で生成した代謝物で抱合反応を受けたものとしては、オイゲノールエポキシド(1.6 %)、このエポキシドに対応するジオール(3 %)及びジオールの一級アルコールが酸化されて生成する 2-ヒドロキシプロピオン酸誘導体である 2-ヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロピオン酸(3.3 %)がある。暫定的に同定された代謝物としては、芳香環が GSH 抱合されて生成すると考えられるチオフェノール代謝物(11 %)及びベンジル位でのアリル水酸化されて生成する 1'-ヒドロキシオイゲノール(痕跡量:<1 %)がある。尿中代謝物の抱合体は投与量の 95 %を占め、オイゲノールの未抱合体は >0.1 %であった(図 2 参照)。著者らは、オイゲノールは、一部は異性化、エポキシド-ジオール、GSH 抱合又はベンジル位水酸化の経路で代謝されるものの、初回通過で速やかに抱合され、速やかに排泄されると結論した。著者らは、このようにオイゲノールは体内での滞留時間が短いことが、多くの試験でオイゲノールに毒性が認められなかったことの説明になり得るとした(Fischer et al., 1990)。

2 人の男性ボランティア(体重:93 及び 95kg)に ¹⁴C-オイゲノール(0.6 mg、約 6.4 µg/kg 体重)をゼラチンカプセルで水とともに経口投与した。投与放射能の 94~103 %が 24 時間以内に尿中に認められ、糞中には検出されなかった。24 時間尿の放射能の 85 %超がオイゲノールのグルクロン酸抱合体又は硫酸抱合体であり、グルクロン酸抱合体の方が多かった。微量(いずれも 2%)ではあるが、対応するジオールである 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン-1,2-ジオール及び対応するアルコールである 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン-2-オールが検出された。他のヒドロキシアリルベンゼン誘導体は一般にアリル部位の酸化的代謝を受けるが、オイゲノールはそれらとは異なり、還元的な代謝を受け、その抱合体は速やかに排泄される。このことが、オイゲノールに毒性が認められないことの説明になるものと考えられる(Sutton, 1986)。

げっ歯類におけるオイゲノールの代謝的運命はヒトにおけるものとはほぼ同じである。胃管を用いて芳香環を ^{14}C で標識したオイゲノール (0.5、5、50 又は 1,000 mg/kg 体重、媒体:トリオクタノイン) を経口投与した Wistar ラット(雌 8 匹) の 24 時間尿には、オイゲノール、脱 O-メチル化された代謝物である 3,4-ジヒドロキシプロピルベンゼン及び還元された代謝物である 3-メキシ-4-ヒドロキシプロピルベンゼンのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体が検出された。下位 3 つの用量では、硫酸抱合体が主要代謝物であったが、最高用量ではグルクロン酸抱合体が多かった。また最高用量では、還元反応又は脱メチル化反応による代謝物(すなわち、3,4-ジヒドロキシプロピルベンゼン及び 3-メキシ-4-ヒドロキシプロピルベンゼン) は全く検出されなかった (Sutton et al., 1985; Sutton, 1986)。

還元反応及び O-脱メチル化反応による代謝物の生成経路を明らかにするために、 ^{14}C -オイゲノール (10 mg) を嫌気的条件下でラット盲腸内容物とインキュベートしたところ、還元反応及び O-脱メチル化反応による代謝物が生成したことから、腸内細菌が関与していることが示唆された。さらに、抗生物質で前処置した Fischer 344 系又は Wistar 系の無菌ラットにオイゲノールを投与した場合は O-脱メチル化代謝物は全く検出されないという事実は、ラットにおける還元反応及び O-脱メチル化反応には腸内細菌が関与しているという結論を支持するものである (Sutton, 1986)。

動物種に特異的な代謝を明らかにする試験では、 ^{14}C -オイゲノール (50 mg/kg 体重) をラット (Wistar 系雌) に強制経口投与、又はマウス (CD-1 系) に腹腔内投与した。それらの動物の尿を分析したところ、マウス及びラットではグルクロン酸及び硫酸抱合体として尿中に排泄された。その内訳は、マウスでは硫酸抱合体が $27 \pm 2.7\%$ 、グルクロン酸抱合体が $53 \pm 3.5\%$ であったが、これに対してラットでは硫酸抱合体が $55 \pm 3.3\%$ 、グルクロン酸抱合体が $25 \pm 3.8\%$ であった (Sutton, 1986)。

肝臓の UDP-グルクロナシルトランスフェラーゼ (UDPGT) 活性の時間に依存した変化に関する試験では、Donyu ラット(雄 8 匹/群) にオイゲノール (0 又は 200 mg、0 及び約 500 mg/kg 体重に相当) を単回経口投与した。ラットは、投与後 72 時間まで 12 時間間隔でと殺し、と殺直前には、各群 2 例から 12 時間尿を採取した。O-グルクロン酸抱合体(エーテルグルクロニド)の排泄量は投与後 24 時間にピークとなり、総グルクロン酸抱合体の排泄量は、投与後直後の 24 時間がピークであった。体重、肝臓の重量及び UDPGT 活性を測定した。UDPGT 活性は、投与後 12 時間から 48 時間にかけて増加し、48 時間ではコントロール値 ($0.169 \pm 0.035 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$ タンパク質) と比べて最高値 ($0.277 \pm 0.030 \mu\text{mol}/\text{分}/\text{mg}$ タンパク質) *となった。UDPGT 活性の増加は、肝臓の相対重量の増加に伴うものであったことから、オイゲノールの大量のボラス投与により UDPGT がゆっくりと誘導されることが示唆される。肝臓における UDPGT 活性のほとんどはミクロソーム分画に局在していた (Yuasa, 1974)。

*原文では mg protein となっているが、protein の後に「)」があるものとして訳した。

ヒトにおける試験では、経口投与したオイゲノールの大部分は、グルクロン酸又は硫酸抱合されて尿中に排泄されることが示されている。主要な代謝経路ではないが、(1) 酸化されて対応するエポキシドとなり、それが加水分解されてジオールとなり、さらに酸化される経路、(2) 異性化した後、アリル位酸化を受け、還元される経路、(3) (微量ではあるが) アルケンが還元されたり、1'-位が水酸化されたりする経路もある。これらの代謝経路によって生成する代謝物はいずれも遊離のフェノール性 OH をもつため、容易に抱合反応を受けて、尿中に排泄される。

摂取されたオイゲノールは、実質的にそのすべて(> 95 %)がグルクロン酸又は硫酸で抱合され、尿中に排泄される。げっ歯類(主にラット)における代謝は、ヒトにおける代謝と定性的にも定量的にも類似している。

オイゲノールの抱合反応(p. 167)

オイゲノールの各代謝経路をより詳細に明らかにする目的で種々の試験が実施された。オイゲノールの代謝全体における第 II 相反応であるグルクロン酸抱合反応の重要性については、UDPGT 活性に関する *in vitro* 試験並びに *in vivo* 及び *in vitro* を組み合わせた試験が実施された。オイゲノールの吸入試験においては、オイゲノール(1 mmol/L)をラット(Wistar 系、雄)から採取した嗅粘膜、嗅球のホモジネート及び脳組織のホモジネートとインキュベートしたところ、嗅粘膜が嗅球ホモジネート及び脳組織ホモジネートよりも高いグルクロン酸抱合活性を示した(Leclerc et al., 2002)。

一般に、フェノール性の水酸基は、UDPGT 1.4 タンパク質に対してはあまり良い基質とはならないが、UDPGT 1.6 又は 1.7 タンパク質に対しては良い基質となる(Wooster et al., 1993; Senafi et al., 1994; Green & Tephly, 1996)。クローン化したヒト・ビリルビン UDPGT 1.4 タンパク質は、オイゲノールに対する触媒作用活性は低く(9 pmol/分/mg タンパク質)、Km は高い(1,570 μ mol/L)が V_{max} は低かった(4.8 pmol/分/mg タンパク質)(Green & Tephly, 1996)。

肝ミクロソーム UDPGT 活性の異種性については、UDPGT 活性が高い系統(Wistar 系)又は低い系統(Gunn 系)のラット、並びにモルモットを用いて検討された。UDPGT 活性は、フェノバルビタール、3-メチルコラントレンのどちらでも誘導された。Wistar 系及び Gunn 系のラット(一群各 4 匹)にフェノバルビタール(80 mg/kg 体重)又は媒体(生理食塩水)を4日間腹腔内投与した。Wistar ラットには、第1日目にだけ3-メチルコラントレン(80 mg/kg 体重)又は媒体(コーンオイル)を単回投与した。ラットはすべて第5日に殺処分した。モルモット(雄4匹)に対しては、フェノバルビタール(20~40 mg/kg 体重)を9日間投与してと殺した。これらの3つグループの動物からは肝ミクロソームを単離し、オイゲノール(0.175~0.25 mmol/L)とインキュベートして UDPGT 活性を測定した。Wistar 系ラットの UDPGT 活性は、対照群と比べてフェノバルビタール投与群では約2倍に、3-メチルコラントレン投与群では約3倍に増加した。Gunn 系と Wistar 系のラットにおける UDPGT 活性比(Gunn/Wistar)は、対照群では 0.6、フェノバルビタール群では 1.2 であり、フェノバルビタール前処置により UDPGT 活性が増加することを示していた。フェノバルビタールを投与したモルモットの肝臓をオイゲノール(0.175 mmol/L)とインキュベートしたところ、UDPGT 活性は約2倍に増加していた。以前の試験で Wistar 系雄性ラットの肝ミクロソームをオイゲノール(0~0.5 mmol/L)とインキュベートして UDPGT 活性を測定したところ、1分間の遅延があったが、トリトン X-100 により活性化した後にはその遅延は認められなかった(Boutin et al., 1983)。

酸化とグルタチオン抱合(p. 168)

オイゲノールの代謝におけるシトクロム P450(CYP450)による酸化及びそれに続く GSH 抱合の関与について評価するため試験が検討されてきた。これらの試験のほとんどはオイゲノールの作用メカニズム及び毒性の評価に焦点をあてたものであった。

ddY マウス(雄)にオイゲノール(400 又は 600 mg/kg 体重、媒体:オリーブ油)を強制経口投与したが、肝の相対重量、肝の血液量及び血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性に変化は認められず、肝毒性を示す変化は認められなかった。しかしながら、オイゲノール(400 又は 600 mg/kg 体重)の投与 1 時間前に GSH 抑制剤であるブチオニンスルホキシミン(BSO、4 mmol/kg 体重)を腹腔内投与したマウスでは、対照群(生理食塩水又はオリーブ油投与)に比べて、600 mg/kg 体重で投与したマウスでは、投与 3 時間後に肝の相対重量及び血清 ALT 活性の著しい増加並びに(肝のうっ血を示す)肝の血液量の著しい増加が認められた。さらに、BSO 及びオイゲノール(600 mg/kg 体重)を投与したラットでは、統計学的に有意ではなかったが、死亡率の増加が認められた。BSO 及びオイゲノール(600 mg/kg 体重)を投与したマウスの肝臓の肉眼観察では、顕著な腫大並びに均一又は点在する暗赤色変化が認められた。組織学的検査では、小葉中心性類洞のうっ血及びグリソン嚢付近の空胞化が観察された。投与後 24 時間生存したマウスの肝臓では、小葉中心領域に顕著な壊死が認められた。オイゲノール(600 mg/kg 体重)のみ又は BSO のみを投与したマウスの肝臓では、組織学的な変化は認められなかった(Mizutani et al., 1991)。

高用量のオイゲノール(600 mg/kg 体重)の肝毒性に対するマイクロソームの P450-依存性モノオキシゲナーゼの阻害剤の影響については、マウスに BSO を投与後、CYP450 阻害剤である二硫化炭素、メキサレン又はピペロニルブトキシドを投与して評価した。BSO で前処置してオイゲノールを投与したマウスにおいて見られる肝毒性は、二硫化炭素(50 mg/kg 体重)の投与により完全に認められなくなった。メキサレン(50 mg/kg 体重)の投与では、BSO 及びオイゲノールの併用でみられる血清 ALT 活性の増加は部分的に抑制され、肝臓の相対重量の増加及び肝臓のうっ血は完全に抑制された。またピペロニルブトキシド(400 mg/kg 体重)は、他の 2 つの阻害剤ほどではなかったが、BSO とオイゲノールの併用で誘導される肝毒性を抑制した(Mizutani et al., 1991)。

CYP450 酵素の誘導剤であるフェノバルビタールを前投与したマウスでは、肝臓の相対重量の増加、肝臓の鬱血及び血清 ALT 活性の増加といった BSO との併用によるオイゲノールの毒性が強くあらわれた。BSO を投与しない場合は、フェノバルビタールで前処置したマウスにオイゲノール(400 mg/kg 体重)を投与しても、肝毒性の指標のいずれについても有意な増加は認められなかった。CYP450 阻害剤である **b-ナフトフラボン***で前処置したマウスでは、BSO 投与後にオイゲノール(400 mg/kg 体重)を投与したマウスの血清 ALT 活性の増加は防止されたが、オイゲノールの用量が 600 mg/kg 体重では肝毒性の指標はいずれも抑制されなかった。著書らは、b-ナフトフラボンにはオイゲノールの低用量における代謝の解毒経路を刺激する作用があることを示唆した。これらの結果は、CYP450 が関与する反応で生成したオイゲノールの代謝物は GSH によって抱合されることを示唆する(Mizutani et al., 1991)。

***β-naphthoflavone の ことだと思われるが原文のまま b- naphthoflavone として訳した。**

In vitro における代謝試験において、オイゲノール(1 mmol/L)をラットの肝臓及び肺のマイクロソームと NADPH-産生系共存下でインキュベートしたところ、検出された 3 つの代謝物のうちの 2 つは GSH 抱合体²であった。3 つ目の代謝物もまた GSH 抱合体と推定されたが、その構造は明らかにされなかった。GSH 抱合体の生成量は、マイクロソームのタンパク質濃度の増加に従い、1 mg/mL までは直線的に増加した。1 mg/mL のタンパク質濃度で 90 分間インキュベーションすると、オイゲノールの約 2.8 %が GSH 抱合体として分離された。

NADPH-産生系を共存させない場合又は熱で不活性化したミクロソームを用いた場合は、GSH 抱合体の生成は認められず、GSH 抱合体の生成には酵素が関与していることを示唆した。CYP450 阻害剤であるメチラポン、SKF525-A、ピペロニルブトキシド又は β -ナフトフラボンを添加すると、GSH 抱合体の生成は 73~88 %阻害された。さらに、 N_2 ガスを気相として*インキュベートすると、この反応は起こらなかったことから(抱合体の生成は 92 %阻害された)、この反応は O_2 -依存性であることが明らかとなった。CYP450 酵素誘導剤である 3-メチルコラントレンで前処置したラットでは、肝臓のミクロソームによる GSH 抱合体の生成速度は増加した (0.66 ± 0.05 nmol/分/mg タンパク質 対 1.34 ± 0.06 nmol/分/mg タンパク質)。オイゲノールをラットの肺又は肝臓のミクロソームとインキュベートすると、タンパク質への結合が増加するが、GSH を添加した場合にはオイゲノールのタンパク質への結合は阻害されたことから、反応性に富む中間体が生成することが示された。この活性中間体の GSH 抱合反応は、GSH 濃度にも、また GSHトランスフェラーゼの添加でも影響されることはなく、この抱合反応には酵素は関与していないことが示唆された。クメンヒドロパーオキシドの存在下 (NADPH に干渉を防止するために添加) でのオイゲノール (0.5 mmol/L) を酸化すると 350 nm の紫外線吸光度が増加した。著者らによると、 350 nm の紫外線吸収はオイゲノールキノンメチド中間体の生成によるものである (Thompson et al., 1990)。

*原文では in the presence of N_2 と記載されているが、 N_2 は窒素ガスのことで、2 は下付きで表記するべきところをタイプミスしたと思われる。

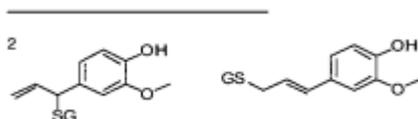
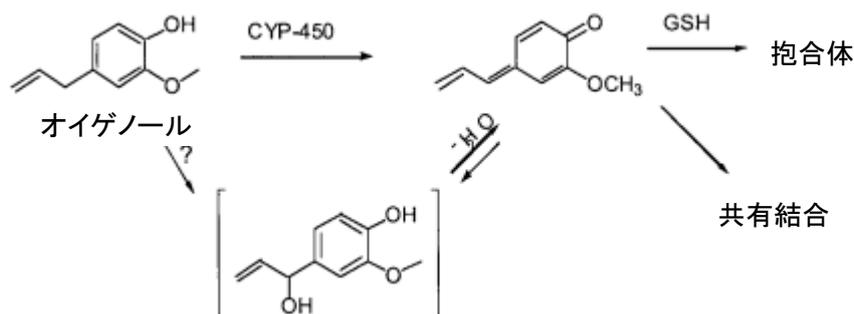


図 3. オイゲノールの酸化的代謝



Thompson et al. (1991) から引用

CYP450 による酸化から GSH 抱合反応へと続く代謝経路(図 3 参照)に関するその他の試験では、単離した新鮮なラット肝細胞をオイゲノール ($0, 0.5, 1$ 又は 1.5 mmol/L) とインキュベートすると、細胞毒性は濃度及び時間に依存して認められた。検討した各濃度で細胞膜の小胞形成が起こり、2 時間後には細胞死が認められ始めた。N-アセチルシステイン (1 mmol/L) 存在下でラット肝細胞をオイゲノール (1 mmol/L) とインキュベートすると、細胞死は抑制された。オイゲノールにより、細胞内の GSH は 2 時間までに対照値の 30 %未満にまで枯渇した。対照細胞では、インキュベーション時間が 4 時間になって細胞内 GSH の有意な枯渇がみられ始めたが、その

時までは細胞内 GSH レベルは当初の 90 %が保持されていた。N-アセチルシステイン (1 mmol/L) を添加すると、オイゲノールによる GSH の枯渇はみられなかった。マレイン酸ジエチルを添加して GSH を枯渇させた肝細胞では、オイゲノールのみに暴露された対照細胞で細胞毒性が発現する 2 時間前に細胞毒性が観察された。放射標識したオイゲノールの細胞内タンパク質との共有結合は、インキュベーション時間が 3 時間までは、直線的に増加した。しかしながら、N-アセチルシステインを添加した場合は、インキュベーション時間が 3 時間までは、共有結合は抑制された。その後、N-アセチルシステインは枯渇し、共有結合が認められた。オイゲノール (1 mmol/L) をラットの肝細胞と 5 時間インキュベートして単離した 3 つの代謝物はグルクロン酸、GSH 及び硫酸抱合体と同定された。このうちグルクロン酸抱合体の生成量が最も多かった (オイゲノールグルクロニドの生成量は 200 nmol、その他の 2 つの抱合体の生成量はいずれも 25 nmol) (Thompson et al., 1991)。

オイゲノールの CYP450 や UDPGT などの薬物代謝酵素への影響を検討するために、Wistar ラットの雄にオイゲノール (250、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体:コーンオイル) を 10 日間強制経口投与した。ラットは最終投与 24 時間後に剖検し、肝臓及び血液試料を採取し、肝臓からミクロソーム分画及び細胞質分画を調製した。対照群と比較して、体重、肝臓の相対重量、血液学的検査の各項目、血漿 ALT、血漿アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ又は肝臓中の CYP450 総量のいずれにおいても統計学的に有意な変化は認められなかった。オイゲノールは、7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化及び 7-ペントキシレゾルフィン O-脱ペンチル化活性を用量依存的に増加させ、その増加は 1,000 mg/kg 体重/日の用量では統計学的に有意であった (7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化活性は対照の 2.5 倍、7-ペントキシレゾルフィン O-脱ペンチル化活性は 3.4 倍)。これらの増加は、CYP1A 及び CYP2B が誘導されたことを示している。オイゲノール (500 又は 1,000 mg/kg 体重/日) を投与したラットでは、4-ヒドロキシビフェニルに対する UDPGT 活性の増加がみられた (500 mg/kg 体重/日では 2.3 倍、1,000 mg/kg 体重/日では 3.2 倍)。さらに、オイゲノールを投与したすべてのラットで 4-クロロフェノールに対する UDPGT 活性が有意に増加した (1.6~3.1 倍)。オイゲノールを投与したラットでは、肝細胞質の GSH トランスフェラーゼ活性の用量依存的な増加がみられ、500 mg/kg 体重/日では統計学的に有意であった (500 mg/kg 体重/日では 1.3 倍、1,000 mg/kg 体重/日では 1.5 倍に誘導された)。著者らは、オイゲノールにより誘導される主要代謝経路には第 II 相の求電子物質を処理する酵素が関係するとした (Rompelberg et al., 1993)。

Wistar ラットの雄にオイゲノール (500 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体:コーンオイル) を 10 日間経口投与したところ、媒体のみを投与した対照群に比べて、1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンに対する GSH トランスフェラーゼ活性のわずかではあるが有意な増加が認められた (500 mg/kg 体重/日では 1.2 倍、1,000 mg/kg 体重/日では 1.3 倍で、 $p < 0.01$)。オイゲノールを投与したラットの肝ミクロソームにおける CYP450 の総含量は、対照のラットとほぼ同じであったが、1,000 mg/kg 体重/日投与群ではテストステロンの 16 α 位ではなく、16 β 位の水酸化が顕著に増加した。16 α 位の水酸化も 16 β 位水酸化も、ともに CYP2B1 活性の誘導を反映するものである。テストステロンの水酸化反応では、CYP3A による 6 β 位の水酸化、CYP1A1 による 7 α 位の水酸化及び CYP2C11 による 2 α 位水酸化の活性に顕著な変化は認められなかった。著者らは、オイゲノールは CYP450 酵素活性を効果的に誘導しないが、第 II 相生体内変換反応に関わる酵素を誘導し得ると結論した (Rompelberg et al., 1996a)。

オイゲノールが酸化されて反応性に富む中間体を生成する可能性については、一連の *in vitro* 試験で検討さ

れた。ある試験では、ヒトの多核白血球から単離した過酸化水素及びミクロペルオキシダーゼとオイゲノール (500 $\mu\text{mol/L}$) をインキュベートした。分光学的な方法により、キノンメチド代謝物が酵素依存的に生成することが示された。反応の開始時の反応混合物中に還元型の GSH (10-50 $\mu\text{mol/L}$) が存在していれば、この代謝物の生成は完全に阻害されたが、この代謝物が生成し始めた後に GSH (50 $\mu\text{mol/L}$) を反応混合に添加した場合には、この代謝物は添加した GSH と直接反応した。ミクロペルオキシダーゼによって触媒されるオイゲノールの酸化反応において反応開始時に GSH を添加した場合は、添加した GSH (500 nmol) のほとんどが酸化されて GSH のジスルフィド (447 \pm 33 nmol) になり、1.6 \pm 0.1 nmol がキノンメチド誘導体の抱合体に、65 \pm 4 nmol が未変化のまま残存した。著者らは、オイゲノールはこのような条件下ではフェノキシラジカルとなるが、酸化型の GSH (すなわち GSH ジスルフィド) を生成させることによって還元されオイゲノールに戻るとしている (Thompson et al, 1989)。

オイゲノールは、また、ホルボールエステルの 1 つであるホルボールミスチン酸酢酸により刺激された多核白血球で起こる酸化的な爆発と関連した一連の過程を阻害することが明らかにされた。刺激された細胞では、通常、爆発的な酸素の消費が起こり、その結果として最終的にはスーパーオキシド及び過酸化水素を生成する。オイゲノール (10~1,000 $\mu\text{mol/L}$) は多核白血球における過酸化水素の生成を濃度依存的に阻害し、100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度では 50 % 阻害する。さらに、乳酸脱水素酵素の漏出がみられること、またホルボールミスチン酸酢酸によって刺激された多核白血球の 50 % で細胞死 (刺激しない場合の細胞死は 23 %) がみられたことから、オイゲノールは細胞毒性と関与していた。著者らは、オイゲノールは < 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度では共有結合性の代謝物及び GSH を枯渇させるような反応性に富む中間体を生成すると結論している。低濃度では多核白血球に対する細胞毒性は観察されなかったが、オイゲノールはスーパーオキシド及び過酸化水素を生成する細胞内の酸化的な爆発をわずかに抑制した (Thompson et al., 1989)。

さらに最近の試験では、キノンメチド中間体である 2-メトキシ-4-アリリデン-2,5-シクロヘキサジエノンが合成されて、水中における半減期 ($t_{1/2}$ = 613 秒、又は~10 分) は短いことが明らかにされた (Bolton et al., 1995)。続いて、オイゲノール及びそのキノンメチド中間体の細胞毒性は、クローン化されたラット肝細胞を用いて評価された。その系は、活性な CYP450 と通常レベルの GSH がある細胞を不動化した株で構成されたものである (Thompson et al., 1998)。この細胞をオイゲノール (1, 10, 100 又は 1,000 $\mu\text{mol/L}$) と 3 分間インキュベートすると、10 $\mu\text{mol/L}$ で GSH の顕著な枯渇がみられ、ギャップ結合 (細隙結合) を介した細胞間コミュニケーションの抑制がみられ、その抑制率は 10 $\mu\text{mol/L}$ で 27 %、100 $\mu\text{mol/L}$ で 88 % であり、5 分間インキュベートすると細胞内における反応性に富む酸素種の基礎的な産生の抑制がオイゲノールの濃度で 10 $\mu\text{mol/L}$ の低濃度からみられた (10 $\mu\text{mol/L}$ では 25 %、100 $\mu\text{mol/L}$ では 75 %)。検討したオイゲノールの最低用量、すなわち 1 $\mu\text{mol/L}$ では、有意な変化は認められなかった。オイゲノールの代わりにキノンメチド中間体を用いると、1 $\mu\text{mol/L}$ で GSH レベル及び細胞間コミュニケーションの減少が同様に認められた。オイゲノールとは異なり、中間体を 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で 3 分間インキュベートすると活性酸素種の生成が認められたことから、この時点で GSH がほとんどなくなり活性酸素種が生成したことを示唆した。肝細胞の 2 時間のインキュベーションでは、オイゲノールは 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で細胞死を著しく増加させることはなかったが、高濃度 (1,000 $\mu\text{mol/L}$) では >90 % の細胞死が観察され、また、同様な細胞死はキノンメチド中間体 (100 $\mu\text{mol/L}$) でも観察された。これらの結果は、キノンメチド中間体が反応性に富み細胞毒性を有する代謝物であるという結論を支持するものである。インキュベーション混合物に GSH のエチルエステルを添加した場合も、オイゲノール及びキノンメチド中間体の

どちらとも細胞毒性作用は完全に阻害された。

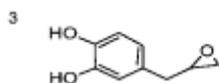
オイゲノールの経口殺菌作用のメカニズムを明らかにするため、オイゲノールを雄性モルモット好中球とインキュベートしたところ、2 mmol/L までの濃度では濃度依存的なスーパーオキシド(O_2^{2-*)の増加が観察され、これに伴って細胞毒性のわずかな増加がみられた。スーパーオキシドの生成はオイゲノールの濃度が 5 mmol/L のときに最大となり、その値はその後一定であったが、ほとんどの細胞で細胞毒性が観察され、30 秒後の細胞生存率は<50%であった(Suzuki et al., 1985)。

*スーパーオキシドは、通常は、2 は下付きで、また-は上付きで表記されるが、ここは原文のまま O_2^{2-} とした

結論として、オイゲノールはわずかな割合であるが酸化反応の代謝経路に入り、キノンメチド中間体になるものと考えられるが、肝臓で生成するキノンメチド中間体の濃度では GSH 抱合により効果的に解毒されてしまうものと考えられる。さらに、オイゲノールの多くが抱合反応を受けるため、このキノンメチド中間体の生成はごく限られたものになる。

アリル部位のエポキシ化(p. 172)

オイゲノール(10 %)はエポキシドに代謝され、エポキシドはエポキシド加水分解酵素による触媒作用を受けて加水分解される。加水分解によりジオールが生成するが、このジオールは抱合されて排泄されるか、酸化されて乳酸誘導体となって排泄される。オイゲノールをラット上皮細胞又はラット肝マイクロソームとインキュベートすると、2',3'-オイゲノールエポキシドが生成した(Delaforge et al., 1978)。Wistar ラット(成獣、雄)にオイゲノール(200 mg/kg 体重、媒体:コーンオイル)を単回腹腔内投与し、投与後 2 時間ごとに採取した投与後 24 時間の尿中からオイゲノールエポキシド、そのジオール体(ジヒドロジヒドロキシオイゲノール)、アリルカテコールエポキシド及びジヒドロジヒドロキシアリルカテコールが同定された(Delaforge et al., 1980)。同じラットから得た投与後 24 時間の肝臓のホモジネートにはオイゲノールエポキシド及びそのジオールが検出された。フェノバルビタール(80 mg/kg 体重)を腹腔内投与で 3 日間、前処置したラットから得た肝臓のマイクロソームとオイゲノール(1 μ mol, 164 μ g)をインキュベートしたところ、生成した代謝物は、オイゲノールエポキシド、そのジオール体、アリルカテコールエポキシド³及びジヒドロジヒドロキシアリルカテコールが同定された。その一方、オイゲノール(1 mg)をラット肝臓の培養細胞とインキュベートすると、オイゲノールエポキシド及びジヒドロジヒドロキシオイゲノールのみが生成し、アリルカテコール誘導体の生成は認められなかった。



オイゲノールエポキシドは、in vivo では評価可能な濃度で検出されなかったことから、エポキシド加水分解酵素により速やかに解毒されてオイゲノール-2',3'-ジオールになるものと考えられる(Luo et al., 1992; Guenther & Luo, 2001)。

(d) その他の生化学的試験(p. 172)

オイゲノールの腸平滑筋運動に対する作用を調べるために、Wistar-Nossan ラット(一群雄 8~12 匹)にオイゲノール(0、25、50、100 又は 200 mg/kg 体重)を投与し、その 1 時間後に 10 %炭及び 5 %アカシアゴムの水懸濁液(1 mL)を投与した。投与 20 分後に小腸を採取して、幽門からの炭の移動距離を測定した。炭懸濁液の小腸内の総移動距離には、用量依存的に有意な減少が観察され、平滑筋運動が低下したことが示された。オイゲノール(100 mg/kg 体重)の投与 30、60、120、180 又は 240 分後に炭懸濁液を投与した場合には、オイゲノール投与 60 分後の移動距離が最も長かった。著者らは、この試験で用いた用量でのオイゲノールは、おそらくプロスタグランジンの合成を阻害することにより、腸の筋肉の縦方向の自発運動を抑制した可能性を指摘した(Bennett et al., 1988)。

オイゲノールがプロスタグランジンの合成を阻害する可能性を調べるために、ヒト大腸粘膜のホモジネートをオイゲノール(0、1、10 又は 100 µg/mL)とインキュベートした。プロスタノイド生成の濃度依存的な阻害がみられ、その阻害は 10 及び 100 µg/mL の濃度では統計学的に有意であり、トロンボキサン B₂については 1 µg/mL といった低い濃度でも有意な阻害がみられた。ヒト多核白血球をオイゲノール(0、1、10、又は 100 µg/mL)の存在下で ¹⁴C-アラキドン酸とインキュベートしたところ、検討したオイゲノールの最高濃度(100 µg/mL)で 5-ヒドロキシシエイコサテトラエン酸の生成が顕著に抑制(約 85 %)された(Bennett et al., 1988)。

オイゲノールの筋肉弛緩剤としての作用の強さについては、単離したヒトの胃及び結腸の筋肉並びに Wistar-Nossan 系ラット前胃の筋肉の長軸片を用いて *in vitro* で検討された。ヒトの組織では、オイゲノールは 300 ng/mL の濃度で筋肉片の自発収縮を減少させた。さらに、オイゲノールは 0.2~100 µg/mL で胃腸管の筋肉片の緊張のどちらも減少させた。しかしながら、オイゲノールは輪走筋の緊張を増加させたが(0.22-0.88 µg/mL)、結腸の筋肉の緊張には変化を与えないか(8-200 µg/mL)又は低下させた(0.2-11 µg/mL)。オイゲノールはまた、アセチルコリンによって誘導される結腸の筋肉の収縮を阻害したが、その作用は胃の筋肉ではバラツキがみられた。オイゲノール(1、5、10 又は 50 µg/mL)を含む Krebs 溶液にラット前胃の筋肉片を吊るして 2 分間浸してから、プロスタグランジン E₂*、5-ヒドロキシトリプタミン又はアセチルコリン(それぞれ 2.5 ng/mL)を添加した。対照試料と比較して、オイゲノールで処理した試料では、用量依存的に筋肉の自発収縮が減少した。オイゲノール(1~50 µg/mL)に浸けたラット子宮筋肉では、ブラジキニンによって誘導される収縮の濃度依存的な減少がみられた(7~95 %, p <0.05~<0.001)。同様に、ウサギ空腸筋肉をオイゲノール(2.5~50 µg/mL)に浸すと、筋肉の自発収縮の濃度依存的な 22~90 %の減少がみられた(p <0.05~<0.005)。2 つのヒト子宮筋層試料では、オイゲノール(22 µg/mL)は、プロスタグランジン F_{2α} に対する反応として筋緊張及び収縮を低下させた(Bennett et al., 1988)。

*通常は、E₂ の 2 は下付きで表記するが、ここはこのまま E₂ とした

プロスタグランジン E₂ は、腸液の蓄積を亢進することが知られている。同系交配種である Lewis-Nossan ラットにオイゲノール(10~100 mg/kg 体重)を強制経口投与した 4 時間後にプロスタグランジン E₂(2 mg/kg 体重)を投与したところ、対照群に比べて、腸液の蓄積が用量依存的に抑制された(p <0.05~<0.001)。ラットにオイゲノール(100~500 mg/kg 体重)を投与した 1 時間後にカラギーナンで処置すると、カラギーナンによって誘導されるラットの足浮腫は用量依存的に減少した。オイゲノールの用量が 10 又は 50 mg/kg 体重の場合は、この抑制は観察されなかった。これらの結果から、ラットでは高い経口用量のオイゲノールで、プロスタグランジンの合成を阻害し、抗下痢作用を示すことが明らかとなった(Bennett et al., 1988)。

2.3.2 毒性試験(p. 174)

毒性試験を、試験期間の長さ、香味料の種類、および試験系としての動物種に従って以下に要約した。しかし、National Toxicology Program で実施された毒性試験については、試験の連続性があるので、短期試験及び発がん性試験の両方を長期毒性試験の項目で、それらが実施された順に論述した。

(a) 急性毒性(p. 174)

このグループの化学物質 7 つのうちの 3 つについては、経口による LD₅₀ 値が報告されている(表 4)。ラットにおける LD₅₀ 値は、オイゲノールの 1,194 mg/kg 体重から、ギ酸オイゲニルの 3,400 mg/kg 体重までの幅があった。オイゲノールの LD₅₀ 値は、マウスにおいては 3,000 mg/kg 体重、モルモットでは 2,130 mg/kg 体重であった。これらの結果は、経口投与によるオイゲノール及びその関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体の急性毒性はほとんどないことを示すものである(Sober et al., 1950; Jenner et al., 1964; Hagan et al., 1965; Bär & Griepentrog, 1967; Gruebner et al., 1972; Moreno, 1972; Beroza et al., 1975; Moreno, 1977)。

(b) 短期毒性試験(p. 174)

オイゲノール及びその関連アリルヒドロキシアリルベンゼン誘導体の短期毒性及び長期毒性試験並びに発がん性試験の結果を表 5 に要約した。

表 4. オイゲノール及びその関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体の経口投与急性毒性試験の結果

No	香味料	動物種、性	LD ₅₀ 値(mg/kg 体重)	引用文献
1529	オイゲノール	ラット; M、F	2,680	Jenner et al. (1964)
1529	オイゲノール	マウス; NR	3,000	Jenner et al. (1964)
1529	オイゲノール	ラット; M、F	1,194 ^a	Beroza et al. (1975)
1529	オイゲノール	モルモット; M、F	2,130	Jenner et al. (1964)
1529	オイゲノール	ラット; NR	2,680	Bär & Griepentrog (1967)
1529	オイゲノール	ラット; M、F	2,680	Hagan et al. (1965)
1529	オイゲノール	モルモット; M、F	2,130	Hagan et al. (1965)
1529	オイゲノール	マウス; M、F	3,000	Hagan et al. (1965)
1529	オイゲノール	ラット; M	1,930	Gruebner et al. (1972)
1529	オイゲノール	ラット; NR	1,930	Sober et al. (1950)
1530	ギ酸オイゲノール*	ラット; NR	3,400	Moreno (1977)
1530	ギ酸オイゲノール*	ラット; M	2,600	Moreno (1972)
1530	ギ酸オイゲノール*	ラット; M、F	1,670	Jenner et al. (1964)
1531	酢酸オイゲノール*	ラット; M、F	1,670	Bär & Griepentrog (1967)

M:雄、F:雌、NR:報告されていない

^a LD₅₀ 値は 3,980 mg/kg 体重は、プロピオン酸フェネチル：オイゲノール (7: 3) の混合物として値と報告されている。

* 原文の Table 1 では No.1530、No.1531 はそれぞれ Eugenyl formate、Eugenyl acetate となっており、ここでは Eugenyl が Eugenol となっているが、原文のまま訳した。

表 5. オイゲノール及びその関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体の短期及び長期毒性試験並びに発がん性試験の結果

No.	物質	種;性	試験群数 ^{a/} 1群あたり動物数 ^b	投与経路	投与期間 (日)	NOEL (mg/kg 体重/日)	引用文献
短期毒性試験							
1529	オイゲノール	ラット; M	1/5	混餌投与	28	2,000 ^c	Hirose et al. (1987)
1529	オイゲノール	ラット; M	1/20	強制経口投与	34	<1,400 ^d	Hagan et al. (1967)
1529	オイゲノール	ラット; M, F	1/20	混餌投与 ^e	90	M: 84.1 ^c F: 94.4 ^c	Trubek Laboratories Inc. (1958)
1529	オイゲノール	ラット; NR	NR	混餌投与	133	1,000 ^c	Bär & Griepentrog (1967)
1529	オイゲノール	ラット; M, F	2/20	混餌投与	133	1,000 ^c	Hagan et al. (1967)
1531	酢酸オイゲニル	ラット; M, F	3/20	混餌投与	133	1,000 ^c	Hagan et al. (1967)
1531	酢酸オイゲニル	ラット; NR	NR	混餌投与	133	1,000 ^c	Bär & Griepentrog (1967)
1529	オイゲノール	マウス; M, F	1/114	強制経口投与	35 ^f	410 ^c	Miller et al. (1983)
1529	オイゲノール	マウス; M, F	5/20	混餌投与	91	900 ^c	National Toxicology Program (1983)
1529	オイゲノール	ラット; M, F	5/20	混餌投与	91	1,250 ^c	National Toxicology Program (1983)
1529	オイゲノール	マウス; F	2g/30	混餌投与	365	750 ^c	Miller et al. (1983)

表 5(続き)

No.	物質	種;性	試験群数 ^a / 1群あたり動物数 ^b	投与経路	投与期間 (日)	NOEL (mg/kg 体重/日)	引用文献
長期毒性試験及び発がん性試験							
1529	オイゲノール	マウス; M、 F	2/100	混餌投与	735	450	National Toxicology Program (1983)
1529	オイゲノール	ラット; M、F	3/50-100 ^h	混餌投与	735	M: 300 ^e F: 625 ^e	National Toxicology Program (1983)

M:雄、F:雌、NR:報告されていない

a 試験群数には対照群は含まれない。

b 試験群あたりの動物数には雌雄を含む。

70 c 単回又は反復投与試験において有害事象が認められなかった最高用量。従って、この値は真の NOEL ではなく、実際の NOEL はこれよりも高い値と考えられる。

d ラットへのオイゲノールの投与は、初期用量を 1,400 mg/kg 体重として、その後の 34 日間の試験期間中に 4,000 mg/kg 体重まで徐々に増量した。

e オイゲノール(123 ppm)、アニスアルデヒド(10 ppm)及びヘリオトロピン(22 ppm)から成る香味料の混合物を被験物質とし、これらが報告された使用濃度となるように飼料に混合して、香味料混合物として 100 mg/kg 体重/日の用量で与えた。香味料混合物の実際の平均摂取量は、雄では 106 mg/日、雌では 119 mg/kg 体重/日であった。試験飼料中へのオイゲノール混合濃度(79.4 %)に基づいて、香味料混合物の平均一日摂取量は、オイゲノールの摂取量として雄ラットでは約 84.1 mg/kg 体重、雌ラットでは約 94.4 mg/kg 体重であった。

f マウスにオイゲノールを 410 mg/kg 体重で週 2 回、合計 10 回投与し、14 ヶ月間試験の終了時に剖検した。

g 1 つの群では、試験期間中にはオイゲノール添加飼料に加えて、0.5 %フェノバルビタールを飲水投与した。

h この試験における実験群は全部で 3 つであるが、そのうちの 2 つの群は雌雄ごととし、オイゲノールの投与量が雄ラットでは 150 又は 300mg/kg 体重/日に、また雌ラットでは 300 又は 625 mg/kg 体重/日となるように混餌投与した。

オイゲノール(No. 1529)

ラット

Wistar ラット(一群雄 3 匹)を用いてオイゲノール(0、250、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体:コーンオイル)の 10 日間強制経口投与試験が実施された。動物の毒性に関する一般状態を観察し、試験期間の第 0、6 及び 10 日には体重測定をした。オイゲノール投与群では、対照群と比較して統計学的に有意ではないが、体重増加量の用量依存的な減少(約 6%)がみられた。血液学的な又は臨床化学的な検査項目にオイゲノール投与の影響は認められず、オイゲノール投与ラットの肝臓の相対重量も対照動物とほぼ同じであった(Rompelberg et al., 1993)。

Fischer 344 ラット(6 週齢、一群雄 5 匹)を用いたオイゲノール(0 又は 2%、一日摂取量は 2,000 mg/kg 体重に相当と推定)の 28 日間の混餌投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。飼料及び飲料水は自由摂取とし、体重測定は週 1 回実施した。ラットを、第 4 週の終わりまでと殺し、剖検した。剖検では、肝臓重量の測定を行い、胃は緩衝ホルマリン液に保存した。前胃の後部壁及び前部壁は、ストリップ状に切り取り、組織学的検査した。対照群に比べてオイゲノール投与ラットにおいては、体重増加量は 10~15%減少したが、肝臓の相対重量は対照群との間に有意差は認められなかった。前胃には、肉眼的にも組織学的にも変化は認められなかった(Hirose et al., 1987)。

Osborn-Mendel ラット(離乳児、雄 20 匹)を用いたオイゲノールの 34 日間経口投与試験が実施された。投与は胃管を用いて行い、投与量は初期量を 1,400 mg/kg 体重/日として、その後 4,000 mg/kg 体重/日まで徐々に増量した。2,000 mg/kg 体重/日で少数例の死亡がみられたが、その後用量の増加に伴い死亡例数も増加した。34 日間生存例は 8 例であったが、4,000 mg/kg 体重/日での投与までの生存例は 15 例であった。週 1 回の体重測定、一般状態観察及び摂餌量測定では、対照群との差は認められなかった。生存例は全例をと殺し、血液学的検査(白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度及び赤血球容積分画)を行った。剖検では、肝臓、腎臓、脾臓、心臓及び精巣の重量を測定した。これらの器官、腹部及び胸部の内臓並びに後肢 1 本を緩衝ホルマリン-生理食塩水に保存した。オイゲノール投与動物では、副腎は軽度に腫大し、顕著に退色して、黄色を呈していた。肝臓も軽度に腫大し、顕微鏡観察では肝細胞の腫大が認められことから、肝臓の腫大はこれに伴うものであった。前胃の肉眼観察では、粘膜に小さな潰瘍を伴う厚いフレーク状の白い物質で覆われた癒合部がみられた。前胃の顕微鏡検査では、局所の潰瘍による層状扁平上皮の過形成及び過角化亢進が中等度に認められた。軽度の骨粗鬆症も認められた(Hagan et al., 1965 and 1967)。

Osborn-Mendel ラット(離乳児、一群雌雄各 10 匹)を用いたオイゲノールの混餌(0、1,000 又は 10,000 ppm 含有。一日摂取量は、それぞれ 0、50 及び 500 mg/kg 体重相当と推定)による 19 週間経口投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。週 1 回実施した体重測定、一般状態観察及び摂餌量測定では、試験群と対照群の間に差は認められなかった。全例をと殺し、血液学的検査(白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度及び赤血球容積分画)を行った。剖検では、肝臓、腎臓、脾臓、心臓及び精巣の重量を測定した。これらの器官、腹部及び胸部の内臓並びに後肢 1 本を緩衝ホルマリン-生理食塩水に保存した。被験物質投与に起因した変化は全く認められなかった(Hagan et al., 1967)。

ラット(系統不明、雌雄各 10 匹)を用いたオイゲノール、アニスアルデヒド及びヘリオトロピンから成る香料混合物(100 mg/kg 体重)の混餌による 90 日間経口投与試験が実施された。オイゲノール、アニスアルデヒド及びヘリオトロピンは使用時それぞれのレベルに比例した濃度で飼料と混合した。すなわち、オイゲノール(No. 1529)は 123 ppm、アニスアルデヒドは 10 ppm、ヘリオトロピンは 22 ppm の濃度となるように混合した。この試験における実際の平均摂取量は、雄では 106 mg/kg 体重/日、雌では 119 mg/kg 体重/日であったと報告されている。試験飼料中へのオイゲノール混合濃度(79.4 %)に基づいて、香料混合物の平均一日摂取量は、オイゲノールの摂取量として雄ラットでは約 84.1 mg/kg 体重、雌ラットでは約 94.4 mg/kg 体重であった。対照群のラットには、試験期間中は未添加飼料を供給した。ラットは全例について、週 1 回、成長を観察し、摂餌量を測定した。12 週間の混餌投与後、各群の雌雄各 3 例から尿を採取し、ブドウ糖及びアルブミンの濃度を測定するとともに、血中のヘモグロビン濃度を測定した。試験終了時に生存例の全例について肉眼的な観察を行い、肝臓及び腎臓については重量を測定し、組織は組織学的検査のために保存した。香料混合物を投与したラットの外観及び行動は、対照群の動物と同じであり、試験終了時まで前例が生存した。対照群に比べて、投与群では体重の実増加量及び飼料効率は低かったが、統計学的有意差は認められなかった。第 12 週に被験物質である混合物を投与した雄の尿を分析したところアルブミンが検出されたが、雌では検出されなかった。著者らによるとこれは雄に共通してみられた変化であることから、尿中に精液が混在したことによる可能性があるとしている。剖検時の肉眼的観察では、投与群と対照群の双方に呼吸器感染が散見された。肝臓及び腎臓の重量については両群ともほぼ同じであり、正常範囲内であった(Trubek Laboratories Inc., 1958)。

酢酸オイゲニル(No. 1531) (p. 178)

ラット(p. 178)

ラット(系統、匹数ともに不明)に酢酸オイゲニルの混餌(10,000 ppm、一日摂取量は 1,000 mg/kg 体重と推定)による 19 週間投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。有害作用は、認められなかった。試験については、これ以上の詳細は報告されていない(Bär & Griepentrog 1967)。

Osborn-Mendel ラット(離乳児、一群雌雄各 10 匹)を用いた酢酸オイゲニルの混餌(0、1,000 又は 10,000 ppm 含有。一日摂取量は、それぞれ 0、100、250 及び 1,000 mg/kg 体重相当と推定)による 19 週間経口投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。週 1 回実施した体重測定、一般状態観察及び摂餌量測定では、試験群と対照群の間に差は認められなかった。全例を殺処分し、血液学的検査(白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度及び赤血球容積分率)を行った。剖検では、肝臓、腎臓、脾臓、心臓及び精巣の重量を測定した。有害作用は、認められなかった(Hagan et al., 1967)。

(c) 長期毒性試験及び発がん性試験(表 5 参照) (p. 179)

オイゲノール(No. 1529) (p. 179)

マウス(p. 179)

CD-1 マウス(雌、平均体重:21 g)を用いたアリルアルコキシベンゼン及びアリルヒドロキシアリルベンゼン誘導体の発がん性試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。この試験では、2 群のマウス(一群 30 匹)にオイゲノールを混餌(0.5 %。平均一日摂取量は 750 mg/kg 体重/日相当と推定)により 12 ヶ月間経口

投与した。投与後、6ヶ月間回復期間を設けた。オイゲノール混餌投与群のうちの一つには、0.05%フェノバルビタールを全18ヶ月間飲水投与した。2つの対照群も2つの群を設け、一方の対照群のマウスには対照飼料のみを与え、もう一方の対照群のマウスには対照飼料を与えて0.05%フェノバルビタールを飲水投与した。18ヶ月の時点での生存例数は、オイゲノール混餌投与群でフェノバルビタールの飲水投与群でも無投与群でも、対照群とほぼ同じであった。マウスの体重測定は1、4及び8ヶ月で実施したが、オイゲノール混餌投与群における体重増加量は、対照群におけるそれらとほぼ同じであった。フェノバルビタール無投与のオイゲノール混餌投与群では、肺腺腫1例、胸腺リンパ腫2例及び乳腺表皮癌1例が認められた。これに対して、フェノバルビタール無投与の対照群では肺腺腫1例が認められた。フェノバルビタールを飲水投与した対照群では肺腺腫及び肝臓の血管内皮肉腫がそれぞれ1例で認められた。著者らは、オイゲノール投与に起因した有害作用は認められなかったと結論している(Miller et al., 1983)。

同一試験内の別の試験群として、CD-1マウス(雄59匹及び雌55匹)にオイゲノール(2.5 µmol/g 体重。約410 mg/kg 体重に相当)の強制経口投与を週2回、計10回実施した。投与は動物が4日齢時に開始した。マウスを35日齢で離乳させ、14ヶ月齢時に肝がんの有無を評価した。肝がんの発生率は、試験群と対照群で本質的に同じであり、オイゲノール投与群の雄では25%(肝がん数:0.5/匹)、媒体のみを投与した対照群の雄では24%(肝がん数:0.6/匹)であった。雌における肝がんの発生率についても、オイゲノール投与群(肝がんの発生は認められなかった)と媒体のみを投与した対照群(2%、肝がん数:0.02/匹)との間に統計学的な有意差は認められなかった(Miller et al., 1983)。

CD-1マウスの雄を用いたオイゲノール又はオイゲノール-2',3'-オキシドの腹腔内投与試験が実施された。マウスは一群52匹とし、1、8、15及び22日齢にいずれの被験物質の総投与量を9.45 µmol/匹として、これを1:2:4:8の比率に分割し、用量として0.63、1.26、2.52及び5.04 µmol/匹で投与した。これらの用量は、それぞれ73.9、59.1、59.1及び63.7 mg/kg 体重に相当した。マウスは22日齢で離乳させた。12ヶ月齢での肝がんの発生率は、オイゲノール投与群で24%(肝がん数:0.6/匹)、オイゲノール-2',3'-エポキシド投与群では31%(肝がん数:0.5/匹)、媒体対照群では26%(肝がん数:0.5/匹)であった。これらの発生率の間には、いずれも有意差は認められなかった(Miller et al., 1983)。

B6C3F₁マウス(一群雌雄各5匹)を用いたオイゲノールの14日間混餌投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。この試験では、オイゲノールを6,000、12,500、25,000、50,000又は100,000 ppm含有する飼料を週5日で計10日間与えた。一日摂取量は、900、1,875、3,750、7,500及び15,000 mg/kg 体重に相当すると推定された。動物の一般状態の観察は1日2回行い、体重及び臨床所見の記録は試験開始時、8日目、試験終了時に行った。100,000 ppm群では全例が、また50,000 ppm群の雄では60%が死亡した。≥12,500 ppm群の雄及び≥25,000 ppm群の雌で用量に依存した平均体重増加量の減少が観察された(National Toxicology Program 1983)。

(B6C3F₁マウス一群雌雄各10匹)を用いたオイゲノールの13週間混餌投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。この試験では、オイゲノールを0、400、800、1,500、3,000又は6,000 ppm含有する飼料を週5日で13週間与えた。一日摂取量は、0、60、120、225、450及び900 mg/kg 体重に相当すると推定された。動物の一般状態観察及び死亡例の有無の確認は1日2回実施し、体重は週1回記録した。

91 日間の試験終了時には全例を剖検し、最高用量群及び対照群については完全な病理組織学的検査を実施した。死亡例はなく、いずれの用量でも体重又は肉眼的及び病理組織学的な所見に被験物質に関連した変化は認められなかった(National Toxicology Program 1983)。

B6C3F₁ マウス(一群雌雄各 50 匹)を用いたオイゲノールの 105 週間混餌投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。この試験では、オイゲノールを 0、3,000 又は 6,000 ppm 含有する飼料を与えた。一日摂取量は、0、450 及び 900 mg/kg 体重に相当すると推定された。病的症状及び死亡の有無を確認するため動物は 1 日 2 回観察し、臨床所見を月 1 回記録した。マウスの体重測定は、最初の 13 週間は週 1 回、その後 93 週までは月 1 回、さらにその後は 2 週ごとに実施した。試験終了時には全例を対象として剖検を行った。主要な組織及び器官並びに変化の認められた組織については、外観観察並びに肉眼及び顕微鏡観察を行った。試験期間中、いずれのマウスにおいても被験物質に関連した一般状態の変化は観察されなかった。試験期間中、6,000 ppm 群の雌において対照群に比べて平均体重が 101 週に 14 %、104 週に 11 %低かったのを除き、生存率及び平均体重はいずれの投与群においても対照群とほぼ同様であった。3,000 ppm 群及び 6,000 ppm 群における平均一日摂餌量は、雄では対照群のそれぞれ 97 %及び 94 %、雌では対照群のそれぞれ 95 %及び 90 %であった。13 週に 3,000 ppm 群の雄 5 例を誤ってと殺したことから、これらの動物はその後の統計解析の対象から除外した。低用量群の雄では、肝細胞の腺腫及び癌腫の発生率が有意に増加したが($p < 0.05$)、高用量群の雄では増加は認められなかった。肝臓における腺腫及び癌腫の発生率を合計すると、対照群(14/50、28 %)に比べて高用量の雄(18/49、37 %)でわずかな増加がみられたが、統計学的な有意差は認められなかった。雌のマウスにおいては、肝細胞の腺腫及び癌腫の発生率の有意な増加は認められなかったが、それらを合計した発生率には対照群では 2/50(4 %)、低用量群では 7/49(14 %)、高用量群では 9/49(18 %)と、用量に依存した増加傾向がみられた。低用量群の雄 1 例で腫瘍が認められ、肝細胞癌に特有ないくつかの領域及び胆管様の構造の無秩序な増殖領域を示していた。著者らは、この腫瘍を肝細胞癌と胆管癌の混合型の腫瘍と分類した。雄マウスにおける肺の転移腫瘍の発生件数は、投与群と対照群でほぼ同じであった(対照群では 2、低用量群では 3、高用量群では 2)。低用量群の雌 1 例で認められた腫瘍は転移したものであった。雄マウスにおける甲状腺の濾胞細胞腺腫の発生率は対照群では 0/48(0 %)、低用量群では 0/49(0 %)、高用量群では 3/49(6 %)と、有意な増加傾向が認められた($p < 0.05$)。投与群の雌における発生率は対照群では 2/48(8 %)、低用量群では 0/47(0 %)、高用量群では 1/49(2 %)と、雄における発生率との間に有意差はみられなかった。著者らは、この試験条件下では、オイゲノールは 3,000 ppm の雄で肝臓の癌種と腺腫の両方の発生率を増加させ、雌マウスでは肝細胞の癌種と腺腫の合計した発生率を増大させたことから、オイゲノールの発がん性についてはあいまいな知見であるとした(表 6、National Toxicology Program 1983)。

表 6. マウスにおけるオイゲノールの 2 年間混餌投与による肝細胞腫瘍の発生率

性	腫瘍	対照群	3,000 ppm 群	6,000 ppm 群
雄	腺腫	4/50 (8%)	13/50 (26%)*	10/49 (20%)
	癌腫	10/50 (20%)	20/50 (40%)*	9/49 (18%)
雌	腺腫又は癌腫	14/50 (28%)	28/50 (56%)**	18/49 (37%)
	腺腫	0/50 (0%)	4/49 (8%)	3/49 (6%)
	癌腫	2/50 (4%)	3/49 (6%)	6/49 (12%)
	腺腫又は癌腫	2/50 (4%)	7/49 (14%)	9/49 (18%)*

National Toxicology Program (1983) から引用。National Toxicology Program の (混餌投与による) 発がん性試験における対照群の B6C3F₁ マウスにおける肝臓腺腫又は癌腫の発生率: 雄では 42.2% (10~68%)、雌では 23.6% (6~56%) (Haseman et al., 1998)

* 対照群と有意差あり (p < 0.05)。フィッシャーの直接法

** 対照群と有意差あり (p < 0.01)。フィッシャーの直接法

National Toxicology Program で実施した試験では、B6C3F₁ マウスの雄でみられた肝臓腺腫及び癌腫はよくみられる腫瘍である。混餌試験の対照群における肝細胞腫瘍の発生率は、雄マウスで 42.2%、雌マウスで 23.6% であった (Haseman et al., 1998)。雄における肝細胞腺腫と癌腫の発生率は対照群で 28%、低用量群で 56%、高用量群で 37%、一方、雌における発生率は対照群で 4%、低用量群で 14%、高用量群で 18% と、雌に比べて雄で高く、B6C3F₁ マウスの雄では肝臓の腫瘍が発生しやすいことを明確に示している。雄マウスにおける肝細胞腺腫と癌腫を合計した腫瘍発生率に用量反応相関性が認められなかったこと、また高用量群と対照群の間で腫瘍発生率に有意差は認められなかったことから、この試験での雄マウスにおける肝臓腫瘍の発生は、被験物質投与に関連したものではなく、自然発生的なものと考えられた。試験群の雌マウスにおける肝細胞腺腫及び癌腫の発生率は対照群に比べて高かったが、統計学的に有意ではなく、腺腫については用量相関性は認められなかった。雌における肝細胞腺腫及び癌腫を合計した発生率は対照群では 4%、低用量では 14%、高用量では 18% と、用量に相関した傾向がみられたが、対照群と低用量群の雌では統計学的な有意差は認められなかった。National Toxicology Program によると、2 年間の生物試験で認められた雌雄マウスにおける腫瘍の発生プロフィールは、この動物種及び系統における肝細胞腫瘍の高いバックグラウンドレベルと一致している (Maronpot et al., 1987)。

National Toxicology Program (1983) の試験結果を考察するにあたっては、もう一つのファクターとして 2 年間の混餌投与期間における動物のケージの配置場所を考慮する必要があるものと考えられる (Young, 1987)。長期試験では、一般的にマウスをケージ飼いし、ケージを無作為に配置するよりは、同じ投与群のケージを隣接して配置する方法が採用される。この方法はこの試験でも採用された。それにもかかわらず、特に低用量群の雄のマウスにおいては、飼育ケージの配置効果が肝臓の腫瘍の発生率に関連した可能性が指摘された。ケージごとの解析を行った結果、ケージ 1~5 に収容された雄マウスにおける肝臓の病変の発生率 (80%) は、この試験のその他のマウスにおける肝臓腫瘍の発生率 (32%) よりも高いことが判明した。さらに、National Toxicology Program で実施された 43 マウスにおける試験が Haseman ら (1984) により評価されたが、これらの試験結果に基づくと、対照群における肝臓癌腫の発生率は ≤36% であったが、ケージ 1~5 に収容された低

用量群の雄マウスにおける肝臓癌腫の発生率は 64 %であった。Young (1987) は、ケージを整然と配置したこと、また主として癌腫であるが、増殖性の肝病変は低用量群のマウスを収容した 10 個の隣接するケージのうちの 5 ケージで集中して認められたことから、この効果は、オイゲノールによるものではなく、飼育ケージの配置によるものであると結論した。

これらの観察結果から、National Toxicology Program の生物試験において認められた肝臓の腫瘍は、香味料成分として用いることでの摂取量が少ないヒトにおけるオイゲノールの安全性とは関連性がない。この結論は、以下の点に基づいている。(1) B6C3F₁ マウスにおける肝細胞腫(腺腫及び癌)の自然発生率は高いこと、(2) 一貫した用量-反応相関性が認められないこと(3) 飼育ケージの配置効果が腫瘍発生率に関連していること、(4) 平行して実施したラットにおける試験では、肝細胞の腫瘍発生が認められなかったこと(以下に議論する)、(5) 試験で用いられた混餌レベル(450 及び 900 mg/kg 体重)は比較的高く、香味料成分として用いることでのオイゲノールの推定一日摂取量(欧州では 18 µg/kg 体重/日、米国では 56 µg/kg 体重)の少なくとも>8,000 倍であること(表 2 参照)。

ラット(p. 182)

Fischer ラット(雄 20 匹)を用いたオイゲノール-2',3'-オキシド(2 mmol、約 1,029 mg/kg 体重)の皮下投与試験が実施された。皮下投与は、週 2 回、計 20 回行った。投与部位の肉腫 2 例、角化棘細胞腫 1 例、皮脂腺癌 1 例及び線維筋肉腫 1 例が認められたが、肝臓癌は認められなかった。これに対して、媒体(トリオクタノイン)のみを投与した対照群のラットでは、投与部位又は肝臓に癌は認められなかったが、腹腔内の平滑筋肉腫 1 例、皮下の線維肉腫 1 例及び肺腺腫 1 例が認められた(Miller et al., 1983)。

Fischer 344/N ラット(一群雌雄 5 匹)を用いたオイゲノールの混餌(6,000、12,500、25,000、50,000、100,000 ppm)による、合計 10 用量について週に 5 日で 14 日間の経口投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。一日摂取量は、600、1,250、2,500、5,000 及び 10,000 mg/kg 体重に相当すると推定された。動物の一般状態観察は 1 日 2 回実施し、体重及び臨床所見は試験開始時、8 日、試験終了時に記録した。100,000 ppm における死亡率は、雄では 20 %、雌では 100 %であった。≥25,000ppm の用量群の雌雄では用量に相関した平均体重増加量の減少が観察された(National Toxicology Program, 1983)。

Fischer 344/N ラット(一群雌雄 10 匹。但し、800 ppm 群の雄及び 6,000 ppm 群の雌はそれぞれ 9 匹)を用いたオイゲノールの混餌(0、800、1,500、3,000、6,000 又は 12,500 ppm)による 13 週間経口投与試験が実施された(Food & Drug Administration, 1993)。一日摂取量は、0、80、150、300、600 及び 1,250 mg/kg 体重に相当すると推定された。動物の一般状態観察及び死亡例の有無の確認を 1 日 2 回実施し、体重を週 1 回記録した。試験終了時には全例を剖検し、最高用量群及び対照群については完全な病理組織学的検査を実施した。試験期間中は、全例が生きた。最終的な平均体重は、対照群と比較して、最高用量群の雄で 10 %、雌で 6 %減少した。病理組織学的な所見には被験物質に関連した変化は認められなかった(National Toxicology Program 1983)。

Fischer 344/N ラット(一群雌雄 50 匹)を用いたオイゲノールの混餌投与試験が実施された(National

Toxicology Program, 1983)。この試験では、雄にはオイゲノールを 3,000 又は 6,000 ppm、雌には 6,000 又は 12,500 ppm 含有する飼料を週 5 日で 105 週間与えた。3,000、6,000 及び 12,500 ppm の混餌濃度は、150、300 及び 625 mg/kg 体重に相当すると推定された (Food & Drug Administration, 1993)。対照群として、ラットの雄 40 匹及び雌 40 匹に試験期間を通して基礎飼料を与えた。死亡例の有無の確認を 1 日 2 回実施し、一般状態に関する所見を月 1 回記録した。体重測定を、最初の 13 週間は週 1 回、その後 93 週までは月 1 回、さらにその後は 2 週ごとに実施した。試験終了時には全例を対象として剖検を行った。主要な組織及び器官並びに変化の認められた組織については、外観観察並びに肉眼及び顕微鏡観察を行った。試験群の生存率 (雄については 3,000 ppm 群で 52 %、6,000 ppm 群で 74 %、また雌については 6,000 ppm 群で 72 %、12,500 ppm 群で 88 %) は、対照群の生存率 (雄では 58 %、雌では 75 %) との間に有意な差は認められなかった。12,500 ppm 群の雌では、平均体重が対照群と比べて低かった。高用量群及び低用量群の雌における平均一日摂餌量は、それぞれ対照群の 94 % 及び 91 % であったが、これらについての統計学的有意性については報告されていない。

肺の肺胞又は気管支の腺腫又は癌腫の発生率は、対照群の雄 (0/49) に比べて 3,000 ppm 群の雄では 5/49 (10 %) と有意 ($p < 0.05$) に増加したが、6,000 ppm 群では 2/50 (4 %) と有意な増加はみられなかった。雌におけるこれらの腫瘍の発生率は、低用量群では 1/50 (2 %)、高用量群では 0/50 であり、対照群の 1/39 (3 %) との間に有意差は認められなかった。しかしながら、雌では甲状腺の C 細胞腺腫の発生率が低用量群では 11/49 (22 %) と、対照群 [3/40 (8 %)] や高用量群 [2/50 (4 %)] に比べて有意に増加した ($p < 0.05$)。逆に、雄では C 細胞腺腫の発生率は対照群では 4/40 (10 %)、低用量群では 5/50 (10 %)、高用量群では 0/50 (0 %)、また甲状腺の腺腫及び癌腫を合計した発生率は対照群では 7/40 (28 %)、低用量群では 8/50 (16 %)、高用量群では 2/50 (4 %) と、発生率に統計学的に有意な負の相関性傾向がみられた ($p < 0.05$)。Fischer 344 ラットにおいては甲状腺 C 細胞腫瘍の自然発生率が高いと仮定するならば、これらの結果は予期できないことではない。以前に実施された混餌投与試験の対照群における C 細胞腺腫及び癌腫のバックグラウンド発生率は、雄のラットでそれぞれ 13 % (2~35 %) 及び 1.8 % (0~6 %)、また雌ラットでそれぞれ 11.7 % (4~22 %) 及び 1.9 % (0~4 %) であった (Haseman et al., 1998)。

雌ラットにおける子宮内皮間質ポリープ又は肉腫の発生率には、対照群では 6/40 (15 %*)、低用量群では 6/50 (12 %)、高用量群では 16/50 (32 %) と、有意な ($p < 0.05$) 増加傾向が認められたが、低用量群の雌における発生率は統計学的に有意ではなく、高用量群の雌で対照群に比べてわずかに増加しただけであった ($p = 0.051$)。雌ラットにおける子宮内皮間質ポリープの発生率は対照群では 16 %*、高用量群では 32 % であったが、これらの発生率は、この試験を実施した試験機関における平均発生率 (15 %) より (National Toxicology Program, 1983)、また他の混餌投与試験の対照群における平均発生率 (14.2 %) より高かった (Haseman et al., 1998)。また、雌のラットにおける乳腺線維腺腫の発生率は、対照群 [14/40 (35 %)] に比べて、低用量群 [8/50 (16 %)] 及び高用量群 [6/50 (12 %)] では有意に減少した ($p < 0.05$)。著者らによると、この試験の対照群の雌ラットにおける乳腺線維腺腫の発生率は、他の混餌投与試験の対照群における発生率 [41.2 % (8-60 %)] より高かった (Haseman など, 1998)。そのことから、著者らは雌雄のラットにおいて発がん性を示す知見は得られなかったとしている (National Toxicology Program, 1983)。

* 15 % が正しいが、ここを 15 % とすると、試験実施施設での平均発生率と同じになってしまい、この文は事実と異なることになるので、そのまま訳した

(d) 遺伝毒性 (p. 184)

オイゲノール及びヒドロキシアリルベンゼン誘導体から成っているこのグループの物質のうちの2つについては、変異原性試験又は遺伝毒性試験が実施された。その結果を表7に要約するとともに、以下に述べる。

In vitro 試験

ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) を用いた標準的な変異原性試験において、オイゲノールは、 $\leq 107,000 \mu\text{g}/\text{プレート}$ (約 $625 \mu\text{mol}/\text{プレート}$) の濃度で代謝活性化系の有無に関わらず試験菌株である TA92、TA94、TA97、TA98、TA100、TA102、TA1530、TA1531、TA1532、TA1535、TA1537、TA1538 及び TA1964 に対して変異原性を示さなかった (Dorange et al., 1977; Green & Savage, 1978; Rockwell & Raw, 1979; Swanson et al., 1979; Douglas et al., 1980; Eder et al., 1980; Florin et al., 1980; Nestmann et al., 1980; Rapson et al., 1980; Yoshimura et al., 1981; Eder et al., 1982; Pool & Lin, 1982; Sekizawa & Shibamoto, 1982; To et al., 1982; Haworth et al., 1983; National Toxicology Program, 1983; Ishidate et al., 1984; Orstavik & Hongslo, 1985; Amonkar et al., 1986; Milleret et al., 1986; Tennant et al., 1987; Schiestl et al., 1989; Azizan & Blevins, 1995; Sukumaran & Kuttan, 1995)。オイゲノールは、代謝活性化系に 3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸を添加した場合にのみ、ネズミチフス菌の TA1535 株に対して変異原性を示したが、オイゲノールの変異原性には濃度依存的な増加は認められなかった。著者らは、変異が生存菌数あたりの変異菌数 (変異頻度の増加) ではなく、単にプレートあたりの変異菌数で示されたものであることから、この結果は試験計画に基づく人為的なものとしている (To et al., 1982)。

オイゲノール-2',3'-エポキシドの変異原性は、ネズミチフス菌の TA1537、TA1538 及び TA98 株では陰性であったが、TA1535 (Dorange et al., 1977; Swanson et al., 1979) 及び TA100 (Dorange et al., 1977) では陽性であった。

表 7. オイゲノール及びそれに関連にしたアリルヒドロキシベンゼン誘導体の遺伝毒性試験

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献
<i>In vitro</i>						
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA1530、TA1531、TA1532、TA1964	0.02、0.2 mol/L(3284、32,841 µg/mL) ^a	陰性 ^b	Green & Savage(1978)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA1530、TA1531、TA1532、TA1964	1~5 mg/プレート(1000~5,000 µg/プレート)	陰性 ^c	Green & Savage(1978)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	2,000 µg/プレート	陰性 ^d	Nestmann et al.(1980)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537	≤2,000 µg/プレート	陰性 ^{b,e}	Ishidate et al.(1984)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537	3 µmol/プレート(492.6 µg/プレート) ^a	陰性 ^{d,f}	Florin et al.(1980)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	32.84 µg/プレート	陰性 ^{c,f}	Dorange et al.(1977)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537	333 µg/プレート	陰性 ^{d,g}	Tennant et al.(1987)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	60、120、300、600 µg/プレート	陰性 ^{c,h} 陰性 ^{b,e,h}	Sekizawa & Shibamoto(1982)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100、TA104	3,000 µg/プレート	陰性 ^{d,fi}	Miller et al.(1986)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	不明	陰性 ^{d,j}	Eder et al.(1982)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	2 mL のインキュベーションあたり 0.01~3 µL(5~1,605 µg/mL) ^k	陰性 ^{d,h,j}	Eder et al.(1980)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA100	0.1~1,000 µg/プレート	陰性	Rapson et al.(1980)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100	2,500 µg/mL	陰性 ^d	Orstavik & Hong slo(1985)

表 7(続き)

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	10、150、300、600、1,200 µg/プレート	陰性 d,l	Amonkar et al. (1986)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1538、TA1537	2,000 µg/プレート	陰性 d	Douglas at al. (1980)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA100、TA102、 TA1535	50~400 µg/プレート	陰性 d	Sukumaran & Kuttan (1995)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100	≤30 µmol/プレート(4,926 µg/プレート) a	陰性 d,m	Swanson et al. (1979)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	0.5、5、50、500、5,000 µg/ プレート	陰性 d,n	Pod & Lin (1982)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3~333.3 µg/プレート	陰性 d,n,o	Haworth et al. (1983)	
8	1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100	0.05 µL(53.5~107,000 µg/ プレート) k	陰性 b	Rockwell & Raw (1979)
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	0.5~500 µg/プレート	陰性 d,p,q	To et al. (1982)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA1535	0.5~500 µg/プレート	陽性 b,r 陰性 c	To et al. (1982)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	5~500 µg/プレート	陰性 d,e	Yoshirmura et al. (1981)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100	1,000 µg/mL	陰性 d,e	Azizan & Blevins (1995)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100、 TA102	プレートあたり 0.25~6 µmol/L(41~985 µg/プレ ート) a	陰性 d,e,s	Schiesti et al. (1989)	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3~333.3 µg/プレート	陰性 d,e	National Toxicology Program (1983)	

表 7(続き)

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献	
1529	オイゲノール	復帰突然変異	大腸菌 WP2 uvrA (trp ⁻)	60、120、300、600 µg/プレート	陰性 c,h 陰性 b,e,h	Sokizawa & Shibamoto (1982)	
1529	オイゲノール	DNA 修復	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	1~100 mg/ディスク (1000~100,000 µg/ディスク)	陰性	Yoshinura et al. (1981)	
1529	オイゲノール	DNA 修復	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	400 µg/ディスク	陽性 c	Sekizawa & Shibamoto (1982)	
1529	オイゲノール	DNA 修復	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	21 µg/ディスク	陰性	Oda et al. (1979)	
1529	オイゲノール	前進突然変異	L5178Y マウスリンフォーマ細胞	21.3 µg/mL	陽性 c,g	Tennant et al. (1987)	
1529	オイゲノール	前進突然変異	L5178Y マウスリンフォーマ細胞	20~120 nL/mL (21~128 µg/mL) k	陽性 c,t	Myhr & Caspary (1991)	
1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	ヒト末梢リンパ球	0~0.5 mmol/L (0~82 µg/mL) a	陰性	Jansson et al. (1986)	
81	1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞	273~326 µg/mL	陽性 b,u	Galloway et al. (1987)
	1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞	11~123 µg/mL	弱陽性 c,v	Galloway et al. (1987)
	1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	シリアンハムスター胚細胞	0.00003~0.001 %v/v (0.3-10 µg/mL) k	弱陽性 v	Fukuda (1987)
	1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞	75-326 µg/mL	陽性 d	National Toxicology Program (1983)
	1529	オイゲノール	姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞	75 µg/mL	陽性 d、g	Tennant et al. (1987)
	1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター繊維芽細胞	125 µg/mL	陰性 w 陽性 x	Ishidate et al. (1984)
	1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	198~300 µg/mL	陰性 c,h	Galloway et al. (1987)
	1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	201~324 µg/mL	弱陽性 b,y	Galloway et al. (1987)
	1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	50、100、200 µg/mL	陰性 z	Stich et al. (1981)
	1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	0.8~1.6 mmol/L (131~263 µg/mL) a	陽性 b,aa	Bean et al. (1992)

表 7(続き)

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献
1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	1.2、1.4、1.6 mmol/L(197、230、263 µg/mL) a	陽性 b,h,bb	Bean & Galloway(1993)
1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	198~324 µg/mL	陽性 b	National Toxicology Program(1983)
1529	オイゲノール	染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞	300 µg/mL	陽性 b,g	Tennant et al.(1987)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	Fischer 344 系雄性ラット肝細胞	0.1~1,000 µmol/L (0.01642~164.2 µg/mL) a	陰性	Burkey et al.(2000)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	B6C3F1 雌性マウス肝細胞	0.1~1,000 µmol/L (0.01642~164.2 µg/mL) a	陰性	Burkey et al.(2000)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	Fischer 344 系雄性ラット肝細胞	10 ⁻⁶ -10 ⁻³ mol/L (0.1642~164.2 µg/mL) a	陰性 cc	Howes et al.(1990)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	シリアンハムスター胚細胞	0.00003~0.0001 %v/v(0.3~1 µg/mL) k	陽性 b	Fukuda(1987)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	Sprague-Dawley 系雄性ラット肝細胞	0.1、0.25、0.5 mmol/L(16、41、82 µg/mL)	陰性	Allavena et al.(1992)
1531	酢酸オイゲニ ル	不定期 DNA 合成	Sprague-Dawley 系雄性ラット肝細胞	1、2.5、5、10、15 µg/mL	陰性 dd	San & Reece(2003)
In vivo						
1529	オイゲノール	小核誘導	Swiss CD-1 系雄性マウス(骨髄)	680 mg/kg 体重/日で 15 日間	陰性 ee	Rompelberg et al.(1995)
1529	オイゲノール	小核誘導	B6C3F1 雄性マウス(骨髄)	150、300、600 mg/kg 体重/日で 3 日間	陰性 ff	Shelby et al.(1993)

表 7(続き)

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献
1529	オイゲノール	小核誘導	ヒト(リンパ球)	150 mg/日で7日間(1.7~2.2 mg/kg 体重/日) gg	陰性 hh	Rompelberg et al. (1996b)
1529	オイゲノール	小核誘導	CF1 系雄性マウス(骨髄)	400 mg/kg 体重	陽性 ff,ii	Ellahuene et al. (1994)
1529	オイゲノール	小核誘導	Sprague-Dawley 系雄性ラット(骨髄)	1,340、2,680 mg/kg 体重	陰性 jj	Allavena et al. (1992)
1529	オイゲノール	小核誘導	CF1 系雄性マウス(骨髄)	100、400、600 mg/kg 体重	陽性 ff,kk,ll	Ellahuene et al. (1994)
1529	オイゲノール	小核誘導	Sprague-Dawley 系雄性ラット(肝臓及び骨髄)	1,340 mg/kg 体重	陰性 jj,mm	Allavena et al. (1992)
1529	オイゲノール	小核誘導	Wistar 系雄性ラット(骨髄)	500、1,000 mg/kg 体重/日で10日間	陰性 hh、nn	Rompelberg et al. (1996a)
1529	オイゲノール	小核誘導	Sprague-Dawley 系雌性ラット(骨髄)	335、670、1,340 mg/kg 体重	陰性 jj	Maura et al. (1989)
8 1529	オイゲノール	小核誘導	ddY 系雄性マウス(骨髄)	100、200、400、800 mg/kg 体重	陰性 ff	Hayashi et al. (1984)
1529	オイゲノール	小核誘導	Swiss-Webster 系雄性マウス(骨髄)	148ff、740ff、14,794hh mg/kg 体重	陽性	Woolverton et al. (1986)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	Sprague-Dawley 系雄性ラット(肝細胞)	1340、2680 mg/kg 体重	陰性 jj	Allavena et al. (1992)
1529	オイゲノール	不定期 DNA 合成	Wistar 系雄性ラット(肝細胞)	500、1000 mg/kg 体重/日で10日間	陰性 jj,oo	Rompelberg et al. (1996a)
1529	オイゲノール	DNA 断片化	Sprague-Dawley 系雌性ラット(肉芽腫細胞)	1、5、10 mmol/kg 体重(164、821、1,642 mg/kg 体重) a	陰性 jj	Maura et al. (1989)
1529	オイゲノール	DNA 断片化	Sprague-Dawley 系雌性ラット(肝臓及び腎臓)	1340 mg/kg 体重	陰性 jj	Maura et al. (1989)

表 7(続き)

No.	化学物質	評価項目	試験系	用量又は濃度	結果	引用文献
1529	オイゲノール	DNA 断片化	Sprague-Dawley 系雄性ラット(肝細胞)	1340、2680 mg/kg 体重	陰性 jj,pp	Allavena et al.(1992)
1529	オイゲノール	染色体異常	ヒト(リンパ球)	150 mg/日で 7 日間(1.7～2.2 mg/kg 体重/日)gg	陰性 hh	Rompelberg et al.(1996b)
1529	オイゲノール	突然変異	Sprague-Dawley 雌性ラット(肉芽腫細胞)	1、5、10 mmol/kg 体重(164、821、1,642 mg/kg 体重)a	陰性 jj	Maura et al.(1989)

a オイゲノールの相対的な分子量=164.203 として算出

b 代謝活性化存在下

c 代謝活性化非存在下

d 代謝活性化存在下及び非存在下の両方

e ブレインキュベーション法

f スポットテスト

g 陽性となった最も低い用量又は陰性となった最も高い用量

h 最高用量で細胞毒性

i 試験菌株 TA97、TA100 及び TA104 に対して 3,000 µg/プレートで毒性を示す

j 懸濁液を用いる変法

k オイゲノールの密度=1.07g/mL から計算

l 1,200 µg/プレートですべての試験菌株に対して毒性

m 5 µmol/プレート(821 µg/プレート)で細胞毒性

n 5,000 µg/プレートですべての試験菌株に対して毒性

o 333.3 µg/プレートで TA100 及び TA1537 に対し細胞毒性

p 試験菌株 TA98 に対して 500 µg/プレートで統計学的に有意

q 試験菌株 TA1537 に対して 10、50、150 及び 500 µg/プレートで統計学的に有意。3 本だでの試験で 1 番目だけでプレート当たりの復帰突然変異株の数が陰性対照の少なくとも 2 倍。

r 3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸を代謝活性化系に添加

s 代謝活性化系存在下、非存在下ともに、試験菌株 TA97 及び TA100 に対しては作用を示さず、TA98 及び TA102 に対しては弱い作用を示す

t 64 及び 128 µg/mL で細胞毒性

u 細胞周期の重度の遅延を引き起こす用量で増加

- v 統計学的に有意であるが、対照の2倍までの増加なし
- w 用いた用量の中で、24時間で*細胞毒性を示さない最高用量
- * 原文ではA 24 hとなっているが、At 24 hのタイプミスとして訳した。
- x 用いた用量の中48時間で最大作用が観察された用量
- y 初回の試験で約10.5時間固定した細胞では最高用量で染色体異常の若干の増加がみられ、2回目の試験(20時間の収穫時間による)で明確な増加が観察された。
- z 対照群(0.8%)に対して発現率が200 µg/mL(2.0%)でわずかに増加
- aa 初回試験で15.0及び24.5時間で細胞を収穫したところ、0.8 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後の細胞生存率はそれぞれ対照群における生存率の57%及び37%で、1.2 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後の細胞生存率はそれぞれ対照群における生存率の53%及び43%であった。染色体異常細胞の割合は、0.8 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後15時間の収穫したときに最大25.5%まで増加。2回目の試験では、オイゲノールは1.2~1.6 mmol/Lで細胞毒性を示し、その毒性は1回目の試験では0.8 mmol/Lでみられたものと同程度であった。染色体異常細胞の割合が最大(26.5%)となったのは、1.6 mmol/Lのオイゲノールとインキュベーション後17時間に収穫したときであった。
- bb オイゲノールによる3時間の処理を開始後20~21時間又は42~44時間に細胞を収穫した。1.6 mmol/Lのオイゲノールとインキュベーション後20時間に細胞周期の重度の遅延が観察され、染色体異常は対照群の約50%までの細胞数の減少を伴っていた。
- cc 500 µmol/Lで細胞毒性
- dd 10及び15 µg/mLで細胞毒性
- ee 混餌投与
- ff 腹腔内投与
- gg ボランティアの体重範囲の68~88 kgに基づき用量の範囲を計算
- hh 経口投与
- ii 腹腔内投与24、30及び48時間後に試料を採取
- jj 強制経口投与
- kk 腹腔内投与30時間後に1回試料を採取
- ll オイゲノールの400及び600 mg/kg体重で有意な増加
- mm オイゲノール投与20時間前にラットの肝臓の2/3を切除した
- nn 1,000 mg/kg体重/日で多染性赤血球のパーセンテージはわずかで統計学的には有意でない増加
- oo 500 mg/kg体重のオイゲノールで前処理したラットの肝細胞をin vitroでジメチルスルホキシドに暴露すると、(ジメチルスルホキシドのみで前処置した)対照群の肝細胞よりも平均ネット核グレイン数は有意に低かった。1,000 mg/kg体重のオイゲノールとジメチルスルホキシドによる結果は得られていない
- pp 播種4及び20時間後に観察

オイゲノールの代謝物の変異原性を調べる目的で、Sprague-Dawley ラットを用いたオイゲノール(0.5 mL、約 2,140 mg/kg 体重)の単回強制経口投与試験が実施された。動物の尿は、投与後 24 時間にわたって採取した。ラットに投与する前に、ネズミチフス菌の TA98 及び TA100 株を用いてオイゲノール(0.05~100 µL、53.5~107,000 µg/プレート)の代謝活性化法による復帰突然変異試験を行ったところ、結果は陰性であった。尿中代謝物の遺伝毒性を評価するために、尿をそのまま又は尿をリン酸緩衝液で希釈後に β-グルクロニダーゼ処理をして、抱合体を加水分解した後でエーテル抽出したものをを用いたも試験を行った。24 時間尿の試料(500 µL)、尿のエーテル抽出物及び抽出物の水相分画は、それぞれ々にネズミチフス菌の TA98 又は TA100 と S9 活性化系共存下でインキュベートした。オイゲノール(0.5 mL)投与ラットから得られた尿試料はいずれも、TA98 及び TA100 に対して変異原性を示さなかった(Rockwell & Raw, 1979)。

オイゲノールは、60、120、300 又は 600 µg/プレート(0.37、0.74、1.8 又は 3.6 µmol/プレート)で大腸菌(*Escherichia coli*)の WP2 uvrA(trp⁻)株に対して変異原性を示さなかった(Sekizawa & Shibamoto, 1982)。枯草菌(*Bacillus subtilis*)の M45(rec⁻)及び H17(rec⁺)を用いるレックアッセイ(Rec assay)を S9 活性化系非共存下で行ったところ、400 µg/ディスク(2.4 µmol/ディスク)で陽性結果が得られた(Sekizawa & Shibamoto, 1982)。しかし、標準的なインキュベーション条件下で実施した DNA 修復アッセイでは、≤ 100,000 µg/ディスクで一貫して陰性結果となった(Oda et al., 1979; Yoshimura et al., 1981)。Sekizawa 及び Shibamoto (1982)は、rec⁻細胞と rec⁺細胞間の抑制ゾーンの差が 6.9 mm であったことから、M45 rec⁻細胞に対する優先的な致死作用の証拠として陽性結果を報告した。しかし、著者らは、試験に用いたオイゲノールの試料は油性であることから、オイゲノールは水性の寒天層に効果的に拡散しないことを指摘した。従って、試料であるオイゲノールが十分に拡散する前に H17 rec⁺細胞(倍增時間は 48 分。一方、M45 rec⁻の倍增時間は 75 分)が成長してしまったため、M45 rec⁻細胞よりも小さい抑制ゾーンとなった可能性がある。

マウスリンフォーマ細胞を用いた前進突然変異試験でオイゲノールは、L5178Y 細胞に対して 21.3~128 µg/mL(0.13-0.78 mmol/L)の濃度で変異原性を示した(Tennant et al., 1987; Myhr & Caspary, 1991)。しかしながら、その時に用いられた濃度では細胞毒性が極めて高かった。Myhr 及び Caspary (1991)によって実施された 2 回の試験において、変異頻度と相対全成長との間に負の相関がみられた。初回の試験での相対全成長は、オイゲノールの濃度が 80 nL/mL のときに 16~28 %、120 nL/mL のときに 5~11 %であった。2 回目の試験での相対全成長は、オイゲノールの濃度が 40 nL/mL で 5~30 %、60 nL/mL で 4 %であった。最高用量での変異頻度は、初回の試験では 4.2 倍に、また 2 回目の試験では 2.2 倍に増加した。Myrh 及び Caspary(1991)は、オイゲノールと細胞との間の相互作用を十分に制御できなかったため、用量反応関係を調べるにはさらに試験を追加して実施する必要があるとした。

オイゲノールについては乳動物細胞を用いた姉妹染色分体交換試験がいくつか実施され、様々な結果が得られた(National Toxicology Program, 1983; Jansson et al., 1986; Fukuda, 1987; Galloway et al., 1987; Tennant et al., 1987)。ヒト末梢リンパ球を用いた試験では、オイゲノール濃度が ≤ 82.1 µg/mL(0.5 mmol/L)で姉妹染色分体交換の誘導は認められなかった(Jansson など、1986)。シリアンハムスター胚細胞を用いた試験では、オイゲノール濃度が 0.3~10 µg/mL[0.00003~0.001 % (v/v)]で姉妹染色分体交

換を有意に誘導したが($p < 0.001$)、陰性対照の2倍以上の増加にはならなかった(Fukuda, 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた試験では、代謝活性化非存在下では11~123 $\mu\text{g/mL}$ (0.07~0.75 mmol/L)のオイゲノール濃度で姉妹染色分体交換の弱い誘導がみられたが、代謝活性化存在下では273~326 $\mu\text{g/mL}$ (1.7~2.0 mmol/L)のオイゲノール濃度で陽性結果が得られた。著者らは、代謝活性化法による場合も、よらない場合も、姉妹染色分体交換の増加は、細胞周期が極度に遅延する用量で観察されるとコメントしている(Galloway et al., 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた試験では、代謝活性化法による場合も、よらない場合も、オイゲノールは75~326 $\mu\text{g/mL}$ (0.5~2.0 mmol/L)の濃度で姉妹染色分体交換の誘導が認められた(National Toxicology Program, 1983; Tennant et al., 1987)。

標準法による染色体異常試験でも様々な結果が得られている(Stich et al., 1981; National Toxicology Program, 1983; Ishidate et al., 1984; Galloway et al., 1987; Tennant et al., 1987; Bean et al., 1992; Bean & Galloway, 1993)。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験での最適な試料採取時間を調べるために実施した試験では、代謝活性化系存在下で、オイゲノール濃度が131~263 $\mu\text{g/mL}$ (0.8~1.6 mmol/L)で染色体異常が増加した(Bean et al., 1992)。2回のうちの初回の試験での細胞収穫時間を処理後15及び24.5時間とした場合の細胞生存率は、0.8 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後ではそれぞれ対照群の57%及び37%であり、1.2 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後ではそれぞれ対照群の53%及び43%であった。異常細胞の割合は、0.8 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後15時間で細胞を収穫すると、最大25.5%まで増加した。初回の試験ではオイゲノールの濃度が0.8 mmol/Lで細胞毒性がみられたように、2回目の試験では異常細胞の出現率は1.2~1.6 mmol/Lでみられた。染色体異常細胞の割合が最大(26.5%)となったのは、1.6 mmol/Lのオイゲノールとのインキュベーション後17時間に細胞を収穫した場合であった。

同様な目的で実施した次の試験では、オイゲノールを197、230又は263 $\mu\text{g/mL}$ (1.2、1.4又は1.6 mmol/L)の濃度でチャイニーズハムスター卵巣細胞と3時間インキュベーションした後に、処理開始20又は44時間後に細胞を収穫したところ、染色体異常の有意な増加がみられた。細胞周期の極度の遅延は263 $\mu\text{g/mL}$ (1.6 mmol/L)のオイゲノールとのインキュベーション20時間後にみられ、染色体異常とともに細胞数は対照群の約50%にまで減少した(Bean & Galloway, 1993)。

オイゲノールを $\leq 125 \mu\text{g/mL}$ (0.77 mmol/L)の濃度でチャイニーズハムスター線維芽細胞と48時間インキュベーションしたところ、染色体異常がみられたが、24時間だけのインキュベーションでは陰性結果となった。構造異常は、用量が14.8 mg/mLのときに中期細胞の20%に検出された(Ishidate et al., 1984)。別のチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた試験では、50又は100 $\mu\text{g/mL}$ (0.31又は0.61 mmol/L)のオイゲノールとのインキュベーションでは染色体異常は認められなかったが、最高用量の200 $\mu\text{g/mL}$ (1.22 mmol/L)では、対照群(0.8%)に比べて染色体異常出現率のわずかな増加(2.0%)がみられた(Stich et al., 1981)。標準法による染色体異常試験では、S9活性非存在下でオイゲノールが毒性を示すである $\leq 300 \mu\text{g/mL}$ (1.8 mmol/L)では陰性結果となり、S9活性存在下では*オイゲノールの濃度が201~324 $\mu\text{g/mL}$ (1.2~2.0 mmol/L)で弱陽性結果となった(Galloway et al., 1987)。代謝活性化存在下では、オイゲノールは300~324 $\mu\text{g/mL}$ (1.8~2.0 mmol/L)の濃度でチャイニーズハムスター卵巣細胞に染色体異常を誘導し

た (National Toxicology Program, 1983; Tennant et al., 1987)。Fischer 344 雄性ラット及び B6C3F₁ 雌性マウスから単離した肝細胞は、オイゲノールと 0.01642、0.1642、1.642、16.42 又は 164.2 µg/mL (0.1、1、10、100 又は 1000 µmol/L) の濃度でインキュベーションしても不定期 DNA 合成はみられなかった。この試験におけるオイゲノールの LC₅₀ 値は、ラット肝細胞では 49.3 µg/mL (300 µmol/L)、マウス肝細胞では 32.8 µg/mL (200 µmol/L) であり、これらの用量では不定期 DNA 合成の誘導は観察されなかった (Burkey et al., 2000)。同様な試験で 0.1642~164.2 µg/mL (10^{-6} ~ 10^{-3} ** mol/L) のオイゲノールとインキュベーションしたが、ラット肝細胞の不定期 DNA 合成はみられなかったが、乳酸脱水素酵素の活性増加を指標とした細胞毒性は 82.1 µg/mL (5×10^{-4} mol/L) でみられた (Howes et al., 1990)。Sprague-Dawley 雄性ラットの肝細胞を用いた場合、16、41 又は 82 µg/mL (0.1、0.25 又は 0.5 mmol/L) のオイゲノールで 20 時間処理でも不定期 DNA 合成はみられなかった (Allavena et al., 1992)。しかしながら、Fukuda (1987) は、シリアンハムスター胚細胞を用いた不定期 DNA 合成試験を代謝活性化存在下で行ったところ、0.3~1 µg/mL [0.00003~0.0001 % (v/v)] で陽性結果が得られたと報告している。酢酸オイゲニルを 1、2.5、5、10 又は 15 µg/mL の濃度で単離したラット肝細胞とインキュベートしたところ、不定期 DNA 合成は観察されなかったが、乳酸脱水素酵素の漏出を指標とした細胞毒性が 33 µg/mL の濃度で観察された (San & Reece, 2003)。

* 原文では in となっているが、In のタイプミスと理解した。

** 原文では 10^{-6} - 10^{-3} となっているが、 10 の⁻⁶乗~ 10 の⁻³乗のタイプミスと理解した。

In vivo 試験 (p. 193)

CF1 マウス (一群雄 8 匹) にオイゲノールを 100、400 又は 600 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、標準法によるオイゲノールの *in vivo* 小核試験が実施された。投与 30 時間後にと殺して検討した場合、最低用量ではマウスの骨髄の多染性赤血球に小核は認められなかったが、中用量及び高用量では頻度の有意な増加 ($p < 0.01$) が認められた。CF1 マウス (一群雄 8 匹) にオイゲノールを 400 mg/kg 体重で腹腔内投与し、投与 24、30 又は 48 時間後にと殺したところ、そのと殺時間に関わらず、多染性赤血球の小核出現頻度は有意に増加した ($p < 0.01$) (Ellahuene et al., 1994)。

成熟マウス (Swiss-Webster 系、一群雄 12 匹) にオイゲノールを 148 又は 740 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与、又は 14,794 mg/kg 体重の用量で挿管法による経口投与を行った。各動物の大腿骨から骨髄を単離したところ、生理食塩水を投与した対照群に比べて、小核をもつ多染性赤血球が有意に増加していたが、被験物質の濃度が低い場合は腹腔内投与による出現頻度 (18.5~20.5 %) は経口投与による頻度 (5.7 %) よりも高かった (Woolverton et al., 1986)。

様々な系統のマウス (Hayashi et al., 1984; Shelby et al., 1993; Rompelberg et al., 1995) 及びラット (Maura et al., 1989; Allavena et al., 1992; Rompelberg et al., 1996a) を用いた試験で、またヒトリンパ球 (Rompelberg et al., 1996b) を用いた試験で変異原性を示す知見は得られなかった。ddY マウスの雄にオイゲノールを 100、200、400 又は 800 mg/kg 体重で腹腔内投与した場合、多染性赤血球の小核出現頻度の増加は認められなかった (Hayashi et al., 1984)。CD-1 マウスの雄にオイゲノールの 0.4 % 含有飼料

を 15 日間与えた(平均的摂取量は約 680 mg/kg 体重/日)が、骨髄における小核出現率の増加はみられなかった(Rompelberg et al., 1995)。B6C3F1 マウスの雄に 150、300 又は 600 mg/kg 体重/日で連続 3 日間腹腔内投与した場合も、小核は誘導されなかった(Shelby et al., 1993)。

Sprague-Dawley ラット(アルビノ、雄)を用いたオイゲノール(1,340 又は 2,680 mg/kg 体重)の強制経口投与試験が 3 つのプロトコルによって実施されたが、骨髄における小核誘導は認められなかった。1 つ目のプロトコルでは、1,340 mg/kg 体重での投与 20 時間後に肝臓を部分的に切除し、その 48 時間後にと殺した。2 つ目のプロトコルでは、オイゲノールを 2,680 mg/kg 体重で投与し、その 6 又は 30 時間後にと殺した。3 番目のプロトコルでは、オイゲノールを 1,340 mg/kg 体重で投与し、その 2 時間後にと殺した。これらのプロトコルで行った試験結果には正の用量依存性は認められなかった。オイゲノールを 1,340 又は 2,680 mg/kg 体重で強制経口投与したラットから単離した肝細胞を 4 又は 20 時間初代培養しても、DNA の断片化の誘導は認められなかった(Allavena et al., 1992)。

Sprague-Dawley ラット(一群雄 4 匹)にオイゲノールを水懸濁液として 335、670 又は 1,340 mg/kg 体重で経口投与した。この試験ではと殺する 30 時間前に投与量の半分を、また 6 時間前に残りの半分を投与した。これらの動物の骨髄には小核をもつ多染性赤血球は認められなかった。1,340 mg/kg 体重でのオイゲノール投与 2、24 又は 48 時間後では、肝臓又は腎臓における DNA の断片化は認められなかった。さらに、オイゲノールを 1.5、5 又は 10 mmol/kg 体重(164.2、821.0 及び 1,642 mg/kg 体重)の用量で強制経口投与しても、突然変異頻度に有意な増加は認められず、肉芽腫細胞における DNA の断片化も誘導しなかった。著者らは、ほ乳動物細胞にオイゲノールの変異原性及び染色体異常誘発能が *in vitro* で観察されたことは、*in vivo* では存在する解毒に必要な酵素が *in vitro* の系には存在しないことによるものである可能性を指摘している(Maura et al., 1989)。

同様な試験において、Wistar ラットの雄にオイゲノールをコーンオイル懸濁液として 0、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日の用量で 10 日間強制経口投与した。対照群と比較して、いずれの用量群においても骨髄における小核をもつ多染性赤血球の出現率には有意な増加は認められなかった。同様な条件下でオイゲノールを 500 mg/kg 体重/日の用量で 10 日間経口投与した Wistar ラットの雄から得た肝細胞の初代培養では不定期 DNA 合成は認められなかった。著者らは、オイゲノールを 1,000 mg/kg 体重で投与したラットの肝細胞における不定期 DNA 合成についての結果を報告していない(Rompelberg et al., 1996a)。

健常男性ボランティア(10 名)におけるプラセボ対照薬を用いた 7 日間投与によるクロスオーバー試験が実施された。この試験では 1 週間の休薬期間が設けられた。ボランティアは、プラセボ薬又はオイゲノールを 1 カプセル(50 mg/カプセル)を 1 日 3 回、すなわち 1 日あたり 150 mg のオイゲノールを経口で服用した。ボランティアの体重(68~88 kg)から、オイゲノールの用量は約 1.7~2.2 mg/kg 体重/日となる。血液の一部を 8 及び 22 日に採取し、小核及び染色体異常の有無を調べたところ、ヒトリンパ球における小核の出現も染色体の異常もバックグラウンドレベルにあり、オイゲノールによるそれらの出現頻度の増加は認められなかった(Rompelberg et al., 1996b)。

結論 (p. 195)

このグループにおける代表的な化学物質であるオイゲノール (No. 1529) については、ネズミチフス菌 (*S. typhimurium*) 及び大腸菌 (*E. coli*) の種々の試験菌株を用いた復帰突然変異試験の結果は一貫して陰性であった。また枯草菌 (*B. subtilis*) の M45 (rec⁻) 細胞及び H17 (rec⁺) 細胞を用いた DNA 修復試験でも全般的に陰性結果となり、400 µg/ディスクの濃度でのみ DNA 修復の陽性結果が得られたが、一方で、これよりも高い濃度 (≤100,000 µg/ディスク) で行った同様な試験では、陰性結果となった。ラット及びマウスの肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験では、オイゲノールは ≤164.2 µg/mL の濃度で、また酢酸オイゲニルは ≤15 µg/mL の濃度で遺伝毒性を示さなかったが、シリアンハムスター胚細胞を用いた試験でオイゲノールが ≤1 µg/mL の濃度で陽性結果を示したという報告が 1 つある。ほ乳動物細胞を用いた *in vitro* 試験 (マウスリンフォーマ細胞における前進突然変異試験、姉妹染色分体交換試験及び染色体異常試験) では、変異原性が検出されたが、これらの試験はいずれも被験物質が細胞毒性又は重度の細胞周期の遅延をもたらす濃度を用いて実施されたものである。ほ乳動物細胞の培養系には、そのような毒性に対抗するを解毒的な代謝経路がない。一般に、*in vivo* の変異原性試験 (小核試験、染色体異常試験及び突然変異試験) 及び遺伝毒性試験 (不定期 DNA 合成試験及び DNA 断片化試験) では、オイゲノールは、非常に高い用量 (腹腔内投与では ≤800 mg/kg 体重、経口投与では ≤2,680 mg/kg 体重) でも陰性となった。小核の誘導については 2 つの報告があるが、腹腔内投与による場合は 740 mg/kg 体重、経口投与による場合は 14,794 mg/kg 体重と、いずれも高用量でみられたものである。得られた試験結果によると、オイゲノール及びその他のヒドロキシプロピルベンゼン誘導体を香料料として用いる条件下では、それらがヒトに対して有意な変異原性や遺伝毒性を示す可能性はほとんどないものと考えられる。

参考文献 (p. 195)

オイゲノールの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 2006）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	マウス	不明	LD ₅₀ : 3,000 mg/kg 体重
急性毒性 (経口)	ラット	不明	LD ₅₀ : 1,194*, 1,930, 2,680 mg/kg 体重 *: プロピオン酸フェネチル: オイゲノール (7:3) の混合物で報告された LD ₅₀ (3,980 mg/kg 体重) から算出された値
急性毒性 (経口)	モルモット	不明	LD ₅₀ : 2,130 mg/kg 体重
亜急性毒性 (14日間混餌 経口)	マウス(B6C3F ₁)	0, 6,000, 12,500、 25,000, 50,000、 10,000 ppm で混餌投 与。一日摂取量は、900、 1,875, 3,750, 7,500、 15,000 mg/kg 体重	NOEL: 900 mg/kg 体重/日 (雄)、1,875 mg/kg 体重/日 (雌)
亜急性毒性 (35日間強制 経口)	マウス(CD-1)	410 mg/kg 体重/日	NOEL: 410 mg/kg 体重/日
亜急性毒性 (91日間混餌 経口)	マウス(B6C3F ₁)	0, 400, 800, 1,500、 3,000, 6,000 ppm で混 餌投与。一日摂取量は、 0, 60, 120, 225, 450、 900 mg/kg 体重	NOEL: 900 mg/kg 体重/日
亜急性毒性 (10日間強制 経口)	ラット(Wistar)	0, 250, 500, 1,000 mg/kg 体重/日	この試験で有害事象が認められなかった最 高用量: 1,000 mg/kg 体重/日
亜急性毒性 (14日間混餌 経口)	ラット(Fischer 344/N)	600, 1,250, 2,500、 5,000, 10,000 mg/kg 体 重/日	NOEL: 1,250 mg/kg 体重/日
亜急性毒性 (28日間混餌 経口)	ラット(Fischer 344)	2,000 mg/kg 体重/日	この試験で有害事象が認められなかった最 高用量: 2,000 mg/kg 体重/日
亜急性毒性 (34日間強制 経口)	ラット (Osborn-Mendel)	初期用量 1,400 mg/kg 体 重/日からその後の 34 日 間に 4,000 mg/kg 体重/ 日にまで増加	NOEL: <1,400 mg/kg 体重/日

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
亜急性毒性 (90日間混餌 経口)	ラット(系統不明)	オイゲノール:アニスアル デヒド:ヘリオトロピン (123:10:22)の混合物と して混餌投与。平均一日 摂取量は雄で84.1 mg/kg体重/日、雌で94.4 mg/kg体重/日	この試験で有害事象が認められなかった最 高用量:84.1 mg/kg体重/日(雄)、94.4 mg/kg体重/日(雌)
亜急性毒性 (91日間混餌 経口)	ラット(Fischer 344/N)	0、800、1,500、3,000、 6,000、12,500 ppmで混 餌投与。一日摂取量は 0、80、150、300、600、 1,250 mg/kg体重/日	NOEL:1,250 mg/kg体重/日
亜急性毒性 (133日間混 餌経口)	ラット (Osborn-Mendel)	オイゲノール 0、50、500 mg/kg体重/ 日	この試験で有害事象が認められなかった最 高用量:1,000 mg/kg体重/日
慢性毒性 (365日間混 餌経口)	マウス	0.5%で混餌投与。平均 一日摂取量は750 mg/kg 体重/日。	NOEL:750 mg/kg体重/日
発がん性 (735日間混 餌経口)	マウス(B6C3F ₁)	0、3,000、6,000 ppmで 混餌投与。一日摂取量 は、0、450、900 mg/kg 体重	NOEL:450 mg/kg体重/日
発がん性 (735日間混 餌経口)	ラット(Fischer 344/N)	雄:0、3,000、6,000 ppm で混餌投与。一日摂取量 は、0、150、300 mg/kg 体重 雌0、6,000、12,500 ppm で混餌投与。一日摂取量 は、0、300、625 mg/kg 体重	NOEL:300 mg/kg体重/日(雄)、625 mg/kg体重/日(雌)
変異原性 (復帰突然変 異)	ネズミチフス菌 TA1530、 TA1531、 TA1532、TA1964	0.02、0.2 mol/L(3,284、 32,841 µg/mL)	陰性(代謝活性化存在下)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA1530、 TA1531、 TA1532、TA1964	1～5 mg/プレート(1,000 ～5,000 µg/プレート)	陰性(代謝活性非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1538、TA1537	2,000 µg/プレート	陰性(存在下及び非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA92、TA94、 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	≤2,000 µg/プレート	陰性(代謝活性化存在下、プレインキューベーション法による)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3 µmol/プレート(492.6 µg/プレート)	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、スポットテスト)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1538、TA1537	32.84 µg/プレート	陰性(代謝活性化非存在下、スポットテスト)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	333 µg/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、陰性となった最高用量)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1538、TA1537	60、120、300、600 µg/プレート	陰性(代謝活性化非存在下、最高用量で細胞毒性あり) 陰性(代謝活性化存在下、プレインキューベーション法による、最高用量で細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA97、TA98、 TA100、TA104	3,000 µg/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、スポットテスト、TA97、TA98、TA100、TA104 に対して 3000 µg/プレートで細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	不明	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、懸濁液を用いる変法)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	2 mL のインキュベーションあたり 0.01~3 μ L (5~1,605 μ g/mL)	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、最高用量で細胞毒性あり、懸濁液を用いる変法)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA100	0.1~1,000 μ g/プレート	陰性
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100	2500 μ g/mL	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	10、150、300、600、 1200 μ g/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、最高用量で細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1538、TA1537	2000 μ g/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA100、TA102、 TA1535	50~400 μ g/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100	\leq 30 μ mol/プレート(4,926 μ g/プレート)	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、5 μ mol/プレートで細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	0.5、5、50、500、5000 μ g/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、最高用量で細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3~333.3 μ g/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、最高用量で細胞毒性あり)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100	0.05~100 μ L (53.5~107,000 μ g/プレート)	陰性(代謝活性化存在下)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	0.5～500 µg/プレート	陰性(代謝活性化法による場合とよらない場合、TA98 では 500 µg/プレートで統計学的に有意、また TA1537 では 10、50、150 及び 500 µg/プレートで統計学的に有意。3 本だての試験で 1 番目だけで復帰突然変異株の数が陰性対照の少なくとも 2 倍)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA1535	0.5～500 µg/プレート	陽性(代謝活性化法による場合、3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸を代謝活性化系に添加) 陰性(代謝活性化非存在下)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	5～500 µg/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、プレインキュベーション法による)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA97、TA98、 TA100	1000 µg/mL	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、プレインキュベーション法による)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA97、TA98、 TA100、TA102	プレートあたり 0.25～6 µmol/L(41～985 µg/プレート)	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、プレインキュベーション法による、代謝活性化の存在下及び非存在下でも、TA97 及び TA100 に対しては作用を示さず、TA98 及び TA102 に対しては弱い作用を示す)
変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌 TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3～333.3 µg/プレート	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在下、プレインキュベーション法による)
変異原性 (復帰突然変異)	大腸菌 WP2 uvrA (trp ⁻)	60、120 及び 300、600 µg/プレート	陰性(代謝活性化非存在下、最高用量で細胞毒性あり) 陰性(代謝活性化存在下、プレインキュベーション法による、最高用量で細胞毒性あり)
変異原性 (DNA 修復)	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17(rec ⁺)	1～100 mg/ディスク (1,000～100,000 µg/ディスク)	陰性
変異原性 (DNA 修復)	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17(rec ⁺)	400 µg/ディスク	陽性(代謝活性化非存在下)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
変異原性 (DNA 修復)	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17(rec ⁺)	21 µg/ディスク	陰性
変異原性 (前進突然変異)	L5178Y マウスリン フォーマ細胞	21.3 µg/mL	陽性(代謝活性化非存在下、陽性結果とな った最低用量)
変異原性 (前進突然変異)	L5178Y マウスリン フォーマ細胞	20~120 nL/mL (21~128 µg/mL)	陽性(代謝活性化非存在下、64 及び 128 µg/mL で細胞毒性あり)
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	ヒト末梢リンパ球	0~0.5 mmol/L (0~82 µg/mL)	陰性
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	273~326 µg/mL	陽性(代謝活性化非存在下、細胞周期の 重度の遅延を引き起こす用量で増加)
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	11~123 µg/mL	弱陽性(代謝活性化非存在下、統計学的 に有意であるが、対照の 2 倍までの増加な し)
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	シリアンハムスター 胚細胞	0.00003~0.001 %v/v (0.3~10 µg/mL)	弱陽性(統計学的に有意であるが、対照の 2 倍までの増加なし)
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	75~326 µg/mL	陽性(代謝活性化の存在下及び非存在下)
遺伝毒性 (姉妹染色分 体交換)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	75 µg/mL	陽性(代謝活性化の存在下及び非存在 下、陽性結果となった最低用量)
遺伝毒性 (染色体異 常)	チャイニーズハムス ター線維芽細胞	125 µg/mL	陰性(用いた用量の中で、24 時間では細 胞毒性を示さない最高用量) 陽性(用いた用量の中で、48 時間では最 大作用が観察された用量)
遺伝毒性 (染色体異 常)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	198~300 µg/mL	陰性(代謝活性化の存在下及び非存在 下、最高用量で細胞毒性あり)
遺伝毒性 (染色体異 常)	チャイニーズハムス ター卵巢細胞	201~324 µg/mL	弱陽性(代謝活性化存在下、初回の試験 で約 10.5 時間固定した細胞では最高用量 で染色体異常が若干増加、20 時間の収穫 時間による 2 回目の試験で明確な増加)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
遺伝毒性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	50、100、200 µg/mL	陰性(対照群(0.8%)に対する相対的な発現率が200 µg/mL(2.0%)でわずかに増加)
遺伝毒性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	0.8~1.6 mmol/L (131~263 µg/mL)	陽性(代謝活性化存在下。初回試験で15.0及び24.5時間で細胞を収穫したところ、0.8 mmol/Lでのインキュベーション後の細胞生存率はそれぞれ対照群における生存率の57%及び37%で、1.2 mmol/Lでのインキュベーション後の細胞生存率はそれぞれ対照群の53%及び43%。染色体異常細胞は、0.8 mmol/Lでのインキュベーション後15時間の収穫したときに最大25.5%まで増加。2回目の試験では、1.2~1.6 mmol/Lで、1回目の試験での0.8 mmol/Lでの細胞毒性と同程度。染色体異常細胞が最大(26.5%)となったのは、1.6 mmol/Lでのインキュベーション後17時間に収穫したとき。
遺伝毒性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	1.2、1.4、1.6 mmol/L (197、230、263 µg/mL)	陽性(代謝活性化存在下、最高用量で細胞毒性あり、オイゲノールによる3時間の処理を開始後20~21時間又は42~44時間に細胞を収穫した。1.6 mmol/Lのオイゲノールとインキュベーション後20時間に細胞周期の重度の遅延が観察され、染色体異常は対照群の約50%までの細胞数の減少を伴っていた。)
遺伝毒性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	198~324 µg/mL	陽性(代謝活性化存在下)
遺伝毒性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	300 µg/mL	陽性(代謝活性化存在下、陽性結果となった最低用量)
遺伝毒性 (不定期DNA合成)	Fischer 344 雄性ラット肝細胞	0.1~1,000 µmol/L (0.01642~164.2 µg/mL)	陰性

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	B6C3F ₁ 雌性マウス 肝細胞	0.1~1,000 µmol/L (0.01642~164.2 µg/mL)	陰性
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	Fischer 344 雄性 ラット肝細胞	10 ⁻⁶ ~10 ⁻³ mol/L (0.1642~164.2 µg/mL)	陰性 (500 µmol/L で細胞毒性)
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	シリアンハムスター 胚細胞	0.00003~0.0001 %v/v (0.3~1 µg/mL)	陽性 (代謝活性化存在下)
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	Sprague-Dawley 雄性ラット肝細胞	0.1, 0.25, 0.5 mmol/L (16, 41, 82 µg/mL)	陰性
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	Sprague-Dawley 雄性ラット肝細胞	1, 2.5, 5, 10, 15 µg/mL	陰性 (10 及び 15 µg/mL で細胞毒性)
遺伝毒性 (小核誘導)	Swiss CD-1 雄性 マウス (骨髄)	680 mg/kg 体重/日で 15 日間	陰性 (混餌投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	B6C3F ₁ 雄性マウス (骨髄)	150, 300, 600 mg/kg 体 重/日で 3 日間	陰性 (腹腔内投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	ヒト (リンパ球)	150 mg/日で 7 日間 (1.7 ~2.2 mg/kg 体重/日、ボ ランティアの体重範囲の 68~88 kg から用量の範 囲を計算)	陰性 (経口投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	CF1 雄性マウス (骨 髄)	400 mg/kg 体重	陽性 (腹腔内投与、腹腔内投与後 24、30、 48 時間に試料を採取)
遺伝毒性 (小核誘導)	Sprague-Dawley 雄性ラット (骨髄)	1,340, 2,680 mg/kg 体重	陰性 (強制経口投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	CF1 雄性マウス (骨 髄)	100, 400, 600 mg/kg 体 重	陽性 (腹腔内投与、腹腔内投与後 30 時間 に 1 回試料を採取、400 及び 600 mg/kg 体重の用量で有意な増加)
遺伝毒性 (小核誘導)	Sprague-Dawley 雄性ラット (肝臓と 骨髄)	1,340 mg/kg 体重	陰性 (強制経口投与、オイゲノール投与前 20 時間にラットの肝臓の 2/3 を切除した)
遺伝毒性 (小核誘導)	Wistar 雄性ラット (骨髄)	500, 1,000 mg/kg 体重/ 日で 10 日間	陰性 (経口投与、1,000 mg/kg 体重/日で 多染性赤血球のパーセンテージはわずか で統計学的には有意でない増加)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
遺伝毒性 (小核誘導)	Sprague-Dawley 雌性ラット(骨髄)	335、670、1,340 mg/kg 体重	陰性(強制経口投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	ddY 雄性マウス(骨 髄)	100、200、400、800 mg/kg 体重	陰性(腹腔内投与)
遺伝毒性 (小核誘導)	Swiss-Webster 雄 性マウス(骨髄)	148(腹腔内投与)、740 (腹腔内投与)、14,794 mg/kg 体重(経口投与)	陽性
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	Sprague-Dawley 雄性ラット(肝細胞)	1,340、2,680 mg/kg 体重	陰性(強制経口投与)
遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	Wistar 雄性ラット (肝細胞)	500、1,000 mg/kg 体重/ 日で 10 日間	陰性(強制経口投与、500 mg/kg 体重のオ イゲノールで前処理したラットの肝細胞を <i>in vitro</i> でジメチルスルホキシドに暴露する と、対照群の肝細胞よりも平均ネット核グレ イン数は有意に低かった。1,000 mg/kg 体 重のオイゲノールとジメチルスルホキシドに よる結果は得られていない)
遺伝毒性 (DNA 断片 化)	Sprague-Dawley 雌性ラット(肉芽腫 細胞)	1、5、10 mmol/kg 体重 (164、821、1,642 mg/kg 体重)	陰性(強制経口投与)
遺伝毒性 (DNA 断片 化)	Sprague-Dawley 雌性ラット(肝臓と 腎臓)	1,340 mg/kg 体重	陰性(強制経口投与)
遺伝毒性 (DNA 断片 化)	Sprague-Dawley 雄性ラット(肝臓細 胞)	1,340、2,680 mg/kg 体重	陰性(強制経口投与、播種 4 及び 20 時間 後に観察)
遺伝毒性 (染色体異 常)	ヒト(リンパ球)	150 mg/日で 7 日間(1.7 ~2.2 mg/ kg 体重/日) ^{gs}	陰性(経口投与)
遺伝毒性 (突然変異)	Sprague-Dawley 雄性ラット(肉芽腫 細胞)	1、5、10 mmol/kg 体重 (164、821、1,642 mg/kg 体重) ^a	陰性(強制経口投与)

ギ酸オイゲニルの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 2006）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	ラット	不明	LD ₅₀ : 1,670、2,600、3,400 mg/kg 体重

酢酸オイゲニルの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 2006）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性 (経口)	ラット	不明	LD ₅₀ : 1,670 mg/kg 体重
亜急性毒性 (133 日間混餌 経口)	ラット (Osborn-Mendel)	0、100、250、1,000 mg/kg 体重/日	この試験で有害事象が認められなかった最 高用量: 1,000 mg/kg 体重/日

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
BSO	buthionine sulfoximine	ブチオニンスルホキシミン
GSH	glutathione	グルタチオン
UDPGT	UDP-glucuronosyltransferase	UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ

オイゲノール 評価書和訳と情報整理

EFSA:2009

ウェブサイト:<http://www.EFSA.europa.eu/en/EFSAjournal/doc/965.pdf>

EFSA Journal 965, 2009

オイゲノール 評価書和訳と情報整理 EFSA (2009) 目次

1.1. 定義 (原文 p.6)	110
1.2. 異性体(原文 p.7)	110
1.2.1. FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA) 状況 (原文 p.6)	110
1.2.2. 欧州食品安全機関(EFSA) 考察 (原文 p.7)	111
1.3. 仕様.....	111
1.3.1. JECFA の状況 (原文 p.7)	111
1.3.2. 欧州食品安全機関(EFSA) の考察 (原文 p.7)	111
2. 摂取量の推定 (原文 p.7)	111
2.1. JECFA の状況	111
2.2. EFSA の考察	111
3.1. 遺伝毒性試験—JECFA の文章(JECFA、2007a)	112
3.2. 遺伝毒性試験 –EFSA の文章(EFSA, 2007m) (原文 p.13)	117
3.3. 追加遺伝毒性試験 (原文 p.14)	119
3.4. 遺伝毒性に関する EFSA の考察 (原文 p.15).....	119
3.5. オイゲノールの長期毒性及び発がん性についての EFSA の考察 (原文 p.16)	120
4. 手順の適用 (原文 p.17).....	121
4.1. JECFA によるオイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体への手順の適用 (JECFA, 2007a)。:.....	121
4.2. EFSA による 23 の環置換フェノール性物質に対する手順の適用 (EFSA, 2007m)	122
4.3. EFSA の考察 (原文 p.18)	123
5. 結論 (原文 p.18)	123
オイゲノールの毒性試験と結果の概要 (評価書:EFSA 2009)	152
略称	152

原文 目次

原文ページ

要約	1
キーワード	2
背景	4
委任事項	4
評価	4
摂取	5
遺伝毒性	6
特異性	6
構造的関係	6
1. JECFA香料グループにおける物質の表示	6
1.1. 定義	6
1.2. 異性体	7
1.3. 仕様	7
2. 摂取量予測	7
2.1. JECFAの状況	7
2.2. 欧州食品安全機関(EFSA)の考察	7
3. 遺伝毒性及び毒性データ	8
3.1. 遺伝毒性試験－JECFAの文章(JECFA, 2007a)	8
3.2. 遺伝毒性試験－EFSAの文章(EFSA, 2007m)	13
3.3. 追加遺伝毒性試験	14
3.4. 遺伝毒性に関するEFSAの考察	15
3.5. オイゲノールの長期毒性及び発がん性についてのEFSAの考察	16
4. 手順の適用	17
4.1. JECFAによるオイゲノール及び6つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体への手順 の適用(JECFA, 2007a):	17
4.2. EFSAによる23の環置換フェノール性物質に対する手順の適用(EFSA, 2007m)	17
4.3. EFSAの考察	18
5. 結論	18
表1: 現在のグループにおけるJECFA評価物質に関する特性概要	20
表2: 遺伝毒性データ	22
表2.1: オイゲノール及び6つの関連する ヒドロキシアリルベンゼン誘導体の遺伝毒性データ (<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>) (JECFA, 2007a)	22
表2.2: 環置換フェノール性物質の遺伝毒性(<i>in vitro</i>) (EFSA, 2007m)	28
表2.3: 環置換フェノール性物質の遺伝毒性(<i>in vivo</i>) (EFSA, 2007m)	40
表3: 安全性評価表の概要	42
表3.1: オイゲノール及び6つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体に関する安全性評価 の概要(JECFA, 2007a)	42
表3.2: 手順(EFSA/FG.22)を適用している安全性評価の概要	44
引用文献	
科学委員会メンバー	
謝辞	

TABLE OF CONTENTS

Summary	1
Keywords	2
Background	4
Terms of Reference	4
Assessment	4
Intake.....	5
Threshold of 1.5 Microgram/Person/Day (Step B5) Used by the JECFA	5
Genotoxicity	6
Specifications.....	6
Structural Relationship	6
1. Presentation of the Substances in the JECFA Flavouring Group.....	6
1.1. Description	6
1.2. Isomers	7
1.3. Specifications	7
2. Intake Estimations	7
2.1. JECFA Status	7
2.2. EFSA Considerations.....	7
3. Genotoxicity and Toxicity Data.....	8
3.1. Genotoxicity Studies – Text Taken from the JECFA (JECFA, 2007a)	8
3.2. Genotoxicity Studies - Text Taken from EFSA (EFSA, 2007m)	13
3.3. Additional Genotoxicity Studies.....	14
3.4. EFSA Considerations on Genotoxicity.....	15
3.5. EFSA Considerations on Long-Term Toxicity and Carcinogenicity of Eugenol	16
4. Application of the Procedure	17
4.1. Application of the Procedure to Eugenol and Six Related Hydroxyallylbenzene Derivatives by the JECFA(JECFA, 2007a):	17
4.2. Application of the Procedure to 23 Ring Substituted Phenolic Substances by EFSA (EFSA, 2007m)	17
4.3. EFSA Considerations.....	18
5. Conclusion.....	18
Table 1: Specification Summary for JECFA Evaluated Substances in the Present Group	20
Table 2: Genotoxicity Data	22
Table 2.1: Genotoxicity Data (<i>in vitro</i> / <i>in vivo</i>) for Eugenol and Six Related Hydroxyallylbenzene Derivatives(JECFA, 2007a)	22
Table 2.2: Genotoxicity (<i>in vitro</i>) for Ring Substituted Phenolic Substances (EFSA, 2007m)	40
Table 2.3: Genotoxicity (<i>in vivo</i>) for Ring Substituted Phenolic Substances (EFSA, 2007m)	40
Table 3: Summary of Safety Evaluation Tables	42
Table 3.1: Summary of Safety Evaluation of Eugenol and Six Related Hydroxyallylbenzene Derivatives (JECFA)	42
Table 3.2: Summary of Safety Evaluation Applying the Procedure (EFSA / FGE.22)	44
References:	47
Scientific Panel Members	53
Acknowledgement	53

香料グループ評価60(FGE. 60)¹

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)(第 65 回会議)により評価され、香料グループ評価(FGE.)22 において欧州食品安全機関(EFSA)(2006)により評価された、環置換フェノール性物質に構造的に関係するオイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の検討

食品添加物、香料、加工補助剤及び食品と接触する材料に関する科学委員会の意見(AFC)

(EFSA質問-2008-32L)

2008年4月1日採用

要約 (原文 p.1)

食品添加物、香料、加工補助剤及び食品と接触する材料に関する科学委員会(委員会)は、加盟国の食品中又は食品と接触する物に使用する化学的に定義された香味剤がヒトの健康に及ぼす影響について、助言するよう依頼されている。特に委員会は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)が 2000 年以来評価した香料について考察し、委員会規則(欧州委員会(EC))No 1565 /2000 に定めるよう今後の評価の必要性を決めるように要請されている。これらの香味剤は、委員会決定 1999/217/EC とその後の改正によって採択された原簿に記載される。

第 65 回 JECFA により評価されたオイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体についての現在の考察を検討し、香料グループ評価 22 (FGE.22) において評価された 23 環置換フェノール性物質についての EFSA 評価との関連性を考察する。

委員会は、オイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の JECFA の香料グループにおける 7 物質が、香料グループ評価 22 (FGE.22) において欧州食品安全機関(EFSA)が評価したフェノール性物質と構造的に関連性があるとした。

委員会は、JECFA により実施された手順の適用について同意する。オイゲノール[FL 番号: 04.003]の欧州連合(EU)における調査から出された最大一日摂取量(MSDI)は、構造クラスの閾値未満のため、手順スキーム

¹引用目的: オイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体に関する食品添加物、香料、加工補助剤及び食品と接触する材料に関する科学委員会の意見。第 65 回 JECFA 会議で評価した物質について EC から意見を求められている。これらの物質は、香料グループ評価 22 (FGE.22) (2006) において EFSA が評価した環置換フェノール様物質に構造的に関連している。欧州食品安全機関(EFSA)ジャーナル(2009)53 の 1

におけるステップ A3 では安全上の懸念はないとされた。さらに、300 mg/kg 体重の無毒性量 (NOAEL) が特定された。

この FGE の中で検討された 3 物質 [FL 番号:04.058、04.096 及び 09.878] の使用レベルは、それぞれ 360、420 及び 2,300 µg/ヒト/日という Theoretical Added Maximum Daily Intake (mTAMDI) 改訂版による値に相当し、利用可能である。これらの物質のうち 1 物質 [FL 番号: 09.878] は、mTAMDI が構造クラス I の閾値を上回る。残り 4 物質 [FL 番号: 04.003、09.020、09.088 及び 09.766] の使用量は、さらに正確な暴露評価を必要とする香味剤を特定し、及び評価を確定するために mTAMDI の計算に必要とされる。

JECFA が評価した 7 物質が商業用として適用可能か決定するために、利用可能な仕様を検討する余地がある。:

完全純度の基準及び認証試験を含む適切な仕様は、JECFA が評価した 7 物質のうち 6 物質について利用可能である。1 物質 [FL 番号: 09.088] は、混合物の組成情報が必要である。

従って、委員会は、1 物質 [FL 番号: 09.088] に関して保留条件をつける (混合物の組成が要求される)。残り 6 物質 [FL 番号: 04.003、04.058、04.096、09.020、09.766 及び 09.878] に関して、MSDI 法に基づき「香味剤としての推定摂取量で安全上問題はない」とする JECFA の結論に委員会は同意する。

キーワード (原文 p.2)

オイゲノール、ヒドロキシアリルベンゼン誘導体、JECFA、第 65 回会議、環置換フェノール性物質、FGE.22、ヒドロキシプロペニルベンゼン誘導体。

FGE.22 :

http://www.EFSA.europa.eu/EFSA/EFSA_locale-1178620753812_1178620772628.htm

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) 評価:

http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660562_part2_c_eng.pdf

背景 (原文 p.4)

欧州議会及び協議会 (欧州委員会 (EC)、1996) 規制 (EC) No2232/96 は、香味剤リストの制定について手順を定めた。EU 内ではリスト以外の物質は認可されない。規制の適用において、加盟国の食品に含まれる又は食品と接触する物に使用する香味剤の登録は委員会決定 1999/217/EC (EC、1999a) で採択され、委員会決

定 2006/252/EC (EC, 2006) で修正された。各香料には FLAVIS 番号 (FL 番号) を付け、34 の化学基に分類する。分類内の物質は共通の代謝及び生物学的挙動をすると考えられるものである。

登録された物質は、委員会規則 (EC) No 1565/2000 (EC, 2000a) に規定する評価プログラムに従って評価される。評価は広く食品科学委員会 (SCF, 1999) の意見を踏まえることとする。

委員会規則 (EC) 1565/2000 は、現在登録中及び今後 JECFA が分類する物質を定める。それにより EFSA は、現在の摂取量において安全性の懸念がないことを表明し、それ以上の評価は必要ないことを決定する。

2000 - 2006 年の第 55 回、57 回、59 回、61 回、63 回及び 65 回会議期間に、JECFA は、欧州連合 (EU) に登録されている約 900 の物質を評価した。

委任事項 (原文 p.4)

EFSA は、2000 年以來に評価された香味剤の JECFA の評価を考察し、委員会規則 (EC) No 1565/2000 (EC, 2000a) に従って今後さらに評価が必要であるかを定めるように要請される。これらの香味剤は、委員会決定 1999/217 EC (EC, 1999a) 及びその後の改正によって採択され登録される。

評価 (原文 p.4)

香味剤の安全評価のため EFSA が使用した方法は、委員会規則 (EC) No 1565/2000 (EC, 2000a) に記され (以下「EFSA 手順」という。) た。この手順は食品科学委員会 (SCF, 1999) の意見に基づくものである。EFSA 手順は JECFA (JECFA, 1995 ; JECFA, 1996a; JECFA, 1997a; JECFA, 1999b) の評価手順 (以下「JECFA 手順」という。) を踏まえたものである。食品添加物、香料、加工補助剤及び食品と接触する材料に関する科学委員会は、構造的に関連性がある物質の JECFA の評価と対応する EFSA の評価を、仕様、摂取量予測及び毒性データ、特に遺伝毒性データを重視して比較する。EFSA の評価により香味剤の推定摂取量から安全性上問題がないかどうか、追加データが必要かどうか又は特定物質を EFSA 手順により評価すべきかどうかについて結論が出されると思われる。

以下は特に重要事項となる。

摂取 (原文 p.5)

評価において、委員会は既定値として調査由来の最大一日摂取量 (MSDI) 法を用いて、欧州における 1 人当たりの香味剤の摂取量を推定する。

JECFA は、欧州及び米国の生産統計の両方から求めた MSDI 法に基づく推定摂取量を評価に含める。JECFA は二つの MSDI の最高値を評価に用いる。米国の MSDI のみの例も数例あり、JECFA が米国の MADI 値に基づいて評価した物質もある。このため委員会が評価を確定するには、評価物質の欧州連合 (EU)

生産統計が必要となる。

委員会が、様々な食品における使用量に関する欧州香料産業からの情報を検討した際、多くの場合、香料産業の報告による使用量に基づき、香料を用いた製品についての消費者の摂取量(特に年間の生産量が過小報告されていた場合に、摂取量は著しく減少する)を推測するため、MSDI 法は摂取量を著しく低く見積もることが明らかになった。そのため委員会は提供された使用及び使用量のデータ並びに MSDI 法によって得られた推定摂取量に疑問を抱いた。JECFA 第 65 回会議では、“MSDI による推測値が食品における予想平均使用量から推定する食餌性暴露より著しく低いと考えられるため、どのように香料の同定及び評価を改善するか”について検討された(JECFA, 2006c)。

委員会が、香味剤の摂取量をより实际的に予想するためのさらに正確な情報がないため、委員会は香料産業が報告した通常使用レベルに基づく Theoretical Added Maximum Daily Intake 改訂(mTAMDI)法を用いて1人当たりの1日摂取量を求めることも決定した。

香味剤の使用量についての情報は JECFA では求められず、委員会にも提供されなかったため、JECFA により評価された物質について、mTAMDI 法を用いて1日摂取量を推量することはできない。評価を確定するために、委員会は使用量の情報を必要とする。

JECFAにより用いられた閾値 1.5 µg/ヒト/日 (ステップB5)

JECFA は評価手順の一部として 1.5 µg/ヒト/日の関係閾値を使用する:

“委員会はこの値を、いくつかの保守的な家庭に関連して発がん性があると思われる既知の発がん物質のリスク分析より導いた。この値の使用は、発生毒性、神経毒性及び免疫毒性についての追加情報により確認された。委員会の判断では、データ不足の香味剤は、初期の手順により評価可能であり、摂取量が1.5 µg/ヒト/日を超過しなければ安全上問題はないであろうとされた。第46回会議で使用した香料企業の安全性評価の手順に関して、**最初の手順の右側(right-hand side of the original procedure)***の最終ステップを含むように修正することを委員会は推奨した(“使用条件から摂取量は1.5 µg/ヒト/日以上となる?”)(JECFA, 1999b)。

*具体的内容は明記されていない。原文通り訳した。

食品科学委員会(SCF, 1999)の意見に従い、委員会は 1.5 µg/ヒト/日の閾値を使用しない。

遺伝毒性 (原文 p.6)

食品科学委員会(SCF)の意見に反映するために(SCF, 1999)、委員会は、主に香味剤又は構造的に関連性のある物質の遺伝毒性の可能性について評価する。一般に、委員会が *in vitro*において遺伝毒性の可能性があると判断した物質は、さらに遺伝毒性データが提供されるまでは EFSA 手順による評価は行わない。*in vivo*において遺伝毒性の可能性があると判断した物質は手順により評価しない。

仕様

仕様については、委員会による評価ではJECFAと異なる意見が導き出される可能性がある。委員会は、例えば異性体に関する情報を求めるたりする。

構造的関係

JECFAが評価した物質の考察の中で、委員会は香料グループの物質の構造的関係及び代謝機能を調べ、これを該当香料グループ評価(FGE)と比較する。

1. JECFA 香料グループにおける物質の表示(原文 p.6)

1.1. 定義 (原文 p.6)

1.1.1. *JECFA* の状況

JECFA はオイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体で構成されている 7 種の香味剤を評価した。

1.1.2. *EFSA* の考察

委員会は、このグループの物質は FGE.22 において EFSA が評価したフェノール様物質と関連性があると結論した。FGE.22 にはアリル基の 2-又は 4-位に遊離フェノール基を持つ数種及び、さらに多くはアルコキシ型置換基も有する物質が含まれる。オイゲノール誘導体と同様に FGE.22 において考察される物質は全て遊離フェノール基を持つか、加水分解によりフェノール類を放出するフェノールエステル類である。そのため FGE.22 に含まれる物質は、JECFA により評価されたオイゲノール誘導体の確認物質(supporting substances)と考えられる。

委員会はまた、サフロール、エストラゴール及びメチルオイゲノールは確認物質として使用可能であるかを考察したが、これらの物質は遊離フェノール性水酸基を持たない。そのためオイゲノールと異なり、プロペニル鎖においてより酸化しやすく、グルクロン酸又は硫酸と容易に抱合化されず、尿中に排泄されない。そのため、サフロール、エストラゴール及びメチルオイゲノールを確認物質として使用しない。

さらに、イソオイゲノール(a prop-1-enylbenzene)がオイゲノール(a prop-2-en-1-ylbenzene)の確認物質として使用可能かどうかは疑問を呈した。サフロールのような prop-2-en-1-ylbenzenes は、1-水素化に続くエステル化により代謝活性化され、最終的に発がん性代謝物になる。対照的にイソサフロールのような prop-1-enylbenzenes の 3-水素化は、さらに側鎖の酸化を起こす非発がん性代謝物をもたらす(Phillips、1994)。そのためイソオイゲノールを確認物質として使用すべきではないと、委員会は結論した。

1.2. 異性体(原文 p.7)

1.2.1. *FAO/WHO* 合同食品添加物専門家会議(*JECFA*) 状況 (原文 p.6)

オイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体グループの 7 種の登録物質のいずれもキラル中心を持たない、又は幾何異性体として存在することができない。

1.2.2. 欧州食品安全機関(EFSA)考察 (原文 p.7)

コメントはない。

1.3. 仕様

1.3.1. JECFAの状況 (原文 p.7)

JECFA 仕様は 7 物質全てに適用できる(JECFA、2005d) (表 1 参照)。

1.3.2. 欧州食品安全機関(EFSA)の考察 (原文 p.7)

コメントはない。

2. 摂取量の推定 (原文 p.7)

2.1. JECFAの状況

JECFA 手順により評価した 7 物質すべての摂取量のデータが利用可能である(表 3.1 参照)。

2.2. EFSAの考察

JECFA が評価した 7 物質のうち 3 物質の使用量が香料産業界より提供された[FL 番号: 04.058、04.096 及び 09.878] (EC, 2000a; EFA, 2005g; EFA, 2007a) (表 2.2.1 参照)。これらの使用量に基づき、mTAMDI 値を計算することが可能になる(EFSA、2004d) (表 2.2.2 参照)。

FL番号	食品分野																		
	通常使用量(mg/kg)																		
	最大使用量(mg/kg)																		
	01.0	02.0	03.0	04.1	04.2	05.0	06.0	07.0	08.0	09.0	10.0	11.0	12.0	13.0	14.1	14.2	15.0	16.0	
04.058	0,5	0,2	0,5	0,4	-	1	0,2	2	0,2	0,2	-	-	0,3	0,5	-	1	2	0,4	
	2,5	1	2,5	2	-	5	1	10	1	1	-	-	1,5	2,5	-	5	10	2	
04.096	0,5	0,2	0,5	0,4	-	1	0,2	2	0,2	0,2	-	-	0,3	0,5	0,2	1	2	0,4	
	2,5	1	2,5	2	-	5	1	10	1	1	-	-	1,5	2,5	1	5	10	2	
09.878	7	5	10	7	-	10	5	10	2	2	-	-	5	10	-	10	20	5	
	35	25	50	35	-	50	25	50	10	10	-	-	25	50	-	50	100	25	

FL番号	EU登録名	MSDI—EU (µg/ヒト/日)	MSDI—米国 (µg/ヒト/日)	mTAMDI (µg/ヒト/日)	構造クラス	懸念される閾値 (µg/ヒト/日)
04.058	4-アリルフェノール	0.073	0.6	360	Class I	1800
04.096	2-メトキシ-6-(2-プロペ ニル)フェノール	0.12	0.2	420	Class I	1800
09.020	酢酸オイゲニル酢酸	19	90		Class I	1800
09.088	4-オイゲニルギ酸	0.012	0.06		Class I	1800
09.766	安息香酸オイゲニル	0.0024	0.9		Class I	1800
09.878	磯吉草酸オイゲニル	0.37	0.5	2300	Class I	1800
04.003	オイゲノール	950	3364		Class I	1800

3. 遺伝毒性及び毒性データ (原文 p.8)

3.1. 遺伝毒性試験—JECFAの文章(JECFA, 2007a)

in vitro

ネズミチフス菌を用いた変異原性の標準試験では、オイゲノール [FL 番号: 04.003]は、TA92、TA94、TA97、TA98、TA100、TA102、TA1530、TA1531、TA1532、TA1535、TA1537、TA1538 及び TA1964 株に対し、濃度 ≤ 107,000 µg/プレート (約 652 µmol/プレート)、代謝活性存在又は非存在下において、変異原性はなかった (Dorange et al., 1977; Green & Savage, 1978; Rockwell & Raw, 1979; Swanson et al., 1979, Douglas et al., 1980; Eder et al. 1980; Florin et al., 1980; Nestmann et al., 1980; Rapson et al., 1980; Yosimura et al., 1981; Eder et al., 1982b; Pool & Lin, 1982) 及び (Sekizawa & Shibamoto, 1982; To et al., 1982; Haworth et al., 1983; NTP, 1983a; Ishidate et al., 1984; Orstavik & Hong slo, 1985; Amonkar et al., 1986) 及び (Miller et al., 1986; Tennant et al., 1987; Schiestl et al., 1989; Azizan & Blevins, 1995; Sukumaran & Kuttan, 1995)。オイゲノールは、ネズミチフス菌 TA1535 株で変異原性が見られたが、3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホサルフェートが代謝活性混合液に含まれる場合のみであった。オイゲノールは、変異原性において濃度依存的増加を示さなかった。著者らは、変異が生存菌数当たりの復帰突然変異体数 (誘発突然変異頻度) として報告されず、プレート当たりの復帰突然変異体数としてのみ報告されたことから、この結果は試験デザイン上の人為的なものであると示唆した (To et al., 1982)。

オイゲノール 2',3'-エポキシドはネズミチフス菌 TA1537、TA1538 及び TA98 株で変異原性を示さなかったが、TA1535 (Dorange et al., 1977; Swanson et al., 1979) 及び TA100 (Dorange et al., 1977) では変異原性の可能性を示した。

SD (Sprague-Dawley) ラットにオイゲノールの 0.5 mL (約 2,140 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、オイゲ

ノール代謝物の変異原性を調べた。尿を 24 時間採取した。ラットに投与する前に、0.05- 100 μL (53.5-107,000 μg /プレート) のサンプルを用いて、ネズミチフス菌 TA98 及び TA100 の復帰突然変異試験が代謝活性化系存在下で行われた。結果は陰性であった。尿中代謝物の遺伝毒性を確認するために、尿はそのまま又はリン酸塩緩衝液で希釈した後、エーテルで抽出し、P-グルクロニダーゼを用いて加水分解グルクロニド抱合体として用いた。24 時間の尿サンプル (500 μL)、尿のエーテル抽出液及び水性画分は、次に別々にネズミチフス菌 TA98 及び TA100 と S9 代謝活性化系存在下で培養された。オイゲノール 0.5 mL を与えたラットの尿は、TA98 又は TA100 のいずれも変異原性の兆候はみられなかった (Rockwell&Raw, 1979)。

オイゲノール 60、120、300 又は 600 μg /プレート (0.37、0.74、1.8 又は 3.6 μmol /プレート) を大腸菌 WP2 uvrA (trp-) と培養したが変異原性はみられなかった (Sekizawa & Shibamoto, 1982)。枯草菌 M45 (Rec-) 及び H17 (Rec+) を用いたレックアッセイを、400 μg /ディスク (2.4 μmol /ディスク)、S9 代謝活性化系非存在下で実施した結果、陽性であった (Sekizawa & Shibamoto, 1982)。しかし、 $\leq 100,000$ μg /ディスク (609 μmol /ディスク) で標準培養条件下での DNA 修復試験結果は一様に陰性であった (Oda et al., 1979; Yoshimura et al., 1981)。6.9 mm の rec- 及び rec+ 株間の生育阻止帯の差によって、陽性結果が見られ (Sekizawa & Shibamoto, 1982)、枯草菌 M45 rec- 株ではオイゲノールの優先的致死性がみられた。しかし、使用したオイゲノールサンプルがやや油状であり、寒天の水層に効果的に拡散しなかったと著者らは記した。従って、H17 株は (倍化時間は 48 分、一方 M45 rec- 株は 75 分) サンプルが効果的に拡散する前に増殖した可能性がある。そのために M45 rec- 株より生育阻止領域が狭い結果となったのであろう。

マウスリンフォーマ細胞を用いた前進突然変異試験において、オイゲノール濃度 21.3-128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.13-0.78 mmol/L) で L5178Y 細胞に変異原性がみられた (Tennant et al., 1987; Myhr & Caspary, 1991)。しかし、使用された濃度は細胞毒性が高かった。Myhr 及び Caspary (1991) が行なった 2 回の試験では、突然変異頻度と相対増殖率の間に負の相関が認められた。1 回目の試験では、相対増殖率はオイゲノール濃度 80 nL/mL で 16-28 % 及びオイゲノール濃度 120 nL/mL で 5-11 % であった。2 回目の試験では、相対増殖率はオイゲノール濃度 40 nL/mL で 5-30 % 及び濃度 60 nL/mL で 4 % であった。突然変異頻度は、第 1 回及び第 2 回それぞれ、試験実施最高用量において、4.2 及び 2.2 倍まで増加した。Myhr 及び Caspary (1991) によれば、オイゲノールと細胞間の相互作用は十分に制御されなかったため、用量反応相関をより明らかにするためには追加試験が必要とされている。

哺乳類細胞を用いてオイゲノールの姉妹染色分体交換試験が実施されたが、結果ははっきりしなかった (NTP, 1983a; Jansson et al., 1986; Fukuda, 1987; Galloway et al., 1987; Tennant et al., 1987)。ヒト末梢リンパ球では、オイゲノール濃度 ≤ 82.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.5 mmol/L) で姉妹染色分体交換は起こらなかった (Jansson et al., 1986)。シリアンハムスター胚細胞と共にオイゲノール 0.3-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [0.00003-0.001 % (v/v)] を培養した場合、姉妹染色分体交換が有意に増加したが ($p < 0.001$)、陰性対照で認められる量の 2 倍以下であった (Fukuda, 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) をオイゲノール 11-123 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.07-0.75 mmol/L) と共に代謝活性化系非存在下で培養すると、姉妹染色分体交換が僅かに見られた。オイゲノール 273-326 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (1.7-2.0 mmol/L) と共に代謝活性化系存在下で培養した場合には、結果は陽性であった。著者らは、代謝活性と関係なく、細胞周期の重度の遅延を引き起こす用量で姉妹染色分体交換における増加が

起こったとコメントした(Galloway et al., 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞における姉妹染色分体交換は、代謝活性化系存在下及び代謝活性化系非存在下で、オイゲノール 75-326 $\mu\text{g/ml}$ (0.5-2.0 mmol/L)と共に培養した場合に誘発された(NTP, 1983a; Tennant et al., 1987)。

染色体異常の標準試験の結果ははっきりしなかった(Stich et al., 1981c; NTP, 1983a; Ishidate et al., 1984; Galloway et al., 1987; Tennant et al., 1987; Bean et al., 1992; Bean & Galloway, 1993)。チャイニーズハムスター卵巣細胞における、染色体異常を検出するための最適試料採取時間を調べる試験では、オイゲノール濃度 131-263 $\mu\text{g/mL}$ (0.8-1.6 mmol/L)で代謝活性化系存在下において染色体異常が有意に増加した(Bean et al., 1992)。2回のうち最初の試験では、オイゲノール 0.8 mol/Lと共に培養し、投与開始 15 及び 24.5 時間後に細胞を回収した。細胞の生存率はそれぞれ対照群の 57 %及び 37 %であった。オイゲノール 1.2 mmol/L で培養した場合には、それぞれ対照群の 53 %及び 43 %であった。オイゲノール 0.8 mol/L で培養し 15 時間後に回収した細胞において、異常細胞の割合は最大 25.5 %まで増加した。2回目の試験では、異常収率は細胞毒性と共に変化したが、オイゲノール濃度 1.2-1.6 mmol/L は 1 回目の 0.8 mmol/L と同程度の細胞毒性であった。異常細胞の割合が最も増加(26.5 %)したのは、オイゲノール 1.6 mmol/L と共に培養し 17 時間後に回収した細胞であった。

次に同様の目的でチャイニーズハムスター卵巣細胞をオイゲノール 197、230 又は 263 $\mu\text{g/ml}$ (1.2、1.4 又は 1.6 mmol/L)とともに3時間培養し、その処理開始 20 又は 44 時間後に細胞を回収したところ、染色体異常が有意に増加した。細胞周期の重度の遅延が、オイゲノール 263 $\mu\text{g/mL}$ (1.6 mmol/L)との培養 20 時間後に認められた。染色体異常は、対照群に比べ約 50 %の細胞数の減少を伴った(Bean & Galloway, 1993)。

チャイニーズハムスター線維芽細胞をオイゲノール $\leq 125 \mu\text{g/mL}$ (0.77 mmol/L)と共に 48 時間培養時、染色体異常が認められた。しかし、培養 24 時間後のみ結果が陰性であった。分裂中期の 20 %に構造異常が見られた用量は、14.8 mg/mL であった(Ishidate et al., 1984)。別の試験では、オイゲノール 50 又は 100 $\mu\text{g/ml}$ (0.31 又は 0.61 mmol/L)で培養したチャイニーズハムスター卵巣細胞に、染色体異常は認められなかった。しかし対照群(0.8 %)と比較して、最高投与量 200 $\mu\text{g/mL}$ (1.22 mmol/L)において染色体異常の発生頻度のわずかな増加が認められた(2.0 %) (Stich et al., 1981c)。オイゲノール濃度 $\leq 300 \mu\text{g/mL}$ (1.8 mmol/L)における染色体異常の標準試験では、S9 代謝活性化系非存在下における結果は陰性であった。この濃度は S9 代謝活性化系存在下では細胞毒性があり、201-324 $\mu\text{g/mL}$ (1.2-2.0 mmol/L)の濃度で僅かに陽性結果が見られた(Galloway et al., 1987)。チャイニーズハムスター卵巣細胞における染色体異常の誘発は、オイゲノール濃度 300-324 $\mu\text{g/mL}$ (1.8-2.0 mmol/L)で代謝活性化系存在下において報告された(NTP, 1983a; Tennant et al., 1987)。Fischer344 ラット雄及び B6C3F₁ マウス雌から肝細胞を単離し、オイゲノール 0.01642、0.1642、1.642、16.42 又は 164.2 $\mu\text{g/ml}$ (0.1、1、10、100 又は 1,000 $\mu\text{mol/l}$)と共に培養したところ、不定期 DNA 合成は認められなかった。この試験におけるオイゲノールに対する半数致死濃度 LC₅₀ 値は、ラット肝細胞において 49.3 $\mu\text{g/mL}$ (300 $\mu\text{mol/L}$)及びマウス肝細胞において 32.8 $\mu\text{g/mL}$ (200 $\mu\text{mol/L}$)であった。これらの投与量では不定期 DNA 合成は認められなかった(Burkey et al., 2000)。同様の試験では、オイゲノール 0.1642-164.2 $\mu\text{g/mL}$ (10^{-6} - 10^{-3} mol/L)存在下で培養したラット肝細胞において、不定期 DNA 合成はみられなかった。細胞毒性は、乳酸脱水素酵素活性の増加が示すように 82.1 $\mu\text{g/ml}$ (5×10^{-4} mol/L)でみられた(Howes et

al., 1990)。Sprague-Dawley ラット雄の肝細胞をオイゲノール 16、41 又は 82 µg/mL(0.1、0.25 又は 0.5 mmol/L)に 20 時間暴露したが、不定期 DNA 合成は認められなかった(Allavena et al., 1992)。しかし Fukuda(1987)は、代謝活性化系存在下のシリアンハムスター胚細胞を用いた不定期 DNA 合成試験において、0.3-1 µg/mL[0.00003-0.0001 % (v/v)]で陽性と報告している。

ラット肝細胞を分離し酢酸オイゲニル[FL 番号: 09.020]を 1、2.5、5、10 又は 15 µg/mL で培養した場合、不定期 DNA 合成は全く認められなかった。乳酸脱水素酵素の漏出により、物質は 33 µg/mL において細胞毒性を示した(San & Reece, 2003)。

in vivo

*in vivo*の小核誘導の標準試験において、CF1 マウス(一群雄 8 匹)に、オイゲノール[FL 番号: 04.003]100、400 又は 600 mg/kg 体重を腹腔内投与した。最低投与群ではマウス骨髄に小核含有多染性赤血球は認められなかったが、中及び高濃度投与群では投与後 30 時間までに頻度が有意に増加した($p < 0.01$)。CF1 マウス(一群雄 8 匹)にオイゲノール 400 mg/kg 体重を腹腔内投与した。その後 24、30 又は 48 時間後にと殺したところ、と殺時間によらず小核含有多染性赤血球の発生頻度は有意に増加した($p < 0.01$) (Ellahuene et al., 1994)。

成熟 Swiss-Webster マウス(一群雄 12 匹)に、オイゲノール 148 又は 740 mg/kg 体重を腹腔内投与、又は 14,794 mg/kg 体重を強制経口投与した。各個体の大腿骨から分離される骨髄は、生理食塩水を与えた対照群に比べて小核含有多染性赤血球が有意に増加した。しかし、腹腔内投与(18.5-20.5 %)は経口投与(5.7 %)に比べ、てかなり低濃度における発生頻度が高かった(Woolverton et al., 1986)。

多様な品種のマウス(Hayashi et al., 1984; Shelby et al., 1993; Rompelberg et al., 1995)及びラット(Maura et al., 1989; Allavena et al., 1992; Rompelberg et al., 1996a)並びにヒトリンパ球(Rompelberg et al., 1996b)を用いた試験においては、変異原性は認められなかった。ddY マウスの雄にオイゲノール 100、200、400 又は 800 mg/kg 体重を腹腔内投与した。小核含有多染性赤血球の頻度の増加は見られなかった(Hayashi et al., 1984)。CD-1 マウスの雄に 15 日間毎日 0.4 %オイゲノールを混餌投与した(平均摂取量、約 680 mg/kg 体重/日)。骨髄における小核誘導頻度の増加は認められなかった(Rompelberg et al., 1995)。B6C3F1 マウスの雄に 3 日連続で 150、300 又は 600 mg/kg 体重/日を腹腔内投与したが、小核誘導は認められなかった(Shelby et al., 1993)。

Sprague-Dawley ラット(アルビノ、雄)に、3 通りの実験方法に基づきオイゲノール 1,340 又は 2,680 mg/kg 体重を強制経口投与した。骨髄に小核誘導はみられなかった。第 1 実験は、肝部分切除 20 時間後にオイゲノール 1,340 mg/kg 体重を投与し、その 48 時間後にと殺した。第 2 実験はと殺 30 又は 6 時間前にオイゲノール 2,680 mg/kg 体重を投与した。第 3 実験では、オイゲノール 1,340 mg/kg 体重を投与 2 時間後にと殺した。これらの試験では用量相関関係は認められなかった。1,340 又は 2,680 mg/kg 体重を強制経口投与し、投与 4 及び 20 時間後におけるラット肝細胞を一次培養した。DNA 断片化は認められなかった(Allavena et al., 1992)。

Sprague-Dawley ラット(一群雌 4 匹)に、オイゲノール 335、670 又は 1,340 mg/kg 体重を水性懸濁液にして経口投与した。投与量の半分はと殺 30 時間前に投与し、残りはと殺 6 時間前に投与した。骨髄では小核含有多染性赤血球の誘発は認められなかった。1,340 mg/kg 体重では、投与後 2、24 又は 48 時間においてオイゲノールによる肝臓又は腎臓の DNA 断片化は認められなかった。さらに、オイゲノール 1.5、5 又は 10 mmol/kg 体重(それぞれ 164.2、821.0 及び 1,642 mg/kg 体重)を強制経口投与した。肉芽腫細胞において変異発生頻度の有意な増加又は DNA 断片化は見られなかった。著者らは、*in vitro* で哺乳類細胞に見られるオイゲノールの変異原性及び染色体異常誘発は、*in vivo* において存在する必要な解毒酵素の欠如によるものと考えられるとした(Maura et al., 1989)。

同様の試験では、Wistar ラットの雄にオイゲノール 0、500 又は 1,000 mg/kg 体重/日をトウモロコシ油懸濁液で 10 日間強制経口投与した。対照群と比較して、どの用量においても骨髄の小核含有多染性赤血球の発生は有意に増加しなかった。同様の状況で、Wistar ラットの雄にオイゲノール 500 mg/kg 体重/日を 10 日間経口投与した後に採取した肝細胞の一次培養では不定期 DNA 合成はみられなかった。著者らは、オイゲノール 1,000 mg/kg 体重を投与したラットの肝細胞における不定期 DNA 合成の結果を報告しなかった(Rompelberg et al., 1996a)。

7 日間のプラセボを対照とし、1 週間の休薬期間を設定したクロスオーバー試験において、10 人の健康成人男子ボランティアにプラセボ又はオイゲノール 150 mg を投与した。オイゲノールはカプセルの形(50 mg/カプセル)で 1 日 3 回経口投与された。ボランティアの体重に基づいて(68-88 kg)、この投与量はオイゲノール約 1.7-2.2 mg/kg 体重/日に相当した。血液の一定量を試験の 8 及び 22 日に採取し、小核誘導及び染色体異常を分析した。オイゲノールによって、ヒトリンパ球における小核のバックグラウンド値又は染色体異常は増加しなかった(Rompelberg et al., 1996b)。

遺伝毒性に関する結論

このグループの代表的な薬剤の 1 つであるオイゲノール[FL 番号: 04.003]については、様々な種のネズミチフス菌及び大腸菌の復帰突然変異試験における結果は一貫して陰性であった。一般に、枯草菌 M45(rec-)及び H17(rec+)株の DNA 修復試験の結果も陰性であった。より高濃度(≤100,000 µg/ディスク)の同様の試験から陰性の結果が得られた一方で、1 件の DNA 修復試験における陽性所見が 400 µg/ディスクの濃度において見られた。*in vitro* でのラット及びマウス肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験では、オイゲノール濃度≤ 164.2 µg/mL 及び酢酸オイゲニル≤ 15 µg/mL においては遺伝毒性活性は認められなかった。しかし、オイゲノール濃度≤ 1 µg/mL を用いたシリアンハムスターの胚細胞で 1 件の陽性結果が報告された。変異原性(マウスリンフォーマ細胞の前進突然変異、姉妹染色分体交換及び染色体異常)が認められた哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験は、細胞毒性又は細胞周期の重度の遅延が生じた濃度で実施された。培養哺乳類細胞は、そのような毒性に対する解毒作用を持つ代謝経路を有しないと考えられた。*in vivo* での変異原性(小核、染色体異常及び突然変異)及び遺伝毒性(不定期 DNA 合成及び DNA 断片化)試験は、非常に高用量のオイゲノール(≤ 800 mg/kg 体重 腹腔内投与、≤ 2680 mg/kg 体重、経口投与)でも結果は一般に陰性であった。二試験において、小核誘導は、740 mg/kg 体重腹腔内投与及び 14,794 mg/kg 体重経口投与時にみられた。オイゲノール及び

他のヒドロキシプロピルベンゼン誘導体は、着香料としての使用目的条件下では、ヒトに対して重大な変異原性又は遺伝毒性リスクをもたらす可能性は低いという結果となった。

JECFA により考察された *in vitro in vivo* の遺伝毒性データの要約については、表 2.1 を参照。

3.2. 遺伝毒性試験 – EFSA の文章 (EFSA, 2007m) (原文 p.13)

in vitro での試験データは、12 種の対象物質 [FL 番号: 04.020, 04.021, 04.065, 04.066, 04.070, 04.076, 04.077, 04.080, 04.095, 07.142, 07.164 及び 07.243] 及び 18 種の確認物質について利用可能である。*in vivo* における試験データは、1 種の対象物質 [FL 番号: 04.077] 及び 6 種の確認物質について利用可能である。ほとんどの試験は限定的又は品質が不十分、若しくはは調査が不相当である。そのためいくつかの試験について結果の妥当性を評価できなかった。

3 種の対象物質 [FL 番号: 04.077, 04.080 及び 07.142] について、陽性結果が得られた。

4-メキシフェノール [FL 番号: 04.077] は、細菌において遺伝子突然変異を引き起こさなかった (Hawoth et al., 1983)。哺乳類細胞における遺伝子突然変異試験 (MLTK 試験) では、4-メキシフェノールの結果は代謝活性化系非存在下で陽性で、S9 を使用した代謝活性化系存在下では陰性であった (Rogers-Back, 1986)。代謝活性化系非存在下での試験では、小コロニーの割合の増加が認められ、これは染色体異常の可能性を示唆している。4-メキシフェノールは、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞に対して代謝活性化系存在下及び非存在下で染色体異常を誘発した (Putman, 1986)。4-メキシフェノールはヒトリンパ球に対し、姉妹染色分体交換 (SCE) を誘発しなかった (Jansson et al., 1988)。しかし、試験の質は、限定的であった。4-メキシフェノールは経口投与後のラット骨髄細胞において、*in vivo* での染色体異常を誘発しなかった (Esber, 1986)。4-メキシフェノールを用いた *in vitro* の試験結果から、安全上問題はないと考えられる。

3,4-メチレンジオキシフェノール [FL 番号: 04.080] は細菌の遺伝子突然変異試験で代謝活性化系存在下及び非存在下で結果は陰性であったが、哺乳類細胞を用いた変異原性試験 (MLTK 試験) では代謝活性化系存在下及び非存在下の両方で結果は陽性であった (Longfellow, 1985/1986)。しかしこの情報は、非常に短い要約であったため評価には使用できなかった。この対象物質の *in vivo* 試験はなかった。

アセトバニロン (Acetovanillone) [FL 番号: 07.142] の酵母を用いた試験では、代謝活性化系非存在下で陽性であった。手順通りに評価しているため、この結果を排除することはしない (Nestmann & Lee, 1983)。この物質は細菌の変異原性試験において、代謝活性化系存在下及び非存在下で陰性であった (Nestmann et al., 1980; Xu et al., 1984)。しかし、細菌試験の報告及びデータの質が不十分であったため、結果の妥当性については評価できなかった。

対象物質 2-エチルフェノール [FL 番号: 04.070] 及び 2,4-ジメチルフェノール [FL 番号: 04.066] を用いた細菌の遺伝子突然変異試験の結果は陰性であった (Pool & Lin, 1982; Zeiger et al., 1992; Mortelmans et al., 1986)。これらの 2 種の対象物質及びさらにデータが存在する 7 種の対象物質を用いた試験の全ての結果

は陰性であった。しかし、これらのデータは限定的又は質が不十分であり、試験の妥当性は評価できなかった。

確認物質を用いた *in vitro* 試験では、陽性及び陰性の結果が得られた。

2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]、3-メチルフェノール [FL 番号: 04.026]、4-メチルフェノール [FL 番号: 04.028]、2-メトキシフェノール [FL 番号: 04.005]及び2,6-ジメトキシフェノール [FL 番号: 04.036]については、受入れ可能な質の細菌試験において遺伝子突然変異を引き起こさなかった (Pool&Lin, 1982; Haworth et al., 1983)。細菌においては、2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]で得られた陽性結果 (Claxton, 1985)の妥当性は評価できない。

2,6-ジメチルフェノール [FL 番号: 04.042]は、S9 存在下では哺乳類細胞に染色体異常を誘発したが、代謝活性化系非存在下では陰性であった (Volkner, 1994)。この香料グループ評価 (FGE) においては、他のアルキル化フェノールも含め、2,6-ジメチルフェノールの *in vitro* での遺伝毒性の可能性はないと結論された。それらは m-又は p-位のいずれかでアルキル置換するからである。m-又は p-位に置換されるフェノール類は、2,6-ジメチルフェノールからとは別の経路で代謝されると考えられる。

2-メトキシフェノール [FL 番号: 04.005]、2-メトキシ-4-メチルフェノール [FL 番号: 04.007]、2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]並びに2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]、3-メチルフェノール [FL 番号: 04.026]及び4-メチルフェノール [FL 番号: 04.028]の混合物は、ヒトリンパ球又は CHO 細胞に SCE を誘発した (Jansson et al., 1986) [FL 番号: 04.005]; (Jansson et al., 1988) [FL 番号: 04.007]; (Galloway & Brusick, 1981) [FL 番号: 04.027]; (Galloway & Brusick, 1980) [混合物]。ほとんどの試験で、代謝活性化系の有無に関係なく影響が見られた。

2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]、3-メチルフェノール [FL 番号: 04.026]及び4-メチルフェノール [FL 番号: 04.028]の混合物は、不定期 DNA 合成 (UDS) 試験において曖昧な結果を示した (Myhr & Brusick, 1980)。一方、別の *in vitro* 試験において、4-メチルフェノール [FL 番号: 04.028]による UDS 誘発が観察された (Crowley & Margard, 1978)。

これらの物質及び他の確認物質を用いた *in vitro* 試験で見られた他の結果は、すべて陰性であった。しかしこれらのデータは限定的又は質が不十分であり、試験の妥当性は評価できなかった。

確認物質の2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]、3-メチルフェノール [FL 番号: 04.026]及び4-メチルフェノール [FL 番号: 04.028]を用いた *in vivo* の SCE 試験の結果は陰性であった (Cheng & Kligerman, 1984)。しかし、これらのデータは質が限定的であった。3-メチルフェノール [FL 番号: 04.026]は、マウスで染色体異常を誘発しなかった (Ivett et al., 1989)。しかし、試験報告が不十分であり、結果の妥当性は評価できなかった。2-メチルフェノール [FL 番号: 04.027]及びカルバクロール [FL 番号: 04.031]は、ショウジョウバエに突然変異を引き起こさなかった (Sernau, 1989; Kono et al., 1995)。

全体として、確認物質に関する利用可能な遺伝毒性データからは、手順を踏んだ対象物質の評価は排除されないであろう。対象物質の1つである3,4-メチレンジオキシフェノール [FL-番号: 04.080]は、*in vitro*で遺伝毒性の可能性が指摘された。この対象物質に関する *in vivo*試験は行われなかった。そのため適切な遺伝毒性データが得られるまでの間、委員会はこの物質に手順を適用できないと決めた。

EFSAにより考察された *in vitro*/*in vivo* の遺伝毒性データの要約は、表 2.2 及び 2.3 を参照。

3.3. 追加遺伝毒性試験 (原文 p.14)

2006年のJECFA又はEFSAでは、オイゲノール [FL 番号: 04.003]に関する以下の試験は検討されなかった(EFSA, 2007m)。

オイゲノールを用いた HL-60 細胞を含むミクロペルオキシダーゼの投与は、32P-ポストラベル試験で検出されたように3種のDNA付加体を用量依存的に形成した。オイゲノール及びH₂O₂を加えたHL-60細胞の培養により、DNA付加体が14倍に増加した。それは付加体形成におけるペルオキシダーゼの活性化を示唆している。オイゲノールを添加したHL-60細胞で形成されるDNA付加体は、ペルオキシダーゼ活性化により形成される物質と同じであった。付加物生成に加えて、オイゲノールのペルオキシダーゼ活性により、酸化的DNA損傷(8-OH-2'-デオキシグアノシン)の増加(2-3倍)もまた起こった。DNA又はデオキシグアノシン-3'-ホスフェートを伴うオイゲノールキノンメチドの反応は、2種の主要付加物を生じた(2及び4)。オイゲノールキノンメチドにより産成された2つのDNA付加体は、HL-60細胞中のオイゲノールにより形成されたDNA付加体の二つと同一であった。このことはオイゲノールキノンメチドが、DNA付加体形成の誘引となる反応中間体の1つであることを示唆している。これらのことから、オイゲノールは*in vitro*でのDNA付加体及び酸化によるDNA塩基損傷の両方を生じるために活性化すると考えられた(Bodell et al., 1998)。

遺伝子組換えマウス(Muta-TM-Mouse)の雄に、58日間オイゲノールを混餌投与(0.4%, w/w)した。*in vivo*においてオイゲノールの抗変異原性又は抗遺伝毒性の可能性は認められなかった。特にオイゲノールは、ベンゾ-ア-ピレン誘導による突然変異体又はDNA付加体のどちらにも影響せず、最後の影響は肝DNAの32P-ポストラベル試験の分析により判明した。オイゲノール自体は変異原性を持たなかった。しかし、DNA付加体形成の可能性を暗示する点が1つ判明した。この結果は前出の*in vivo*試験とは異なり、オイゲノールはマウスの肝臓内でDNA付加体形成を誘発できなかったことを示している(Randerath et al., 1984; Phillips, 1990)。特にオイゲノールがサフロールと異なり、32P-ポストラベル試験(100億ヌクレオチド対に1つの付加物の検出限界がある)ではB6C3F₁雄マウスにおいてDNA付加体を形成することができなかったことをPhillipsは示した(Rompelberg et al., 1996c)。

3.4. 遺伝毒性に関するEFSAの考察 (原文 p.15)

オイゲノールは、*in vitro*での複数の遺伝毒性試験において陽性結果を示した。このことは、この物質(結果として香料グループ評価(FGE)中の全物質)が遺伝毒性を誘発する可能性があることを示している。特に現在のデータは以下のようなオイゲノールの遺伝毒性プロフィールを示している: 細菌における遺伝子突然変異の誘発はない、*in vitro*での染色体への影響の出現率、*in vitro*マウスリンフォーマ試験における小コロニーの選択的

誘発、ペルオキシダーゼ活性下におけるほ乳類培養細胞の 8-OH-デオキシグアノシンの増加及び DNA 付加体の誘発は *in vitro* で起こり、*in vivo* では起こらない。*in vivo* において異なる種のマウスにオイゲノールを腹腔内投与した場合、骨髄小核試験は相反する結果となった。しかし最大推奨容量を超過した用量を経口投与した 1 件の試験を除いて、ラット及びマウスを用いた試験はすべて陰性の結果となった。オイゲノールの混餌投与では、遺伝子導入マウスの肝臓に遺伝子突然変異を引き起こさなかった。このグループ中の対象物質は非常に極めて効率的にグルクロン酸又は硫酸と抱合化される。これらの経路は、香味剤として使用した場合の推定摂取量では簡単に飽和することはない。高用量では、反応代謝物(キノン、カテコール、キノンメチド)が生成される可能性がある。しかし香味剤として使用する場合、これらの代謝物生成は、硫酸、グルクロン酸又は(特に)グルタチオンと抱合化されて解毒能力以上になるとは考えられない。全体として、経口経路によるオイゲノールの遺伝毒性の特性は、*in vitro* において染色体異常誘発作用がみられるが、*in vivo* においては認められないと考えられる。

3.5. オイゲノールの長期毒性及び発がん性についてのEFSAの考察 (原文 p.16)

長期毒性

1982 年に、JECFA は、オイゲノールの一日常摂取許容量(ADI)を 1 日当たり 0-2.5 mg/kg 体重と設定した(JECFA, 1982a)。これはラット(一群雌雄各 10 匹)にオイゲノール(0, 0.1 及び 1 % (0, 1,000 又は 10,000 mg/kg))を 19 週間混餌投与した結果、成長率、血液学的所見、臓器重量及び主要組織の組織学的所見について毒性影響が認められなかった事に基づいている(Hagan et al., 1967)。ラットにおける生涯混餌試験の結果は、ヒトの一日常摂取許容量を評価する追加情報となった。

2 年間の試験中において、雄ラットに 3,000 又は 6,000 mg/kg 及び雌ラットに 6,000 又は 12,500 mg/kg のオイゲノールが 103 週間混餌投与された。これは雄 150 又は 300 mg/kg 体重/日及び雌 300 又は 625 mg/kg 体重/日に相当する。影響が認められたのは雌の 625 mg/kg 体重/日のみであったことから、300 mg/kg を無毒性量(NOEL)とした(NTP, 1983b)。第 65 回会議(JECFA, 2006b)において、JECFA は 300 mg/kg/日の無作用量(NOEL)を使用し、オイゲノールに関する前回の一日摂取許容量(ADI)0-2.5 mg/kg 体重/日を継続した。

発がん性

ラット及びマウスを用いた長期試験により、オイゲノールの発がん性が調べられた(Miller et al., 1983; NTP, 1983b)。さらに発がん性特殊試験も実施された(皮膚塗布及びプロモーション作用試験)。

CD-1 マウス(一群 30 匹)にオイゲノールを混餌投与した。また CD-1 マウス(雄 55 匹及び雌 59 匹)にオイゲノールを強制経口投与し、その後 CD-1 マウス(雄 52 匹)にオイゲノールを腹腔内投与した。いずれの試験でも限定的であったが発がん性は確認されなかった(Miller et al., 1983)。

B6C3F₁ マウス雄において、肝細胞腫瘍(癌、腺腫)の発生頻度は、対照群 14/50、低用量群 39/45 及び高用量群 19/49 であった。対する雌における発生頻度は、2/50、7/49 及び 9/49 であった。雄では、高用量ではなく

低用量において肝細胞腫瘍が統計的に有意に増加した(NTP, 1983b)。

ラットの試験では、雌の子宮内膜間質ポリープの発生頻度が増加した。発生頻度は、それぞれ対照群 6/40、低用量群 6/50 及び高用量群 16/50 であった。雄ラットの肺胞気管支腺腫の発生頻度は、それぞれ対照群 0/40、低用量群 5/49 及び高用量群 2/50 であった。試験実施機関における F-344 雄ラットの対照群の腫瘍の背景的発生頻度は、6/299(2 %)である。この腫瘍では、雄の高用量又は雌のすべての投与量において、統計的に有意な増加はみられなかった。甲状腺の C 細胞腺腫は雌の以下の発生頻度で観察された: それぞれ対照群 3/40、低用量群 11/49 及び高用量群 2/50 であった。低用量群においては統計学的に有意に増加した。雄ではどの投与量でもこの腫瘍の発生頻度は増加しなかった。NTP は、ラットに対しオイゲノールの発がん性はなかったとされた(NTP, 1983b)。

オイゲノールを用いた利用可能な亜慢性及び慢性試験を再検討し、オイゲノールは比較的長期毒性が低く、標的臓器は高用量群において肝臓であると委員会は結論した。非発がん性作用に関する無毒性量(NOEL)は 300 mg/kg 体重/日となった。

現在オイゲノールに関する 3 件の発がん性試験がある。オイゲノール及び多くの関連するヒドロキシアリルベンゼン(発がん性のサフロールを含む)の肝発がん性を比較した Miller et al.の 2 件の試験(1983)では、発がん性が認められなかった。一方サフロールは明白に発がん性が見られた。これらの試験のうち1件は化合物を経口投与し、もう 1 件は腹腔内投与した。

NTP 試験ではラットにおける発がん性はみられなかった(NTP, 1983b)。肝細胞腫瘍のバックグラウンド値を表示したマウスの品種では、肝細胞腫瘍の発生頻度の変化は、このバックグラウンド値と一致する。そのため、この試験もまた陰性であると考えられる。

これらのデータに基づき、委員会はオイゲノールに発がん性はないと結論した。

4. 手順の適用 (原文 p.17)

4.1. JECFAによるオイゲノール及び6つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体への手順の適用(JECFA, 2007a)。:

JECFA によれば、ディンジョンツリー法により全 7 物質が構造クラス I に属する事が、Cramer et al.によって示された(1978)。

JECFA は、7 物質のうち 6 物質が JECFA 手順のステップ A3 にあるとし、物質は無害物質に代謝されると考えられ(ステップ 2)、6 物質の摂取は構造的クラス I の閾値を下回る(ステップ 3) と決定した。

そのうちの 1 つであるオイゲノール [FL 番号: 04.003]は、ステップ A5 と決定した。すなわち、摂取は構造クラ

スの閾値を超え、内因性ではないが、無毒性量(NOEL)が適用できる。NOEL から、物質に対する MSDI 値に適切な安全域を出すことができる。オイゲノールについて JECFA 評価に使用された摂取量は、アメリカの MSDI を基にしており、3,364 µg/ヒト/日である。もし摂取量を欧州連合(EU)の数値(950 µg/ヒト/日)を基にしていた場合は構造クラスの閾値を下回り、物質は安全性に問題がないためステップ A3 で終えられていたと思われる。

結論として、JECFA は MSDI 法に基づいた香味剤としての推定摂取量において、7 物質全てを安全性に問題がないと評価した。

オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の評価は、表 3.1: オイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の安全性評価の概要に要約する(JECFA, 2007a)。

4.2. EFSAによる23の環置換フェノール性物質に対する手順の適用(EFSA, 2007m)

FGE.22 において 23 種の香味剤が評価された。対象物質の 1 つである 3,4-メチレンジオキシフェノール [FL 番号 : 04.080]は *in vitro* において、遺伝毒性の可能性を示した。そのため、適切な遺伝毒性データが得られるまで、この対象物質に手順を適用できないと委員会は結論を下した。

手順が適用された 22 物質のうち 19 物質が構造クラス I に、3 物質が構造クラス II に、Cramer et al.によるディシジョンツリー法により分類された(1978)。

FGE.22 において手順により評価された 22 物質は吸収され易いと考えられる。物質は、水酸基で硫酸又はグルクロン酸と抱合され易く、通常は尿から速やかに排泄される。フェノールエステル類は、おそらく腸管腔内で膵臓酵素により当該フェノール類、ギ酸及び酢酸へ加水分解される。フェノール類の硫酸抱合及びグルクロン酸抱合はヒトを含む多くの動物種においてみられるが、2 つの経路の効果における種差が報告された。これらの経路は、香味剤としての使用により摂取が予想される値で簡単に飽和しない。高用量投与では、反応代謝物(キノン、カテコール、キノンメチド)を生成する可能性がある。しかし、これらの代謝物の生成は、物質を香味剤として使用する場合、硫酸、グルクロン酸又は特にグルタチオンと抱合による解毒能力を上回るとは考えられない。このように、FGE.22 における香味剤に関して、このグループの物質は MSDI アプローチに基づく推定摂取量では無害な物質に代謝されるであろうと結論した。

22 物質はステップ A3 と結論付けた。すなわち物質は無害な生成物に代謝されると思われ(ステップ 2)、推定一日摂取量は、構造クラス I 及び II の閾値を下回る(ステップ A3)。

結論として、手順によって評価した 22 物質は、MSDI 法に基づく推定摂取量では安全上の問題は無いと委員会は考察した。

22 物質の段階評価は表 3.2: 手順に沿った安全性評価の概要 (EFSA/FGE.22)に要約する。

4.3. EFSAの考察 (原文 p.18)

*in vitro*でのオイゲノールに関するいくつかの遺伝毒性試験がある。それらは、オイゲノール(及び結果としてこのFGEの中の全ての物質)が遺伝毒性を誘発する可能性があることを示している。*in vitro*遺伝毒性試験の結果は、酸化DNA損傷が原因である可能性を示唆する。*in vivo*遺伝毒性でも限定的知見がみられる。

オイゲノールの発がん性が無いことを考慮し、遺伝毒性に利用可能なデータは、オイゲノール及び関連ヒドロキシアリルベンゼン誘導体が手順により評価されることを妨げないと、委員会は結論した。

したがって、委員会はJECFA手順の適用に同意する。

5. 結論 (原文 p.18)

委員会は、オイゲノール及び関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体のJECFA香料グループに属する7物質は、FGE.22においてEFSAにより評価されたフェノール様物質と構造的に関連性があると結論づけた。

委員会は、JECFAによって実施された手順の適用に同意する。オイゲノール [FL 番号: 04.003]の欧州連合(EU)のMSDIは、構造クラスの閾値未満であるため、手順スキームにおけるステップA3ではすでに安全上の問題はないとした。さらに、300 mg/kg体重の無毒性量(NOEL)が確認された。

このFGEにおいて考察された物質のうち3物質は、使用レベルがあり[FL 番号: 04.058、04.096及び09.878]、それぞれ360、420及び2,300 µg/ヒト/日のmTAMDI値に相当する。これらの物質のうち1物質 [FL 番号: 09.878]は、mTAMDIが構造クラスの閾値を上回る。残り4物質 [FL 番号: 04.003、09.020、09.088及び09.766]に関しては、さらに正確な暴露評価が必要であるこれらの香味剤を特定し、評価を確定するためにmTAMDIを計算するための使用レベルが必要である。

JECFAが評価した7物質が商業用として使用可能かどうかを決定するために、利用可能な仕様を考える必要がある。

JECFAが評価した7物質のうち6物質には、完全な純度基準及び確認試験を含む適切な仕様について利用可能である。1物質 [FL 番号: 09.088]は、混合物の組成に関する情報が必要である。

すなわち1物質 [FL 番号: 09.088]に関しては、委員会は保留している(混合物の組成が必要)。残り6物質 [FL 番号: 04.003、04.058、04.096、09.020、09.766及び09.878]に関して、委員会はMSDI法に基づく「香味剤としての推定摂取量では安全上問題はない」とするJECFAの結論に同意する。

表 1: 現在のグループにおける JECFA 評価物質に関する仕様の概要

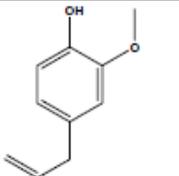
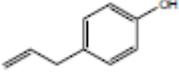
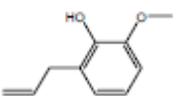
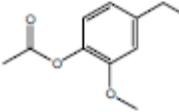
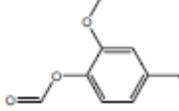
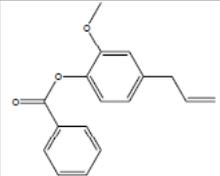
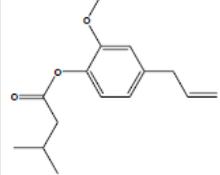
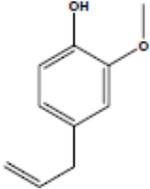
表 1: オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の JECFA 香料グループにおける物質の特性概要								
FL番号 JECFA番号	EU 登録名	構造式	FEMA 番号 CoE 番号 CAS 番号	物理的性状 分子式 分子量	溶解度 1) エタノールへの 溶解度 2)	沸点 3) 融点 ID 試験 最小試験	屈折率4) 比重 5)	EFSA コメント
04.003 1529	オイゲノール (Eugenol)		2467 171 97-53-0	液体 C ₁₀ H ₁₂ O ₂ 164.20	わずかに水溶性 可溶性	256 IR 98 %	1.540-1.542 1.064-1.070	
04.058 1527	4-アリルフェノール (4-Allylphenol)		4075 11218 501-92-8	液体 C ₉ H ₁₀ O 134.18	不溶性 可溶性	235 16 NMR 95 %	1.542-1.548 1.017-1.023	
04.096 1528	2-メキシ-6-(2-プロペニル)フェノール (2-Methoxy-6-(2-propenyl)phenol)		579-60-2	液体 C ₁₀ H ₁₂ O ₂ 164.20	わずかに水溶性 可溶性	119-121 (16hPa) NMR 98 %	1.535-1.541 1.065-1.071	
09.020 1531	オイゲニル酢酸 (Eugenyl acetate)		2469 210 93-28-7	固体 C ₁₂ H ₁₄ O ₃ 206.24	不溶性 可溶性	282 25 IR 98 %	n.a. n.a.	
09.088 1530	4-オイゲニルホルメート (4-Eugenyl formate)		2473 355 10031-96-6	液体 C ₁₁ H ₁₂ O ₃ 192.21	不溶性 可溶性	270 NMR 94 %	1.524-1.526 1.115-1.125	JECFAによると: 最小試験値は“94 %”で、“オイゲノール”の副成分である。登録名がギ酸オイゲニルに変更となった。

表 1: オイゲノールの芳香族群及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の JECFA における物質の特性概要								
FL番号 JECFA番号	EU 登録名	構造式	FEMA No. CoE No. CAS No.	物理的性状 分子式 分子量	溶解度 1) エタノールへの 溶解度 2)	沸点 3) 融点 ID 試験 最小試験	屈折率4) 比重 5)	EFSA comments
09.766 1533	安息香酸オイゲニル (Eugenyl benzoate)		2471 636 531-26-0	固体 $C_{17}H_{16}O_3$ 268.31	不溶性 可溶性	n.a. 69-70 NMR 97 %	n.a. n.a.	
09.878 1532	イソ吉草酸オイゲニル (Eugenyl isovalerate)		4118 61114-24-7	固体 $C_{15}H_{20}O_3$ 248.32	不溶性 可溶性	222 85 NMR 99 %	n.a. n.a.	

- 1) 特に述べていなければ、水への溶解度
- 2) 特に述べていなければ、95 % エタノールへの溶解度
- 3) 特に述べていなければ、1013.25 hPa,における沸点
- 4) 特に述べていなければ、20°Cにおける屈折率
- 5) 特に述べていなければ、25°Cにおける比重

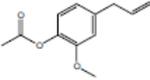
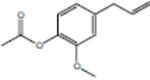
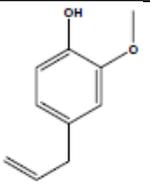
表2 :遺伝毒性データ

表 2.1:オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリル誘導体の遺伝毒性データ (*in vitro*/ *in vivo*) (JECFA, 2007a)

表 2.1: オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリル誘導体の遺伝毒性データのまとめ (JECFA, 2007a) _							
FL番号 JECFA番号	EU登録名 JECFA 名	構造式	エンドポイント	試験システム	濃度	結果	参照
<i>in vivo</i>							
04.003 1529	オイゲノール (Eugenol)		復帰突然変異	ネズミチフス菌TA1530、TA1531、TA1532、TA1964	0.02、0.2 M (3,284、32,841 µg/mL) ¹	陰性 ²	Green & Savage, 1978
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA1530、TA1531、TA1532、TA1964	1~5 mg/プレート (1,000~5,000 µg/プレート)	陰性 ³	Green & Savage, 1978
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	2,000 µg/プレート	陰性 ⁴	Nestmann et al., 1980
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537	2,000 µg/プレートまで	陰性 ^{2,5}	Ishidate et al., 1984
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1537	3 µmol/プレート(492.6 µg/プレート) ¹	陰性 ^{4,6}	Florin et al., 1980
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	32.84 µg/プレート	陰性 ^{3,6}	Douglas et al., 1979
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1537	333 µg/プレート	陰性 ^{4,7}	Tennant et al., 1987
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	60、120、300、600 µg/プレート	陰性 ^{3,8} 陰性 ^{2,5,8}	Sekizawa & Shibamoto, 1982
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA97、TA98、TA100、TA104	3,000 µg/プレート	陰性 ^{4,6,9}	Miller et al., 1986
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	提供無し	陰性 ^{4,10}	Eder et al., 1982b
復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	0.01~3 µL/2 mL 培養量(5~1,605 µg/mL) ¹¹	陰性 ^{4,8,10}	Eder et al., 1980			

FL番号 JECFA番号	EU登録名 JECFA名	構造式	エンドポイント	試験システム	濃度	結果	参照
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA100	0.1~1000 µg/プレート	陰性	Rapson et al., 1980
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100	2500 µg/mL	陰性 ⁴	Orstavik & Hong slo, 1985
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	10、150、300、600、1,200 µg/ プレート	陰性 ^{4,12}	Amonkar et al., 1986
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1538、TA1537	2,000 µg/プレート	陰性 ⁴	Douglas et al., 1980
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA100、TA102、 TA1535	50~400 µg/プレート	陰性 ⁴	Sukumaran & Kuttan, 1995
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100	30 µmoles/プレートまで (4,926 µg/プレート)	陰性 ^{4,13}	Swanson et al., 1979
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	0.5、5、50、500、5,000 µg/プレ ート	陰性 ^{4,14}	Pool & Lin, 1982
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3~333.3 µg/プレート	陰性 ^{4,14,15}	Haworth et al., 1983
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100	0.05~100 µL (53.5~ 107,000 µg/プレート)	陰性 ²	Rockwell & Raw, 1979
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	0.5~500 µg/プレート	陰性 ^{4,16,17}	To et al., 1982
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA1535	0.5~500 µg/プレート	陽性 ^{2,18} 陰性 ³	To et al., 1982
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	5~500 µg/プレート	陰性 ^{4,5}	Yoshimura et al., 1981
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA97、TA98、 TA100	1,000 µg/mL	陰性 ^{4,5}	Azizan & Blevins, 1995
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA97、TA98、 TA100、TA102	0.25~6 µM/プレート (41~985 µg/プレート)	陰性 ^{4,5,19}	Schiestl et al., 1989
			復帰突然変異	ネズミチフス菌TA98、TA100、 TA1535、TA1537	3.3~333.3 µg/プレート	陰性 ^{4,5}	NTP, 1983a
			復帰突然変異	大腸菌WP2 uvrA (trp ⁻)	60、120、300、600 µg/プレート	陰性 ^{3,8} 陰性 ^{2,3,8}	Sekizawa & Shibamoto, 1982
			DNA修復	枯草菌M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	1~100 mg/disk (1000~ 100,000 µg/disk)	陰性	Yoshimura et al., 1981
			DNA修復	枯草菌M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	400 µg/disk	陽性 ³	Sekizawa & Shibamoto, 1982

FL番号 JECFA番号	EU登録名	構造式	エンドポイント	試験システム	濃度	結果	参照
			DNA修復	枯草菌 M45 (rec ⁻)、H17 (rec ⁺)	21 µg/disk	陰性	Oda et al., 1979
			前進突然変異	マウスリンフォーマ細胞 L5178Y	21.3 µg/mL	陽性 ^{3,7}	Tennant et al., 1987
			前進突然変異	マウスリンフォーマ細胞 L5178Y	20~120 nL/mL (21~128 µg/mL)	陽性 ^{3,20}	Myhr & Caspary, 1991
			姉妹染色分体交換	末梢ヒトリンパ球	0~0.5 mM (0~82 µg/mL)	陰性	Jansson et al., 1986
			姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO細胞)	273~326 µg/mL	陽性 ^{2,21}	Galloway et al., 1987
			姉妹染色分体交換	CHO細胞	11~123 µg/mL	弱陽性 ^{3,22}	Galloway et al., 1987
			姉妹染色分体交換	シリアンハムスター胚細胞 (SHE細胞)	0.00003~0.001 % v/v (0.3~10 µg/mL)	弱陽性 ²²	Fukuda, 1987
			姉妹染色分体交換	CHO細胞	75~326 µg/mL	陽性 ⁴	NTP, 1983a
			姉妹染色分体交換	CHO細胞	75 µg/mL	陽性 ^{4,7}	Tennant et al., 1987
			染色体異常	チャイニーズハムスター線維芽細胞 (CHF細胞)	125 µg/mL	陰性 ²³ 陽性 ²⁴	Ishidate et al., 1984
			染色体異常	CHO細胞	198~300 µg/mL	陰性 ^{3,8}	Galloway et al., 1987
			染色体異常	CHO細胞	201~324 µg/mL	弱陽性 ^{2,25}	Galloway et al., 1987
			染色体異常	CHO細胞	50, 100, 200 µg/mL	陰性 ²⁶	Stich et al., 1981c
			染色体異常	CHO細胞	0.8~1.6 mM (131~263 µg/mL)	陽性 ^{2,27}	Bean et al., 1992
			染色体異常	CHO細胞	1.2, 1.4, 1.6 mM (197, 230, 263 µg/mL)	陽性 ^{2,8,28}	Bean & Galloway, 1993
			染色体異常	CHO細胞	198~324 µg/mL	陽性 ²	NTP, 1983a
			染色体異常	CHO細胞	300 µg/mL	陽性 ^{2,7}	Tennant et al., 1987

表 2.1: オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリル誘導体の遺伝毒性データのまとめ (JECFA, 2007a) _							
FL番号 JECFA番号	EU登録名 JECFA 名	構造式	エンドポイント	試験システム	濃度	結果	参照
			不定期DNA合成	Fischer 344ラット 雄 (肝細胞)	0.1~1,000 µM (0.01642~164.2 µg/mL)	陰性	Burkey et al., 2000
			不定期 DNA 合成	B6C3F ₁ マウス 雌 (肝細胞)	0.1~1,000 µM (0.01642~164.2 µg/mL)	陰性	Burkey et al., 2000
			不定期 DNA 合成	Fischer 344ラット 雄 (肝細胞)	10 ⁻⁶ ~10 ⁻³ M (0.1642~164.2 µg/mL)	陰性 ²⁹	Howes et al., 1990
			不定期 DNA 合成	SHE細胞	0.00003~0.0001% v/v (0.3~1 µg/mL)	陽性 ²	Fukuda, 1987
			不定期 DNA 合成	SDラット 雄 (肝細胞)	0.1, 0.25, 0.5 mM (16, 41, 82 µg/mL)	陰性	Allavena et al., 1992
09.020 1531	オイゲニル酢酸 (Eugenyl acetate)		不定期 DNA 合成	SDラット 雄 (肝細胞)	1, 2.5, 5, 10, 15 µg/mL	陰性 ³⁰	San & Reece, 2003
<i>in vivo</i>							
04.003 1529	オイゲノール (Eugenol)		小核誘導	Swiss CD-1マウス 雄 (骨髄)	680 mg/kg体重/日、15日間	陰性 ³¹	Rompelberg et al., 1995
			小核誘導	B6C3F ₁ マウス 雄 (骨髄)	150, 300, 600 mg/kg体重/日、3日間	陰性 ³²	Shelby et al., 1993
			小核誘導	ヒトリンパ球	150 mg/日、7日間 (1.7~2.2 mg/kg体重/日) ³³	陰性 ³⁴	Rompelberg et al., 1996b
			小核誘導	CF1マウス 雄 (骨髄)	400 mg/kg体重	陽性 ^{32, 35}	Ellahueñe et al., 1994
			小核誘導	SDラット 雄 (骨髄)	1340, 2,680 mg/kg体重	陰性 ³⁶	Allavena et al., 1992
			小核誘導	CF1マウス 雄 (骨髄)	100, 400, 600 mg/kg体重	陽性 ^{32, 37, 38}	Ellahueñe et al., 1994
			小核誘導	SDラット 雄 (肝臓及び骨髄)	1,340 mg/kg体重	陰性 ^{36, 39}	Allavena et al., 1992
			小核誘導	Wistarラット 雄 (骨髄)	500, 1,000 mg/kg体重/日、10日間	陰性 ^{34, 40}	Rompelberg et al., 1996a
			小核誘導	SDラット 雌 (骨髄)	335, 670, 1,340 mg/kg体重	陰性 ³⁶	Maura et al., 1989

FL番号 JECFA番号	EU登録名 JECFA名	構造式	エンドポイント	試験システム	濃度	結果	参照
			小核誘導	ddYマウス 雄(骨髄)	100, 200, 400, 800 mg/kg体重	陰性 ³²	Hayashi et al., 1984
			小核誘導	Swiss Webster マウス雄(骨髄)	148 ³² , 740 ³² , 14,794 ³⁴ mg/kg体重	陽性	Woolverton et al., 1986
			不定期DNA合成	SDラット 雄(肝細胞)	1,340, 2,680 mg/kg体重	陰性 ³⁶	Allavena et al., 1992
			不定期 DNA 合成	Wistarラット 雄(肝細胞)	500, 1,000 mg/kg体重/日、10日間	陰性 ^{36,41}	Rompelberg et al., 1996b
			DNA 断片化	SDラット 雌(肉芽腫細胞)	1, 5, 10 mmol/kg体重 (164, 821, 1,642 mg/kg体重) ₁	陰性 ³⁶	Maura et al., 1989
			DNA 断片化	SDラット 雌(肝臓及び腎臓)	1,340 mg/kg体重	陰性 ³⁶	Maura et al., 1989
			DNA 断片化	SDラット 雄(肝細胞)	1,340, 2,680 mg/kg体重	陰性 ^{36,42}	Allavena et al., 1992
			染色体異常	ヒトリンパ球	150 mg/日、7日間 (1.7- 2.2 mg/kg体重/日) ³³	陰性 ³⁴	Rompelberg et al., 1996b
			変異	SDラット 雌(肉芽腫細胞)	1, 5, 10 mmol/kg体重 (164, 821, 1,642 mg/kg体重) ₁	陰性 ³⁶	Maura et al., 1989

- 1 オイゲノールの相対的分子量=164.203から計算した。
- 2 代謝活性化系存在下。
- 3 代謝活性化系非存在下。
- 4 代謝活性化系存在下及び非存在下。
- 5 プレインキュベーション法
- 6 スポットテスト
- 7 陽性結果を与えた最低用量又は陰性結果を与えた最高用量
- 8 細胞毒性は、最高用量群に観察された
- 9 3,000 µg /プレートにおけるTA97、TA100及びTA104株に対し毒性を示した。
- 10 液体懸濁試験システムの変法
- 11 オイゲノールの密度=1.07 g/mlから計算した
- 12 1,200 µg/プレートにおいて全株に対し毒性を示した
- 13 細胞毒性は、5 µmoles/プレート(821 µg/プレート)で観察された
- 14 5,000 µmoles/プレートにおいて、全株に対して毒性を示した。
- 15 TA100及びTA1537株において、333.3 µg/プレートで毒性がみられた。

- 16 TA98株の500 µg/プレートにおいて、統計学的に有意差有り。
- 17 TA1537株の10、50、150及び500 µg /プレートで、統計学的に有意差有り；3つの測定ヶ所の最初だけ、陰性対照に比べて、プレートあたりの復帰突然変異体の数が少なくとも2倍であった。
- 18 3'-ホスホアデノシン・5'-ホスホスルファートが、代謝活性化系混合液に含まれた。
- 19 TA97株及びTA100株は、代謝活性化系存在下又は非存在下でも影響はなかった。TA98株及びTA102株では弱い作用が認められた。
- 20 細胞毒性は、64及び128 µg /mLで認められた。
- 21 重度の細胞周期の遅延を引き起こした用量で増加。
- 22 統計学的有意であるが、誘導レベルは対照群の二倍はない。
- 23 24時間における；使用した最も高い無毒性用量である。
- 24 48時間における；最大の効果が得られた用量である。
- 25 最初の試験では、約10.5時間において固定された細胞は、最高用量において染色体異常の微増を示した；2回目の試験（培養時間は20時間）では、はっきりと増加が観察された。
- 26 対照（0.8 %）に比較して、200 µg/mL（2.0%）での発生頻度がやや増加した。
- 27 最初の試験では、投与開始後15.0及び24.5時間で回収し、オイゲノール0.8 mmol/Lを加えて培養後、細胞の生存率は対照の57 %及び37 %であった。オイゲノール1.2 mmol/Lでの培養後では、対照の53 %及び43 %であった。異常細胞の割合は、オイゲノール0.8 mmol/Lで培養後、15時間で最大25.5 %へ上昇した。二回目の試験では、生じた異常は細胞毒性へとシフトした。オイゲノールの1.2～1.6 mmol/Lは、最初の試験の0.8 mmol/Lと同じくらいの細胞毒性であった。異常細胞の割合（26.5 %）が最大となったのは、オイゲノール1.6 mmol/Lを加えて培養後、17.時間で回収した時であった。
- 28 オイゲノールを3時間投与後、細胞は20-21時間又は42-44時間で回収された。重度の細胞周期の遅延は、オイゲノール1.6 mmol/Lを伴ったインキュベーション20時間後で観察された。また、染色体異常は対照群の約50 %への細胞数の減少を伴った。
- 29 細胞毒性は、500 µmol/Lで認められた。
- 30 細胞毒性は、10及び15 µg/mlで認められた。
- 31 混餌投与した。
- 32 腹腔内投与した。
- 33 用量範囲は、ボランティアの体重範囲を基にして計算した。：68～88 kg。
- 34 経口投与した。
- 35 腹腔内投与後24、30及び48時間後に採取した。
- 36 強制経口投与した。
- 37 腹腔内投与30時間後に、一度採取した。
- 38 オイゲノール400及び600 mg/体重で有意に増加。
- 39 ラットはオイゲノールの投与20時間前に肝臓の2/3を切除した。
- 40 1,000 mg/kg体重/日での多染性赤血球の割合は統計学的に有意ではないが軽度に増加した。
- 41 オイゲノール500 mg/kg体重で前処理され、*in vitro*でジメチルスルホキシドに暴露したラットの肝細胞は、対照の肝細胞（ジメチルスルホキシド）より核グレイン数の平均が有意に低かった；ジメチルスルホキシド+オイゲノール1,000 mg/kg体重の結果はない。
- 42 投与4及び20時間後に観察された。

表 2.2: 環置換フェノール性物質の遺伝毒性 (*in vitro*) (EFSA, 2007m)

表2.2: 遺伝毒性 (<i>in vitro</i>)						
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
(2-メチルフェノール [04.027])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	2.5 µL/プレート (26,200 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Douglas et al., 1980	¹⁷
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	324 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。経済協力開発機構(OECD)ガイドライン471に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	1~100 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Haworth et al., 1983	¹⁷ 許容可能な品質。NTP内のさまざまな研究室で試験される250の化学物質に関する詳細な試験結果を含む概要報告が発表されている。OECDガイドライン471に従っている(1983)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	5 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Massey et al., 1994	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	2,600 µg/プレートまで (範囲は報告なし)	陰性 ^{1,2,3}	Nestmann et al., 1980	¹⁷ 方法や結果の主要な内容が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	5~5,000 µg/プレートの4段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	¹⁷ 許容可能な品質
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	1,000 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Canter, 1981	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	500 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Nuodex Inc., 1980a	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	報告なし	陰性 ⁴ 、 陽性 ⁵	Claxton, 1985	¹⁷ 表形式の非常に短いまとめのためのため、結果を評価できない。報告書は試験の方法論的なものでこの物質に特異的なものではなかった。
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.5 mM (54 µg/mL) までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986; Jansson et.al., 1988	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
姉妹染色分体交換	ヒト線維芽細胞	86.5 - 865 µg/mL S9なし	どちらともとれる	Cheng & Kligerman, 1984	¹⁷ 限定的品質。最高濃度の結果のみ、統計的に明らかに対照と異なる(1.2倍の増加のみ)。2回目の試験は行われなかった。	

表2.2: 遺伝毒性 (*in vitro*)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	姉妹染色分体交換	CHO 細胞	12.5 ~ 75 nL/mL (78.6 µg/mL) の4段階、S9なし 1.56 ~ 700 nL/mL (733 µg/mL) の11段階、S9あり	陽性 ¹ 、 陽性 ²	Galloway & Brusick, 1981	¹⁷ 許容可能な品質。用量依存的増加が統計的に明らか(2倍まで)。
	姉妹染色分体交換	CHO 細胞	500 nL/mL (524 µg/mL) ⁴ まで	陽性 ^{1,2}	Galloway & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質はp-クレゾール、m-クレゾール及びo-クレゾール(それぞれ33 1/3%)の混合物であったからである。
	不定期 DNA 合成	ラット初代肝細胞	0.5~50 nL/mL (52.4 µg/mL) ⁴ までの7段階	どちらもとれる	Myhr & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質はp-クレゾール、m-クレゾール及びo-クレゾール(それぞれ33 1/3%)の混合物であったからである。反応は用量依存的でなかった。5.0 nL/mLまでわずかな反応が見られたが、一方UDSは10~50 nL/mLでは見られなかった。
	DNA 修復試験	大腸菌 W3110	5,000 µg/mL	陰性 ^{1,2}	Pepper Hamilton and Scheetz, 1980	¹⁷ 被験物質は 60 % o-クレゾールを含む。
	DNA 修復試験	大腸菌	5,000 µg/mL	陰性 ^{1,2}	Nuodex Inc., 1980b	¹⁷
(3-メチルフェノール [04.026])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	2,000 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Douglas et al., 1980	¹⁷
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	324 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537	3.3~333 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Haworth et al., 1983	¹⁷ 許容可能な品質。NTP 内のさまざまな研究室で試験される250 の化学物質に関する詳細な試験結果を含む概要報告が発表されている。OECD ガイドライン 471 に従っている(1983)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	2,000 µg/プレートまで (範囲は報告なし)	陰性 ^{1,2,3}	Nestmann et al., 1980	¹⁷ 方法や結果の主要な内容が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	0.5~5,000 µg/プレートで5段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	¹⁷ 許容可能な品質

表2.2: 遺伝毒性 (<i>in vitro</i>)						
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3,333 µg/plate	陰性 ^{1,2}	Canter, 1981	¹⁷
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	1 mmol/L (108 µg/mL) までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986; Jansson et al., 1988	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
	姉妹染色分体交換	ヒト線維芽細胞	865 µg/ml	陰性 ^{1,2}	Cheng & Kligerman, 1984	¹⁷
	姉妹染色分体交換	CHO 細胞	500 nL/mL (524 µg/mL) ⁴ まで	陽性 ^{1,2}	Galloway & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質は p-クレゾール、m-クレゾール及びo-クレゾール(それぞれ 33 1/3%)の混合物であったからである。
	不定期 DNA 合成	ラット初代肝細胞	10 µg/mL	陰性	Cifone, 1988a	¹⁷
	不定期 DNA 合成	ラット初代肝細胞	0.5~50 nL/mL (51.7 µg/mL) ⁴ で7段階	どちらともとれる	Myhr & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質はp-クレゾール、m-クレゾール及びo-クレゾール(それぞれ33 1/3%)の混合物であったからである。反応は用量依存的でなかった。5.0 nL/mLまでわずかな反応が見られたが、一方UDSは10~50 nL/mLでは見られなかった。

表2.2: 遺伝毒性 (*in vitro*)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
(4-メチルフェノール [04.028])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	1,000 µg/plate	陰性 ^{1,2}	Douglas et al., 1980	¹⁷
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	324 µg/plate	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。経済協力開発機構(OECD)ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3.3~333 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Haworth et al., 1983	¹⁷ 許容可能な品質。NTP 内のさまざまな研究室で試験される250の化学物質に関する詳細な試験結果を含む概要報告が発表されている。OECD ガイドライン 471 に従っている(1983)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	5 µg/plate	陰性 ^{1,2}	Massey et al., 1994	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	1,000 µg/plateまで (範囲は報告なし)	陰性 ^{1,2,3}	Nestmann et al., 1980	¹⁷ 方法や結果の主要な内容が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	0.5~5,000 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	¹⁷ 許容可能な品質
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	1,000 µg/plate	陰性 ^{1,2}	Canter, 1981	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	1 µl/plate (1,030 µg/plate)	陰性 ^{1,2}	Crowley & Margard, 1978	¹⁷
姉妹染色分体交換		ヒトリンパ球	0.5 mmol/L(54 µg/mL)までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
姉妹染色分体交換		ヒト線維芽細胞	865 µg/mL	陰性	Cheng & Kligerman, 1984	¹⁷
姉妹染色分体交換		CHO 細胞	500 nL/mL(524 µg/mL) ⁴ まで	陽性 ^{1,2}	Galloway & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質は p-クレゾール、m-クレゾール及び o-クレゾール(それぞれ 33 1/3%)の混合物であったからである。
不定期 DNA 合成		ヒトリンパ球	25 µM(2.7 µg/mL)	陰性	Daugherty & Franks, 1986	¹⁷ UV-誘導UDSの阻害のみが測定されているため関連性がない。加えて、結果は1つの濃度のみ報告されており(30%での阻害の結果)、陰性対照が含まれていない。

表2.2: 遺伝毒性 (*in vitro*)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	不定期 DNA 合成	ラット初代肝細胞	0.5~50 nL/mL(51.5 µg/mL)で7段階	どちらとも とれる	Myhr & Brusick, 1980	¹⁷ 制限関連を除けば許容可能。なぜなら、被験物質はp-クレゾール、m-クレゾール及びo-クレゾール(それぞれ33 1/3%)の混合物であったからである。反応は用量依存的でなかった。5.0 nL/mLまでわずかな反応が見られたが、一方UDSは10~50 nL/mLでは見られなかった。
	不定期 DNA 合成	WI-38 ヒト胚性肺繊維 芽細胞	明確に述べていない	陽性	Crowley & Margard, 1978	¹⁷ 限定的な品質の未発表の実験報告。濃度は明確に報告されておらず、3 点の濃度しか試験されていないためである。しかし結果は再現可能である。液体シンチレーション計測。
2-エチルフェノール [04.070]	エームス試験 (プレインキュ ベーション法)	ネズミチフス菌 TA97;TA98;TA100;T A1535	0.01~10 mg/プレート の5用量	陰性 ^{1,2}	Zeiger et al., 1992	許容可能な品質
	エームス試験 (プレインキュ ベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3 µmol/プレート (367 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	姉妹染色分体 交換	ヒトリンパ球	0.25 mmol/L(30.5 µg/mL)までの5段階	陰性 ⁶	Jansson et al., 1986	限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
3-エチルフェノール [04.021]	エームス試験 (プレインキュ ベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3 µmol/プレート (366 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	姉妹染色分体 交換	ヒトリンパ球	0.25 mmol/L (30.5 µg/mL)までの 5 段階	陰性 ⁶	Jansson et al., 1986	限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
(4-エチルフェノール [04.022])	エームス試験 (プレインキュ ベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	367 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;	報告なし	陰性 ^{1,2}	Epler et al., 1979	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。2 種しかテストしていない。結果が詳しく述べられていない。
	姉妹染色分体 交換	ヒトリンパ球	0.25 mmol/L(27 µg/mL)までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
(4-(1,1-ジメチル)エチルフェノール [04.064])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	2,000 µg/プレート	陽性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	¹⁷ 不十分な品質。結果が詳しく述べられていないので、妥当性を評価できない。

表2.2: 遺伝毒性 (<i>in vitro</i>)						
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	突然変異試験	大腸菌 WP2 及び WP2 <i>uvrA</i>	2,000 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	¹⁷ 不十分な報告。方法(例えば試験した濃度範囲)についての主な詳細内容が報告されていないため妥当性は評価できない。また、結果が詳しく述べられていない
	突然変異試験	酵母JD1	2000 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	¹⁷ 不十分な報告。方法(例えば試験した濃度範囲)についての主な詳細内容が報告されていないため妥当性は評価できない。また、結果が詳しく述べられていない
	染色体異常試験	ラット肝細胞 RL1, RL2	明確に示されていない ⁷	陰性	Dean et al., 1985	¹⁷ 不十分な報告。方法(例えば試験した濃度範囲)についての主な詳細内容が報告されていないため妥当性は評価できない。また、結果が詳しく述べられていない
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL細胞)	記載なし	陰性 ⁸	Kusakabe et al., 2002	¹⁷
	マウスリンフォーマ試験	L5178Y <i>tk</i> +/-マウスリンフォーマ細胞	80 µg/mL	陰性	Honma et al., 1999b	¹⁷
2,3-ジメチルフェノール [04.065]	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	記載なし	陰性 ^{1,2}	Epler et al., 1979	不十分な品質。OECDガイドライン471に従っていない。2種しかテストしていない。結果が詳しく述べられていない。
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.5 mmol/L (61 µg/mL) までの5段階	陰性 ⁶	Jansson et al., 1986	限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
2,4-ジメチルフェノール [04.066]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA97;TA98;TA100; TA1535;TA1537	0, 0.33, 1, 3.3, 10, 33 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Mortelmans et al., 1986	許容可能な品質
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3 µmol/プレート ⁹ (366 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	不十分な品質。経済協力開発機構(OECD)ガイドライン471に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	0.5~5,000 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	許容可能な品質
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.1 mmol/L (12 µg/mL) までの5段階	陽性 ⁶	Jansson et al., 1986	限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
(2,5-ジメチルフェノール[04.019])	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	367 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECDガイドライン471に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	記載なし	陰性 ^{1,2}	Epler et al., 1979	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。2種しかテストしていない。結果が詳細に報告されていない。
(2,6-ジメチルフェノール[04.042])	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	367 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	5 mg/プレート (5,000 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Schechtman et al., 1980	¹⁷
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター V79 細胞	10~100 µg/mLの3段階 (S9なし) 30~600 µg/mLの5段階 (S9あり)	陰性 ¹ 、 陽性 ²	Völkner, 1994	¹⁷ 許容可能な品質。この GLP 試験は OECD ガイドライン 473(1983)に従っている。最終報告は利用できず、下書きはサインされていない。しかし利用可能な下書きとしての結果及び結論は妥当と考えられる。
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.25 mmol/L (31 µg/mL)までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
2,4-ジメチルフェノール [04.066]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538	367 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	報告なし	陰性 ^{1,2}	Epler et al., 1979	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。2種しかテストしていない。結果が詳細に報告されていない。
3,5-ジメチルフェノール [04.020]	エームス試験 (プレート取り込み、 プレインキュベーション、 スポットテスト、 treat-and-plate法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535 ; TA1537;TA1538 大腸菌 WP2;WP2 <i>uvrA</i>	125 ~ 4,000 µg/プレートの6段階	陰性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	不十分な品質。結果が詳細に報告されていないので、妥当性を評価できない。
	有糸分裂遺伝子変換 アッセイ	酵母 JD1	報告なし	陰性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	¹⁷ 不十分な品質。方法(例えば試験した濃度の範囲)が詳細に報告されていないので、妥当性を評価できない。加えて、結果が詳細に報告されていない。

表2.2: 遺伝毒性 (<i>in vitro</i>)						
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	染色体異常試験	ラット肝細胞 RL4	GI50 (50% 成長阻害) の 0.125 ~ 0.5 の 3段階 µg/mLかµmol/mLかは記載なし。	陰性 ^{1,2}	Dean et al., 1985	不十分な品質。方法(例えば試験した濃度の範囲)が詳細に報告されていないので、妥当性を評価できない。加えて、結果が詳細に報告されていない。
2,4,6-トリメチルフェノール [04.095]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	3 µmol/プレート ¹⁰ (409 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100	報告なし	陰性 ^{1,2}	Epler et al., 1979	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。2 種しかテストしていない。結果が詳細に報告されていない。
(チモール [04.006])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA97; TA98; TA100	1,000 µg/mL	陰性 ^{1,2}	Azizan & Blevins, 1995	¹⁷
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	451 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA97; TA98; TA100	報告なし	陰性 ^{1,2}	Azizan & Blevins, 1995	¹⁷
	姉妹染色分体交換	SHE 細胞	0.3~30 µg/mLの5段階	どちらともとれる	Fukuda, 1987	¹⁷ 論文が日本語(例えば S9 の有無が明確でない)なので、妥当性を評価できない。しかし、表に記載されている結果は、用量依存でない。
	不定期 DNA 合成	SHE 細胞	0.3~10 µg/ mLの4段階	どちらともとれる	Fukuda, 1987	¹⁷ 論文が日本語(例えば S9 の有無が明確でない)なので、妥当性を完全に評価できない。しかし、表に記載されている結果は、用量依存でない。
(カルバクロール [04.031])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98; TA100	8, 16 ppmの2段階	陰性 ^{1,2}	Kono et al., 1995	¹⁷ OECD ガイドライン 471 に従っていない(2 種しかテストしていない。濃度を 2 点しかテストしていない。)。短い英語の概要と、日本語の論文。
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98; TA100	0.6~2.5 µmol/プレートの3段階	陰性 ^{1,2}	Stammati et al., 1999	¹⁷ OECD ガイドライン 471 に従っていない。(2 種しかテストしていない。濃度を 3 点しかテストしていない。)
	バクテリア DNA 修復テスト	大腸菌 WP2 <i>trpE65</i> , CM8781 <i>trpE65</i> ; <i>uvrA155</i> , <i>recA56</i> , <i>lexA</i>	2.5~6 µmol/ペーパーディスクの4段階	陽性	Stammati et al., 1999	¹⁷ 効果は抑制域として測定された。このアッセイは関連性が低いと考えられる。このようなアッセイの陽性結果は、遺伝毒性を示すと解釈できるかもしれないが、他のアッセイによって明らかにする必要がある。

表2.2: 遺伝毒性 (<i>in vitro</i>)						
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	SOS Chromotest	大腸菌PQ37	4段階(明確な記載なし)。	陰性	Stammati et al., 1999	¹⁷ 濃度の記載が明確でなく、S9無しの試験のみである。このアッセイは関連性が低いと考えられる。このようなアッセイの陽性結果は、遺伝毒性を示すと解釈できるかもしれないが、他のアッセイによって明らかにする必要がある。
(4-ビニルフェノール [04.057])	姉妹染色分体 交換	ヒトリンパ球	0.1 mmol/L (12 µg/mL) までの5段階。	陰性	Jansson et al., 1988	¹⁷ 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
(2-メトキシフェノール [04.005])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98; TA100; TA102	111,726 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Aeschbacher et al., 1989	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	16,000 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Douglas et al., 1980	¹⁷
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	1つの試験は333~11,740 µg/プレートの5段階。 他の研究室で行われた別の二つの試験では、3~3,333 µg/プレートの5段階。	陰性 ^{1,2}	Haworth et al., 1983	¹⁷ 許容可能な品質。NTP内のさまざまな研究室で試験される250の化学物質に関する詳細な試験結果を含む概要報告が発表されている。3つの試験が2つの研究室で実施された。OECDガイドライン471に従っている(1983)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	16,000 µg/プレートまで (範囲は記載なし)	陰性 ^{1,2}	Nestmann et al., 1980	¹⁷ 方法や結果の主要な内容が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	0.5~5,000 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	¹⁷ 許容可能な品質
	姉妹染色分体 交換	ヒトリンパ球	0.5 mmol/L (62 µg/mL) までの5段階。	陽性	Jansson et al., 1988	¹⁷ 許容可能な品質。最高濃度のみ統計的に明らか増加。影響はとても弱いだが、再現可能である。
	3-メトキシフェノール [04.076]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	30 µmol/プレート (3,724 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	1 mmol/L (124 µg/mL) までの5段階。	陰性 ⁶	Jansson et al., 1988	限定的品質 (最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
4-メキシフェノール [04.077]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	最初の実験は3.3~167 µg/プレートの5段階。 他の研究で行われた二つ目の試験では、100~5,000 µg/プレートの5段階。	陰性 ²	Haworth et al., 1983	許容可能な品質。NTP内のさまざまな研究室で試験される250の化学物質に関する詳細な試験結果を含む概要報告が発表されている。試験は2つの研究室で実施されている。OECDガイドライン471に従っている(1983)。
	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	30 µmol/プレート (3,724 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	OECDガイドライン471に従っていない。試験デザインが不十分 (スポット試験)。
	エームス試験 (プレート取込法)	ネズミチフス菌 TA100;TA1530	4 µmol/プレートまで	陰性 ^{1,2,12}	Bartsch et al., 1980	2種しか試験していないので、芳香族グループの評価の目的に対しては、不十分と考えられる。結果が詳しく述べられていないため、妥当性を評価できない。
	マウスリンフォーマアッセイ	マウスリンパ球 L5178Y TK +/-	27~2,000 µg/mL (S9無し) 1.3~100 µg/mL (S9あり)	陽性 ¹ 陰性 ²	Rogers-Back, 1986	全ページ表形式がないため、この非公表の論文の妥当性は、評価できない。
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.05 mmol/L (6.2 µg/mL) までの5段階	陰性 ⁶	Jansson et al., 1986	限定的品質 (最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
	染色体異常試験	CHO 細胞	954, 1269, 1692 µg/mL (それぞれS9有り無しで)	陽性 ^{1,2}	(Putman, 1986)	全ページ表形式がないため、この非公表の論文の妥当性は、評価できない。
	不定期 DNA 合成	ヒトリンパ球	25 µM (3.1 µg/mL)	どちらともとれる	Daugherty & Franks, 1986	UV-誘導 UDS の阻害のみが測定されているため関連性がない。加えて、結果は1つの濃度のみ報告されており (30%での阻害の結果)、陰性対照が含まれていない。
(2-メキシ-4-メチルフェノール [04.007]	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	1 mmol/L (138 µg/mL) までの5段階	陽性	Jansson et al., 1986	許容可能な品質。効果はとても弱い (2倍増) が、用量依存的で、統計学的に有意差がある。
(4-エチルグアイアコール [04.008])	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	1 mmol/L (152 µg/mL) までの5段階	陰性	Jansson et al., 1986	限定的品質 (最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)

表2.2: 遺伝毒性 (*in vitro*)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
(2,6-ジメトキシフェノール [04.036])	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	16,000 µg/プレート	陰性	Douglas et al., 1980	17
	エームス試験 (前保温法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	463 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	17 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	1,000 µg/mL	陰性 ^{1,2}	McMahon et al., 1979	17
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	0.5~5,000 µg/プレートの5段階	陰性 ^{1,2}	Pool & Lin, 1982	17 許容可能な品質
	突然変異試験	大腸菌	1,000 µg/mL	陰性 ^{1,2}	McMahon et al., 1979	17
	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.5 mmol/L (77 µg/mL) までの4段階	陰性	Jansson et al., 1986	17 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)
4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシアセトフェノン [07.164]	エームス試験 (プレート取込法)	ネズミチフス菌 TA97; TA98; TA100; TA102	10~4,000 µg/プレートで6段階	陰性 ^{1,2}	Pfuhler et al., 1995	限定的品質。TA1535 が OECD471 (1983 及び 1997) で推奨されているが、使用されなかった。そのことは許容できるとしても、試験が繰り返されなかった。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	1 mg/プレートまで (範囲は記載なし)	陰性 ^{1,2}	Nestmann et al., 1980	方法や結果の主要な内容が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	変異原性試験	酵母 D7; XV185-14C	記載なし	陰性 ¹	Nestmann & Lee, 1983	不十分な品質。濃度や結果の詳細が報告されていない。
	姉妹染色分体交換	ヒト末梢リンパ球	3.3~100 µg/mLの4段階	陰性 ^{1,2}	Pfuhler et al., 1995	独立した実験の中で試験が繰り返されていないので限定的品質。しかし OECD 479 (1986) に従っている。
(2-メトキシ-4-ピニルフェノール [04.009])	姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球	0.5 mmol/L (75 µg/mL) までの5段階	どちらともとれる	Jansson et al., 1988	17 限定的品質(最大濃度の選択が適当でなく、試験が繰り返されていない)。弱い影響(最高濃度の結果のみ、SCE 頻度が二倍に増加した。これは統計学的に有意差があるが、2 回目の試験で再現されなかった。

表2.2: 遺伝毒性 (*in vitro*)

化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	濃度	結果	参照	コメント
3,4-メチレンジオキシフェノール [04.080]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA102	1~10 µM/プレート(1,381 µg/プレート)の4段階	(適切でない) ¹³	Kaur & Saini, 2000)	限定的な関連性。抗変異原活性が調べられただけである。物質は変異原物質と配合して試験されただけである。
	エームス試験 (プレート取込法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	33~3,333 µg/プレート	陰性 ^{1,2,14}	Longfellow, 1985/1986	妥当性を評価できない。情報は、米国国立がん研究所情報システムデータベース(the Chemical Carcinogenesis Research Information System Database)から得ている。方法や結果の詳細は利用できない。
	マウスリンフォーマアッセイ	マウスリンパ球 L5178Y TK +/-	25~215 µg/mL	陽性 ^{1,2}	Longfellow, 1985/1986	妥当性を評価できない。情報は、米国国立がん研究所情報システムデータベース(CCRIS database)から得ている。方法や結果の詳細は利用できない。
(2-ヒドロキシアセトフェノン [07.124])	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537;TA1538	408 µg/プレート	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	¹⁷ 不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
4-ヒドロキシアセトフェノン [07.243]	エームス試験 (プレインキュベーション法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535; TA1537	30 µmol/プレート (4,085 µg/プレート)	陰性 ^{1,2}	Florin et al., 1980	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。試験デザインが不十分(スポット試験)。
アセトバニロン [07.142]	エームス試験 (プレインキュベーション法及びプレート取込法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100	記載なし	陰性 ^{1,2}	Xu et al., 1984	不十分な品質。OECD ガイドライン 471 に従っていない。2種しか試験していない。濃度レンジの記載なし。結果の詳細が報告されていない。
	エームス試験	ネズミチフス菌 TA98;TA100;TA1535;T A1537;TA1538	1 mg/プレートまで(範囲は記載なし)	陰性 ^{1,2}	Nestmann et al., 1980	方法や結果の主要な内容や範囲が報告されていないので不十分な品質。加えて、試験が繰り返されていない。
	変異原性試験	酵母 D7; 酵母 XV185-14C	100~1,000 µg/mLの6段階	陰性 ¹⁵ 陽性 ¹⁵	Nestmann & Lee, 1983	S9 無しでしか試験していない。しかし報告された陽性の結果は信用できるようにみえる。
(バニルアセトン [07.005])	エームス試験 (プレート取込法)	ネズミチフス菌 TA98;TA100	1,000 µg/プレート	陰性 ^{2,16}	Mikulasova & Bohovicova, 2000	¹⁷
	DNA 修復試験	大腸菌 WP2, WP2 ^{uvrA} , CM611;CM561	2,000 µg/mL	陰性	Mikulasova & Bohovicova, 2000	¹⁷

GI = 成長阻害

IP = 腹腔内

- 1) 代謝活性化系非存在下
- 2) 代謝活性化系存在下
- 3) おそらく非変異原性である。しかし、溶解度が低く、致死性をもたらす量の検査をできなかった。
- 4) TA100を用いた試験のS9代謝活性化系存在下及び非存在下共に陰性の結果
- 5) TA98を用いた試験の代謝活性化系存在下及び非存在下共に陽性の結果
- 6) 代謝活性化の実施報告はなかった。
- 7) 細胞毒性試験から求められるように、この試験のために選択される濃度は、50%生育阻害(この濃度は明記されていない)を引き起こしている濃度0.5、0.25及び0.125に相当した。
- 8) 試験物質は、S9代謝活性化系非存在下の短期試験と、S9代謝活性化系存在下及び非存在下の長期試験(48時間)で陰性であった。試験物質は、S9代謝活性化系存在下の短期試験において陽性結果を与えた。
- 9) TA100を用いて定量的な試験を行った。物質は、30 µmol/プレートで細胞毒性を示した。
- 10) 結果は5,000 µg/プレートで細胞毒性を示したが、それはバックグラウンドの細胞層の薄さのためとされた。
- 11) TA98を用いて定量的な試験を行った。物質は、30 µmol/プレートで細胞毒性を示した。
- 12) 申立人は文献の結果から、TA1530を用いた実験において明らかに物質が陽性であるという説明をしたが、これは間違っている。文献の脚注から、TA100及びTA1530を用いて試験が行われ、結果は陰性であったことが明らかになる。しかし2種しか試験されず、試験の品質は、この芳香族グループの評価の目的には不十分であると考えなければならない。
- 13) 抗変異原性試験。セサモールは、t-BOOHの変異原性作用を大いに減少させた。
- 14) ラット及びマウスのS-9を用いた代謝活性化系存在下。
- 15) 遺伝子変換(D7株)に対する陰性反応及び復帰突然変異(XV185-14C株)に対する陽性反応。
- 16) 用量は、調べられる最も高い非毒性用量であった。2,500 µg/mLにおいて、細胞毒性が認められた。
- 17) JECFA第55回会議による要約。(JECFA, 2001b)

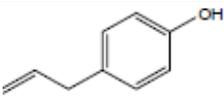
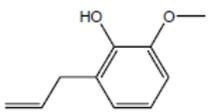
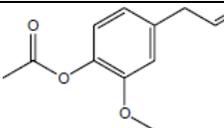
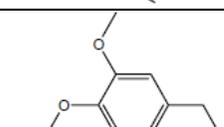
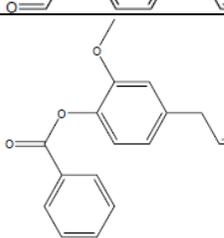
表 2.3: 環置換フェノール様物質の遺伝毒性 (*in vivo*) (EFSA, 2007m)

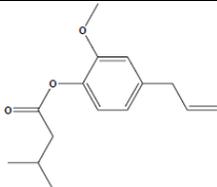
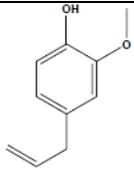
表2.3: 遺伝毒性 (<i>in vivo</i>)							
化学名 [FL番号]	試験システム	試験対象物	経路	濃度	結果	参照	コメント
(2-メチルフェノール [04.027])	<i>in vivo</i> 姉妹染色分体交換	マウス骨髄細胞、肺胞のマクロファージ、再生肝細胞	腹腔内投与	0, 200 mg/kg	陰性	Cheng & Kligerman, 1984	¹ 2種の動物しか使われておらず、それぞれの動物からそれぞれの細胞型につき20中期のみしか分析していないので、限定的品質。一つの用量しか試験を行っていない。
	<i>in vivo</i> 伴性劣性致死試験	ショウジョウバエ	経口	0, 100, 500, 1,000 µg/ml	陰性	Sernau, 1989	許容可能な品質。GLP試験は一般的にOECD 477(1984)に従っている。
(3-メチルフェノール [04.026])	<i>in vivo</i> 姉妹染色分体交換	マウス骨髄細胞、肺胞のマクロファージ、再生肝細胞	腹腔内投与	0, 200 mg/kg	陰性	(Cheng & Kligerman, 1984) ¹	¹ 3種の動物しか使われておらず、それぞれの動物からそれぞれの細胞型につき20中期のみしか分析していないので、限定的品質。一つの用量しか試験を行っていない。
	<i>in vivo</i> 染色体異常試験	マウス骨髄	経口(強制)	0, 96, 320, 960 mg/kg	陰性	Ivett et al., 1989	¹ GLP試験は一般的にOECD 475(1984)に従っている。しかし、全ページに結果の図表がないため、結果の妥当性を評価できない。
(4-メチルフェノール [04.028])	<i>in vivo</i> 姉妹染色分体交換	マウス骨髄細胞、肺胞のマクロファージ、再生肝細胞	腹腔内投与	0, 75 mg/kg	陰性	Cheng & Kligerman, 1984	¹ 3種の動物しか使われておらず、それぞれの動物からそれぞれの細胞型につき20中期のみしか分析していないので、限定的品質。一つの用量しか試験を行っていない。
(カルバクロール[04.031])	<i>in vivo</i> スポット試験	ショウジョウバエ BINS; Oregon-R		1.40 ppm; 0.35 ppm	陰性	Kono et al., 1995	¹ 妥当性を評価できない。文献は日本語で書かれており、概要のみ英語である。結果は図表に現され、二つの用量のみ報告されている。対照群が同時に処理されたのか明確でない。
4-メトキシフェノール [04.077]	<i>in vivo</i> 染色体異常試験	ラット	経口(強制)	0, 100, 333, 1,000 mg/kg 体重	陰性	Esber, 1986	試験デザインはOECDガイドライン 475(1984)に従っている。試験の報告は不完全であった。しかし、試験報告は十分に詳細であるので、試験の結果は陰性と判断された。

¹JECFA 第 55 回会議による要約 (JECFA, 2001b)。

表3 :安全性評価の概要

表 3.1: オイゲノール及び 6 つの関連するヒドロキシアリルベンゼン誘導体の安全性評価の概要 (JECFA, 2007a)

FL番号 JECFA 番号	EU登録名	構造式	EU MSDI 1) US MSDI (µg/ヒト/日)	クラス 2) 評価手法のパス 3)	指定された混合物 における結果 [4) 又は 5)]	指定された混合物における EFSAの結論 (手順の段階、推 定摂取量、NOAEL、遺伝毒性)	商業用の物質における EFSAの結論
04.058 1527	4-アリルフ ェノール		0.073 0.6	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂 取量において、安全性に 対する懸念はない	MSDI法に基づいた予 測摂取量において、安 全性に対する懸念はな い
04.096 1528	2-メトキシ -6-(2-プロ ペニル)フ ェノール		0.12 0.2	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂 取量において、安全性に 対する懸念はない	MSDI法に基づいた予 測摂取量において、安 全性に対する懸念はな い
09.020 1531	酢酸オイゲ ノール		19 90	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂 取量において、安全性に 対する懸念はない	MSDI法に基づいた予 測摂取量において、安 全性に対する懸念はな い
09.088 1530	4-オイゲニ ルギ酸エス テル		0.012 0.06	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂 取量において、安全性に 対する懸念はない	混合物の構成によって 異なる
09.766 1533	安息香酸 オイゲニル		0.0024 0.9	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂 取量において、安全性に 対する懸念はない	MSDI法に基づいた予 測摂取量において、安 全性に対する懸念はな い

FL番号 JECFA番号	EU登録名	構造式	EU MSDI 1) US MSDI ($\mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$)	クラス 2) 評価手法のパス 3)	指定された混合物 における結果 [4) 又は 5)]	指定された混合物における EFSAの結論(手順の段階、推 定摂取量、NOAEL、遺伝毒性)	商業用の物質における EFSAの結論
09.878 1532	イソ吉草酸 オイゲニル		0.37 0.5	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	MSDI法に基づいた予測摂取量において、安全性に対する懸念はない	MSDI法に基づいた予測摂取量において、安全性に対する懸念はない
04.003 1529	オイゲノール		950 3364	クラス I A3: 閾値を超える摂取量 A4: 内因性ではない A5: 適正なNOAELが存在	4)	MSDI法に基づいた予測摂取量において、安全性に対する懸念はない	MSDI法に基づいた予測摂取量において、安全性に対する懸念はない

- 1) EU MSDI: 香料料として食品に加えられた量 (kg/年) $\times 10E9 / (0.1 \times \text{ヨーロッパの人口} (= 375 \times 10E6) \times 0.6 \times 365) = \mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$ 。
- 2) 評価の閾値: クラスI = 1,800、クラスII = 540、クラス III = 90 $\mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$ 。
- 3) 手順パスA 物質が無害の物質に代謝されることが示唆される。手順パスB そうでない物質。
- 4) 評価物質のMSDI法による推定摂取量に基づき、安全性に対する懸念はない
- 5) 物質又は非常に関係のある物質に関するデータは、安全性評価を実施するために利用可能でなければならない。

表 3.2:安全性評価に適用する手段の概要 (EFSA / FGE.22)

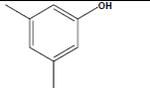
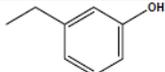
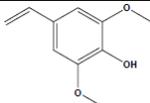
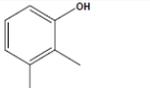
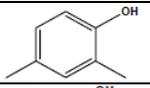
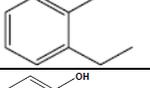
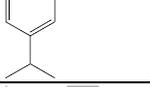
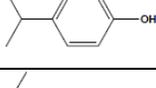
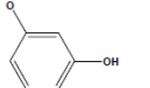
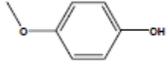
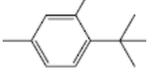
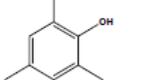
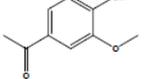
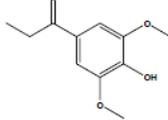
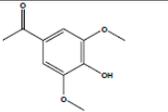
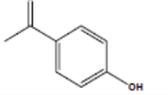
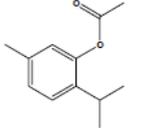
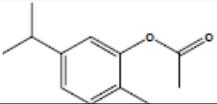
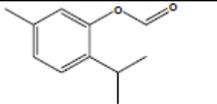
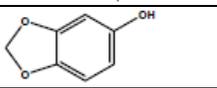
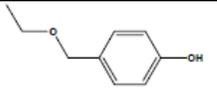
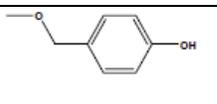
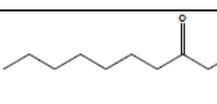
表 3.2 : FGE.22 に掲載されている物質に適用する安全性評価の概要 (MSDI 法による予測摂取量に基づく)							
FL番号	EU登録名	構造式	MSDI 1) ($\mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$)	クラス 2) 評価手法のパス 3)	指定された混合物 における結果 [4) 又は 5)]	商業用の物質の結果 [6)、7) 又は 8)]	評価備考欄
04.020	3,5-ジメチルフェノール		0.037	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.021	3-エチルフェノール		0.073	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.061	2,6-ジメトキシ-4-ビニルフェノール		1.2	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.065	2,3-ジメチルフェノール		0.013	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.066	2,4-ジメチルフェノール		0.011	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.070	2-エチルフェノール		0.037	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.072	3-イソプロピルフェノール		0.0012	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.073	4-イソプロピルフェノール		0.24	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.076	3-メトキシフェノール		0.011	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	

表 3.2: FGE.22 に掲載されている物質に適用する安全性評価の概要 (MSDI 法による予測摂取量に基づく)

FL番号	EU 登録名	構造式	MSDI 1) ($\mu\text{g}/\text{人}$ 当たり/日)	クラス 2) 評価手法のパス 3)	指定された混合物 における結果 [4) 又は 5)]	商業用の物質の結果 [6)、7) 又は 8)]	評価備考欄
04.077	4-メトキシ フェノール		0.12	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.078	5-メチル -2-(tert- ブチル)フェ ノール		0.061	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
04.095	2,4,6-トリメ チルフェノ ール		0.0097	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
07.142	アセトバニ ロン		2.2	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
07.154	1-(3,5-ジ メトキシ-4- ヒドロキシ フェニル) プロパン -1-one		0.026	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
07.164	4-ヒドロキ シ-3,5-ジメ トキシアセ トフェノン		0.24	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
07.243	4-ヒドロキ シアセトフ ェノン		0.016	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	
09.253	2-イソプロ ピル-5-メ チルフェニ ルアセテ ート		1.1	クラス I A3: 閾値以下の摂取量	4)	6)	

FL番号	EU登録名	構造式	MSDI 1) ($\mu\text{g}/\text{人}$ 当たり/日)	クラス 2) 評価手法のパス 3)	指定された混合物 における結果 [4) 又は5)]	商業用の物質の結果[6)、7)、 又は 8)]	評価備考欄
09.337	カルバクリ ル酢酸塩		0.61	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	6)	
09.893	2-イソプロ ピル-5-メチ ルフェニル ホルメート		0.52	クラス I A3: 閾値以下の摂 取量	4)	6)	
04.080	3,4-メチレ ンジオキシ フェノール		1.7	クラスI			a)
04.091	エチル 4- ヒドロキシ ベンジルエ ーテル		0.0012	クラス II A3: 閾値以下の摂 取量	4)	6)	
04.092	4-ヒドロキシ ベンジルメ チルエーテ ル		0.61	クラス II A3: 閾値以下の摂 取量	4)	6)	
07.234	5-パラドー ル		0.012	クラス II A3: 閾値以下の摂 取量	4)	6)	

- 1) MSDI: 香料料として食品に加えられた量 (kg/年) $\times 10E9 / (0.1 \times \text{ヨーロッパの人口} (= 375 \times 10E6) \times 0.6 \times 365) = \mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$ 。
- 2) 評価の閾値: クラスI = 1,800、クラスII = 540、クラス III = 90 $\mu\text{g}/\text{ヒト}/\text{日}$ 。
- 3) 手順パスA 物質が 無害の物質に代謝されることが示唆される。手順パスB そうでない物質。
- 4) 評価物質のMSDI法による推定摂取量に基づき、安全性の問題はない。
- 5) 物質又は非常に関係のある物質に関するデータは、安全性評価を遂行するために利用可能でなければならない。
- 6) 表1の商業用の物質に対する推定摂取量において、安全性に問題はない (MSDI法による推定摂取量に基づく)。
- 7) 一次的に安全性に対する懸念はないとして (MSDI法による予測摂取量に基づく)、商業用物質の純度に関するさらなる情報を待つ。
- 8) 商業用物質の純度に関する情報が欠如しているため、結論を描くことができない。
- a) さらなる遺伝毒性データの結果を待ち、評価は延期された。

オイゲノールの毒性試験と結果の概要（評価書:EFSA 2009）

表 2 参照

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
EFSA	The European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
FGE	The Flavouring Group Evaluation	香料グループ評価
AFC	the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food	食品添加物、香料、加工補助剤及び食品と接触する材料に関する科学委員会
SCF	the Scientific Committee on Food	食品科学委員会
EC	European Committee	欧州委員会
LD ₅₀	50% lethal dose	半数致死量
MSDI	the Maximised Survey-derived Daily Intake	調査由来の最大一日摂取量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
mTAMDI	a modified Theoretical Added Maximum Daily Intake	改変型理論的追加最大一日摂取量
FL-number	FLAVIS-number	FL-番号
ADI	acceptable daily intake	一日摂取許容量
bw	body weight	体重
SCE	sister chromatid exchanges	姉妹染色分体交換
CHO cell	Chinese hamster ovary CHO cell	チャイニーズハムスター卵巣細胞
UDS	unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成

