

内閣府食品安全委員会事務局
平成24年度食品安全確保総合調査

食品健康影響評価（自ら評価）を行うための
アクリルアミドに関する情報収集と分析

調査報告書

平成24年12月28日

株式会社三菱化学テクノリサーチ

はじめに

本報告書は、内閣府食品安全委員会事務局から株式会社三菱化学テクノリサーチへの委託事業「食品健康影響評価（自ら評価）を行うためのアクリルアミドに関する情報収集と分析」の結果を取りまとめたものである。

内閣府食品安全委員会において、平成 22 年度に「加熱時に生じるアクリルアミド」について、食品安全委員会が自ら行う食品健康影響評価の案件候補として審議され、国民からの意見・情報の募集を経て、第 376 回食品安全委員会（平成 23 年 3 月 31 日開催）において評価を行うことが決定された。このアクリルアミドに関する食品健康影響評価が行われるに当たり、参考となる国際機関・諸外国のリスク評価書の翻訳・整理・分析を行うとともに、最新の文献等の収集及び既存の情報を含めたリスク評価に必要な情報について整理・分析を行った。

平成 24 年 12 月

株式会社三菱化学テクノリサーチ

目次

第1章 調査の概要	7
1. 事業名	7
2. 調査の目的	7
3. 調査の項目	7
4. 調査方法	8
第2章 アクリルアミドに関する情報の取りまとめ	10
I. 評価対象物質の概要	10
1. 用途	10
2. 一般名	10
3. 化学名	10
4. 分子式	11
5. 分子量	11
6. 構造式	11
7. 物理化学的性状	11
8. 現行規制等	12
(1) 法令の規制値等	12
(2) 諸外国等の水質基準値又はガイドライン値	12
(3) 日本におけるその他の法規制	12
9. 存在形態	13
(1) 大気中での安定性	13
(2) 水中での安定性	13
(3) 環境中分布	14
(4) 環境水中での動態	15
(5) 生物濃縮性	16
10. 食品中での生成	17
(1) 経緯	17
(2) 生成経路	17
(3) バレイシヨにおけるアクリルアミドの生成	21
11. 検出状況	25
(1) 食品中	25
(2) 魚体中	36
(3) 飲料水中	36
(4) 環境中	37

1 2. 曝露状況.....	39
(1) ヒトへの曝露シナリオ.....	39
(2) ヒトの推定摂取量.....	39
(3) 海外の曝露状況.....	46
1 3. 測定方法と検出限界.....	47
(1) 大気.....	47
(2) 食品.....	48
(3) バイオマーカーとしてのヘモグロビン付加体.....	57
(4) 尿中のアクリルアミド代謝物の測定.....	59
1 4. アクリルアミド生成の低減.....	60
1 5. その他.....	67
II. 安全性に係る知見の概要.....	68
1. 毒性に関する科学的知見.....	68
(1) 体内動態.....	68
(2) 実験動物等への影響.....	85
(3) ヒトへの影響.....	134
2. 国際評価機関等の評価.....	147
第3章 まとめ.....	156
1. 物質の概要.....	156
2. 体内動態.....	161
3. 動物に対する毒性.....	161
4. ヒトに対する影響.....	163
5. 海外の評価機関の評価.....	163
<略号>.....	166
<参照>.....	169

第1章 調査の概要

1. 事業名

食品健康影響評価（自ら評価）を行うためのアクリルアミドに関する情報収集と分析

2. 調査の目的

アクリルアミドに関する食品健康影響評価（自ら評価）（以下「リスク評価」という。）を行うに当たり、参考となる国際機関・諸外国のリスク評価書の翻訳・整理・分析を行うとともに、最新の文献等の収集及び既存の情報を含めたリスク評価に必要な情報について整理・分析を行う。

3. 調査の項目

(ア) 一般情報

存在形態、物理化学的性質、主たる用途、環境中の挙動、使用実績、現行規制、食品、飲料水等からの検出状況、曝露状況（食品由来、食品由来以外、一日推定摂取量等）、測定方法と検出限界値。

(イ) 代謝（生体内運命）

ヒト又は実験動物がアクリルアミドに曝露された際の代謝等（吸収、分布・蓄積、代謝、排泄、毒性発現メカニズム）の体内運命。

*吸収及び分布・蓄積については、経口（曝露）投与の知見を中心に、曝露（投与）経路及び投与量（体重当たり摂取量）が分かるように知見を整理する。

(ウ) 疫学調査及び中毒事例（ヒトへの影響）

ヒトがアクリルアミドに曝露された際の健康影響（急性毒性、慢性毒性、発がん性、次世代影響（特に、胎児、乳幼児への影響等））。

*経口曝露の知見を中心に、曝露経路及び曝露量（体重当たり摂取量）が分かるように知見を整理する。

*経口曝露に関する知見は少ないことが想定されることから、吸入曝露等についても広く整理する。

(エ) 実験動物に対する毒性

動物を用いた各種毒性試験（急性毒性試験、反復投与毒性試験、生殖・発生毒性試験、遺伝毒性試験、発がん性試験、神経毒性試験、免疫毒性試験等）等の毒性情報。

*経口摂取に関する知見について、投与量が分かるように知見を整理する。

*飲水投与試験の場合は、必ず、飲水中濃度（ppm、mg/L 等）を体重当たり摂取量に（mg/kg 体重/日）換算して併記する。

*該当する毒性試験がない場合には、その旨記載する。

(ウ) 国際機関等の評価とその根拠

国際機関（FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合（JECFA）、WHO（飲料水水質ガイドライン、IARC）等）、諸外国（EU（EFSA、BfR、ANSES 等の欧州各国における評価）、米国（FDA、EPA）等）及び我が国の耐容摂取量等の設定の有無とその科学的な根拠について、整理を行う。

4. 調査方法

(1) 委員会の設置

疫学、毒性学、分析化学等の有識者3名以上から構成される検討会を設置し、調査方針、調査項目について検討するとともに、収集した情報内容を分析・検討し、リスク評価を行うために必要な情報を整理した。

・検討会委員

今井 俊夫 国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設

西川 秋佳* 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター センター長

広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室 室長

武林 亨 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学 教授

吉田 充 農業・食品産業技術総合研究機構 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室 室長

*: 委員長

・検討会開催日程表

第1回検討会 平成24年9月12日

第2回検討会 平成24年10月29日

第3回検討会 平成24年11月30日

(2) 文献等の収集、和文抄録の作成、整理

アクリルアミドに関する情報について、表1-1のような国際評価機関等における評価書及び評価書中に引用されている文献等を収集した。

表 1-1 調査の対象とされた国際評価機関等

世界保健機関：World Health Organization (WHO)
コーデックス委員会：Codex Alimentarius Commission (CAC)
FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合：Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)
国際癌研究機関：International Agency for Research Cancer (IARC)
欧州委員会：European Commission (EC)
欧州食品安全機関：European Food Safety Authority (EFSA)
米国食品医薬品庁：Food and Drug Administration (FDA)
米国環境保護庁：Environmental Protection Agency (EPA)
米国毒性物質疾病登録機関：The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)
米国産業衛生専門家会議：American Conferences of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)
英国環境・食料・農村地域省：Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA)
仏食品環境労働衛生安全庁：ANSES
独連邦リスク評価研究所：BfR
ヘルスカナダ：Health Canada
カナダ食品検査庁：Canadian Food Inspection Agency (CFIA)
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関：Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)
その他の国際評価機関等

また、リスク評価に必要な文献等を商用データベース (DB) によって検索した。

TOXLINE (TOXNET)
CA (STN International)
MEDLINE
PubMed
JST (科学技術振興機構)

上記で収集した文献について和文抄録を作成し、別冊に記載した。また、各文献に記載されている内容を調査項目ごとに整理して取りまとめた。

(3) 調査報告会の開催

以下の日程で報告会を開催し、本調査の結果を報告した。

・報告会日程

平成 24 年 12 月 28 日

第2章 アクリルアミドに関する情報の取りまとめ

I. 評価対象物質の概要

1. 用途

アクリルアミドの国内での主な用途は、産業界において、ポリアクリルアミドの原料などに利用されている。すなわち、紙力増強剤（紙の強度を高め破れにくくする）、沈殿物凝集剤（排水中等の粒子を凝集し沈殿させる）、繊維加工（繊維の性質を改良したり、シワを出来にくくする）、土壌改良剤（土の粒子を小さなかたまりに形成（団粒化）し、水の浸透性や保水性、空気の通過性を改良する）、接着剤（ガラス繊維等の接着剤の原料に利用する）、塗料（アクリル系塗料の原料に利用する）として用いられている（内閣府食品安全委員会, 2005）。その他、顔料、合成中間体、高分子凝集剤、繊維の改質及び樹脂加工、石油回収剤（環境省, 2011）、化粧品原料等の用途もある（農林水産省, 2011c）。アクリルアミドの使用割合について、表 2-1 に示した（NITE, 2007）。

表 2-1 アクリルアミドの用途別使用量の割合

用途		割合 (%)
重合原料	紙力増強剤	60
	凝集剤（ポリアクリルアミド等）	30
その他		10
合計		100

（NITE, 2007）

また、製造されたアクリルアミドの大部分は化学中間体又はポリアクリルアミドの製造におけるモノマーとして使用され、アクリルアミド及びポリアクリルアミドはいずれも、凝集剤として飲料水の浄化にも用いられ、地方自治体での下水処理並びに工場の廃水処理、飲用水貯水池及び井戸の建設に注入材として使用される（IPCS, 1985、WHO, 2011）ほか、ダムやトンネル建設のシーリング材にも利用されている（JECFA, 2011b）。

2. 一般名

アクリルアミド（別名：アクリル酸アミド、2-プロペンアミド、プロパ-2-エンアミド）

3. 化学名

IUPAC

和名：2-プロペンアミド

英名：2-propenamide

CAS No. : 79-06-1

4. 分子式

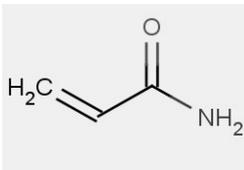
C₃H₅NO

5. 分子量

71.08

6. 構造式

CH₂=CHCONH₂



7. 物理化学的性状

- ・ 外観：無色固体 (HSDB, 2003)
- ・ 融点 (°C)：84.5 (Merck, 2006)
- ・ 沸点 (°C)：bp₂ 87 (2.7hPa)、bp₅ 103 (6.7 hPa)、bp₂₅ 125 (33.3 hPa) (Merck 2006)、bp₂₅ 136 (3.3 kPa) (JECFA, 2011b)
- ・ 引火点：138 °C (密閉式) (IPCS, 2000)
- ・ 発火点：240 °C (NFPA, 2002)
- ・ 爆発限界：2.2～15.2 vol% (空气中、100°C) (IPCS, 2000)
- ・ 比重：d₄³⁰ 1.122 (Merck, 2006)
- ・ 蒸気密度：2.46 (空気=1、計算値)
- ・ 蒸気圧：1 Pa (20°C) (IPCS, 2000)
- ・ 分配係数 (オクタノール/水)：log Kow=-0.67 (測定値)、-0.81 (推定値、SRC : KowWin) (SRC, 2003b)
- ・ 解離定数：解離基なし
- ・ スペクトル：主要マススペクトルフラグメント、m/z 27 (基準ピーク=1.0)、44 (0.89)、55 (0.58) (NIST, 1998)
- ・ 吸脱着性：土壌吸着係数 Koc=11 (推定値、SRC : PcKocWin) (SRC, 2003c)
- ・ 水への溶解性 (g/L)：640 (25°C) (SRC : PhysProp.) (SRC, 2002)、2155 (30°C) (Merck, 2006)
- ・ 有機溶媒への溶解性 (g/L、30°C)：メタノール：1550、エタノール：862、アセトン：631、酢酸エチル：126、クロロホルム：26.6、ベンゼン：3.46 (Merck, 2006)

- ・ヘンリー定数： $1.01 \times 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ ($1.00 \times 10^{-9} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$) (25°C、推定値、SRC: PhysProp)
(SRC, 2002)
- ・換算係数：(気相、20°C) $1 \text{ ppm} = 2.955 \text{ mg/m}^3$ 、 $1 \text{ mg/m}^3 = 0.338 \text{ ppm}$ (計算値)
- ・その他：加熱や紫外線の影響により重合することがある (CERI, 2002)
(NITE, 2007、Merck, 2006)

8. 現行規制等

(1) 法令の規制値等

- ・水質基準値 (mg/L)：なし、0.0005 (目標値) (厚生労働省, 2002a)
- ・監視項目指針値 (mg/L)：なし
- ・薬品基準 (mg/L)：0.00005
- ・環境基準値 (mg/L)：なし
- ・要監視項目 (mg/L)：なし
(厚生労働省, 2003b)

(2) 諸外国等の水質基準値又はガイドライン値

- ・WHO (mg/L)：0.0005 (第2版及び第3版ドラフト)
- ・EU (mg/L)：0.0001
- ・米国環境保護庁 (EPA) (mg/L)：TT (US EPA National Drinking Water Standards, 2002)
(TT: Treatment Technique - A required process intended to reduce the level of a contaminant in drinking water)
(厚生労働省, 2003a)

(3) 日本におけるその他の法規制

- ・化学物質排出把握管理促進法：第一種指定化学物質
- ・消防法：貯蔵等の届出を要する物質
- ・毒劇物取締法：劇物
- ・労働基準法：疾病化学物質
- ・労働安全衛生法：特定化学物質等第二類物質、名称等を表示すべき有害物、名称等を通知すべき有害物、管理濃度 0.3 ppm
- ・海洋汚染防止法：有害液体物質 D 類 (含有量が 50 重量%以下のもの)
- ・船舶安全法：毒物類 (水溶液、固体)
- ・航空法：毒物 (水溶液、固体)
(NITE, 2007)
- ・職業曝露限度 (OEL)：職業曝露限度 (2009-2010) の勧告 (JSOH, 2009)

9. 存在形態

(1) 大気中での安定性

① OH ラジカルとの反応性

対流圏大気中のアクリルアミドと OH ラジカルとの反応速度定数は 1.12×10^{-11} cm³/分子/秒 (25°C、推定値) である。OH ラジカル濃度を $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 分子/cm³ とした時のアクリルアミドの半減期は 20~40 時間と計算される。(SRC: AopWin) (SRC, 2003a, NITE, 2007)

② オゾンとの反応性

対流圏大気中のアクリルアミドとオゾンとの反応速度定数は 1.75×10^{-18} cm³/分子/秒 (25°C、推定値) である。オゾン濃度を 7×10^{11} 分子/cm³ とした時のアクリルアミドの半減期は 7 日と計算される (SRC: AopWin)。(SRC, 2003a, NITE, 2007)

③ 硝酸ラジカルとの反応性

アクリルアミドと硝酸ラジカルとの反応性に関する報告は得られていない。(NITE, 2007)

(2) 水中での安定性

① 非生物的分解性

アクリルアミドの加水分解半減期は 1 年以上と推定されている。加水分解生成物としてアクリル酸及びアンモニアが推定されている (SRC: HydroWin)。(SRC, 2003d, NITE, 2007)

② 生分解性

アクリルアミドは好氣的条件で容易に生分解され、嫌氣的条件でも生分解されると推定されている。(NITE, 2007)

化学物質審査規制法に基づく好氣的生分解性試験では、アクリルアミドは被験物質濃度 100 mg/L、活性汚泥濃度 30 mg/L、試験期間 4 週間の条件において、生物化学的酸素消費量 (BOD) 測定での分解率は 70% (N の残留形態を NH₃ として算出) であり、良分解性と判定されている。なお、全有機炭素 (TOC) 測定での分解率は 83%、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 測定での分解率は 87%であった。(通商産業省, 1975, NITE, 2007)

また、33~50 時間馴化した微生物を用いた好氣的生分解性試験では、アクリルアミドの生分解半減期は 55~70 時間であった (Conway et al. 1979)。アクリルアミドの生分解速度は、濃度に依存し、被験物質濃度 2 mg/L の条件における BOD 測定での分解率は、15 日間では 75.9%、28 日間では 100%であると報告されている (United States Testing Company Inc. 1991)。(NITE, 2007)

河川水や河口域の水を用いたアクリルアミドの生分解試験では、底質の添加により分解速度が速まることが示されている。(Brown et al., 1980、NITE, 2007)

アクリルアミドの生分解経路として、先ず脱アミノ化によりアクリル酸を生成し、更に脱カルボニル反応などを経由して菌体内へ取り込まれ、二酸化炭素などへ無機化される。(Klump et al., 1986、NITE, 2007)

嫌氣的条件下での生分解は、試験期間 14 日間の分解率として 21～84%である。(Abelmagid and Tabatabai, 1982、Lande et al., 1979、NITE, 2007)

アクリルアミド分解性バクテリアは、タイ国の生活排水から 3 種類の新規な株、*Klebsiella pneumoniae*、*Kluyvera georgiana* 及び *Enterococcus faecalis* が同定されている。*K. georgiana* 株に関する物質収支の解析から、アクリルアミドのアクリル酸への変換率は、92.3 %であることが判明し、環境中のアクリルアミド及びその他の脂肪族アミドの生分解に寄与していることが示された (Thanyacharoen Uthumporn et al., 2012)

③ 下水処理による除去

下水処理場の活性汚泥処理槽において、アクリルアミドは 50%が分解されることがマスフローによる検討から観測された。(Brown et al., 1982、NITE, 2007)

(3) 環境中分布

環境省 (2003) では、環境媒体ごとにデータの信頼性が確認された調査例のうち、より広範囲の地域で調査が実施されたものが抽出されている。結果を表 2-2 に示した。

表 2-2 各媒体中の存在状況

媒体	幾何平 均值	算術平 均值	最小値	最大値	検出 下 限 値	検 出 率	調 査 地 域	測 定 年
一般環境大気 (µg/m ³)	<0.02	<0.02	-	-	0.02	0/10	全国	2001
地下水 (µg/L)	<0.02	<0.02	-	-	0.02	0/15	全国	2000
公共用水域・淡水 (µg/L)	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	0.02	5/65	全国	2000
公共用水域・海水 (µg/L)	<0.02	<0.02	<0.02	0.03	0.02	2/11	全国	2000
底質 (公共用水域・淡水) (µg/g)	<0.0005	<0.0005	<0.0005	0.0029	0.0005	3/23	全国	1991
底質 (公共用水域・海水) (µg/g)	<0.0005	<0.0005	<0.0005	0.0022	0.0005	3/25	全国	1991

(環境省, 2003)

アクリルアミドが大気、水域又は土壌のいずれかに定常的に排出されて定常状態に到達した状態での分布がフガシティモデル・レベル III (Mackay et al., 1992) により推定されている (表 2-3)。環境への排出には、大気、水域及び土壌に個別に排出されるとした三つのシナリオが設定された。大気に排出された場合は、土壌に 5 割強、水域に約 4 割分布し、水域に排出された場合は、主に水域に分布し、また、土壌に排出された場合は、土壌に 6 割強、水域に 3 割強分布すると推定される。(NITE, 2007)

表 2-3 アクリルアミドのフガシティモデル・レベル III による環境中分布推定結果

シナリオ	分布 (%)			
	大気	水域	土壌	底質
シナリオ 1 (大気中に 100% 排出)	0.0	42.5	57.3	0.2
シナリオ 2 (水域中に 100% 排出)	0.0	99.6	0.0	0.4
シナリオ 3 (土壌中に 100% 排出)	0.0	34.2	65.7	0.1

(NITE, 2007)

また、アクリルアミドの環境中の分布について、EUSES モデルを用いた各環境媒体間への移行量の比率が算出されている。その結果を表 2-4 に示した。モデル計算は、面積 2400 km²、人口約 800 万人のモデル地域を設定して予測されている。(環境省, 2003)

表 2-4 各媒体間の分布予測結果

媒体	分布量 (%)
大気	43.6
水質	9.7
土壌	46.5
底質	0.2

(環境省, 2003)

アクリルアミドを大気中に放出した場合の環境中分布は、フガシティモデル・レベル III と EUSES モデルで大きな差異が生じている。フガシティモデル・レベル III では、42.5%が水域に移行するのに対して、EUSES モデルでは、大気中に 43.6%が残存している (環境省, 2003、NITE, 2007)。

(4) 環境水中での動態

アクリルアミドは、水溶性が大きく (640 g/L、25 °C)、蒸気圧が小さく (1 Pa、20 °C) ヘンリー定数が小さい (1.01×10^{-4} Pa·m³/mol) (7. 物理化学的性状を参照)。また、土壌吸着係数 K_{oc} の値 11 (7. 物理化学的性状を参照) であり、水中の懸濁物質及び底質には吸着され難い。したがって、水系や湿性土壌から大気中への揮散の可能性は低く、土壌等に吸着されずに水に溶解して移動するものと推定される。アクリルアミドを土壌凝集剤とし

での使用する場合には、土壌中でモノマーを重合させてポリマーにしており、未反応の残留モノマーが土壌から水系に溶出する可能性がある。(NITE, 2007)

アクリルアミドは、水環境中では高度に流動的であり、容易に土壌に浸出する。粘土質土壌においてよりも砂質土では、高い移動性及び低い分解速度を有することから (Lande et al., 1979)、地下水を汚染する可能性がある。しかし、たいていの注入工法が行われる地表下の土壌でのアクリルアミドの挙動についての研究は行われていない (WHO, 2011)

環境水中にアクリルアミドが排出された場合は、主に生分解により除去されると推定される。アクリルアミドは水環境中で加水分解する可能性があるが、環境からの除去経路としては生分解と比較して主要ではないと推定されている。(NITE, 2007)

アクリルアミドは、土壌及び表層水のいずれにおいても生分解される。汚泥脱水プロセスからの廃水中では、アクリルアミドの濃度は、24時間で、20 µg/L から 1 µg/L に減少した (Arimitu et al., 1975)。土壌からのアクリルアミド除去に関する最も重要なメカニズムの一つは、酵素触媒性の加水分解である。一方、非生物的加水分解は、地下水においては重要である可能性がある。蒸発は重要な除去プロセスではない。(Neely et al., 1974)。(WHO, 2011)

(5) 生物濃縮性

アクリルアミドの生物濃縮係数 (BCF) は、20 日間の濃縮性試験では、水中濃度が 1 及び 10 mg/L の場合、コイではそれぞれ 0.26 及び 0.77、ヒメダカではそれぞれ 0.31 及び 2.53 であった (Fujiki et al., 1982)。また、ニジマスを用いた濃縮性試験では、72 時間後に濃縮と排泄が平衡に達し、BCF は全身で 1.44、内臓で 1.65 であった (Petersen et al., 1985)。これらの結果から、アクリルアミドの水生生物への濃縮性は低いと推定される。(NITE, 2007)

アクリルアミドは水によく溶解微生物により分解されることから、意味のある程度までには生物濃縮されないであろうと考えられている (Neely et al., 1974)。(WHO, 2011)

10. 食品中での生成

(1) 経緯

2002年4月、スウェーデン政府はストックホルム大学と共同で行った研究の結果、ジャガイモのようなデンプンなどの炭水化物を多く含む食材を高温で加熱した食品に、高濃度のアクリルアミドが生成されることを発表した。その後、世界各国で研究が進み、高温により、食品中のアミノ酸の一種であるアスパラギンがブドウ糖、果糖などの還元糖と反応してアクリルアミドへ変化することが明らかになってきた。(食品安全委員会, 2011)

(2) 生成経路

食品中のアクリルアミドの主要生成経路は、食品の原材料に含まれているアミノ酸の一種であるアスパラギンと果糖、ブドウ糖などの還元糖が、揚げる、焼く、焙るなどの調理中の加熱(120℃以上)による、アミノカルボニル反応(メイラード反応)と呼ばれる化学反応の過程であると考えられている。

メイラード反応以外にも、食品原材料に含まれているアスパラギンや還元糖以外の食品成分が原因物質となっている可能性や、アミノカルボニル反応以外の反応経路からもアクリルアミドが生成する可能性があるとされている。例えば、食品に含まれる脂質が分解して生成するアクロレインの酸化による経路や、アスパラギン酸から生成したアクリル酸がアンモニアと反応して生成する経路、セリンやシステインといったアミノ酸から生成した乳酸がアンモニアと反応して生成する経路、アスパラギンの酵素的脱炭酸反応により生成した3-アミノプロパンアミドが脱アミノ反応する経路などが推定されている。しかし、食品中でアクリルアミドができる仕組みは完全に解明されておらず、食品中のアクリルアミドの低減を図るために、生成経路の解明は重要な課題となっている。(農林水産省, 2011)

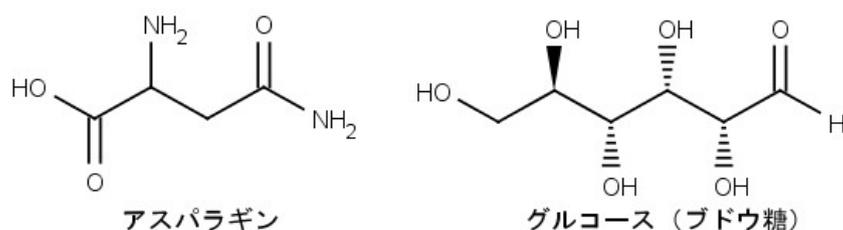


図 2-1 アクリルアミドの生成の源物質
(農林水産省, 2011a)

①アスパラギンと還元糖のメイラード反応

加熱食品におけるアクリルアミド形成の主要経路であるメイラード反応 (Maillard reaction) では、アミノ酸単体として存在するアスパラギンが加熱の際に還元糖又はその他のカルボニル化合物と反応して、アクリルアミドを形成する (図 2-2) (吉田充, 2004、Zyzak et al., 2003、JECFA, 2011b)。

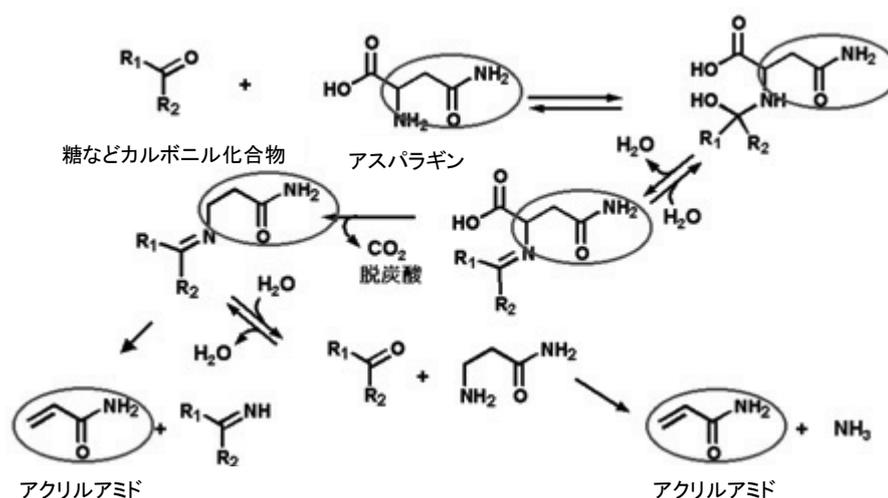


図 2-2 アクリルアミドの形成経路

(吉田充, 2004)

古典的なメイラード反応系は、フライ又は焼いた食品と関係がある褐変及び香味や芳香性の化合物の形成を引き起こす複雑な反応クラスターを表している。低水分、高温及びアルカリ性 pH は、反応に対してプラスの作用を有している。(JECFA, 2011b)

②油の分解産物からの形成

脂肪酸組成とアクリルアミド形成の間には相互関係は見いだされていないが (Mestdagh et al., 2005)、脂質からの追加的な経路が存在する可能性が示唆された (Gertz and Klostermann, 2002、Becalski et al., 2003、Gertz K and Kochhar, 2003、Yasuhara et al., 2003、Rüdiger, 2004、Ehling et al., 2005)。

初期の研究では、アクリルアミドはアンモニア存在下で、加熱の際にアクリル酸 (acrylic acid) から生ずることが示された (Yasuhara et al., 2003)。しかし、この結果は Mestdagh ら (2005) では確認することができなかった。これは、加熱時間の差 (170 °C 30 分の代わりに 7 分) によるものであろう。Mestdagh ら (2005) により幾つかの油の分解産物が調べられたが、アスパラギンと共にアクロレイン (acrolein) を含んでいる加熱モデル系のみが、アクリルアミド形成に関して有意な増加を示した。この結果から、形成メカニズムは、アスパラギンのカルボニル反応における糖の代わりに、アクロレインのメイラード反応を

經由する可能性が考えられる。しかしながら、全体的なアクリルアミド形成に対するアクロレインの寄与は、還元糖の存在下では無視できると考えられたことから、食品においては、アクロレイン及びその他の油の分解産物の重要性は低いことが示唆された (Mestdagh et al., 2008)。(JECFA, 2011b)

③3-アミノプロピオンアミド (3-aminopropionamide, 3-APA) からの形成

アスパラギンと還元糖の反応によるアクリルアミド形成における中間体として、3-APA が報告された (Zyzak et al., 2002)。後に、炒ったコーヒー及びココアのような幾つかの加熱された食品並びにポップコーンにおいて、相対的に高い 3-APA 量が一過性の中間体として検出された (Granvogl et al., 2007)。(JECFA, 2011b)

3-APA は、生化学的にも、非加熱の生のジャガイモにおいてアスパラギンの酵素的脱炭酸反応により生ずる (Granvogl et al., 2004)。加熱処理の間に 3-APA がアクリルアミドに変換する効率は、アスパラギンからのアクリルアミドの生成効率の 12 倍を超えている (Granvogl and Schieberle 2006)。3-APA は生のジャガイモに加えて、同様にオリーブ (Amrein et al., 2007)、チーズ (Granvogl and Schieberle, 2006) 及びココア (Granvogl and Schieberle, 2007) においても少量見出された。ポテトチップスでは 3-APA とアクリルアミドの関係は認められなかった (Amrein et al., 2007)。この結果から、別のアクリルアミド前駆体としての潜在的な重要性が示唆されるが、さらなる研究が必要とされる。(JECFA, 2011b)

最近の研究で、アクリルアミドの二つの前駆体 (N- (D-glucos-1-yl) -3'-aminopropionamide 又は N- (1-deoxy-D-fructos-1-yl) -3'-aminopropionamide) に関する実験が行われた。これらの前駆体は、直接的あるいは 3-APA を経てアクリルアミドを生成する。乾燥及び湿度下のいずれでも、N- (D-glucos-1-yl) -3'-aminopropionamide から、最も高いアクリルアミド収率が示された (Perez Locas & Yaylayan, 2008)。この経路においては、基質や水分含量の影響が大きいことから、実際の食品での存在を裏付ける必要がある。(JECFA, 2011b)

④小麦グルテンからの形成

桂皮酸 (cinnamic acid) が生成する環状電子ドミノ反応 (electrocyclic domino reaction) を介した、アラニン含有蛋白質の熱分解によるアクリルアミドの形成が示唆されている。この経路は、アスパラギンと還元糖からの形成と比較すると、より高い温度が必要である。糖及びアスパラギンが含まれないグルテンを練り粉試料 (dough samples) に添加した場合、アクリルアミド形成が 20%増加した (Claus et al., 2006)。しかしこの結果は、クラッカーにグルテンを添加した際にアクリルアミド含量が減少した初期の研究結果と対照的である

(Levine and Smith, 2005)。小麦グルテンからのアクリルアミド形成に関して 2006 年にこのような結果が得られて以来、この経路に関する追加の研究は発表されていない。この経路の存在は、例えばパン製品におけるアスパラギナーゼの使用などによるアスパラギン除去によって、どれほど効率的にアクリルアミドの低減が達成できるかの上限を規定する可能性があるため、さらなる研究が必要である。(JECFA, 2011b)

⑤オリーブでの形成

オリーブは、120°Cを超えない温度処理の間に極めて大量のアクリルアミドを生ずる可能性がある。オリーブ中のアスパラギン及び 3-APA のレベルは、既知のメカニズムでアクリルアミド生成を説明できるほど十分には高くない。その他のメカニズムが提案されているが、これまでに実験的証拠(アクリル酸(acrylic acid)又はデヒドロアラニン(dehydroalanine))は提出されていない(Casado and Montano, 2008)。(JECFA, 2011b)

⑥食品中のアクリルアミド中間体及び反応生成物

Perez Locas & Yaylayan (2008) は、モデル系における研究から、ある種の前駆体(例えば、脱炭酸 Amadori 生成物(decarboxylated Amadori product))が、不完全反応の結果、食品中に蓄積する可能性があることを示した。これらの前駆体は保存中にブドウ糖と反応し、その後、塩基触媒によるホフマン型脱離反応(base-catalysed Hofmann-type elimination)により最終的にアクリルアミドを生成する。このアクリルアミド生成メカニズムは、ある種の食品に関して、高アルカリ性(pH 12)条件で抽出すると、低 pH 条件と比較してはるかに多くのアクリルアミドが検出されるのが原因であろう(Eriksson and Karlsson, 2006、Goldmann T et al., 2006)。なお、このアルカリ抽出により出てくる“余分”なアクリルアミドは、体内に吸収されるアクリルアミドには相当しないことが、動物実験において示されている(Vikstrom et al., 2008)。(JECFA, 2011b)

Rydberg ら(2003)は、アミノ酸側鎖と反応するアクリルアミドの脱離反応を提案した。最近のモデル実験では、純粋なアクリルアミドとアミノ化合物を混合したアクリルアミドは、保存中に 35°C以上で低級アミノ化合物と反応し、マイケル付加体(Michael adduct)を生ずることが示された。それに続いて 180°Cで 20 分加熱すると、反応を逆戻させて幾分かのアクリルアミドを放出した(Zamora et al., 2010)。

⑦コーヒーからの検出状況

炒ったコーヒーやココア粉末中のアクリルアミドレベルは、保存中に有意に低下することが知られている。 [¹⁴C]acrylamide を添加したコーヒー粉末を用いた実験では、アクリルアミドはかなりの程度まで不溶基質に共有結合しており、その後の抽出の際にろ過残渣の中に残存していた。抽出液中の放射能の 50%までは由来を説明することができなかったが、

アクリルアミドは、抽出液中ではラジオ-HPLC により検出可能な唯一の標識低分子量化合物であった (Baum et al., 2008)。 (JECFA, 2011b)

⑧ モデル食品による検討

糖質、アスパラギン、アルブミン及び食塩から構成されるモデル食品を用いて、加熱によるアクリルアミド形成メカニズムが研究された。モデル食品を 180 °C で様々な時間加熱し、食品中に生成したアクリルアミドレベルを LC/MS/MS を用いて測定した。糖質としてベータ-シクロデキストリン、デンプン及びセルロースのようなグルカンを使用した場合のアクリルアミドレベルは、グルコースモデルで認められたレベルと同一か、もしくははるかに高かった。この結果から、アクリルアミドはグルカンの加水分解によって産生したグルコースを経由するのではなく、グルカンの熱分解によって産生したアセトアルデヒドのような揮発性のカルボニル化合物を経由して、グルカンとアスパラギンから形成されることが示された (Tsutsumiuchi K et al., 2011)。

Hamzalioglu Aytul ら (2011) は、競合的及び非競合的反応条件下で、アクリルアミド形成におけるクルクミン (curcumin) の役割を決定するため、アスパラギン-クルクミン及びアスパラギン-クルクミン-フルクトースからなる 2 成分及び 3 成分モデル系を用いて検討した。クルクミンはカレーのスパイスであるウコンの黄色色素で、ポリフェノールの一種である。実験の結果、媒体中にアスパラギンが存在している限り、長時間の加熱条件のもとでは、クルクミンは、アクリルアミド形成に潜在的に寄与することが示唆された。また、クルクミンのようなカルボニル化合物を有する酸化防止剤は、アスパラギンと直接反応して、アクリルアミドを形成する可能性が示された。また、フルクトースは、クルクミンよりもより速やかに、アスパラギンと反応することが観察された。

(3) バレイショにおけるアクリルアミドの生成

農林水産省農林水産技術会議事務局「食品の安全性に関するリスク分析確立のための研究開発」の中で、高温加熱を伴う加工食品に広く見いだされるアクリルアミドに関する少量試料で多検体分析するために、手法の最適化が行われた (多検体分析法の開発)。また、多検体分析法を使用して、アクリルアミドの生成に関して、バレイショの低温貯蔵による影響及び揚げ加工前のアミノ酸含量、還元糖含量との関係を明らかにした (農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)。

① 多検体分析法の開発

これまでの市販食品の分析を目的とした方法では、50 グラムの試料を処理していたが (吉田充他, 2002)、サンプリングに問題が少なく、GC-MS の感度が十分であれば、5 グラム以

下まで試料を減らしても分析値が得られるようになった。分析法の概要を図 2-3 に示した。

この方法を用い、FAPAS の外部精度管理において、ポテトチップ、オープン加熱調理用フライドポテト、クリスプブレッド、ベビーラスク、朝食シリアル、コーヒー試料について計 13 回の分析を行い、常に妥当な分析値を得ている。(農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)

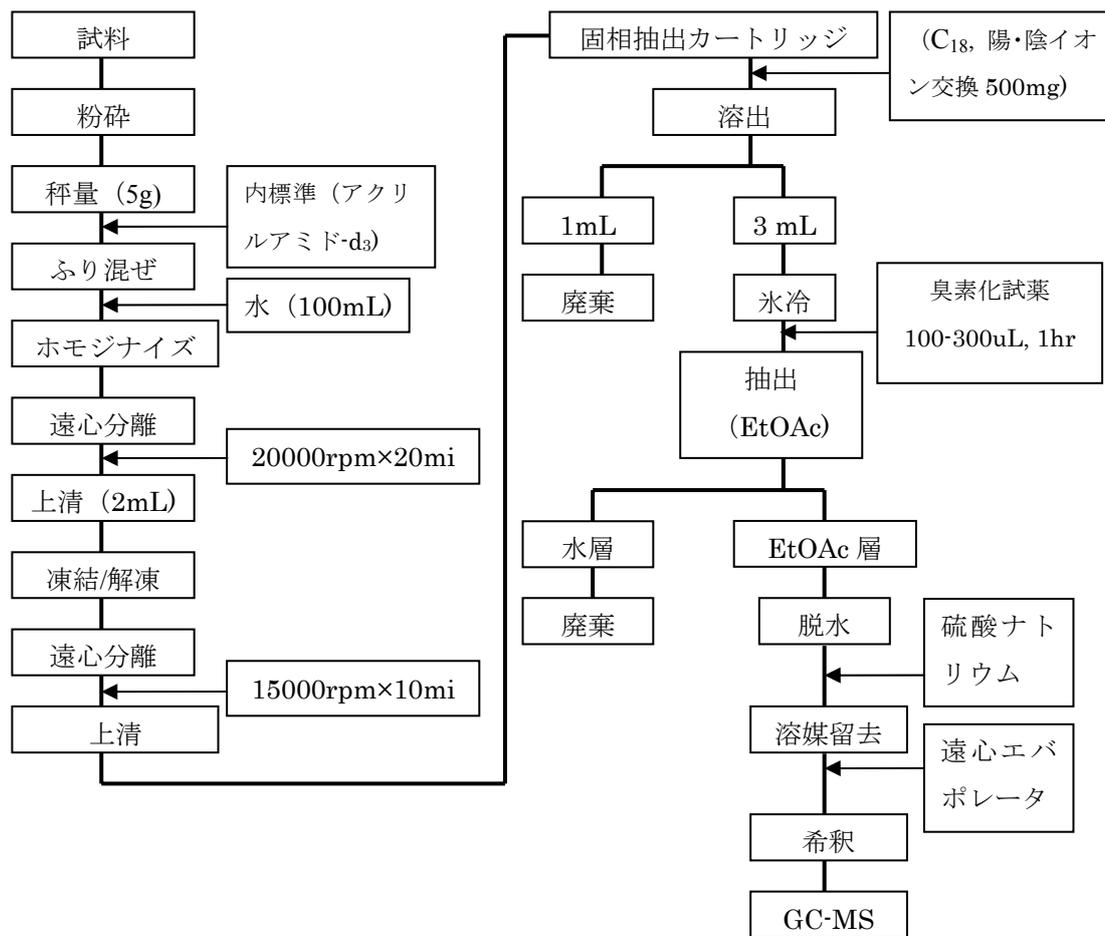


図 2-3 多検体アクリルアミド分析法

(農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)

② バレイショの低温貯蔵の揚げ調理後のアクリルアミド含量に及ぼす影響

ここで確立した分析法を用いることにより、1 検体当たり数枚のポテトチップから分析値を得ることが可能となった。この方法を用い、約 20°C の室温と 2 °C で低温貯蔵したバレイショから調製したポテトチップ中のアクリルアミド含量を定量し、低温貯蔵による還元糖含量の増加と加工後のアクリルアミド含量に明確な相関があることを実験的に明らかに

することができた (Chuda et al., 2003)。結果を図 2-4 に示した。なお、低温貯蔵により糖含量の増加したイモから加工したポテトチップは、アクリルアミド含量の増加に加えて焦げ色による色調の著しい悪化が認められた (Chuda et al., 2003, Ohara-Takada et al., 2005)。(農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)

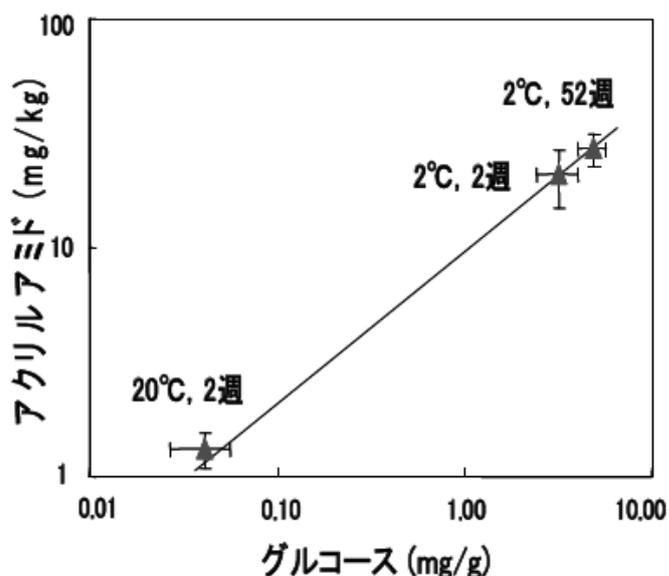


図 2-4 原料イモ中の還元糖含量とポテトチップ中のアクリルアミド生成量 (フルクトースもグルコースと同レベル) との相関

(農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)

③ バレイショにおける還元糖/アスパラギン比と揚げ調理後のアクリルアミド生成量の関係

品種や貯蔵条件の異なる 388 のバレイショ試料について分析を行ったところ、これまでにない広範囲の還元糖含量を有するバレイショに関するデータが得られた。その結果、揚げ加工後のアクリルアミド含有量と生イモ中の還元糖 (フルクトース) 量の両者をアスパラギンに対する物質質量比として規格化してプロットすると、両者の反応率が共に最大となる領域が変曲点として見いだされた (Matsuura-Endo, C. et al., 2006)。結果を図 2-5 に示した。このときの最大反応率はアスパラギンが約 2%、フルクトースが約 1%であり、両者の比 ($[Fru]/[Asn]$) は約 2 であった。この点を境に、 $[Fru]/[Asn]$ 比が小さい領域では、フルクトース含量がアクリルアミド生成における制限要因となり、大きい領域ではアスパラギン含量がアクリルアミド生成における制限要因となることが示唆された。(農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008)

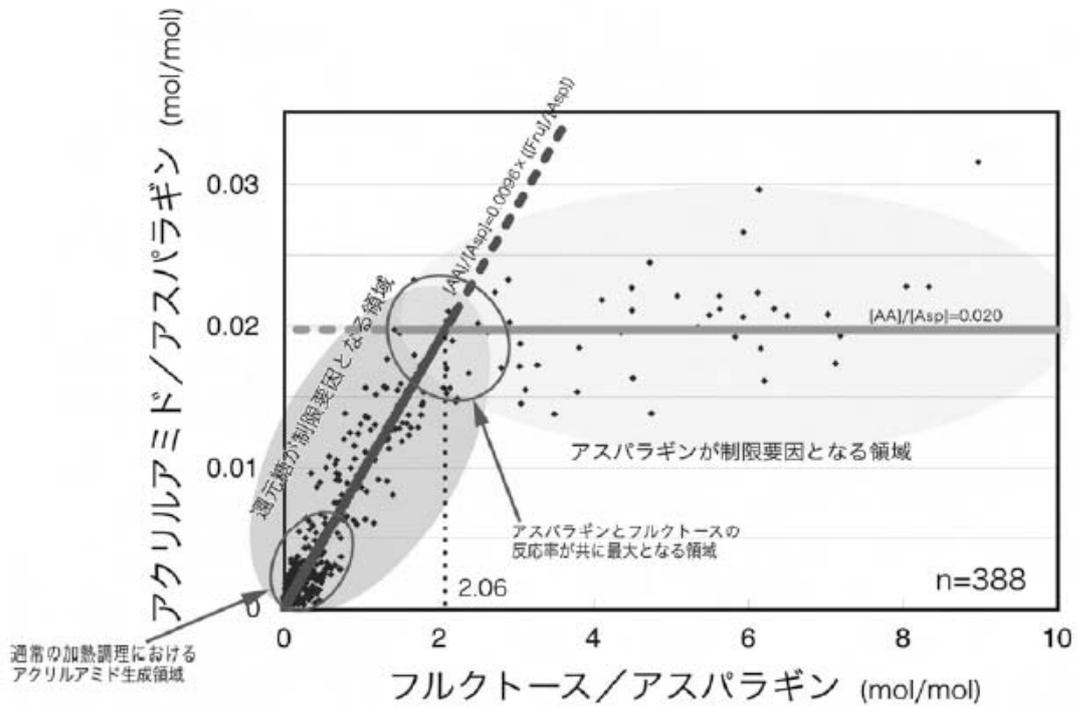


図 2-5 還元糖（フルクトース）/アスパラギンの比率が異なる種々のバレイショの揚げ加工後のアスパラギンのアクリルアミドへの変換率
 （農林水産省農林水産技術会議事務局, 2008）

1 1. 検出状況

(1) 食品中

スウェーデン国立食品局による 2002 年 4 月の食品中に生成されるアクリルアミドについての発表後、厚生労働省が直ちに実施した調査における、食品中のアクリルアミド分析結果を表 2-5 に示す。(国立医薬品食品衛生研究所, 2002a)。(NITE, 2007)

CCFAC 2006 において食品中のアクリルアミドレベルの知見がまとめられており、アクリルアミドはバレイショを原材料とする食品中から多く検出されている。チップスやフレンチフライからは 59~5200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が検出されている一方、加工されていない生のバレイショ中のアクリルアミドは、最大 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満である。このデータは 2002 年からまとめられたものであるため、その後同じレベルが含まれているとは限らないとされている (CCFAC, 2006)。

表 2-5 アクリルアミドの食物中濃度 (2002 年度)

食品名	主な原材料	検出数 /検体 数	検出範囲 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	95パーセ ンタイル ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	検出限界 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ごはん	米	0/1	nd		9
天ぷら (ころも)、フライ (ころも)	小麦	2/7	nd-53	47	9
パン		0/3	nd		9
ゆでうどん		0/1	nd		9
即席麺		3/5	nd-163	144	9
パン粉、春巻き、春巻き (皮)		2/4	nd-35		9
ゆでそば	そば	0/1	nd		9
コーンスナック、シリアル	とうもろこし	6/6	113-535	498	9
さつまいもスナック、芋ケ ンピ、大学いも	さつまいも	3/3	34-336		9
ポテトチップス、ポテトス ナック、マッシュポテト、 ボーロ、野菜チップ、フレ ンチフライ	バレイショ	13/16	nd-3,544	2,517	9
きな粉	大豆	2/2	31-118		9
とうふ、豆腐製品		0/4	nd		9
豆スナック	さやえんどう、 小麦、枝豆、空豆	3/3	83-120		9
いりごま、落花生、アーモ ンド、ピスタチオ、カシュ ーナッツ、ウォールナッ ツ、くるみ	ごま、落花生、アー モンド、ピスタ チオ、カシューナ ッツ、ウォールナ ッツ、くるみ	8/10	nd-324	267	9

食品名	主な原材料	検出数 /検体 数	検出範囲 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	95パーセ ンタイル ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	検出限界 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
たまごやき、オムレツ	たまご	0/2	nd		9
野菜チップ	にんじん	0/1	nd		9
	いんげん、カボチャ	2/2	45-55		9
フライドオニオン、いため玉ねぎ	たまねぎ	2/2	122-428		9
りんごチップス	りんご	0/1	nd		9
バナナチップス	バナナ	1/1	65		9
りんごジュース、オレンジジュース	りんご、オレンジ、みかん	0/2	nd		3
焼き魚、魚フライ	鯖、鰹、小麦	0/2	nd		9
焼き竹輪、さつま揚げ	魚肉	0/4	nd		9
メンチカツ	小麦、肉	0/2	nd		9
唐揚げ	鶏肉、小麦	1/2	nd-36		9
牛乳	生乳	0/1	nd		3
脱脂粉乳	牛乳	0/1	nd		9
かりんとう、麦こがし、せんべい、揚げもち	小麦、大麦、米、もち米	5/7	nd-1,895	1,439	9
ドーナツ、カステラ、バームクーヘン	小麦	0/3	nd		9
プレッツェル、ビスケット、クッキー、クラッカー		9/9	48-302	302	9
ビール	麦芽、ホップ	0/2	nd		3
緑茶、ほうじ茶、紅茶、中国茶、中国茶、麦茶（いずれも焙煎茶葉）	茶、大麦	7/14	nd-567	548	9
コーヒー（煎豆）、ココア（煎豆）、コーヒー飲料	コーヒー豆、カカオ豆、コーヒー	7/7	13-231	208	9（コーヒー飲料のみ3）
コーラ	糖類、カラメル色素	0/1	nd		3
しょう油	大豆、麦	2/2	10-11		3
カレールー	香辛料	1/1	116		9
カレー粉	香辛料	1/1	423		9

（国立医薬品食品衛生研究所，2002a）

nd：不検出

95 パーセンタイルは、検体数が5 検体以上かつ検出されている場合のみ算出。

不検出検体は、検出限界の1/2 の値として95 パーセンタイルを算出。

検出限界：保存食品、非保存食品 9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、液状食品 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$

日本で市販されている加工食品中のアクリルアミドが、LC-MS/MS 法及び GC-MS 法により分析された。結果を表 2-6 に示す。(吉田充他, 2002)

表 2-6 市販加工食品中のアクリルアミド含有量 (LC-MS/MS 法)

品目	分析点数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	中央値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最小値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ポテトチップス	4	1210	1270	439	1870
ポップコーン	1	359	-	-	-
スナック菓子 (主原料バレイシヨ)	3	1900	2120	47	3540
その他スナック菓子	8	128	134	15	215
揚げ米菓	4	47	54	17	64
その他米菓	8	112	96	42	303
クッキー	2	98	98	92	104
クラッカー	1	18	-	-	-
かりん糖	1	136	-	-	-
芋かりん糖 (芋けんび)	1	119	-	-	-
大学芋	2	144	144	140	147
豆菓子	1	45	-	-	-
甘栗	1	72	-	-	-
スナックめん	2	21	21	11	30
即席中華麺	1	18	-	-	-
生タイプ即席めん	1	4	-	-	-
調理焼きビーフン (冷凍食品)	1	4	-	-	-
即席ワンタン	2	38	38	23	54
油揚げ麺	2	316	316	51	581
朝食シリアル	3	104	67	33	213
てんぷら (野菜かき揚げ)	1	34	-	-	-
チャーハン	2	5	5	5	5
揚げパン	1	6	-	-	-
ワッフル	1	8	-	-	-
餃子	1	93	-	-	-
春巻 (冷凍食品)	1	20	-	-	-
コロッケ	1	28	-	-	-
焼きおにぎり (冷凍食品)	1	6	-	-	-
焼麩	1	110	-	-	-
あぶらあげ	1	5	-	-	-
魚肉ねり製品 (さつまあげ)	1	2	-	-	-
麦茶 (粒)	2	398	398	218	578

(吉田充他, 2002)

また、茶葉等に含まれるアクリルアミドの分析、及び通常の利用形態である飲料（浸出液）の分析が農林水産省「平成 15 年度食品中のアクリルアミドの含有実態調査」において行なわれ（NITE, 2007）（表 2-7）、その後吉田らのグループにより、より詳細にアクリルアミドの分析が行われた（表 2-8）（Mizukami Y et al., 2006）。

表 2-7 茶類に含まれるアクリルアミド濃度（2003 年度）

食品名	サンプル番号	検出値	浸出液	浸出方法
		茶葉等		
緑茶（煎茶）	1	nd	nd	茶10g/90℃ 430mL、1 分
	2	20	nd	
	3	30	nd	
緑茶（釜入り茶）	4	70	nd	茶10g/90℃ 430mL、1 分
	5	50	nd	
	6	100	3	
ほうじ茶	7	520	10	茶15 g/90℃ 650mL、0.5 分
	8	260	4	
	9	570	11	
	10	190	4	
紅茶	11	20	nd	茶5 g/熱湯 360 mL、1.5-4 分
	12	20	nd	
	13	nd	nd	
ウーロン茶	14	60	nd	茶15 g/90℃ 650 mL、0.5 分
	15	90	2	
麦茶	16	320	14	麦茶50 g/湯1500mL、沸騰後5 分放置
	17	290	11	
	18	180	5	
はと麦茶	19	130	nd	はと麦茶30 g/ 湯1000 mL、煮沸15 分、煮沸後5 分放置
	20	130	nd	
	21	120	7	

検出限界：茶葉 20 ng/g、浸出液 2 ng/g
(NITE, 2007)

表 2-8 茶類に含まれるアクリルアミド濃度 (2006 年)

茶の種類	試料	アクリルアミド		浸出条件 ^a
		茶葉等 (ng/g)	浸出液 (ng/mL)	
緑茶	1	110	2.1	10 g, 90 °C, 430 mL, 1 min
	2	77	1.4	
	3	70	1.6	
	4	68	1.6	
	5	67	1.4	
	6	54	1.3	
	7	53	1.3	
	8	42	0.8	
	9	38	0.8	
	10	35	1.1	
	11	31	0.6	
	12	27	0.7	
ほうじ茶	1	1880	41.2	15 g, 90 °C, 650 mL, 0.5 min
	2	784	17.1	
	3	778	16.9	
	4	774	16.5	
	5	678	15.9	
	6	641	15.1	
	7	637	14.7	
	8	556	11.5	
	9	544	10.8	
	10	512	11.1	
	11	414	8.6	
	12	411	9.1	
	13	247	4.8	
ウーロン茶	1	85	2.1	15 g, 90 °C, 650 mL, 0.5 min
	2	55	0.9	
	3	31	4.8	
紅茶	1	25	ND ^b	5 g, 90 °C, 360 mL, 4 min
	2	20	ND	
	3	18	ND	

^a 茶は、科学技術振興機構によって標準化された方法に基づいて浸出した。

^b 検出されなかった (検出限界 0.2 ng/mL 以下)。

(Mizukami Y et al., 2006)

「平成 16 年度加工食品中のアクリルアミドの実態調査」の結果を表 2-9 に示した。ポテトスナックについては、調査したすべての試料からアクリルアミドが検出され、最大値は 4.7 mg/kg と調査した中でもっとも高い濃度であった。一方、同じスナック類でもコーンスナックは、ポテトスナックと比べると含有濃度が低かった。また、日本特有の食品である米菓、麦茶、ほうじ茶からも、調査したすべての試料からアクリルアミドが検出された。インスタント麺は、3 割の試料からはアクリルアミドが検出されず、検出されたとしても今回調査した食品の中では低い濃度であった。(農林水産省, 2004)

表 2-9 平成 16 年度加工食品中のアクリルアミド実態調査結果

調査対象食品	調査 点数	定量限界未満 の点数		定量限 界以上 の点数	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
			割合 (%)				
ポテトスナック	30	0	0	30	4.7	1.2	0.94
コーンスナック	30	2	6.7	28	0.32	0.14	0.15
米菓	30	0	0	30	0.50	0.13	0.08
麦茶	18	0	0	18	0.51	0.32	0.32
ほうじ茶	18	0	0	18	1.1	0.45	0.32
インスタント麺	30	9	30	21	0.08	0.03	0.03

注) 平均値は、GEMS/Food の "Instructions for Electronic Submission of Data on Chemical Contaminants in Food and the Diet" の付録 4 "Evaluation of Low Level Contamination of Foods" に示されている算出方法に従い算出した。すなわち、コーンスナック及びインスタント麺は、定量限界未満の点数が 60%未満であったことから、定量限界未満の試料の濃度を定量限界の 2 分の 1 として平均値を算出した。

(農林水産省, 2004)

「平成 17 年度加工食品中のアクリルアミドの含有実態調査」の結果を表 2-10 に示す。食パン、ロールパンは全試料について定量限界未満で、フライドポテトに最も多く (30 点の平均値=0.38 mg/kg)、次に乳幼児用ビスケット類 (30 点の平均値は 0.21 mg/kg) が多かった。これらの測定結果を、第 38 回コーデックス食品添加物汚染物質部会 (CCFAC, 2006) 注¹ で議論された諸外国におけるアクリルアミド含有量の測定結果と比較した。その結果、これらの含有量はいずれも諸外国で報告されている測定結果の範囲内であった。アイスコーヒー及び缶コーヒーの測定結果も、米国食品医薬品庁 (FDA) の測定結果注² とおおむね同程度であった。(農林水産省, 2005)

注 1 : CX/FAC 06/38/35 Agenda Item 14 (g) DISCUSSION PAPER ON ACRYLAMIDE

注 2 : Exploratory Data on Acrylamide in Food (US FDA)

<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html>

表 2-10 平成 17 年度加工食品中のアクリルアミド実態調査結果

調査対象食品	調査 点数	定量 限界 未満 の点 数	割合	定量 限界 以上 の点 数	最大値 (mg/kg)	平均値 ¹ (mg/kg) 注	平均値 ² (mg/kg) 注	平均値 ³ (mg/kg) 注	中央値 (mg/kg)
パン類	食パン（耳）	15	15	100%	0	-	0	0.02	-
	食パン（中心部）	5	5	100%	0	-	0	0.02	-
	ロールパン	10	10	100%	0	-	0	0.02	-
ビスケット類	30	1	3%	29	0.46	-	-	0.18	0.16
フライドポテト	30	0	0%	30	0.91	-	-	0.38	0.38
アイスコーヒー	30	0	0%	30	0.020	-	-	0.0088	0.0089
缶コーヒー	30	0	0%	30	0.014	-	-	0.0094	0.0089
乳幼児用ビスケット類	30	0	0%	30	0.80	-	-	0.21	0.15

注) 平均値は、GEMS/Food の"Instructions for Electronic Submission of Data on Chemical Contaminants in Food and the Diet"の付録 4"Evaluation of Low Level Contamination of Foods"に示されている算出方法に従い算出した。

※パン類は、定量限界未満の点数が 60%を超えていたことから、平均値¹及び平均値²を算出。

※ビスケット類、フライドポテト、アイスコーヒー、缶コーヒー及び乳幼児用ビスケット類は、定量限界未満の点数が 60%未満であったことから平均値³を算出。

平均値¹：定量限界未満及び検出限界未満の濃度を「0」として算出。

平均値²：検出限界未満の濃度を検出限界とし、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界として算出。

平均値³：定量限界未満の試料の濃度を定量限界の 2 分の 1 として算出。

(農林水産省, 2005)

「平成 18 年度加工食品中のアクリルアミド含有実態調査」(予備調査)の調査対象食品を表 2-11 に示す。乳幼児では、体重あたりの菓子類の摂取量が大人に比べて大きい。そこで、乳幼児用に販売されている菓子類のうち、穀類やいも類を主な原材料とし、かつ製造・調理で加熱工程を伴うものを調査の対象とした。さらに、我が国特有の食品の中で消費量が多い、醸造・発酵食品のみそ及びしょうゆを調査対象とした。

乳幼児用菓子類では、米菓、ポーロ、レンジケーキは定量限界未満の割合が多く、ビスケット類、ウエハース、スナック類に比べて濃度が低い傾向を示した。みそについては試料すべてが定量限界未満、しょうゆについては 50 点のうち 4 点を除いて定量限界未満の濃度を示した。(農林水産省, 2006)

表 2-11 平成 18 年度加工食品中のアクリルアミド含有実態調査結果（予備調査）

調査対象食品	調査 点数	定量限界 未満の点 数		定量限 界以上 の点数	最大値 (mg/kg)	平均値 (1) (mg/kg)	平均値 (2) (mg/kg)	平均値 (3) (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
			割合						
乳幼児用菓子類	200	68	34%	132	1.0	-	-	0.11	0.047
ビスケット類	50	3	6%	47	0.80	-	-	0.21	0.17
ウエハース	20	0	0%	20	0.34	-	-	0.17	0.15
米菓	56	23	41%	33	0.52	-	-	0.054	0.021
ボーロ	30	20	67%	10	0.083	0.013	0.025	-	-
スナック類	24	3	13%	21	1.0	-	-	0.22	0.13
レンジケーキ	20	19	95%	1	0.030	0.002	0.021	-	-
みそ	50	50	100%	0	-	0	0.009	-	-
米みそ	30	30	100%	0	-	0	0.008	-	-
麦みそ	10	10	100%	0	-	0	0.005	-	-
豆みそ	10	10	100%	0	-	0	0.017	-	-
しょうゆ	50	46	92%	4	0.006	0	0.003	-	-
こいくちしょ うゆ	30	26	87%	4	0.006	0.001	0.003	-	-
うすくちしょ うゆ	10	10	100%	0	-	0	0.003	-	-
しろしょうゆ	10	10	100%	0	-	0	0.003	-	-

注) 平均値は、GEMS/Food の "Instructions for Electronic Submission of Data on Chemical Contaminants in Food and the Diet" の付録 4 "Evaluation of Low Level Contamination of Foods" に示されている方法に従い算出した。

※乳幼児用菓子類のうちボーロ及びレンジケーキ、みそ、並びにしょうゆは、定量限界未満の点数が 60 % を超えていたことから、平均値 (1) 及び平均値 (2) を算出。

※乳幼児用菓子類のうちビスケット類、ウエハース、米菓及びスナック類は、定量限界未満の点数が 60%未満であったことから平均値 (3) を算出。

平均値 (1) : 定量限界未満及び検出限界未満の濃度を「0」として算出。

平均値 (2) : 検出限界未満の濃度を検出限界とし、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界として算出。

平均値 (3) : 定量限界未満の試料の濃度を定量限界の 2 分の 1 として算出。

(農林水産省, 2006)

上記を含めた 2004~2010 年度の農林水産省含有実態調査の結果は、データを総合して以下のようにまとめられている (表 2-12) (農林水産省, 2012a, b)。

表 2-12 農林水産省含有実態調査（2004～2010 年度）における含有量

対象食品	調査点数	LOQ 未満 の数	アクリルアミド濃度 (µg/kg)		
			中央値	最大値	平均値
ポテトスナック (2004)	30	0	940	4700	1200
ポテトスナック (2006,2007)	541	1	940	5500	1100
コーンスナック	30	2	140	320	140
米菓	30	0	80	500	130
麦茶用大麦 (煎り麦)	18	0	320	510	320
ほうじ茶 (茶葉)	18	0	360	1100	450
即席中華めん	30	9	30	80	30
食パン (耳)	15	15	-	-	20
食パン (中心部)	5	5	-	-	20
ロールパン	10	10	-	-	20
ビスケット類	30	1	160	460	180
フライドポテト (2005)	30	0	380	910	380
フライドポテト (2007)	180	0	380	1500	410
アイスコーヒー	30	0	8.9	20	8.8
缶コーヒー	30	0	8.9	14	9.4
乳幼児用ビスケット類	80	3	150	800	210
乳幼児用ウエハース	20	0	150	340	170
乳幼児用米菓	56	23	21	520	54
乳幼児用ボーロ	30	20	-	83	25
乳幼児用スナック類	24	3	130	1000	220
乳幼児用レンジケーキ	20	19	-	30	21
米みそ	30	30	-	-	8
麦みそ	10	10	-	-	5
豆みそ	10	10	-	-	17
こいくちしょうゆ	30	26	-	6	3
うすくちしょうゆ	10	10	-	-	3
しろしょうゆ	10	10	-	-	3
カレールウ	80	1	78	580	110
シチュールウ	10	7	-	67	21
ハヤシルウ	10	0	33	120	43
レトルト・缶詰カレー	80	3	26	84	34
レトルト・缶詰シチュー	10	6	-	35	15
レトルト・缶詰ハヤシ	10	0	47	64	43
含みつ糖	50	0	220	2300	460
コーヒー豆	121	0	158	334	162
あられ・おかき	48	0	104	1770	166
米菓せんべい	48	2	93	369	114
甘味せんべい	47	0	136	676	179
粉末飲料粉末	30	0	42	303	65
乾燥果実	30	0	45	132	47
かりんとう (含みつ糖使用)	15	0	410	1600	730
かりんとう (含みつ糖不使用)	10	4	40	380	90
芋けんぴ (芋かりんとう) (含みつ糖)	5	0	150	220	170

対象食品	調査点数	LOQ 未満 の数	アクリルアミド濃度 (µg/kg)		
			中央値	最大値	平均値
不使用)					
飴 (含みつ糖使用)	14	0	970	2900	1000
飴 (含みつ糖不使用)	15	15	-	-	0-5
蒸しパン (含みつ糖使用)	15	2	340	470	250
ロールパン,食パン等 (含みつ糖使用)	15	2	50	350	90
まんじゅう (含みつ糖使用)	10	3	140	870	190
まんじゅう (含みつ糖不使用)	10	10	-	-	0-8
どら焼き (含みつ糖使用)	10	2	60	320	110
どら焼き (含みつ糖不使用)	10	10	-	-	0-10
ようかん (含みつ糖使用)	10	0	370	920	420
ようかん (含みつ糖不使用)	10	10	-	-	0-8
小麦系スナック類	39	0	106	1150	166
野菜系スナック類	20	1	154	2860	166
シリアル類	30	2	78	634	93

(農林水産省, 2012b)

「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業 (平成 18 年～20 年)」では、市販惣菜及び外食料理のアクリルアミドに関する実態調査が行われた。その結果を表 2-13 (市販惣菜) 及び表 2-14 (外食料理) に示す。(農林水産省, 2012a)

表 2-13 市販惣菜における含有量

惣菜品目	分析点数	一人分平均重量 (g)	平均濃度 (mg/kg)	平均含有量 (µg/食)
肉だんご	2	109	0.07	8
かき揚げ天ぷら	12	91	0.04	4
コロッセパン・焼きそばパン	2	145	0.03	4
焼き鳥	11	207	0.02	3
鳥の唐揚げ	13	171	0.02	3
野菜のてんぷら	18	228	0.01	3
ギョーザ	11	93	0.01	1
春巻き	7	69	0.01	1
野菜のごま和え	6	107	<0.02	<2
グラタン	8	244	<0.01	<2
ハンバーグ	5	190	<0.01	<2
ひじきの煮物	6	94	<0.02	<1
コロッセ	10	44	<0.02	<1
野菜の煮物	20	136	<0.01	<1
豚カツ	7	136	<0.01	<1
野菜・肉の炒め物	5	127	<0.01	<1
煮豆	3	121	<0.01	<1
焼き魚	11	109	<0.01	<1
いか、えびフライ	6	105	<0.01	<1
うの花	7	100	<0.01	<1
シューマイ	3	99	<0.01	<1
いか、えびの天ぷら	11	82	<0.01	<1
きんぴら	7	80	<0.01	<1

(農林水産省, 2012a)

表 2-14 外食料理

料理	分析点数	一食分重量 (g)	濃度範囲 (mg/kg)	含有範囲 (µg/食)
カレー (ご飯除く)	8	119-120	0.01-0.13	2-15
グラタン・ドリア	4	262-347	<0.01-0.03	<3-9
ピザ	4	160-211	0.01-0.05	2-8
餃子・春巻き	4	96-247	0.01-0.03	1-5
天ぷら	2	165-206	0.02	3-4
ドーナツ・揚げパン類※	6	39-88	0.01-0.04	0.5-4
牛丼・豚丼 (ご飯除く)	5	103-135	<0.01-0.02	<1-3
唐揚げ・フライ類	16	71-261	<0.01-0.01	0.7-2
ハンバーガー類 (パン除く) ※	5	30-91	<0.01-0.01	<0.3-0.9

※1 個を 1 食分として計算

(農林水産省, 2012a)

Yoshida ら (2011) は、日本における主食からのアクリルアミド摂取を推定するため、臭化誘導体ガスクロマトグラフィー-質量分析 (GC-MS) 法を使用して、調理米中のアクリルアミドを測定した (表 2-15)。定量限界 (LOQ) 及び検出限界 (LOD) は、調理玄米、調理発芽玄米及び調理白米について、それぞれ、0.20 及び 0.09 µg/kg、0.17 及び 0.07 µg/kg、並びに、0.14 及び 0.06 µg/kg であった。2 種類の家庭用炊飯器で調理された米中のアクリルアミド濃度の順序は、発芽玄米 > 玄米 > 白米であった。新しい多機能タイプの家庭用炊飯器では、アクリルアミド生成はより少なかった。一方、調べた 2 種類の家庭用炊飯器よりも、業務用炊飯器を使用した場合、アクリルアミド生成はより少なかった。このような差は、釜の温度過程及び又は炊飯器の高温の底表面に対する米粒の接触における差に由来している可能性がある。日本において消費される調理米の量 (平均 337.7 g/日) の脈絡から考察すると、調理白米中のアクリルアミドは、日本人の総アクリルアミド摂取量においては、些少な要因として見なすことができる。そして、玄米及び発芽玄米中のアクリルアミド形成も、また、焦げ飯になるまで過剰に加熱されない限り、同様に低レベルである (Yoshida M et al., 2011)。

表 2-15 炊飯米中のアクリルアミド量

米サンプル	玄米			発芽玄米			精白米		
	0	1	10	0	4	10	0	1	4
アクリルアミド添加量 (µg/kg)									
平均 (µg/kg)	0.72	1.75	11.95	0.66	4.81	11.02	0.64	1.61	4.67
SD (µg/kg)	0.02	0.07	0.15	0.02	0.06	0.24	0.01	0.08	0.14
RSD (µg/kg)	2.8	4.0	1.3	2.6	1.3	2.2	2.1	4.9	3
回収率 (%)	—	103.7	112.6	—	102.8	104.0	—	97.7	100.0

(Yoshida M et al., 2011)

ポテトチップスのアクリルアミド濃度のモニタリング（2006～2010年）が、2006年8月から2010年6月の期間で、日本で市販されているポテトチップスについて実施された。隔月のポテトチップスのサンプリングが、4段階デザインを用いて全国的に実施され、アクリルアミド濃度の季節ごと及び年ごとの変化がモニタリングされた。その結果、ポテトチップス中のアクリルアミドレベルには、季節変動が検出され、最低アクリルアミド濃度は8月、最大濃度は2月と6月の間に観察された。しかし、季節変動は生産者による緩和措置がとられたことから2008年8月以降は明確ではなかった。サンプリングにおける不確実性は、期間対期間、都市対都市及びロット対ロットの変動で検討され、最大の変動要因は包装袋対包装袋を含むロット対ロットであることが示された（Tsukakoshi Y et al., 2012）。

（2）魚体中

アクリルアミドの魚体内濃度については、環境庁1991年度の化学物質環境調査結果があり、調査した147検体ではいずれも検出されなかった（検出限界 $2.0 \times 10^{-4} \sim 1.3 \times 10^{-3}$ $\mu\text{g/g-wet}$ ）（表 2-16）。（環境省, 2007、NITE, 2007）

また、比較的最近の化学物質環境調査においては、調査した80検体のうち75検体に $2.4 \times 10^{-5} \sim 1.9 \times 10^{-3}$ $\mu\text{g/g-wet}$ の範囲でアクリルアミドが検出された（検出限界 2.2×10^{-5} $\mu\text{g/g-wet}$ ）（表 2-16）。（環境省, 2007）

表 2-16 アクリルアミドの魚体内濃度

調査年度	検出地点数 /調査地点数	検出数 /検体数	検出範囲 ($\mu\text{g/g-wet}$)	検出限界 ($\mu\text{g/g-wet}$)
1991	0/49	0/147	ND	$2.0 \times 10^{-4} \sim 1.3 \times 10^{-3}$
2007	16/16	75/80	$2.4 \times 10^{-5} \sim 1.9 \times 10^{-3}$	2.2×10^{-5}

ND：不検出

（環境省, 2007）

（3）飲料水中

アクリルアミドの水道水中濃度に関する報告は調査した範囲内では得られていないが、地下水中濃度については、環境庁による2000年度の水環境中の要調査項目存在状況調査結果の報告があり、15検体いずれにおいても不検出であった（検出限界 $0.02 \mu\text{g/L}$ ）（環境省, 2001）。曝露評価に用いる飲料水中濃度の候補は、この検出限界の1/2である $0.01 \mu\text{g/L}$ とされた。（NITE, 2007）

(4) 環境中

アクリルアミドの環境媒体別排出量が報告されている（表 2-17）。2003 年度 PRTR データに基づく届出対象業種の届出外事業者からの排出量については、届出データにおける業種ごとの大気、公共用水域、土壌への排出割合を用いて排出量が推定された（NITE, 2006）。アクリルアミドは1年間に全国で、大気へ0.85 トン、公共用水域へ0.21 トン排出され、土壌への排出は0.01 トン未満と推定された。ただし、廃棄物及び下水道については、各処理施設における処理後の環境への排出を考慮していない。（NITE, 2007）

表 2-17 アクリルアミドの環境媒体別排出量（2003 年度実績）（トン/年）

排出区分	大気	公共用水域	土壌
対象業種届出	0.84	0.21	<0.01
対象業種届出外 ¹⁾	0.01	<0.01	<0.01
合計	0.85	0.21	<0.01

1) 大気、公共用水域、土壌への排出量は、業種ごとの届出排出量の排出割合と同じと仮定し、推定した。0.01 トン未満の排出量はすべて「<0.01」と表記した。

（NITE, 2007）

また、公共用水域へ排出される届出排出量0.21 トンのうち、放流先が河川と届け出られている排出は0.17 トンであった。届出外の公共用水域について、すべて河川への排出と仮定すると、河川への排出量は0.17 トンとなる（経済産業省, 2005）。

アクリルアミドの大気中濃度に関する報告は、調査した範囲内では得られなかった（NITE, 2007）。NITE, 2006 では、アクリルアミドの2003 年度 PRTR 排出量データと広域大気拡散モデル AIST-ADMER Ver.1.5（産業技術総合研究所, 2005; 東野ら, 2003）を用いて、全国11 地域（北海道、東北、北陸、関東、中部、東海、近畿、中国、四国、九州、沖縄）の大気中濃度が推定された。

各地域での推定値を表 2-18 に示す。全国の年平均の最大値は、近畿地域における $5.1 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。（NITE, 2007）

表 2-18 アクリルアミドの年平均大気中濃度推定結果

計算対象地域	最小 ¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	最大 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
北海道	$< 10^{-9}$	2.5×10^{-5}
東北	$< 10^{-9}$	8.3×10^{-5}
北陸	$< 10^{-9}$	1.4×10^{-6}
関東	$< 10^{-9}$	1.1×10^{-3}
中部	$< 10^{-9}$	3.0×10^{-7}
東海	$< 10^{-9}$	7.1×10^{-4}
近畿	$< 10^{-9}$	5.1×10^{-3}
中国	$< 10^{-9}$	1.1×10^{-3}
四国	$< 10^{-9}$	4.1×10^{-3}
九州	$< 10^{-9}$	4.7×10^{-4}
沖縄	$< 10^{-9}$	1.0×10^{-7}

1) $10^{-9} \mu\text{g}/\text{m}^3$ 未満の推定結果はすべて「 $< 10^{-9}$ 」と表記した。

(NITE, 2007)

1 2. 曝露状況

(1) ヒトへの曝露シナリオ

NITE (2007) では、ヒトへの曝露シナリオとして、環境経由及び消費者製品経由の 2 経路が想定されている。環境経由のヒトへの曝露経路は、主として呼吸による吸入曝露と飲料水及び食物からの経口曝露が考えられる。また、消費者製品経由の曝露については、用途情報からアクリルアミドの消費者製品による曝露はないものと考えられる。(NITE, 2007)

(2) ヒトの推定摂取量

ヒトの摂取量として、以下のように推定されている。

①大気及び飲料水

大気及び飲料水経路の摂取量を推定する際、成人の大気吸入量を $20 \text{ m}^3/\text{人/日}$ 、飲料水摂取量を $2 \text{ L}/\text{人/日}$ とし、大気からの摂取量推定に用いる大気中濃度は測定結果の候補が得られていないため大気中濃度の推定結果における最大値 $5.1 \times 10^{-3} \text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$ とした。飲料水からの摂取量推定に用いる飲料水中濃度は、浄水に関する測定結果が入手できなかったため、地下水中濃度で代用し、飲料水中濃度の検出限界の $1/2$ の値である $0.01 \text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ とした。これらの仮定のもとに推定した。(NITE, 2007)

・ヒトの一日摂取量：

大気からの摂取量： $0.0051 \text{ }(\mu\text{g}/\text{m}^3) \times 20 \text{ }(\text{m}^3/\text{人/日}) = 0.10 \text{ }(\mu\text{g}/\text{人/日})$

飲料水からの摂取量： $0.010 \text{ }(\mu\text{g}/\text{L}) \times 2 \text{ }(\text{L}/\text{人/日}) = 0.020 \text{ }(\mu\text{g}/\text{人/日})$

・体重 1 kg 当たりのヒトの一日摂取量 (成人の体重を平均 50 kg と仮定)：

吸入摂取量： $0.10 \text{ }(\mu\text{g}/\text{人/日}) / 50 \text{ }(\text{kg}/\text{人}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ }(\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日})$

経口摂取量 (飲料水)： $0.020 \text{ }(\mu\text{g}/\text{人/日}) / 50 \text{ }(\text{kg}/\text{人}) = 4 \times 10^{-4} \text{ }(\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日})$

(NITE, 2007)

環境省で行われた、一般環境大気及び地下水の実測値を用いたヒトに対する曝露推定の結果を表 2-19 に示した。ヒトの一日曝露量の算出では、ヒトの 1 日の呼吸量及び飲水量をそれぞれ 15 m^3 及び 2 L 、体重を 50 kg と仮定している。食物については分析値が得られなかったが、アクリルアミドは水溶解度が高くオクタノール-水分配係数が小さいこと、公共用水域淡水中の検出濃度が低濃度であったこと等により、環境に由来する食物からの曝露量は他の媒体と比べて小さいと判断されている。(環境省, 2003)

表 2-19 各媒体中濃度と一日曝露量

	媒体	濃度	一日曝露量
平均	大 気		
	一般環境大気	0.02 µg/m ³ 未満 (2001)	0.006 µg/kg/日 未満
	室内空気	データは得られなかった。	データは得られなかった。
	水 質		
	飲料水	データは得られなかった。	データは得られなかった。
	地下水	0.02 µg/L 未満 (2000)	0.0008 µg/kg/日 未満
	公共用水域・淡水	0.02 µg/L 未満 (2000)	0.0008 µg/kg/日 未満
	食 物	環境中から食物への移行は小さいと判断される。	環境中から食物への移行は小さいと判断される。
土 壤	データは得られなかった。	データは得られなかった。	
最大値等	大 気		
	一般環境大気	0.02 µg/m ³ 未満 (2001)	0.006 µg/kg/日 未満
	室内空気	データは得られなかった。	データは得られなかった。
	水 質		
	飲料水	データは得られなかった。	データは得られなかった。
	地下水	0.02 µg/L 未満 (2000)	0.0008 µg/kg/日 未満
	公共用水域・淡水	0.05 µg/L 程度 (2000)	0.002 µg/kg/日 未満
	食 物	環境中から食物への移行は小さいと判断される。	環境中から食物への移行は小さいと判断される。
土 壤	データは得られなかった。	データは得られなかった。	

(環境省, 2003)

ヒトの一日曝露量の集計結果を表 2-20 に示した。吸入曝露の一日曝露量の予測最大量は、一般環境大気の濃度に終日曝露されるという前提で、0.006 µg/kg/日 未満(濃度は 0.02 µg/m³ 未満)であった。経口曝露は、地下水に関するデータが限られており、環境中の分布割合が比較的高いと予測されている土壌のデータが得られなかったため、評価できなかった(環境省, 2003)。

表 2-20 ヒトの一日曝露量

媒体		平均	予測最大量
		曝露量 (µg/kg/日)	曝露量 (µg/kg/日)
大気	一般環境大気	<u>0.006</u>	<u>0.006</u>
	室内空気	-	-
水質	飲料水	-	-
	地下水	<u>0.0008</u>	<u>0.0008</u>
	公共用水域・淡水	<u>(0.0008)</u>	(0.002)
食物		-	-
土壌		-	-
経口曝露量合計		評価できない	評価できない
総曝露量		評価できない	評価できない

注：1) アンダーラインは不検出データによる曝露量を示す。2) () 内の数字は総曝露量等の算出に用いていない。(環境省, 2003)

②食品

NITE (2007) では、日本人の食生活における食品からのアクリルアミドの摂取量を詳細に推定している (表 2-21)。様々な食品におけるアクリルアミドの代表濃度は、アクリルアミドの食物中濃度 (表 2-5) から、また、各食品摂取量は 2002 年度厚生労働省国民栄養調査結果 (厚生労働省, 2002b) に基づき、代表濃度は以下のように選定された。

- ・ 95 パーセントイルが算出されている場合はその値
- ・ すべて不検出の場合は検出限界の 1/2 の値
- ・ 検体数が 5 検体未満の場合は最大値

なお、コーヒー・ココアについては、浸出液の濃度が得られていないため、コーヒー豆、カカオ豆の濃度が用いられた。また、お茶からのアクリルアミドの摂取量は、農林水産省の浸出液の報告 (茶類に含まれるアクリルアミド濃度 (表 2-7) のアクリルアミドの最大濃度 14 µg/kg を用い、お茶の摂取量を 0.30 kg/人/日として別途算出された。このため以下の表からは、茶が除かれている。(NITE, 2007)

表 2-21 アクリルアミドの食品経由の摂取量の推定結果

食品群別摂取量			食品及び代表濃度			各食物からの摂取量 ¹⁾ (µg/人/日)
分類		食物摂取量 (kg/人/日)	食品名	代表濃度 (µg/kg)		
穀類	米	米	0.35	ごはん	4.5	1.6
	小麦・加工品	小麦粉類	3.8×10 ⁻³	天ぷら (ころも)、 フライ (ころも)	46.7	0.18
		パン類	0.032	パン	4.5	0.14
		うどん・中華めん類	0.040	ゆでうどん	4.5	0.18
		即席中華めん	4.0×10 ⁻³	即席麺	144.4	0.58
		その他の小麦加工品	5.1×10 ⁻³	パン粉、春巻き、 春巻き (皮)	35	0.18
	その他の穀類・加工品	そば・加工品	5.5×10 ⁻³	ゆでそば	4.5	0.02
		とうもろこし・加工品	4.0×10 ⁻⁴	コーンスナック、 シリアル	498	0.20
いも	いも加工品	さつまいも・加工品	7.7×10 ⁻³	さつまいもスナック、芋 ケンピ、大学いも	336	2.6
		じゃがいも・加工品	0.030	ポテトチップス、ポテト スナック、マッシュポテ ト、ボーロ、野菜チップ、 フレンチフライ	2517	76
豆類	大豆加工品	大豆 (全粉)・加工品	2.0×10 ⁻³	きな粉	118	0.24
		豆腐	0.038	とうふ、豆腐製品	4.5	0.17

食品群別摂取量			食品及び代表濃度			各食物からの摂取量 ¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)
分類			食物摂取量 ($\text{kg}/\text{人}/\text{日}$)	食品名	代表濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
豆類 (続き)	その他の豆・加工品	その他の豆・加工品	1.6×10^{-3}	豆スナック	120	0.19
種実	種実類	種実類	2.3×10^{-3}	いりごま、落花生、アーモンド、ピスタチオ、カシューナッツ、ウォールナッツ、くるみ	267	0.61
卵類	卵類	卵類	0.037	たまごやき、オムレツ	4.5	0.17
野菜	緑黄色野菜	にんじん	0.020	野菜チップ	4.5	0.09
	緑黄色野菜	その他の緑黄色野菜	0.033	野菜チップ	55	1.8
	その他の野菜類	たまねぎ	0.029	フライドオニオン、いため玉ねぎ	428	12
果実	生果	りんご	0.027	りんごチップス	4.5	0.12
	生果	バナナ	0.012	バナナチップス	65	0.78
	果汁・果汁飲料	果汁・果汁飲料	0.014	りんごジュース、オレンジジュース	4.5	0.06
魚介	生魚介類	あじ・いわし類	0.012	焼き魚、魚フライ	4.5	0.05
	魚介加工品	魚介（練り製品）	0.011	焼き竹輪、さつま揚げ	4.5	0.05
肉類	畜肉	豚肉	0.031	メンチカツ	4.5	0.14
		鶏肉	0.020	唐揚げ	36	0.72
乳類	牛乳・乳製品	牛乳	0.10	牛乳	4.5	0.45
		その他の乳製品	0.037	脱脂粉乳	4.5	0.17
菓子	菓子類	和菓子	0.012	かりんとう、麦こがし、せんべい、揚げもち	1439	17
		ケーキ・ペストリー類	7.6×10^{-3}	ドーナツ、カステラ、バームクーヘン	4.5	0.03
		ビスケット類	1.5×10^{-3}	プレッツェル、ビスケット、クッキー、クラッカー	302	0.45
嗜好	アルコール飲料	ビール	0.059	ビール	1.5	0.09
	その他の嗜好飲料	茶	0.31	緑茶、ほうじ茶、紅茶、中国茶、中国茶（プーアル茶）、麦茶	—	— ²⁾
		コーヒー・ココア	0.065	コーヒー、ココア、コーヒー飲料	208	14 ³⁾
		その他の嗜好飲料	0.064	コーラ	1.5	0.10

食品群別摂取量			食品及び代表濃度			各食物からの摂取量 ¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)
分類		食物摂取量 ($\text{kg}/\text{人}/\text{日}$)	食品名	代表濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
調味 香辛 料類	調味料	しょうゆ	0.019	しょう油	11	0.21
		その他の調味料	0.049	カレールー	116	5.7
		その他の調味料	2.0×10^{-4}	カレー粉	423	0.08
食物の摂取量合計		1.5	食物からのアクリルアミド摂取量合計		137	

- 1) 各食物からの摂取量 = 食物摂取量 × 代表濃度。
- 2) お茶は葉についての濃度から算出。浸出液についての濃度は別途算出。
- 3) コーヒー、ココアは、コーヒー豆、カカオ豆の濃度から算出。
(厚生労働省, 2002b、国立医薬品食品衛生研究所, 2002a に基づき NITE 2007 が作成)

推定摂取量は以下のとおり算出された。

- ・ヒトの一日摂取量：

お茶からの摂取量 $14 (\mu\text{g}/\text{kg}) \times 0.30 (\text{kg}/\text{人}/\text{日}) = 4.2 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日})$ として、
 食品からのアクリルアミド摂取量合計 $137 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}) +$ お茶からの摂取量 $4.2 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}) = 141 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日})$

- ・体重 1kg 当たりの経口摂取量 (成人の体重を平均 50 kg と仮定)：

$141 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}) / 50 (\text{kg}/\text{人}) = 2.8 (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日})$

(NITE, 2007)

アクリルアミドは主に食品から、またわずかに大気や飲料水を通じてヒトに摂取されると推定される。成人の体重を平均 50 kg と仮定したそれぞれの経路からの一日推定摂取量を表 2-22 に示す。(NITE, 2007)

表 2-22 アクリルアミドの 1 日推定摂取量

摂取経路		摂取量推定に用いた採用濃度の種類	1 日推定摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	体重 1 kg 当たりの 1 日推定摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$)	
吸入	大気	モデル推定値 (AIST-ADMER)	0.10	2.0×10^{-3}	
経口	飲料水	地下水中濃度 (検出限界の 1/2)	0.020	4.0×10^{-4}	2.8
	食物	食物中濃度	141	2.8	
全経路 (合計)			141	2.8	

③曝露マージン (MOE)

平成 18 年度加工食品中のアクリルアミド含有実態調査では、食品ごとの MOE が求められた。結果を表 2-23 に示した。ここでは、対象食品からの乳幼児又は大人の体重 1 kg 当たりの平均的な摂取量は、加工食品中のアクリルアミドに関する予備調査の結果及び国民健康・栄養調査のデータをもとに、予備的に推定された。）

摂取量の推定値 (µg/kg 体重/日) = 食品摂取量 (g/日) × 平均含有濃度 (mg/kg) / 平均体重^注 (kg 体重)

注：みそ、しょうゆは大人の平均体重 (53.3 kg) を使用。乳幼児用菓子類は、平成 16 年国民健康・栄養調査の身体状況調査の結果から試算した 1-5 歳児平均体重 (14.7 kg) を使用。

一方、MOE は、第 64 回 JECFA (2005) においてアクリルアミドの重要な健康影響を遺伝毒性発がん性であると評価されたことから、摂取量の推定値と JECFA (2005) がリスク評価に用いた動物実験データに基づく発がんのベンチマーク用量信頼下限値 (BMDL) から算出された。(農林水産省, 2006)

計算式：MOE = BMDL (µg/kg 体重/日) / 摂取量の推定値 (µg/kg 体重/日)

表 2-23 食品ごとのアクリルアミド摂取量の推定値と発がんリスクの MOE

調査対象食品	食品摂取量 ^{注1} (g/日)	アクリルアミド 平均含有濃度 (mg/kg)	アクリルアミド 摂取量の推定値 (µg/kg 体重/日)	曝露マージン ^{注2}
乳幼児用菓子類	18.0 (1-5 歳児)	0.11	0.13	2,300
みそ	11.7 (大人)	0.009	0.002	150,000
しょうゆ	16.6 (大人)	0.003	0.001	300,000

注 1：食品摂取量は平成 16 年国民健康・栄養調査 (厚生労働省, 2004) による。本調査はすべての菓子類を対象としていないため、乳幼児用菓子類の食品摂取量については 1~5 歳児の菓子類摂取量 36.0g の半分の量がビスケット類、ウエハース、米菓、ポーロ、スナック類及びレンジケーキの摂取量に相当すると仮定した。(国民健康・栄養調査の菓子類には、この他キャンディー類、プリン、ゼリーなどの摂取量が含まれているが、個別の品目ごとの摂取量は非公表。)

注 2：第 64 回 JECFA (2005) は、発がんにおける BMDL を 300 µg/kg 体重/日と評価した。(農林水産省, 2006)

農林水産省 (2006) では、上記の結果について、以下のように説明している。欧州連合は、遺伝毒性を持つ発がん物質については、動物実験データに基づく発がんの BMDL から、ヒトのリスクを推定する際の不確実係数の積を 10,000 とし、MOE の値がそれよりも大きい場合は消費者への健康リスクが小さく、リスク管理措置をとる優先度が低いとし、MOE の値がそれよりも小さい場合には健康リスクを無視できず、リスク管理措置をとる優先度が

高いという考え方を示している。

乳幼児菓子類に由来する、乳幼児による体重 1 kg 当たりのアクリルアミド摂取量の推定値と発がんの BMDL から算出した MOE は、10,000 よりも小さい値となっており、欧州連合の考え方に従えば、リスク管理措置の必要性を検討する優先度が高いと考えられる。なお、第 64 回 JECFA (2005) は、諸外国が実施したアクリルアミド摂取量の推定では、子供の体重当たりの摂取量は大人の 2-3 倍であると報告した。我が国においても、乳幼児など子供では体重当たりの摂取量が大人よりも大きい可能性があることから、子供が消費する食品の含有実態や消費の状況については引き続き情報を収集する必要がある。

みそ及びしょうゆについては、日本人 (大人) によるこれらの食品からのアクリルアミド摂取量の推定値が十分に小さい値であり、不確実性を考慮しても発がん性に基づく BMDL に対して MOE が十分に大きいことから、その他の食品に比べてリスク管理措置を検討する優先度は低いと言える (農林水産省, 2006)。

④喫煙

タバコの主流煙はタバコ 1 本につき 1~2 μg のアクリルアミドを含む。体重 70 kg の成人が 1 日 20 本喫煙すると、平均吸入摂取量は 0.67 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ となる。喫煙者は、職業曝露のない非喫煙者よりヘモグロビン付加体量が 3~4 倍高い。喫煙者のヘモグロビンバリン付加体濃度の中央値は 85 pmol/g グロビンであり、推定アクリルアミド曝露量中央値の 3.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ に一致すると考えられた。非喫煙者の背景を差し引くと、アクリルアミド曝露量中央値は 2.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であり、タバコ主流煙のアクリルアミド含量からの推定摂取量よりも 4 倍高い。両者ともいくつかのキーとなる仮定があり、これらのどちらがより妥当な推定値かは明らかではない。(NTP-CERHR, 2005)

副流煙 (間接喫煙) については測定されていないが、おそらくこれにもアクリルアミドが含まれており、非喫煙者の室内タバコ曝露に結びつくであろう。

職業曝露のない非喫煙者の付加体濃度は 21 pmol/g グロビンである。これらの値は他の 2 試験の値と一致する。喫煙者が非喫煙者よりも約 4 倍高い付加体濃度中央値と仮定すると、毎日の食事による摂取よりも喫煙はアクリルアミド曝露のより重要な供給源であるといえる。(NTP-CERHR, 2005)

⑤職業上の曝露

職業上の吸入及び皮膚曝露が、アクリルアミドの製造や工業的使用において歴史的にみられる。これらの空气中曝露シナリオの最新データとして、アクリルアミドモノマー (幾何平均 0.09~0.13 mg/m^3) 及びポリマー (幾何平均 0.01~0.02 mg/m^3) 並びに下水システムの封水剤としてのアクリルアミドモルタル使用 (幾何平均 0.01~0.03 mg/m^3) がある。これらの推定幾何平均に基づいた吸入量は、1.4~18.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の範囲である。皮膚曝露量及び摂取量は不明であり、測定あるいは推定は困難である。(NTP-CERHR, 2005)

⑥ヒトケア製品

国内外のヒトケア製品による曝露におけるアクリルアミド曝露に関する測定結果は本調査では得られていない。体表（全身）及び吸収（100%）の非現実的な推定で最悪のケースを算出すると、摂取量は、約 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。（NTP-CERHR, 2005）

（3）海外の汚染状況

① 大気

アクリルアミドは、低い蒸気圧及び大きな水溶解度のために、大気中における通常の汚染物質であるとは予想されていない。利用可能なモニタリングデータは、不十分であり、曝露状況を確認できない。（WHO, 2011）

②水系

アクリルアミドによる飲料水汚染の最も重要な原因は、アクリルアミドモノマーの残留を含有するポリアクリルアミド凝集剤の使用である。一般的に、NSF が承認している最大のポリマー使用量は、1 mg/L である。モノマー含有量が 0.05% の場合、水中の最大モノマー濃度は、理論的に 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ に相当する（NSF, 1988）。実際には、モノマー濃度は、2～3 のファクターだけ、低い可能性がある。このことは、アニオン性及び非イオン性のポリアクリルアミドの両者に適用される。しかしながら、カチオン性のポリアクリルアミドからの残留濃度は高い可能性がある。（WHO, 2011）

河川水及び水道水の両方において、ポリアクリルアミドが飲用水の処理に使用されている地域では、アクリルアミドは 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下の濃度で検出される。米国西バージニアにある公共の飲料水供給用井戸からのサンプルの場合、1 L 当たり 0.024～0.041 μg のアクリルアミドを含有していた。英国のある調査の場合、水道水の濃度は、1 L 当たり低い μg の範囲での報告があった（Brown & Rhead, 1979）。（WHO, 2011）

③食品

アクリルアミドは、高温処理で調理される特定の食品中（特に、でんぷん質の多い食物）に検出されてきた。2002 年 6 月に、利用可能なデータに基づいて、一般公衆のアクリルアミドへの総曝露量に対して、食品は重要な寄与をすることが予測された。一般公衆の平均的なアクリルアミド摂取量は、1 日当たり 0.3～0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の範囲であると見積もられた（JECFA, 2002）。ポリアクリルアミドは、また、砂糖の精製に用いられることから、少量のアクリルアミドは、最終製品に残存する可能性がある。（WHO, 2011）

1.3. 測定方法と検出限界

(1) 大気

①LC/MS 法

環境省の化学物質環境実態調査において、地方公共団体等に委託して種々の化学物質に関する分析法の開発調査が実施された。その中で、LC/MS による大気中のアクリルアミドの分析法の開発が、川崎市公害研究所で実施された。大気試料を固相カートリッジに通気してアクリルアミドを捕集し、精製水及びメタノールで抽出して窒素気流下で濃縮し、精製水で定容した後、LC/MS/MS (ESI-positive, SRM) で分析する。大気中アクリルアミドの分析法フローを図 2-6 に示した。この方法では、検出下限 6.7 ng/m^3 、及び定量下限 17 ng/m^3 で大気試料中のアクリルアミドの定量分析が可能である。環境大気に 30 ng のアクリルアミドを添加した添加回収試験の結果は 91% であり、回収率、変動係数ともに良好であった。(環境省, 2011)

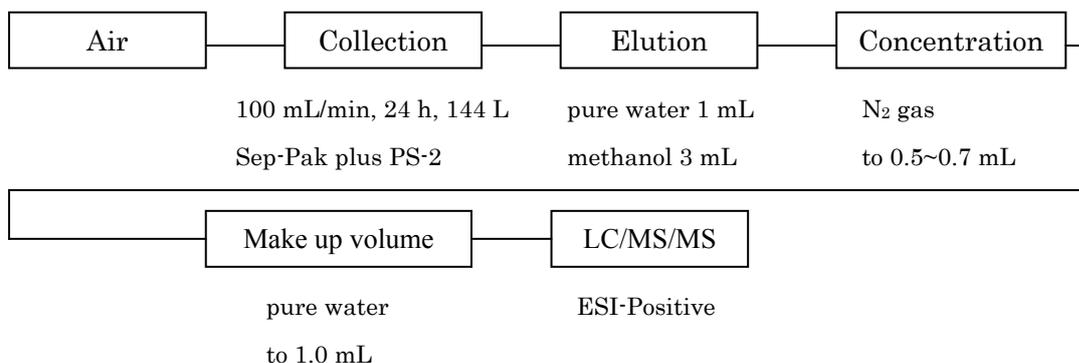


図 2-6 分析法のフローチャート

(環境省, 2011)

②三連四重極質量分析計

三連四重極質量分析計を装備した HPLC を使用して、超高速でアクリルアミドが測定されている。野外大気中の粒子状エアロゾル中のアクリルアミドの測定では、アクリルアミドはポジティブエレクトロスプレー質量分析によって、イオン遷移のモニタリングとして、 m/z 72.00/54.90 を用いて同定された。本法の検出限界 (3σ) は、 0.4 pg/m^3 (注入された絶対量 173 pg)、再現性は 8% (アクリルアミド標準スパイクの清浄石英繊維フィルターに関する 5 回連続測定) の相対標準偏差、及び回収率は $52 \pm 4\%$ であった。本法の精度 (相対誤差) は、-2% であった。そこで、ベネチアの潟湖 (Venice Lagoon) における野外の粒子状エアロゾル中のアクリルアミド濃度を測定したところ、アクリルアミド濃度は、 $0.4 \text{ and } 12.9 \text{ pg/m}^3$ であり、平均値は 3.1 pg/m^3 であった (Zangrando R et al., 2012)。

(2) 食品

熱処理された食品におけるアクリルアミドの定量には、安定同位体希釈 LC-MS/MS 及び GC-MS (/MS) 法が最も広範に使用されている (Wenzl T and Anklam E, 2003、Zhang Y et al., 2005、Wenzl et al., 2006, 2009、Wenzl T et al., 2007、Karasek L et al., 2008、Zhang Y et al., 2009)。LC に基づく方法はそれ自体で、アクリルアミドを決定できるが、GC に基づく方法では、一般的に、追加処理や分析の前に、アクリルアミドの誘導体化が含まれる。安定同位体希釈では、内部標準として安定同位体標識アクリルアミドが用いられる。安定同位体希釈は、LC-MS/MS 法におけるイオン抑制 (ion suppressio) を補正し、GC-MS (/MS) 法における誘導体化の収量変化を補正するために、一般的に必要とされる。(JECFA, 2011b)

① GC-MS・LC-MS 法

GC をベースにした方法は、通常、アクリルアミドの誘導体化が含まれ、多くの実験室において、臭化水素酸 (hydrobromic acid) と飽和臭素 (Br₂) 溶液を用いて、実施される。Castle & Eriksson (2005) は、アクリルアミドの誘導体化をした場合としない場合における GC-MS 法について、系統的にレビューした。最近、誘導体化法は、酸性の溶媒中で、臭素酸カリウム (potassium bromate) と臭化カリウム (potassium bromide) を使用して改良された (Zhang Y et al., 2006)。このような反応物質の利用は、より使い勝手が良く、安全である。反応は、冷たい保存温度下で、再現性良く行われる。

GC-MS (/MS) を用いて、誘導体化されないアクリルアミドの場合でも、同様に、信頼性のある分析が可能である。しかしながら、GC の加熱した注入ポートにおけるアクリルアミド形成を避けるため、抽出物からアスパラギンと糖を除去することに、高度に注意を払う必要がある (Dunovská et al., 2006)。さらに、化合物 3-ヒドロキシプロピオニトリル (3-hydroxypropionitrile) は、アクリルアミドと共溶出する可能性があり、誤った高いアクリルアミド分析値を与える原因となる (Biedermann and Grob, 2008)。この問題は、より極性のあるカラム (Carbowax 1000) を用いることにより、解決できるであろう。もう一つの方法として、高分子量カルボワックス (high molecular weight Carbowax) を用いて、分離条件を適切に調整、組み合わせることによって、アクリルアミドの後で、3-ヒドロキシプロピオニトリル (3-hydroxypropionitrile) を溶出させることは可能であった。(JECFA, 2011b)

食品中のアクリルアミドの分析法として、安定同位体を内部標準とし、臭素誘導体化後 GC-MS で測定する方法、及び誘導体化せずにカラムスイッチング使用の LC-MS で測定する方法が確立された。検出限界は各々 9 ng/g であった。市販食品中のアクリルアミドを測定した結果、スナック、菓子、ほうじ茶等の加工食品から最高 3544 ng/g のアクリルアミドを検出した。水分が高い植物性食品及び魚、卵、肉製品のアクリルアミド濃度は低かった。食品中アクリルアミドは世界中で分析されており、本研究の結果はそれらと同レベルであった。(国立医薬品食品衛生研究所, 2002b)

農林水産省（2004）は、食品中のアクリルアミドに関するリスク管理措置を取る必要性を検討するための基礎資料とするために、アクリルアミドによる汚染が懸念されている加工食品や日本特有の加工食品を対象として実態調査を行っている。本調査では GC-MS の手法が利用されている。試料の調整は、固体試料の場合は、1 製品の全量を粉砕・混合し、分析用試料とした。分析試料から抽出したアクリルアミドをキサントヒドロール誘導体化した後、ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）で定量した。定量限界は 0.02 mg/kg、検出限界は 0.005 mg/kg であった（農林水産省, 2004）。

表 2-24 定量限界及び検出限界

調査対象食品	定量限界 (mg/kg)	検出限界 (mg/kg)
ポテトスナック	0.02	0.005
コーンスナック	0.02	0.005
米菓	0.02	0.005
麦茶	0.02	0.005
ほうじ茶	0.02	0.005
インスタント麺	0.02	0.005

（農林水産省, 2004）

表 2-25 定量限界及び検出限界

調査対象食品	定量限界 (mg/kg)	検出限界 (mg/kg)	
パン類	食パン（中心部）	0.02	0.005
	食パン（耳）	0.02	0.005
	ロールパン	0.02	0.005
ビスケット類	0.02	0.005	
フライドポテト	0.02	0.005	
アイスコーヒー	0.002	0.0006	
缶コーヒー	0.002	0.0006	
乳幼児用ビスケット類	0.02	0.005	

（農林水産省, 2005）

表 2-26 定量限界及び検出限界

調査対象食品	定量限界 (mg/kg)	検出限界 (mg/kg)	
乳幼児用菓子類	ビスケット類	0.020	0.005
	ウエハース	0.020	0.005
	米菓	0.020	0.005
	ボーロ	0.020	0.005
	スナック類	0.020	0.005
	レンジケーキ	0.020	0.005
みそ	米みそ	0.020	0.005
	麦みそ	0.020	0.005
	豆みそ	0.020	0.005
しょうゆ	こいくちしょうゆ	0.004	0.002
	うすくちしょうゆ	0.004	0.002
	しろしょうゆ	0.004	0.002

（農林水産省, 2006）

農林水産省（2004、2005、2006）の実態調査で用いられた方法は、Yamazaki ら（2012）の文献に論文としてまとめて公表されている。本法では、同位体で標識されたアクリルアミド（d-acrylamide）が、内部標準として使用された。サンプルからの水溶液抽出物は、Sep-Pak® C 及び Sep-Pak® AC-2 カラムを用いて、精製された。味噌又はしょう油のようなアミノ酸に富んだサンプルに関しては、Extrelut®カラムが、精製又は抽出のために用いられた。キサントヒドロールとの反応の後、得られた N-キサントヒドロールアクリルアミド（N-xanthyl acrylamide）は、GC-MS によって測定された。本法は、ポテトスナック、コーンスナック、ビスケット、即席めん、コーヒー、しょう油及び味噌（発酵大豆ペースト）など、様々な加工食品に適用可能であった。本法は、様々な食物基質に対して検証され、良好な直線性、精度及び真度（precision and trueness）を示した。検出限界及び定量限界は、それぞれ、0.5～5 及び 5～20 µg/kg の範囲であった。

② LC-MS/MS 法

日本で市販されている加工食品中のアクリルアミドの分析に LC-MS/MS 法が利用されている。食品試料をフードプロセッサーで粉碎し、メタノール 1 mL、水 2 mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジに負荷して、水で溶出を行った。（吉田充ら, 2002）

Atlantis d C₁₈ (2.1×150 mm, 3 µm, Waters) カラムを使用して、移動相は 10%メタノール水溶液のイソクラティック、40°C、0.1 mL/min の条件を用いた。アクリルアミド溶出位置を含む 4.8～10.2 分間について溶出液を質量分析装置に導入した。質量分析装置は TurboIonSpray を ESI イオン源とした API 3000 (Applied Biosystems) を使用し、正イオンモードで測定した。アクリルアミド及び内標準それぞれの[M+H]⁺のプロダクトイオン (m/z 72>55, 75>58) を選択反応モニタリング (SRM) で検出した。食品中のアクリルアミド含量は、m/z 75>58 の面積に対する m/z 72>55 の面積比に添加した内標準濃度を乗じて求めた。

LC-MS/MS によるアクリルアミドの検出限界及び定量限界は、1 ng/mL アクリルアミド標準溶液測定時の標準偏差の 3 倍、10 倍として算出し、それぞれ 0.2 ng/mL、0.8 ng/mL であった。ポテトチップス及び 2 種類の米菓の試料について、繰り返し試験の相対標準偏差 (RSD) は LC-MS/MS 法で 5%以下であった。（吉田充ら, 2002）

LC-MS/MS 法は、おおむね、Rosén and Hellenäs (2002) によって、発表された方法に基づいている。この方法は、さらに、様々な報告によって、改良された (Zhang Z and Zhang, 2005、Wenzl L and Gökmen, 2007)。Rosén N and Hellenäs (2007) は、クロマトグラフィーの部分において、アクリルアミドのクロマトグラフィー上の保持時間に関して、異なった固相の影響を比較検討した。最良の保持時間は、移動相として水を用いて、多孔性の黒鉛状炭素 (porous graphitic carbon (Hypercarb)) から構成される相を用いることで達成された。(JECFA, 2011b)

確立している大部分の方法は、エレクトロスプレーイオン化 (electrospray ionization, ESI) を用いている。Marín ら (2006) は、その代わりに、Ion Sabre 大気圧化学イオン化 (Ion Sabre atmospheric pressure chemical ionization) を推奨した。そして、アクリルアミドに対する感度を LOD 0.03 µg/L に改善して、ESI と比較すると、基質の影響をより減弱化することを達成した。(JECFA, 2011b)

クロマトグラフィーのステップを改良するために、MS/MS と連結したウルトラパフォーマンス液体クロマトグラフィー (UPLC) が開発された (Zhang Y et al., 2007)。通常の LC-MS/MS と比較すると、UPLC-MS/MS 法は、実行時間がわずか 3 分で、アクリルアミドの定量に関する高速処理を提供している。その上、UPLC カラムに用いられている複合粒子 (hybrid particles) は、従来の HPLC 充填剤と比較すると、しばしば、特異的な選択性を示した (Churchwell et al., 2005)。UPLC 法の有利性は、また、実行効率 (run efficiency) 及び分解能 (resolution) における増加と関連している。その理由は、UPLC カラムにおける 1.7 µm サイズの粒子は、はるかに高い圧力とより早い流速下におけるクロマトグラフィー分析を可能にするからである。(JECFA, 2011b)

③ スクリーニング法

迅速なスクリーニング、高速大量処理及び低コストを達成するために、遺伝子技術や酵素免疫測定法 (ELISA) などの生物学的手法が検討されてきた。低分子のアクリルアミド (71 daltons) は、これまで、スクリーニング免疫アッセイのために有用な抗体を作製することができなかった。最近になって、アクリルアミドの 3-メルカプト安息香酸 (3-mercaptobenzoic acid) と N-アクリロキシサクシニミド (N-acryloxysuccinimide) 誘導体が、有効な免疫原化合物を得るために利用された。これらの化合物は、誘導体化の後で、食品抽出物におけるアクリルアミドを測定するために、免疫アッセイを開発するための基盤として使用された (Preston A et al., 2008, Zhou S et al., 2008)。

Quan Ying ら (2011) は、食品中のアクリルアミドを迅速に分析するために、増強された化学発光 ELISA 法を検討した。N - アクリルオキシサクシニミド (N-acryloxysuccinimide, NAS) とスカシガイヘモシアニン (keyhole limpet hemocyanin, KLH) との抱合体を用いて、ウサギを免疫して得られたアクリルアミドに対するポリクローナル抗体を基にして、食品サンプル中のアクリルアミドの分析のために、増強された化学発光 (chemiluminescent, ECL) 直接酵素免疫測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) を検討した。そして、抗体と酵素抱合体の濃度及び競合時間などのアッセイ条件の最適化を行った。最適化された ECL-ELISA 系では、IC (50) 値は 60.6 ng/mL、直線的な使用範囲は 26.3~221.1 ng/mL であり、検出限界は 18.6 ng/mL であった。スパイクされた食品サンプルからの回収率は良好で、回収率の範囲は 74.4 ~ 98.1% であった。そして、これらの結果は、HPLC 法を使用して得られた結果と、良好な相関関係を示した。

農林水産省の「レギュラトリーサイエンス新技術開発事業」の「食品中のアクリルアミドを簡易・迅速に測定できる分析技術の開発」において開発された技術を用いて、2011年10月に森永生科学研究所は、アクリルアミドのEIA検出キットの発売を開始した。この検出キットでは、検出対象のアクリルアミドを誘導体化することで、抗原抗体反応を利用した特異的検出を可能にしている。

分析操作としては、粉碎した検体1gに水19mLを加えてホモジェネートし、その遠心上清を孔径0.45µmのフィルターでろ過したろ液1mLを固相抽出で精製して検体抽出液を得る。この検体抽出液に含まれるアクリルアミドを3-MBA (3-mercaptopbenzoic acid) と37℃で2時間反応させ、3-CTBA (3-[(2-carbamoyl) ethyl] thio] benzoic acid) に誘導体化する。この誘導体溶液を3-CTBAを固相化したマイクロプレートのウェル内に入れ、ウサギ抗3-CTBA抗体を加え、検体中のアクリルアミド由来の3-CTABと固相化3-CTAB間の競合結合反応を起こさせる。これがEIAの1次反応で、室温で1時間静置して行う。次に、ウェル内の液を洗い出し、酵素標識抗ウサギIgG抗体を加え、固相化3-CTBA-ウサギ抗3-CTBA抗体複合体に結合させる。これが2次反応で、室温で30分静置して行う。余剰の酵素標識抗ウサギIgG抗体を洗い出した後、ウェルに酵素の基質を加え、プレート上に固定された複合体に結合した酵素により室温で30分静置して呈色させる。誘導体溶液中の検体のアクリルアミド由来の3-CTBA濃度が高いほど固相化3-CTBA-ウサギ抗3-CTBA抗体複合体の生成量は少なくなり、その結果、酵素による呈色も弱くなる。この呈色による吸光度と検体溶液のアクリルアミド濃度の関係をアクリルアミド標準液で作成した検量線から求め、吸光度から元の検体中のアクリルアミドを定量するという手順を取る。本キットでは最大24検体を一度に測定でき、アクリルアミドの検出下限は0.9 ng/mLで、測定範囲は3~200 ng/mL (180~12 000 µg/kg 食品) である。(吉田充, 2011)

一般的な食品、例えば、抹茶、コーヒー、トマトジュース及びスポーツ飲料におけるアクリルアミドのスクリーニング分析のために、バイオセンサー (MJCU017) が開発された。このような試験法の精度や感度については、さらに最適化の必要があり、これらを用いた分析結果は、他の確立した方法によって、確認されるべきである (Hasegawa K et al., 2007)。(JECFA, 2011b)

④分析法の妥当性確認

ベーカリー製品 (クリスピーブレッド (crispbreads)、ビスケット (biscuits)) 及びジャガイモ製品 (ポテトチップス) 中のアクリルアミド分析に関して、GC-MS 及び LC-MS/MS 分析手法 (それぞれ1手法ずつ) について、欧州で室間共同試験による妥当性確認が実施された。測定対象におけるアクリルアミドの濃度範囲は、約20 µg/kg から約9 000 µg/kg であった。

LC-MS/MS 法は、GC-MS 法に比較して、より優れた性能を示し、合目的性があると見な

された (Wenzl et al., 2006)。Wenzl ら (2009) は、さらに、この LC-MS/MS 法の改良法の妥当性確認を、炒ったコーヒーのアクリルアミドの分析の室間共同試験で行った。この方法における性能パラメータは、国際的に認められた基準を満足した。中国においては、国家規格 GB/T 5009.204-2005 の方法に部分的に基づいた食品におけるアクリルアミド測定のための GC-MS 法が、2005 年に公表された (Ministry of Health, People's Republic of China, 2005)。その後、アイソトープ希釈 LC-MS/MS 分析手法を含むように改訂された (Zhao R et al., 2005)。そして、この更新された新しい基準 GB 5009.204 に関する共同実験による検証試験が、中国の 7 実験室が参加して実施された (Zhao R et al., 2005)。(JECFA, 2011b)

⑤分析における質管理

食品中のアクリルアミド分析に関して、分析結果の比較可能性を改良して、精度とトレーサビリティを保証するためには、認証標準物質が必要性である。認証標準物質は、以下に掲げる少なくとも 3 カ所の供給元から入手可能である。IRMM (<http://irmm.jrc.ec.europa.eu>)、German Federal Institute for Materials Research and Testing (<http://www.bam.de>)、及び the United Kingdom's Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) (<http://www.fapas.com>) (Dabrio et al., 2008; Koch et al., 2009)。また、試験室の能力及び方法を評価するために、技能試験が提供されている (例えば FAPAS によって)。(JECFA, 2011b)

⑥前処理の進歩

(a) 抽出

食品からアクリルアミドを抽出するために、水系が最も一般的に使用されるが、極性溶媒もしばしば用いられる (Karasek et al., 2008)。不完全な抽出は、食品の浸漬が十分でなかったり、短時間抽出あるいは低抽出温度で、特にこれらの条件が組み合わさった場合に発生する (Pettersson et al., 2006)。抽出操作中のアクリルアミドの生成も、別の誤差原因である (Hoenicke et al., 2004)。加えて、抽出操作中のアクリルアミドの汚染及びアクリルアミドの熱分解も挙げられる (Fohgelberg et al., 2005)。最近の幾つかの研究から、アクリルアミドは、水と共沸できることが確認された (Rufián-Henares and Morales, 2006, Chu and Metcalfe, 2007)。また、高-pH 抽出により食物基質から“隠れた”アクリルアミドを放出させることが分かった (Eriksson and Karlsson, 2006) が、その後、この高-pH 効果はおそらくメイラード反応中間体からのアクリルアミドの生成によるものであったことが示された。(Goldmann T et al., 2006, Perez et al., 2008)。(JECFA, 2011b)

(b) 精製

多段-カートリッジ (multiple-cartridge) 固相抽出 (solid-phase extraction, SPE) の使用が広く知られている。例えば、ENV+ (架橋ポリスチレンをベースにしたポリマー) (crosslinked polystyrene-based polymer) 及び Strata-X-C (カチオン交換ポリマー) (cation exchange polymer)

の組み合わせである (Bermudo et al., 2008)。層状 SPE カートリッジが、精製操作を単純化するために使用されてきた。C₁₈ 吸着材を Isolute Multimode 吸着材 (疎水性相互作用吸着材) (hydrophobic interaction sorbent) に、1 : 3 の割合で添加すると、コーヒーのようなある種の複雑な食物基質において、多くの関連する汚染物質を除去する上で、理想的であることが確認された (Soares et al., 2006)。固相マイクロ抽出 (El-Ghorab et al., 2006) 及びマトリックス固相分散 (matrix solidphase dispersion) (Fernandes and Soares, 2007)、Isolute Multimode のような SPE カートリッジ (Mizukami et al., 2006、Rufián-Henares et al., 2006) 及び Oasis HLB (Zhang Y et al., 2005) も使用されてきた。(JECFA, 2011b)

Mastovska and Lehotay (2006) は、迅速で簡単な複合的な溶媒抽出と精製処理法を開発した。食物試料はホモジネートし、ヘキサン、水、アセトニトリル、硫酸マグネシウム及び塩化ナトリウムの混合液で抽出した。水はアクリルアミドの抽出を促進し、ヘキサンは試料を脱脂する。一方、塩の組み合わせは、水とアセトニトリル層の分離を誘導して大部分のアクリルアミドをアセトニトリル層に移行させた。ヘキサン上層は、廃棄され、アセトニトリル抽出液の一部は、分散 SPE (dispersive SPE) によって精製された。最終抽出物は、LC-MS/MS もしくは GC-MS によって分析された。(JECFA, 2011b)

⑦ アスパラギン及び糖類の検出

食品中におけるアクリルアミドの形成に影響することが示されているアスパラギン、果糖及びブドウ糖の濃度の検出法も確立されている。以前の研究では、糖質及びアスパラギンを定量するために、それぞれ、HPLC 及びアミノ酸分析キットが使用された (Knol et al., 2005)。パン中のアクリルアミド (LOD 0.013 mg/kg)、アスパラギン (LOD 1.8 mg/kg)、ブドウ糖 (LOD 96 mg/kg)、果糖 (LOD 552 mg/kg) 及び蔗糖 (LOD 23 mg/kg) を同時分析する LC-MS/MS 法が開発された。(Nielsen et al., 2006、JECFA, 2011b)

Zhang Yu ら (2011) は、アスパラギン、グルコース、フルクトース、及びそれらのメイラード反応産生物であるアクリルアミドの迅速且つ同時分析するために、ポジティブ/ネガティブイオンスイッチングの制御のもとでの超高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (UHPLC-MS/MS) 法と組み合わせた自動マイクロ波消化実験装置 (microwave digestion labstation, MDL) を報告した。2段階の単純前処理法では、同位体標識内標準として、¹⁵N₂-アスパラギン、¹³C₆-グルコース及び D₃-アクリルアミドが添加されて後、移動相での適度な希釈と濾過が続いた。分析物は、Hypercarb カラムで分離され、MS/MS でモニターされた。本法では、すべての分析物に関する検出限界 (LOD) 及び定量限界 (LOQ) の範囲は、それぞれ、0.04~0.6 及び 0.1~1.1 µM として計算された。優れた繰り返し精度 (RSD < 9.6%) 及び許容できる実験室内再現性 (RSD < 9.2%) が示された。メイラード反応を 10~50 分間模倣する現在の速度論的手段と装置の短い稼働時間 (サンプル当たり

5.5 分間)、そして、単純サンプル処理方法及び UHPLC-MS/MS 分析と組み合わせた本法により、メイラード反応産生物の分析時間及び速度論的研究作業が低減されることが期待される。

⑧その他の技術

従来型の検出技術を用いるクロマトグラフィーのような方法は、一般的に、廉価で、MS に比較すると操作が容易である。このような方法は、特定の食品におけるアクリルアミドの測定のために開発された。LC 分析に関しては、波長 210 及び 225 nm における UV (Paleologos and Kontominas 2005; Wang et al., 2008) 又は、ダイオードアレイ検出法 (diode array detection) (Geng et al., 2008、Gökmen et al., 2005) が応用された。パルス電気化学検出法 (pulsed electrochemical detection) もまた使用された (Casella, Pierri & Contursi, 2006)。GC 分析に関して、電子捕獲検出器 (electron capture detection) は、MS に対する代替え手段として利用された (Zhang Y et al., 2006; Zhu YH et al., 2008)。LC 及び GC 技術の他に、ダンスルフィン酸 (dansulfinic acid) で誘導体化した後で、蛍光検出する薄層クロマトグラフィー法 (thin-layer chromatography method) も報告された (Alpmann and Morlock, 2008)。(JECFA, 2011b)

Geng Zhiming ら (2011) は、デンプンをもとにした食品のアクリルアミドを測定するために、プレカラム紫外線誘導体化をともなった HPLC 法を報告した。本法には、水での抽出、ヘキサンによる脱脂、臭素酸カリウム (KBrO₃) 及び臭化カリウム (KBr) を用いての誘導体化、酢酸エチル-ヘキサン (4 : 1) による液-液抽出、並びに、濃縮工程が含まれた。最終的な分析物の 2-ブロモプロペンアミド (2-bromopropenamide, 2-BPA) は、ダイオードアレイ検出器を装着した高速液体クロマトグラフィーによって定量された。また、構造確認には、質量分析と連動したガスクロマトグラフィーが使用された。クロマトグラフ分析は、ODS-3 C₁₈カラムを用いて実施された。最適条件下では、アクリルアミドに対する良好な保持及びピーク応答が達成された。検出限界及び定量限界は、それぞれ、15 及び 50 µg/kg と推定された。市販サンプルからのアクリルアミドの回収率は、50~1000 µg/kg のレベルでスパイクされた場合、89.6 及び 102.0%の範囲であった。

Kim, Sim Hae ら (2011) は、ガスクロマトグラフィー-窒素・リン検出器 (GC-NPD) を用いたアクリルアミドの測定に関する改良分析手法について報告した。本法においては、酢酸エチルが、アクリルアミドを抽出するための最適溶媒であった。アクリルアミド濃度の直線範囲は、0.5~100 ppm (µg/mL) で、相関係数は 0.999 であった。LOQ 及び回収率は、それぞれ、0.5 ppm 及び 106±8%であった。ちなみに、地域の食堂で売られているフライドポテト中のアクリルアミドレベルを測定すると、2.7±0.3 ppm であった。従って、GC-NPD と LC-タンデム質量分析 (MS/MS) を組み合わせた新しいプロトコルは、アクリルアミドレベルのモニタリングにおいて、妥当な回収率、感度及び正確度が示された。

マイクロエマルジョン界面動電クロマトグラフィー (microemulsion electrokinetic chromatography)、キャピラリー電気泳動 (CE) 技術は、誘導体化することなしに、アクリルアミドの測定に応用されてきた (Bermudo et al., 2004, Zhou X et al., 2007)。イオン性化合物を得るために、アクリルアミドを 2-メルカプト安息香酸 (2-mercaptobenzoic acid) で誘導体化すると、CE に関しては、より低い LOD が得られた (LOD 0.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Bermudo et al., 2006a)。さらに、LOD を改善して、広範な試料に対し、この方法の適用性を拡大するために、電場増幅試料導入法 (field amplified sample injection, FASI) が提案された (Bermudo et al., 2006b)。FASI-CE 技術に基づいて、Bermudo et al. (2007) は、食料品のアクリルアミドの分析において、MS/MS に連結した CE の適用性を立証し、良好な直線性及び精度を獲得した。FASI-CE 法に加えて、非水系 CE 法 (non-aqueous CE method) (Bakan & Erim, 2007) 及び相対電場増幅試料濃縮技術 (relative field amplified sample stacking technique) (Tezcan & Erim, 2008) もまた開発されて、簡単で、迅速且つ低コストな選択として報告された。(JECFA, 2011b) (Başkan and Erim, 2007)

Chen Qidan ら (2011) は、アクリルアミドを定量するために、メルカプトプロピル酸 (mercaptopropyl acid, MPA) で覆いをした水溶性の CdTe 量子ドット (quantum dots) 媒介レーザー誘起蛍光検出器 (LIF detection method) を装備したキャピラリー電気泳動法について報告した。最適化された測定条件は、30 mmol/L SDS、0.1 mmol/L 量子ドット及び 40 mmol/L リン酸緩衝液 (pH 8.0)、18 kV 泳動電圧、並びに 473 nm 励起及び 568 nm 蛍光でのレーザー誘起蛍光検出であった。アクリルアミドに関する直線定量範囲は、1.0 mg/kg から 100 mg/kg まで変化した。また、検出限界 (S/N=2) の 0.1 mg/kg は、ポテトチップスに対して FAO/WHO 合同専門家委員会によって定められた最大アクリルアミドレベルを、十分に満足する感度であった。ポテトチップスのサンプルからの回収率は、RSD < 5.7% で、90 と 95% の間で変化した (n=3)。

Lu H and Zheng H (2012) は、ビスケット中のアクリルアミド含量評価に関する手法として、フラクタル色 (fractal color) と組み合わせた主成分分析 (PCA) 及び最小二乗支援マシン (LS-SVM) を報告して、RGB (Red Green Blue)、CMYK (Cyan, Magenta, Yellow Key Plate) 及び $L^*a^*b^*$ のような他の色空間に基づいた表色系モデルと比較した。その結果、フラクタル色は、PCA による様々なレベルのアクリルアミドを含有するビスケットの分類に関して、最良の成績を示した。さらに、フラクタル色に基づく LS-SVM の予測能 [平均二乗誤差 (RMSE) = 15.70 ng/g, 決定係数 (R²) = 0.99] は、RGB (RMSE = 26.08 ng/g, R² = 0.98) 及び CMYK (RMSE = 17.99 ng/g, R² = 0.99) に基づくよりも、はるかに良好であった。しかし、 $L^*a^*b^*$ (RMSE = 7.56 ng/g, R² = 1.00) に比べると、良くはなかった。

⑨尿中のアクリルアミド代謝物の測定

ヒト尿中に存在する、アクリルアミドの一次酸化的代謝物であるグリシドアミド (GA) の直接的加水分解産物の 2,3-ジヒドロキシプロピオンアミド (2,3-dihydroxy-propionamide, OH-PA) について、質量分析と併用したガスクロマトグラフィーによって測定された。尿中の OH-PA を正確に定量するため、GC-MS 分析の前に、固相物質上でのストリッピング (stripping)、凍結乾燥 (lyophilization)、シリル化 (silylation) 及び再抽出からなる多段階過程が検討された。本法の検出限界は 1 µg/L であり、一般公衆の尿サンプルの OH-PA を定量するに十分な感度を有していた。実験内及び実験間精度は、1.9% と 8.2%の間であり、平均回収率は、97%と 101%の間であった。本法が、一般公衆からの 30 種類の尿サンプルに適用されたとき、すべてのサンプルにおいて、OH-PA 濃度は、喫煙者及び非喫煙者の間で変化はなく、6.8 と 109.4 µg/L (中央値, 49.7 µg/L) の間にあった。一方、OH-PA 濃度は、GA を経由する AA 代謝から推定される濃度よりも、およそ 10 倍高値であった。従って、これまでのところ、アクリルアミド代謝の酸化的経路の特異的バイオマーカーとして OH-PA を確認することはできなかった。OH-PA の形成に関して、GA に対応するアクリルアミド以外の源が、検討される必要がある (Latzin, Julia M et al., 2012)。

(3) バイオマーカーとしてのヘモグロビン付加体

Vikstrom AC ら (2011) は、食物を経由するアクリルアミド曝露による発がんリスクを評価するために、ヒトの食物からのアクリルアミド摂取とアクリルアミド代謝物のグリシドアミド (GA) の *in vivo* 用量 (濃度-時間曲線下面積、AUC) の関係について検討した。すなわち、アクリルアミド (AA) の豊富な食物を非喫煙者に 11 µg AA/kg 体重となるよう 4 日間与えた高摂取群、又は 2.5 µg AA/kg 体重となるよう一か月間与えた過剰 (中間) 摂取群から、曝露の前後で提供された血液サンプルについて、アクリルアミド及びグリシドアミドのヘモグロビン付加体レベルが測定された。そして、*in vitro* で測定された付加体形成の反応速度定数を用いて、アクリルアミドの *in vivo* 用量 (AUC-AA) 及びグリシドアミドの *in vivo* 用量 (AUC-GA) が計算された。その結果、AA-及び GA-付加体レベルは、増強された摂取をともなった期間の後では、およそ 2 倍に増加した。高及び中間摂取群の AUC は、AA に関しては、212 及び 120 nM 時間/µg AA/kg 体重並びに、GA に関しては、49 及び 21 nM 時間/µg AA/kg 体重であった。本研究でのヒトの曝露用量当たりの AUC (高用量群) は、 10^2 倍の高曝露において、以前にヒトで得られた AUC と、良く一致した。さらに、公開された発がん性試験におけるレベルの AA に曝露された F344 ラットに関する換算値よりも、AUC-AA 及び AUC-GA 値は、それぞれ、5 倍及び 2 倍高かった。

Vikstrom AC ら (2012) は、食物摂取によるアクリルアミドの曝露評価のための血液サンプルからの Hb-付加体測定の信頼性を明らかにするため、非喫煙者から集められた血液サン

プルを用いて、アクリルアミド及びグリシドアミド (glycidamide, GA) に由来するヘモグロビン (Hb) 付加体を測定した。非喫煙者 13 人から 20 か月間にわたって集められた血液サンプルを用いて、測定されたアクリルアミド-及びグリシドアミド-付加体レベルの個人内変動値は、それぞれ、2 倍及び 4 倍までであった。また、アクリルアミド摂取に大きい差があるが、非喫煙者 68 人の間で観察された対応する個人間変動値は、それぞれ、6 倍及び 8 倍であった。グリシドアミド対アクリルアミドレベル比の個人内変動値は、個人間 (n = 68) の 11 倍に比較すると、3 倍までであった。アクリルアミド-付加体レベルから、アクリルアミドの平均一日摂取量 (n = 68) が計算され、食事歴による方法から推定された平均一日摂取量と比較すると、それぞれ、0.52 及び 0.67 µg/kg 体重/日であった。個人レベルでは、測定結果は、低い関連性を示した (Rs = 0.39)。非喫煙者における食事性のアクリルアミドは、測定されたアクリルアミド-付加体レベル及び対応する個人間及び個人内変動に対する支配的な要因である。従って、単一の個人からのサンプルの測定は、平均アクリルアミド摂取の計算とコホート研究における変動及び極端な摂取グループからのみの個人の確認に有用であることが示された。

Kuehn R. ら (2011) は、直近 4 か月の平均曝露を反映する長所を有しているヘモグロビン付加体をバイオマーカーとして、ドイツの飲食業における従業員の間での間接喫煙 (ETS) による遺伝毒性物質への曝露を測定した。その中で、ETS によって曝露された従業員 53 人に関する飲食業の横断的研究を行って、アクリロニトリル及びアクリルアミドのヘモグロビン付加体 (それぞれ、CEV 及び CbEV) を測定した。また、喫煙者 19 人及び非喫煙者 27 人の事務職員が比較群として用いられた。その結果、喫煙者及び非喫煙者の CEV 及び CbEV に、有意差が認められた。CEV に関しては、タバコ消費と付加体レベルの対応関係をともなった高いタバコ煙感受性及び特異性が確認できた。従って、CEV は、一般的に、ETS による曝露のための適切なバイオマーカーと見なすことが可能である。それに反して、CbEV は、ETS による曝露評価のバイオマーカーには適さないと見なされた。

Motwani HV and Toernqvist M (2011) は、アクリルアミドのエポキシ性代謝物のグリシドアミド (GA) を測定するために、コバ (I) ラミントラップ法を用いた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法を報告した。GA のような化合物の分析は、主として、固有の反応性のために困難である。そこで、GA を捕捉するために、ビタミン B₁₂ の還元型であるコバ (I) ラミン (cob (I) alamin, {Cbl (I) }) が用いられた。Cbl (I) は、標準的な求核試薬よりも 10⁵ 倍も早く、エポキシドのような親電子的な分子種と反応できる。そして、Cbl (I) によって GA が捕捉されると、その結果として、エポキシドの定量分析に用いられるアルキルコバラミン (GA-Cbl) 形成を生じさせる。そして、アルキルコバラミン (alkylcobalamin) は、ポジティブイオンモードで、エレクトロスプレーイオン源を用いた LC-MS/MS によって、分析された。そして、Cbl (I) 法は、ヒト及びラットからの肝臓

S9 分画での GA 測定において検証された。Cbl (I) 法の感度は、GA 測定に関する現在用いられている分析法と比較すると、10~100 倍より鋭敏であった。

Feng CH and Lu CY (2011) は、四重極飛行時間型 (Q-TOF) 質量分析と組み合わせたナノ液体クロマトグラフィーを使用して、血漿蛋白質に結合したアクリルアミド及びグリシドアミド付加体を同定した。本法では、蛋白質の修飾を調べるために必要なヒト血漿は、わずか 10 μL であった。本法を用いて、アクリルアミド及びグリシドアミドの代謝経路の解明が期待される。

Garabagiu S and Mihailescu G (2011) は、Hb 付加体 (アクリルアミド) を測定するために使用される電気化学的装置 (Hb-Au-nanoparticles-ITO glass) のデザインを提案した。この検出装置 (ヘモグロビン-金ナノ粒子修飾電極) は、アクリルアミドが Hb 付加体を形成する性質に基づいて、低濃度のアクリルアミドの添加により Hb-修飾電極を不動態化することによっている。本装置のアクリルアミドに対する感度は良好で 0.1 μM であった。この電気化学的なセル構成は、食料品におけるアクリルアミドの検出に適していると考えられた。

また、ヘモグロビン付加体の他にも、アクリルアミドの蛋白質付加体形成として、脳や骨髄等の神経系に存在するいくつかの主要な細胞骨格タンパク質に結合することが、マウスの *in vivo* 試験で示されており、これらの付加体形成がアクリルアミドの神経毒性に関連している可能性も示唆されている (Carrington CD et al., 1991)。

(4) 尿中のアクリルアミド代謝物の測定

Latzin JM ら (2012) は、ヒト尿中に存在する、アクリルアミドの一次酸化的代謝物であるグリシドアミド (GA) の直接的加水分解産物の 2,3-ジヒドロキシプロピオンアミド (2,3-dihydroxy-propionamide, OH-PA) について、質量分析と併用したガスクロマトグラフィーによって、測定を試みた。そこで、尿中の OH-PA を正確に定量するため、GC-MS 分析の前に、固相物質上でのストリッピング (stripping)、凍結乾燥 (lyophilization)、シリル化 (silylation) 及び再抽出からなる多段階過程が検討された。本法の検出限界は 1 $\mu\text{g/L}$ であり、一般公衆の尿サンプルの OH-PA を定量するに十分な感度を有していた。実験内及び実験間精度は、1.9% と 8.2%の間であり、平均回収率は、97%と 101%の間であった。本法が、一般公衆からの 30 種類の尿サンプルに適用されたとき、すべてのサンプルにおいて、OH-PA 濃度は、喫煙者及び非喫煙者の間で変化はなく、6.8 と 109.4 $\mu\text{g/L}$ (中央値, 49.7 $\mu\text{g/L}$) の間であった。一方、OH-PA 濃度は、GA を經由する AA 代謝から推定される濃度よりも、およそ 10 倍高値であった。従って、これまでのところ、アクリルアミド代謝の酸化的経路の特異的バイオマーカーとして OH-PA を確認することはできなかった。OH-PA の形成に関して、GA に対応するアクリルアミド以外の源が、検討される必要性がある。

14. アクリルアミド生成の低減

①低減対策

消費者曝露を抑制する観点から、加熱食品におけるアクリルアミドのリスク管理は、主として製品中のアクリルアミドレベルを減少するための食品工業の自発対策に依存してきた。また、多くの国の当局は、家庭の調理において、どのようにアクリルアミドの生成を抑制することができるかについて、主にウェブサイトを通じて消費者に特定の情報を提供してきた。食べ物に関する指導もある程度与えられた。(JECFA, 2011b)

国際食品規格委員会 (Codex Alimentarius Commission) は、食品中のアクリルアミドの低減に関する実施規範を公表した。その意図は、国及び地域の当局、製造者並びにその他の関係機関に、ジャガイモ及び穀類の製品中のアクリルアミドの生成を防止、抑制するための手引きを提供することである。この実施規範は、2009年 (CCCF, 2009) に開催された第32回国際食品規格委員会 (the Codex Alimentarius Commission) 総会において、ステップ8 (最終ドラフト段階) で採択された。委員会は、その他の製品 (例えば、コーヒー) に関してもアクリルアミド生成の低減に関する新規技術及びデータが利用可能になったときに、実施規範を更新できると決定した。(JECFA, 2011b)

欧州飲食業界連盟 (Confederation of the Food and Drink Industries of the European Union : CIAA) によって、アクリルアミド“ツールボックス”という体裁で、様々な低減方法が包括的に収集、編纂され、批判的にレビューされた。2005年に公表された最初のツールボックスは、その後12回改訂された。2009年版 (CIAA, 2009a) は、米国保存食品製造業者協会 (Grocery Manufacturers Association) によって提供された米国における食品及び飲料製造会社からの情報を含むように拡張された。このような拡張によって、このツールボックスは“世界的 (global)”なツールボックスに向かつての前進を記したと考えられる。(JECFA, 2011b)

アクリルアミド“ツールボックス”に基づいて、一連のアクリルアミド低減のための冊子又はパンフレットが、欧州委員会 (Directorate General for Health and Consumers) 及び CIAA によって、共同で作成された。初版が2007年に公表され、2009年に改訂されたパンフレットは、関連する5食品部門 (ビスケット (biscuits), クラッカー (crackers) 及びクリスプブレッド (crispbread), パン製品 (bread products), 朝食シリアル (breakfast cereals) 並びにフライドポテト製品 (fried potato products)) のそれぞれに関して、2-ページの要約を含んでいる。小規模及び中規模企業を支援することを目的としているパンフレットは、20を超える言語に翻訳されている。(JECFA, 2011b)

②低減方法

アクリルアミドの低減に対する CIAA ツールボックスは、現在のところ、工業的な食品製造におけるアクリルアミドレベルの制御に関して最適化が可能な 14 の異なるパラメータに基づいて記述されている。

- 栽培 (agronomical)
 - ・ 糖 (sugars)
 - ・ アスパラギン (asparagines)
- 調理法 (recipe)
 - ・ 膨張剤 (raising agents)
 - ・ 他の比較的重要でない成分 (other minor ingredients (例えば、グリシン (glycine) 及び二価陽イオン (divalent cations))
 - ・ pH
 - ・ 希釈 (dilution)
 - ・ 再加熱 (rework)
- 加工 (processing)
 - ・ 発酵 (fermentation)
 - ・ 熱入力 (thermal input) 及び湿度制御 (moisture control)
 - ・ 前処理 (pretreatment) (例：洗浄 (washing) , ブランチング (blanching) , 二価陽イオン (divalent cations))
 - ・ アスパラギナーゼ (asparaginase)
- 最終処理 (final preparation)
 - ・ 色の終点 (colour end-point)
 - ・ 質感/風味 (texture/flavor)
 - ・ 消費者指導 (consumer guidance)

(JECFA, 2011b)

これらのパラメータリストは包括的なもので、製造業者がそれぞれ問題になっている食品に関して、何が最も適しているかを選択して試してみることが可能となるよう、いろいろな手段を提供している。本文においては、主な食品群 (すなわち、ジャガイモ、穀類及びコーヒー並びにコーヒー混合物) のそれぞれに関して、パラメータを制御するための対策が検討されている。また、それを指示する研究がどのような段階 (すなわち、実験室規模か、パイロット規模か、又は工業的規模か) にあるのかに関する具体的情報も本文に記述されている。(JECFA, 2011b)

すべての可能な低減策のうち、工業的レベルにおいてアクリルアミド低減のためにうまく適用できた事例のみがツールボックスに報告されている。これらには、以下のような例が含まれる。

- 低レベルの還元糖を有するジャガイモの品種を選択し、ジャガイモを 6°C を超える温度で保管すること。そして、分析又は揚げテストによって、糖レベルを管理すること；
- 硫黄欠損土壌で生育した小麦を避けること；
- より厚い切片に切ることそして熱湯でのブランチング（フレンチフライについて）；
- 成型ポテトスナック及びパンに関する調理法では、カルシウム塩及び/又は酸の添加；
- 還元糖の添加を避けること（パン、パン菓子（bakery wares）、朝食シリアル（breakfast cereals）について）；
- 重炭酸アンモニウムを他の膨張剤で置きかえること（ビスケットについて）；
- 生地中のアスパラギンをアスパラギナーゼで酵素的に除去すること（クリスピーブレッド及びビスケットについて）；
- 熱入力を制御すること；
- 最終製品の水分含量及び色を制御すること；

(JECFA, 2011b)

これまでに、炒ったコーヒー又はコーヒー代用品におけるアクリルアミドに関する効率的な低減方法については提示されていない。(JECFA, 2011b)

最近の幾つかの総説では、低減方法及びその将来の選択肢について批判的にレビューされ、議論されている (Amrein et al., 2007、Foot et al., 2007、Grob, 2007、Konings et al., 2007、Claus et al., 2008、Friedman and Levin, 2008、Muttucumaru et al., 2008、Anese et al., 2009、Zhang et al., 2009)。酵素のアスパラギナーゼの利用は現時点で、最も見込みのある方法の一つとして認められている。食品工業用のアスパラギナーゼは、現在、複数の供給業者から入手できる。鍵となる前駆体アスパラギンを選択的に除去すると、アクリルアミド形成をほとんど阻害できる可能性がある。しかも、揚げた食品に特徴的な香味及び色を与えるメイラー反応カスケード全般に対する作用は限定的である。しかしながら、その効率は、アスパラギナーゼの食品素材中への浸透性及び移動性並びに酵素活性に対する影響に関する問題のような技術的困難さによって、制約を受けている。食品モデルを使った実験で、生地（ドウ）、から作る製品では 34~92%、フレンチフライでは 60~85%、ポテトチップスでは 60%まで、アクリルアミドの低減が達成されたと、一つの商業的アスパラギナーゼ生産業者によって報告された (Hendriksen et al., 2009)。しかし、実際の食品生産における本法の本格的な応用性を評価するには、さらなる試験及びプロセス開発が必要とされる。(JECFA, 2011b)

Medeiros Vinci Raquel ら (2011) は、冷蔵フレンチフライ（予備フライなし）の生産ラインで、アスパラギナーゼの試験を実施した。4 日間の冷蔵保管後のアスパラギナーゼ処理により、最終的に油で揚げたフレンチフライのアクリルアミド濃度は検出限界 (12.5 µg/kg)

未満となった。また、最終産物の官能特性に対しては、影響はなかった。

なお、日本においては、アスパラギナーゼは食品添加物として指定されていないため、現時点では食品にアスパラギナーゼを使用することはできない（農林水産省, 2011）。

アスパラギンの低減にアクリルアミドの低減に関する他の方法には、栽培学的因子及び植物の品種改良によるものがある。硫黄欠乏土壌で栽培された小麦のアスパラギン濃度が高くなるという最近の重要な研究結果に加えて、穀粒穀物における大きな季節の変動の背後にある因子に関して、多くの研究が求められる。同時に、企業（CIAA, 2009b）は、アスパラギン含有量の低い穀物の品種を供給する研究を求めている。（JECFA, 2011b）

ジャガイモはアスパラギンの含量が多いために、アクリルアミド生成の律速前駆体は通常、還元糖である。しかしながら、アスパラギンレベルが、充分減少すれば、効率的なアクリルアミド低減が可能になるだろう。DNA 形質転換によりアスパラギン合成酵素遺伝子を不活化することによって、非常にアスパラギンレベルの低くしたジャガイモが作出され、それをを用いて作ったフレンチフライ及びポテトチップス中のアクリルアミド量は、対照の親株から作ったもののわずか 5%であった（Rommens et al., 2008）。（JECFA, 2011b）

また、酸、アミノ酸、二価カチオン及び抗酸化剤のような低分子量添加物を利用するという方法もある。食品モデルにおける最近の研究では、色々な果物及び植物からの抗酸化物を含む抽出物には、アクリルアミドの形成を低減するポテンシャルが高いものがあることが示されている（Ciesarova et al., 2008、Hedegaard et al., 2008、Zhang et al., 2009）。（JECFA, 2011b）

ジャガイモにおける糖レベルを低減する対策及び油で揚げる条件の制御は、すでに実施されているが、これらの因子の制御には、さらなる改良の余地あるように見える。スイスにおけるジャガイモの糖レベルの監視及びレストランでの試行から、フレンチフライに関しては、平均で約 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のアクリルアミドの低減が達成可能であると思われる（Grob, 2007）。ちなみに、2007 年に全欧州にわたって行なわれたモニタリング結果では、フレンチフライのアクリルアミド濃度の平均は 350 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった（EFSA, 2009）。（JECFA, 2011b）

ジャガイモ製品に関しては、アクリルアミドの低減が成功していると、食品業界より報告がなされている。主な成果は、食品中のアクリルアミドの発見の後、最初の 1 年間の間に、ポテトチップス及びフレンチフライにおいて成されたように見える（Matissek and Raters, 2005、Foot et al., 2007、Wenzl and Anklam, 2007）（CIAA, 2009b）。保存されたジャガイモから製造されたドイツ製のポテトチップスにおけるアクリルアミド濃度の一週間ごとの平均

値は、2002～2003年には約 800～1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、2004～2009年には、400～600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ となった (Association of the German Confectionery Industry)。この時期には、包装に書かれている説明書に従って調理したフレンチフライのアクリルアミド濃度も、同様の低下傾向が認められたと、欧州ジャガイモ加工業協会 (European Potato Processors' Association) から報告されている (CIAA, 2009b)。新鮮なジャガイモから製造されたポテトチップスにおいては、アクリルアミドレベルの低下は、より少なかった。このことは、アクリルアミドの低減は、主に保存されたジャガイモ中の糖レベルを制御することによって達成されたことを示唆している。スペインで、2008年にサンプリングされたポテトチップスにおけるアクリルアミドレベルは、その4年前に実施された調査において得られた値より50%近く低下していた (Arribas-Lorenzo and Morales, 2009)。アクリルアミドレベルに関して、2003～2006及び2007において得られた2種類の異なった欧州のデータベースを比較すると、ポテトチップスにおけるアクリルアミド濃度の幾何平均は、それぞれ、514 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び366 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった (EFSA, 2009)。それに反して、フレンチフライにおける平均濃度は、2003～2006年の方が2007年よりも低く、それぞれ178 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び227 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。 (JECFA, 2011b)

日本の市販ポテトチップスに関しては、2006年8月から2010年6月の期間におけるアクリルアミド濃度のモニタリングの結果が報告されている。モニタリング開始当初は、我が国においてもポテトチップス中のアクリルアミドレベルには季節変動が検出された。しかし、2009年以降アクリルアミドの濃度が高くなる2月から6月の高まりが緩和され、季節変動は明確ではなくなり、その結果、年平均でアクリルアミドの濃度は約1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ となっている。これはポテトチップスメーカーの取った低減対策の効果の現れであるとみられる (Tsukakoshi Y et al., 2012)。

Michalak Jら (2011) は、家庭調理であるフライパンで焼くこと (pan-frying)、たっぷりの油で揚げること (deep-frying)、焙焼 (roasting) 及びマイクロ波加熱 (microwave heating) のような高温で処理されたジャガイモ料理中のアクリルアミド濃度について、加熱時間と温度の関係を検討した。予備フライ (deep-frozen par-fried) の冷凍フレンチフライ及びその他の予備フライの冷凍ジャガイモ製品を、180°Cで3分間及び220°Cで10分間調理すると、加熱温度及び加熱時間が増加するとともに、アクリルアミドレベルは有意 ($P < 0.05$) に増加した。同一の条件 (時間と温度) でも、焙焼による調理法は、マイクロ波による調理法よりも、有意に低いアクリルアミド含量 ($P < 0.05$) であった。

パン及びその他の穀物製品に関しては、アクリルアミドの低減は、総じてそれほど成功していないが、最近になって、ある種の特定の製品に関して、大幅なアクリルアミド濃度の減少が報告された (Konings et al., 2007)。例えば、オランダのスパイスケーキのアクリルアミドレベルは、2002年から2006年までに、約1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から350 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に減少した。こ

れはおそらく、レシピから炭酸アンモニウムを除いたことによるものであろう。同様に、非発酵性のクリスピーブレッドでは、オーブンの温度プログラムを変更することによって (Konings et al., 2007)、さらについ最近では、酵素アスパラギナーゼを添加することによって、アクリルアミドの 50% を超える減少が報告された。(JECFA, 2011b)

Koray Palazoglu T ら (2012) は、高周波 (RF) を用いた乾燥による、クッキーのアクリルアミド含量、質感及び色合いに対する影響を検討した。完全に焼いていない焼成途中のクッキー (8 及び 9 分間焼成) を、27.12 MHz RF トンネルオーブンで、対照のクッキーの含水率に到達するまで乾燥した。クッキーのアクリルアミド含量を、LC-MS を用いて分析した。質感及び色合いの測定を質感分析機及びデジタル画像解析で行った。RF 乾燥のクッキーでは、アクリルアミド濃度は低かった (対照のクッキー : 107.3 ng/g、9 分間の不完全焼成クッキーの RF 乾燥 : 74.6 ng/g、8 分間の不完全焼成クッキーの RF 乾燥 : 51.1 ng/g)。RF 乾燥のサンプルでは、褐変の程度が弱かったが、クッキーの質感に有意差は認められなかった。高周波及び従来式ベーキングを組み合わせることで、アクリルアミドレベルの低いクッキーを製造できる可能性が示唆された。

Zhang Gong ら (2011) は、アーモンド (*Prunus dulcis*) におけるアクリルアミドの生成への焙煎の時間と温度、前駆体の量、品種の選択、及び貯蔵の影響について検討した。焙煎温度を 146 °C 以下に制御すると、アクリルアミドレベルは、200 ppb 未満となった。カリフォルニアの各地から、2 収穫年にわたって収集され、138 °C で 22 分間、焙煎された 6 種類 (Carmel, Avalon, Butte, Fritz, Mission, Monterey, Nonpareil, Price, and Sonora) のアーモンドでは、アクリルアミドレベルは、117 ± 5 µg/kg (Sonora) から 221 ± 95 µg/kg (Butte) の範囲であり、平均値は 187 ± 71 µg/kg であった。生のアーモンドのアスパラギン含量とアクリルアミド形成の間には、弱い相関関係が観察された ($R(2) = 0.6787$)。アクリルアミド形成とアーモンドの品種、果樹園の地域又は収穫年の間には、統計学的有意差はなかった。焙煎されたアーモンドに関する安定性試験から、アクリルアミドレベルは、60 °C で 3 日間保管後では、12.9 ~ 68.5% (平均 50.2%) まで減少した。焙煎されたアーモンドを、短期間、高温で保管することは、アクリルアミドレベルを低減させる代替手段となる可能性がある。

③低減対策の曝露に対する効果

2003 年以後の低減は、主に、比較的に高レベルのアクリルアミドを有する食品類、又はアクリルアミドレベルに関しては、その食品類の中で特に高濃度側にある特定の製品に関して報告されている。このことは、特定の個人や人口亜集団に関しての曝露を有意に減少する可能性があるが、大部分の国において、一般住民の曝露に対しては、ほとんど影響を及ぼさないだろう。この結論は、米国及びスウェーデンにおいて繰り返し行われた国家的

な調査によって、支持されている。米国において、2003～2006年に実施された三つの異なった曝露評価を比較した場合、有意な差異は認められなかった (Friedman & Levin, 2008)。また、現在進行中のスウェーデンの傾向調査からも、似たような所見が得られている。このスウェーデンの調査においては、アクリルアミド曝露に関して重要なすべての食品群の製品について、2005年以来、毎年二回、サンプリングを行っている (Swedish National Food Administration, 2009)。(JECFA, 2011b)

アクリルアミドレベルのばらつきが大きいことから、低減の結果について信頼性の高い評価を行うことは、非常に困難である。例えば、原料組成の年次変動 (例えば、農業条件による) のために、食品中のアクリルアミドレベルにおける有意な差異を生ずる可能性がある。そのため、例えば製造法の変更によって、アクリルアミドの低減を達成したことが検出されるまでに、数年間が掛かるであろう。(JECFA, 2011b)

長期にわたる監視においては、また、実験室における分析の厳しい質管理が要求されるという分析上の課題を提起する。例えば、EFSAによって成された比較によるコーヒーからの曝露における見かけ上の減少は、初期の研究におけるコーヒーに関する分析上の困難さによって生じた (分析値の不正確さによる) 可能性があったことが示唆された (EFSA, 2009)。曝露評価における誤りのもう一つの原因としては、同一でない組成の製品に関するデータセットの比較によるものである可能性がある (例えば、炒ったコーヒーとインスタントコーヒー、又は異なったタイプのパン)。(JECFA, 2011b)

15. その他

①BRAFO（食品の便益-リスク解析）方法論

欧州が資金を拠出した事業である BRAFO（食品の便益-リスク解析）計画の目的は、ヒトの健康リスクと一般的な測定尺度に基づく食品の便益に関して、定量的な比較ができるような枠組みを整備することであった。Schutte Katrin ら（2012）は、3種類の異なった事例研究に関する BRAFO の応用について考察した。ジャガイモ及び穀物を基にした食品中のアクリルアミドの生成、並びに、肉及び魚の薫製、直火焼や、牛乳の加熱処理によるベンゾ（a）ピレン（benzo（a）pyrene）の生成について比較、検討された。アクリルアミドに関しては、ジャガイモ及び穀物食品のアクリルアミドの低減化を目的とした様々な介入手段が、伝統的な製造法に対して評価された。その結果、アクリルアミド-低減手段の便益は、一般的であると認められている。

②フレンチフライのアクリルアミド濃度を推定するための統計学的回帰モデル

Chen Ming-Jen ら（2012）は、過剰生涯発がんリスクに関して、フレンチフライのアクリルアミド濃度を推定するために、2種類の最も影響力のある因子（調理温度及び時間）に基づく統計学的非線形回帰モデルを報告した。推計モデルの決定係数 R^2 が 0.83 であることから、開発されたモデルは、有意であり、有効であることが示唆された。フレンチフライの摂取に関する調査データ及び風味があり、視覚的においしそうなフレンチフライを作る 8種類の油で揚げる温度スキームに基づく、モンテカルロシミュレーション（Monte Carlo simulation）の結果から、13～18歳の青年期のアクリルアミド摂取の 95パーセンタイル値は、機能的神経欠損が無視できる WHO 勧告値の 0.001 mg/kg 体重/日より低いことが示された。しかしながら、今回の推定値から、発がんリスク評価において、アクリルアミド濃度が 168 ppb よりも高い場合、推定された発がんリスクは、対象とする過剰生涯発がんリスク（ELCR）よりも高い可能性が示された。アクリルアミド摂取に関連する発がんリスクを低減するために、理想的な調理の条件は、170℃よりも低い調理温度及び 185秒よりも長くない調理時間であろう。

II. 安全性に係る知見の概要

WHO/FAO (JECFA) の食品中の汚染物質の安全性評価 モノグラフ 8、WHO の飲料水水質ガイドライン、ATSDR の毒性学的プロファイル、EPA/IRIS の毒性レビュー、NTP のテクニカルレポート等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した (JECFA, 2011b、WHO, 2011、ATSDR, 2009、EPA-IRIS, 2010、EFSA, 2005b、NTP, 2012)。

1. 毒性に関する科学的知見

(1) 体内動態

1) 吸収

ヒト及び動物におけるアクリルアミドの曝露経路は、飲料水及び食物の摂取による経口曝露、呼吸による大気からの吸入曝露及び経皮曝露である。ヒトの服用事例やマウス又はラットを用いた経口、吸入曝露及び経皮曝露試験において、アクリルアミドが速やかに吸収されることが報告されている。

多くの試験において、アクリルアミドの曝露に関するバイオマーカーとして、ヘモグロビン付加物が利用されている (I. 13. (3) 参照)。

①マウス

雄Swiss-Websterマウスに[2,3-¹⁴C]アクリルアミド(116~120 mg/kg)を単回強制経口投与し、0.33、1、3、9、24、72及び216時間後に凍結し、放射活性を全身のオートラジオグラフィーにより検出した。放射活性は20分後に消化管で検出されたが、胃からの吸収は3時間で完了しており、腎臓及び肝臓での排出は24時間後に完全に終了した。(Marlowe et al., 1986)。

B6C3F1マウスに0.1 mg/kg体重のアクリルアミドを強制経口投与した試験では投与量の32~52%、混餌投与した試験では23%が親化合物として吸収された(Doerge et al., 2005a)。

②ラット

雄F344ラットに1.0、10又は100 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを単回経口投与し、放射活性の尿排泄を経時的に毎日測定した。1.0、10又は100 mg/kg体重投与における放射活性の尿中排泄に関する経時変化は類似しており、この用量範囲では、吸収に及ぼす投与量の影響がなかった。アクリルアミド投与後15分から7日の範囲で回収した血液、排泄物、及び組織について、総放射能及び親化合物を定量した。10 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを強制経口投与した場合と静脈内投与した場合において、7日間の経時変化、及び尿中排泄量は同等であることが示され、筆者らは、この結果は経口投与量の100%が吸収されることを示唆しているとしている。吸収は速やかであり、放射活性は投与後1時間までに最大濃度に到達し、投与した放射活性の53~67%が24時間以内に尿中に検出された(Miller et al., 1982、ATSDR, 2009)。

雄SDラットに50 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを単回経口投与した試験では、放射活性が投与5分後に血中で認められ、38分後に血中最大濃度に到達し、24時間以内に投与された放射活性の51%が尿中に排出された。筆者らはこれらの結果は、アクリルアミドが非常に速やかに吸収されたとしている (Kadry et al., 1999)。(ATSDR, 2009)

雄F344ラットに13 mg/kg 体重の¹³C-アクリルアミドを強制経口投与した試験では、24時間後の尿中アクリルアミド代謝物は50%であり (Fennell et al., 2005)、上記のMiller et al., 1982 及び Kadry et al., 1999と同様の結果であった (ATSDR, 2009)。

F344ラットに0.1 mg/kg体重のアクリルアミドを強制経口投与した試験では投与量の60～98%、混餌投与した試験では32～44%が親化合物として吸収された (Doerge et al., 2005b)。

動物における経皮吸収試験では、短時間にかかなりの量のアクリルアミドが吸収されることが示された (Dow Chemical Company, 1984, Frantz et al., 1995, Sumner et al., 2003)。ラットに2、50 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを単回経皮曝露した試験では、24 時間後の吸収率が25%であった (Ramsey et al., 1984)。

雄F344ラットに162 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを24時間閉塞皮膚曝露した場合の吸収率は、平均22%であった (Sumner et al., 2003)。

F344ラットに2又は50 mg/kg体重のアクリルアミドを経皮投与した試験では、アクリルアミドが速やかに吸収され、それぞれ2、又は5時間後に血漿中最大濃度に到達した。50 mg/kg 体重の投与での血漿中最大濃度は、2 mg/kg体重の投与の約20倍であり、経時的な濃度減少曲線の勾配は、同量を静脈内投与した場合と同様であった (Dow Chemical Company, 1984)。

アクリルアミドの経皮投与に関する*in vitro*試験では、ラットの皮膚に0.5%の¹⁴C-アクリルアミドを接触させ、24時間後の皮膚吸収を測定した結果、約54%が排液から回収され、13%が洗浄後の皮膚に残留した (Frantz et al., 1995)。

アクリルアミドの吸収に及ぼす年齢と性別の影響については、25又は100 mg/kg体重のアクリルアミドをWistarラットに強制単回経口投与し、24時間のアクリルアミドのヘモグロビン付加物 (AA-Val) 濃度を比較した試験において、雄ラットに対し、雌ラットで有意 ($P < 0.05$) な増加 (それぞれ、3.53倍及び2.55倍) が認められた。しかし、アクリルアミドを強化クッキーによって摂餌させた場合又は静脈投与した場合は、AA-Val 濃度の性別による相違は認められなかった。月齢1.5、3又は14か月の雌ラットに100 mg/kg 体重のアクリルアミドを強制経口投与した結果、AA-Val の平均濃度が月齢に依存して減少していることが観察

された。月齢1.5か月のラットの AA-Val 濃度は、月齢14か月のラットの濃度より30.1% 高い値であった (Sanchez et al., 2008)。

③ブタ

ブタの皮膚に0.5%の¹⁴C-アクリルアミドを24時間接触させた試験では、約6%が皮膚表面、17.5%が角質層、2%が表皮、52.5%が真皮、22%がレセプター液に検出された (Diembeck et al., 1998)。

ブタ (25匹のItalian Large Whiteの雌) における、調理食品中で生成されたアクリルアミドの *in vivo* での相対的な吸収、及び飲料水中に溶解した純粋な化合物のアクリルアミドの吸収が調べられた。アクリルアミド摂取量は、先進国のヒトの食事由来のアクリルアミドの一日平均摂取量 (体重ベースで表される) の最大値のそれぞれ1倍と10倍に相当する約0.8及び8 µg/kgブタ体重/日とされた。アクリルアミド及びそのエポキシド代謝物のグリシドアミドによって形成されたヘモグロビンのN末端バリン付加体を曝露マーカーとして使用した。分析は、機関内の分析法バリデーション後にガスクロマトグラフィー/質量分析法により実施した。その結果、低用量及び高用量試験の両方について、ブタにおけるグロビンのグリシドアミド付加体レベルは分析法の定量限界値の低値であった。この結果から、アクリルアミド付加体に関しては、飼料や水からのアクリルアミドの相対的な吸収が同じであったこと、付加体濃度とアクリルアミド摂取量の間直接的比例性があることが分かった (Aureli F et al., 2007)。

④ヒト

24名の成人男性ボランティアに、¹³C₃-アクリルアミド (0、0.5、1.0、3.0 mg/kg体重、水溶液) を単回経口投与し、尿中代謝物の排泄動態が評価された。尿は経口投与後0~2、2~4、4~8、8~16、16~24時間に採取された。回収された尿中の代謝物は、0.5、1.0、3.0 mg/kg 経口投与 (0-24 時間) の45.6、49.9、39.9% で、その約86%がグルタチオン抱合体由来であった。なお、ボランティアはすべて無精子症で、試験の前6か月間は喫煙していなかった。筆者らは、経口投与されたアクリルアミドは迅速に容易に吸収され、尿中排泄で算出された半減期は3.1~3.5時間とした。(Fennell et al., 2006)。(ATSDR, 2009)

6名の健常人ボランティアに0.94 mgのアクリルアミドを含有する食事を摂取させた試験では、72時間までに投与量の約60%が尿中に回収された。筆者らはこの結果は、食物摂取されたほとんどのアクリルアミドが吸収されることを示しているとしている (Fuhr et al., 2006)。

ヒト尿中のアクリルアミド代謝物であるメルカプツール酸の濃度を測定した試験では、13名の喫煙者の中央値が16名の非喫煙者の中央値の4倍であることを示し、喫煙が重要なアクリルアミドの曝露源であることを示唆した (Boettcher et al., 2005b)。

48時間断食した3名の健常人ボランティアでは、メルカプツール酸が大幅に減少し、非喫煙者の中央値以下のレベルとなった。筆者らはこの結果は、喫煙を除き、食物中のアクリルアミドがヒトにおける環境からのアクリルアミド曝露の主要な源であることを示唆しているとしている (Boettcher et al., 2006b)。

アクリルアミドを含有する化学注入剤に2か月間曝露された210名のトンネル工事労働者について、アクリルアミドのヘモグロビン付加物が測定された。曝露を受けていない18名の非喫煙者の血中ヘモグロビン付加物濃度が0.02~0.07nmol/gグロビンであったのに対し、210名のトンネル工事労働者の付加物濃度は、<0.08 nmol/gグロビン:47名、0.08~0.29 nmol/gグロビン:89名、0.3~1.0 nmol/gグロビン:36名、1.0~17.7 nmol/gグロビン:38名であった。曝露中断後、付加物レベルは120日以内にバックグラウンドレベルまで低下し、この期間は赤血球の寿命と一致した (Hagmar et al., 2001)。

アクリルアミドとポリアクリルアミドの製造に従事していた労働者41名のヘモグロビン付加物を測定した結果では、労働者が吸入曝露のみを受けていると仮定していくつかの仮説から付加物濃度の予測値が求められたが、この値は観察値と大きな相違があり、このような労働者においては、皮膚接触が主要な吸収源である可能性が示唆された (Bergmark et al., 1993)。

24名の成人男性ボランティアに24時間3回、3.0 mg/kg体重の¹³C₃-アクリルアミドを閉塞皮膚摂取させ、皮膚投与後0~2、2~4、4~8、8~16、16~24時間に尿を回収し、AA-Valの形成量が、経口投与の場合と比較された。それぞれの投与経路でのAA-Val形成量は、総投与量に対し4.9、及び74.7 nmol/gグロビン/mmolアクリルアミド/kgであり、皮膚摂取によるAA-Val形成量は、経口投与より低い値であった。また、グリシドアミドのヘモグロビン付加物 (GA-Val) の形成量も低い値であった。本皮膚摂取試験では、投与量の約4.5%が4日を通して尿中代謝物として回収された (Fennell et al., 2005、Fennell et al., 2006)。

生検したヒト腹部皮膚を用いた*in vitro*試験では、¹⁴C-標識アクリルアミド (2%ポリアクリルアミド水性ゲル中1.28、及び2 ppm) を24時間接触させた後、接触量の約28%、及び21%がレセプター液から回収され、1.6%~3.4%が表皮と真皮から回収された。これらの値に基づき、計算されたアクリルアミドの総吸収量は、低用量及び高用量において、それぞれ33.2%及び26.7%であった (Marty and Vincent, 1998)。

表 2-27 アクリルアミドの吸収率

動物種	経路	摂取量 mg/kg	吸収率 %	文献
マウス	経口 (強制)	0.1	32 ~ 52	Doerge et al. 2005a
マウス	経口 (混餌)	0.1	23	Doerge et al. 2005a
ラット	経口	1、10、100	100 (静脈内投与との比較による)	Miller et al., 1982
ラット	経口	50	49	Kardry et al. 1999
ラット	経口 (強制)	13	50	Fennel et al. 2005
ラット	経口 (強制)	0.1	60 ~ 98	Doerge et al. 2005b
ラット	経口 (混餌)	0.1	32 ~ 44	Doerge et al. 2005b
ラット	経皮 (24 時間)	2、50	25	Ramsey et al. 1984
ラット	経皮 (24 時間)	162	22	Sumner et al. 2003
ラット	経皮 (24 時間)	0.5%	約 33	Frantz et al. 1995
ブタ	経口 (食品、飲水)	0.8、8 µg/kg	検出限界値	Aureli F et al. 2007
ブタ	経皮 (24 時間)	0.5%	約 72	Diembeck et al. 1998
ヒト	経口	0.5、1.0、3.0	45.6、49.9、39.9	Fennell et al. 2005, 2006
	経皮	3.0	4.5	
ヒト	経口 (食品)	0.94	約 60	Fuhr et al. 2006
ヒト (<i>in vitro</i>)	経皮 (24 時間)	1.28、2 ppm	33.2、26.7	Marty and Vincent, 1998

2) 分布

いくつかの動物試験の結果では、放射性標識したアクリルアミドの放射活性が、吸収後、赤血球 (Barber et al., 2001、Crofton et al., 1996、Edwards, 1975、Hashimoto and Aldridge, 1970、Ikeda et al., 1985、Kadry et al., 1999、Marlowe et al., 1986、Miller et al., 1982、Ramsey et al., 1984) 及び後期精子細胞を除き、どの組織にも明確に蓄積することなく、広く分布することを示している。ヒトにおけるアクリルアミドの分布に関するデータは確認されなかった (Sega et al., 1989)。

① マウス

妊娠Swiss-Websterマウスの妊娠期間13.5~17.5日に116~121 mg/kgの[2,3-¹⁴C]アクリルアミドを経口投与した試験では、最終投与の24 時間後に放射活性が胎児から検出され、アクリルアミド及びその代謝物が容易に胎盤を通過し、胎児に移行することが報告されている。

また、雄Swiss-Websterマウスに116~120 mg/kgの[2,3-¹⁴C]アクリルアミドを経口投与した。

全身オートラジオグラフィ結果から、消化管、肝臓、膵臓、精巣、脳及び胆嚢の内容物、及び口腔、食道、気管支の上皮における放射能の蓄積が明らかになった。雄及び妊娠マウスでの分布は類似しているとみられた。雄の生殖器中の放射能は、1時間後に精巣柔組織に存在し、9時間後には精細管と精巣上体の頭部に移動して、9日後には精巣上体の尾部及び陰茎亀頭上皮の陰窩のみに残っており、この動きは精子の動きと並行していた。(Marlowe et al., 1986)。

妊娠動物での静脈内投与の結果においても、アクリルアミド及びその代謝物が容易に胎盤を通過し、母親への分布と同様に発育中の胎児内に分布することが示された (Ikeda et al. 1983, 1985)。

妊娠した親の血液サンプルと新生児の臍帯血中のアクリルアミドのヘモグロビン付加物濃度を測定した試験では、臍帯血中の濃度が母親の血液中濃度の約50%であり、アクリルアミドが容易に母親から新生児に移行することが示された (Schettgen et al., 2004)。

B6C3F1マウスに50 mg/kg体重のアクリルアミド、又は等モル量のグリシドアミド (61 mg/kg体重) を腹腔内投与した試験では、グリシドアミド由来のアデニン及びグアニンのDNA付加物が試験を行ったすべての組織 (肝臓、肺、腎臓、白血球、精巣) において形成され、アクリルアミド及びグリシドアミドが広域に分布することが示された (Doerge et al., 2005c)。

雄B6C3F1マウスに3 ppmの¹⁴C/¹³C-アクリルアミドガスを6時間吸入曝露させた試験では、アクリルアミド当量濃度が精巣で約14 µg/g、皮膚、及び肝臓で約11 µg/g、精巣上体で約8 µg/g、脳で約7 µg/g、肺及び血液で約6 µg/g、脂肪で約5 µg/gであった (Sumner et al., 2003)。

②ラット

雄F344ラットに0.05又は30 mg/kg体重/日の¹⁴C-アクリルアミドを13日間経口投与した試験では、組織中のアクリルアミド濃度は、赤血球を除き、組織間で同程度であった。高用量での平均濃度 (µg ¹⁴C-アクリルアミド当量/g 組織) は、赤血球 : 383.7 µg/g、肝臓 : 87.74 µg/g、腎臓 : 70.43 µg/g、精巣上体 : 70.60 µg/g、精巣 : 67.14 µg/g、坐骨神経 : 54.00 µg/g、脳 : 53.52 µg/g、死骸 : 47.56 µg/g、皮膚 : 39.11 µg/g、及び血漿中 : 16.45 µg/g であった。低用量での赤血球中の平均濃度は、1.26 µg/g (総回収量の約 61%) であり、他の組織での濃度は 0.07~0.13 µg/g であった (Ramsey et al., 1984)。

Sprague-Dawleyラットに50 mg/kg体重の¹⁴C-標識アクリルアミドを経口投与した試験では、28時間後の脳、甲状腺、精巣、副腎、膵臓、肝臓、腎臓、心臓及び脾臓での平均放射活性

濃度は、投与量/gの約0.05～0.10%であり濃度範囲が狭く、皮膚、骨髄、胃及び肺では、投与量の0.15～0.18%であり比較的高い濃度が示され、胃内容物のみが著しく高い濃度（投与量の1.37%）を示した。144時間後では、各組織中濃度は、皮膚、骨髄及び肺を除き、胃内容物を含め一様に低く、投与量の0.01～0.05%の範囲にあった。皮膚、骨髄及び肺では、それぞれ、0.06、0.08及び0.19%の濃度を示した。これらの結果は、アクリルアミド代謝物が毒性標的組織に蓄積することなく組織の広範に分布することを示しており、赤血球や神経組織へのアクリルアミドの結合は、蓄積性がないことを示唆している（Kadry et al., 1999）。

雄F344ラットに10 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを静脈内投与した試験では、アクリルアミドが速やかに吸収され、その後全身に分布した。神経組織（脳、坐骨神経、脊髄）と非神経組織（脂肪、肝臓、精巣、肺、小腸、皮膚、筋肉）の放射活性濃度に相違は認められず、各組織の相対重量に比例し、筋肉（48%）、皮膚（15%）、血液（12%）、肝臓（7%）で高く、脳、脊髄、坐骨神経では1%未満と低い割合であった。放射活性は、速やかにすべての組織に分布し、その排泄は二相性を示した。それぞれの半減期は約5時間以下及び約8日であった。肝臓、脂肪、腎臓、神経組織及び精巣では、投与後1時間以内に最大濃度に達した。赤血球中の放射活性は、投与後70時間まで消失せず、アクリルアミドとグリシドアミドのヘモグロビン付加物形成と一致した。アクリルアミドの毒性対象組織である脳、脊椎又は坐骨神経の放射活性は、測定を実施したいずれの時点（投与後15分～7日まで）においても投与量の1%以下であり、これらの組織にアクリルアミド又はその代謝物の特別な蓄積がないことを示している（Miller et al., 1982）。（NITE, 2007）

雄F344ラットに3 ppmの¹⁴C/¹³C-アクリルアミドガスを6時間吸入曝露させた試験では、曝露直後のアクリルアミド当量濃度が血液細胞で約7 µg/g、精巣、皮膚、肝臓、及び腎臓で約6 µg/g、脳、脾臓、肺、及び精巣上体で約4 µg/gであった（Sumner et al., 2003）。

雄F344ラットに162 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを皮膚曝露させた試験では、皮膚の曝露部位を除き、アクリルアミド当量の最高濃度が血液細胞で71 µg/g、皮膚の非曝露部位で約28 µg/g、肝臓、脾臓、精巣、及び腎臓で約21 µg/g、肺、胸腺、脳及び精巣上体で約14 µg/g、脂肪で<4 µg/gであった（Sumner et al., 2003）。

F344ラットに50 mg/kg体重のアクリルアミド、又は等モル量のグリシドアミド（61 mg/kg体重）を腹腔内投与した試験では、グリシドアミド由来のアデニン、及びグアニンのDNA付加物が試験を行ったすべての組織（肝臓、脳、甲状腺、白血球、乳腺、精巣）において形成され、アクリルアミド及びグリシドアミドが広域に分布することを示した（Doerge et al., 2005c）。

3) 代謝

ラットとマウスの試験の結果から、アクリルアミドが速やかに代謝され、主に代謝物として尿中に排泄されることが示されている (Dixit et al., 1982, Edwards, 1975, Miller et al., 1982, Ramsey et al., 1984, Sumner et al., 1992, 1999, 2003, Twaddle et al., 2004)。アクリルアミドの代謝経路を図2-7に示した。

アクリルアミドの代謝経路は、2通り考えられている。第1は、肝臓でグルタチオン-S-トランスフェラーゼにより、グルタチオン抱合体が形成され、さらに N-アセチル-S- (3-アミノ-3-オキソプロピル) システイン、又は S- (3-アミノ-3-オキソプロピル) システインに代謝されて尿中排泄される経路である。第2は、アクリルアミドがチトクロームP450 2E1 (CYP2E1) によって反応性の高い代謝物であるグリシドアミドへ生体内変換される経路である。グリシドアミドもグルタチオンと抱合体を形成し、N-アセチル-S- (3-アミノ-2-ヒドロキシ-3-オキソプロピル) システイン、又は N-アセチル-S- (1-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) システインに代謝される。グリシドアミドは、エポキシド加水分解酵素による加水分解を受け、2,3-ジヒドロキシプロピオナミド及び 2,3-ジヒドロキシプロピオン酸を形成する。アクリルアミドとグリシドアミドは、いずれもヘモグロビンやDNAなどの高分子の求核部位とミカエリス型の付加反応を起こすことが知られている (Bergmark et al., 1991, 1993, Segerbäck et al., 1995, Solomon et al., 1985)。

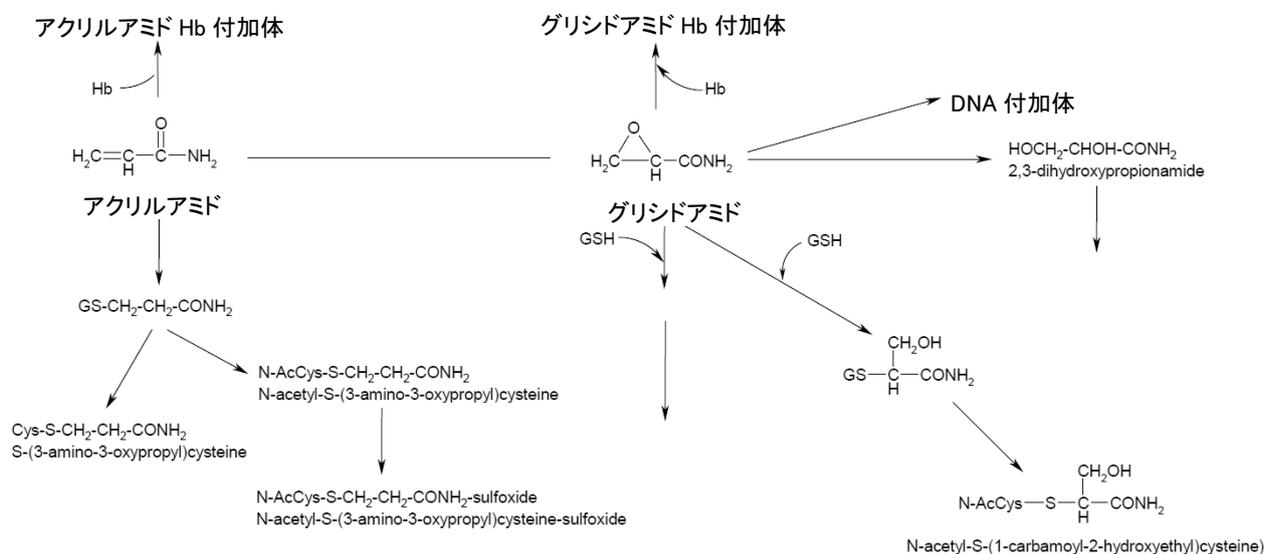


図 2-7 アクリルアミドの代謝経路図

GSH = 還元型グルタチオン、Hb =ヘモグロビン、N-AcCys = N-acetylcysteine (ATSDR, 2009)

①マウス

50 mg/kg体重のアクリルアミドを腹腔内投与した野生型マウスとCYP2E1欠損マウスの投与後6時間におけるアクリルアミド、及びグリシドアミドの平均血漿中濃度は、野生型マウスにおいて、それぞれ0.84、及び33.0 μM 、CYP2E1欠損マウスにおいて、それぞれ115、及び1.7 μM であった。CYP2E1欠損マウスでのアクリルアミドのヘモグロビン付加物濃度は、野生型マウスの約2倍であり、グリシドアミドのDNA付加物は、1/52~66であった。これらの結果は、アクリルアミドからグリシドアミドへのエポキシ化、及び高分子との付加物形成にCYP2E1が重要な働きをしていることを示している (Ghanayem et al., 2005c)。

②ラット

ラットにおけるグリシドアミドへの代謝は、低用量では曝露用量に依存するが、高用量では酵素の酸化が飽和するため、低用量ではグリシドアミド由来の尿中代謝物の割合が増加する。5 mg/kg体重の低用量では、アクリルアミドの50%以上がグリシドアミドに変換されたが、100 mg/kg体重の高用量では、13%が変換されたのみであった (Bergmark et al., 1991)。

F344ラットに10 mg/kg体重の[2,3- ^{14}C]アクリルアミドを経口投与した試験では、三つの用量レベル (1.0、10又は 100 mg/kg) をラットに経口投与し、排泄物の ^{14}C について毎日分析された。尿中の主要代謝物は、N-アセチル-S- (3-アミノ-3-オキシプロピル) システイン (N-acetyl- S- (3-amino-3-oxypypropyl) cysteine) であり、筆者らはアクリルアミドの代謝は肝臓中のグルタチオン抱合により媒介されるとした。 ^{14}C -アクリルアミドを経口投与したラットでは、放射活性を有する CO_2 は捕獲されなかった (Miller et al., 1982)。

② ヒト

いくつかのヒト試験では、母集団における尿中のN-アセチル-S- (2-カルバモイルエチル) -L-システイン (AAMA) に対するN-アセチル-S- (2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) -L-システイン (GAMA) の含有比 (GAMA/AAMA) に関し、以下に紹介するように広範な値 (0.024~0.12) が報告されている (Kellert et al., 2006, Urban et al., 2006, Bjellaas et al., 2007a, Hartmann et al., 2008, Kopp et al., 2008, Heudorf et al., 2009) (JECFA, 2011b)。その理由は完全には明確でないが、CYP2E1活性の個体差に関連するものとされている (Neafsey et al., 2009)。(JECFA, 2011b)

健康なヨーロッパの喫煙していない63歳の男性ボランティア1名に、約1 mgの重水素標識アクリルアミド (d (3) -AA) (13 $\mu\text{g/kg}$ 体重相当) が飲水単回投与された。投与前及び投与後46時間以内の尿試料を分析し、d (3) -AAMA 及び d (3) -GAMA を LC-ESI-MS/MS により調べた。尿中濃度の最初の増加フェーズでは、AAMAについては8~18時間に広いプラトーをもつ18時間持続し、GAMAについては22時間持続した。AAMA及びGAMAの消失

半減期は、いずれも第1フェーズについては約3.5時間で、第2フェーズについては10時間以上数日と推定された。24時間後の尿中の総回収はAAMA及びGAMA合計で約51%であり、この結果はラットにおける以前の試験結果とよく一致していた。AAMAの2日後の尿中回収率が総アクリルアミド投与量の52%を占め、AAMAがヒトでの主要な代謝物であり、GAMAは5%と低く、副次的代謝物のようであった。ヒトにおけるGAMA/AAMAの尿中比率0.1は、先に報告されたラットの0.2及びマウスの0.5という値との比較が可能であった。ヘモグロビン付加体からも示されているように、ヒトにおけるAAの代謝運命はマウスよりもラットにおける代謝運命と類似していた。CYP2E1活性が低い場合、初回通過代謝の程度に影響し、血中のアクリルアミドとAAMA濃度が高くなり、グリシドアミドとGAMA濃度が低くなると予測される (Boettcher et al., 2006)。

6名の健康な若いボランティアの、0.94 mgアクリルアミドを含む食事摂取後のアクリルアミドのトキシコキネティクスが評価された。尿は72時間後まで回収し、尿中のアクリルアミド未変化体、そのメルカプツール酸代謝物であるAAMA、そのエポキシ誘導体のグリシドアミド、及びグリシドアミドのそれぞれの代謝物であるGAMAが、液体クロマトグラフィー - 質量分析法により定量された。トキシコキネティクス変数はノンコンパートメント方法で得た。

全体として、用量の60.3 ± 11.2%が尿中に回収された。グリシドアミドは検出されなかったが、未変化体のアクリルアミド、AAMA及びGAMAはそれぞれ用量の尿排泄中の4.4 ± 1.5%、50.0 ± 9.4%、5.9 ± 1.2% (平均±標準偏差) を占めた。それらの物質の見かけ上の終末消失半減期は2.4 ± 0.4、17.4 ± 3.9、25.1 ± 6.4時間であった。排泄されたGAMA/AAMA量の比率は0.12 ± 0.02であった。ヒトでは食物とともに摂取されたアクリルアミドの大半は吸収され、グルタチオンとの抱合は反応性代謝物グリシドアミドの形成を上回ることが分かった。このデータは、ヒトにおける食事のアクリルアミドからのグリシドアミドへの相対的内部被曝がラット又はマウスと比べてそれぞれ少なくとも2倍及び4倍低いことを示している。このことは定量的がんリスク評価に関して考慮されるべきであるとされた (Fuhr U et al., 2006)。

喫煙者と非喫煙者の群を比較したいくつかの試験例では、GAMA/AAMA 比の平均値、又は中央値は、喫煙者の群で低い傾向にあった (Bjellaas et al., 2005, Bjellaas et al., 2007b, Kellert et al., 2006, Urban et al., 2006)。24名の成人男性ボランティアに3 mg/kgのアクリルアミドを経口投与した試験では、尿中代謝物の約86%がグルタチオン抱合体に由来し、N-アセチル-S-(3-アミノ-3-オキソプロピル) システインとそのS-酸化物として排出され、ヒトでの主要な代謝経路が直接的なグルタチオン抱合、及びN-アセチル-S-(3-アミノ-3-オキソプロピル) システインとS-酸化物の形成を経由する経路であることが示された (Fennell et al., 2006)。グリシドアミドを経由する代謝物は、尿中総代謝物の約12%であった。

16名の健常人ボランティアによる試験において、CYP2E1及びGSTのそれぞれの役割が評価された。被験者にはCYP2E1阻害剤（500 mgのジスルフィラム）又は誘導剤（エタノール（48g/日を1週間））を投与した後、アクリルアミド（1 mg）含有ポテトチップスを摂取させた。尿中排泄されたアクリルアミドの未変化体、AAMA及びGAMAは、それぞれ投与量の2.9%、65%、及び1.7%を占めた。また、アクリルアミドの投与後、ヘモグロビン付加物量が明確に増加した。CYP2E1阻害期間に排出されたアクリルアミドの未変化体、AAMA、GAMA及びアクリルアミド付加物量は、それぞれ1.34倍（1.14～1.58）、1.18倍（1.02～1.36）、0.44倍（0.31～0.61）及び1.08倍（1.02～1.15）倍となったが、CYP2E1の誘導期間では変化がみられなかった。個人のCYP2E1活性のベースライン、CYP2E1のポリモルフィズム（CYP2E1、GSTP1 313A>G、341T>C）並びにGSTM1-及びGSTP1-ヌル遺伝子型は、アクリルアミドの体内動態に主要な影響を及ぼすことはなかった。CYP2E1阻害剤によるアクリルアミドのトキシコキネティクスにおける変化は、CYP2E1がヒトの生体内においてアクリルアミドからグリシドアミドへのエポキシ化を媒介する主要な酵素ではあるが、唯一のものではないことを示している（Doroshenko et al., 2009）。

ヒトのCYP2E1発現について、年齢に関連した報告がされている。胎児（73例、8～37週）、及び出生後（165例、1日～18歳）の肝臓ミクロソーム中のCYP2E1含量が評価された。妊娠第二期の胎児サンプル（妊娠93日目～186日目）の18/49例（中央値濃度：0.35 pmol/mgミクロソーム蛋白質）、及び妊娠第三期の胎児サンプル（妊娠186日以降）の12/15例（中央値濃度：6.7 pmol/mgミクロソーム蛋白質）において、免疫学的に検出可能なCYP2E1が認められた。新生児サンプルのCYP2E1は、出生後31日～90日の乳児より低く、出生後31日～90日の乳児は、年長乳児（中央値濃度：8.8 pmol/mgミクロソーム蛋白質）、幼児（23.8 pmol/mgミクロソーム蛋白質）、若年者（41.4 pmol/mgミクロソーム蛋白質）より低かった。これらの結果から、出生後90日以前の乳児では、年長乳児、幼児、又は成人と比較し、アクリルアミドなどのCYP2E1基質物質のクリアランスが低下しているものと思われる（Johnsrud et al., 2003）。

親物質と代謝物の排泄総量の相違、及び副作用の範囲は、物質の分布速度とCYP2E1のミカエリス定数（ K_m ）に対する濃度に依存し、 K_m に対する基質物質の濃度が高くなるほど、総クリアランスに及ぼす酵素濃度の影響が大きくなるものと推定される（Lipscomb, 2004、Lipscomb et al., 2003）。

③ 動物種による差異

グリシドアミド由来の尿中代謝物の比率は動物種によって異なり、アクリルアミドからグリシドアミドへの代謝率に種差があることが示唆された (Bergmark et al., 1991)。

ラット及びマウスに50 mg/kg体重の¹³C-アクリルアミドを経口投与した尿中代謝物の試験では、アクリルアミドからグリシドアミド及びその代謝物への変換は、24時間以内の尿中排泄総代謝物の33% (ラット) 及び59% (マウス) を占め、それぞれ残りがアクリルアミドのグルタチオン抱合体であったことから、筆者らはグリシドアミドへの転換率がラットに比較しマウスの方が高いことが示されたとしている (Sumner et al., 1992)。

グリシドアミドの抱合体であるGAMAとアクリルアミドのグルタチオン抱合体であるAAMAとの比率は、マウス、ラット及びヒトにおいて、それぞれ40、3及び1であった (Sumner et al., 1992, Sumner et al., 2003, Fennell et al., 2005, Boettcher et al., 2006a, Fennell et al., 2006, Fuhr et al., 2006, Doerge et al., 2007, Kopp & Dekant, 2009, Doroshyenko et al., 2009)。

4) 排泄

アクリルアミドと生体内変換されたグリシドアミドは、主にグルタチオン抱合によって解毒され、尿中に排泄される。

① マウス

アクリルアミドを強制経口投与したB6C3F1マウスのアクリルアミドとグリシドアミドの排出半減期 ($t_{1/2}$) は、それぞれ、1.3~1.9時間、及び0.7~1.5時間であり、同程度であった。グリシドアミドとアクリルアミドの血中濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) 比は1.0~2.9であった (Twaddle et al., 2004, Doerge et al., 2005a)。アクリルアミドを強制経口投与したF344ラットのアクリルアミドとグリシドアミドの排出半減期 ($t_{1/2}$) は、それぞれ、1.6~2.2時間、及び1.9~2.6時間であり、グリシドアミドとアクリルアミドの $AUC_{0-\infty}$ 比は0.22~0.96であった (Barber et al., 2001, Doerge et al., 2005b)。特に高い用量において、マウスの $AUC_{0-\infty}$ 比がラットより高く、マウスにおけるアクリルアミドからグリシドアミドへの変換がより効率的であることと合致していた。

雌雄のマウスに0.1 mg/kgのアクリルアミドを強制経口投与又は混餌投与し、24時間の尿中の親化合物と代謝物の割合を測定した試験では、総投与量に対するアクリルアミドとその代謝物 (グリシドアミド、AAMA、及びGAMA) としての排泄量の割合は、平均49%であった (Doerge et al., 2007)。グリシドアミドとグリシドアミド派生物の排泄は、ラットよりマウスで高かった。(Kadry et al., 1999, Miller et al., 1982)。

②ラット

F344ラットに10 mg/kg体重の[2,3-¹⁴C]アクリルアミドを経口投与した試験では、三つの用量レベル（1.0、10又は100 mg/kg）をラットに経口投与し、排泄物の¹⁴Cについて毎日分析された。排泄率は用量に無関係であったので、その後の薬物動態試験では、用量の中央値10 mg/kgをラットに静脈内投与した。アクリルアミド投与後15分から7日の範囲で回収した血液、排泄物、及び組織について、総放射能及び親化合物を定量した。24時間以内に投与量の53～67%、7日以内に65～82%が排泄され、その大部分が尿中排泄であった。糞便排泄は、24時間及び7日において、それぞれ投与放射活性の4.8%及び6%であった。組織からの放射活性の排泄は二相性を示し、それぞれの半減期は5時間及び8日であった。組織からの親化合物の排泄は一相性の指数関数的排泄を示し、半減期は約2時間であった。血中の¹⁴C量は、最大7日まで用量の12%で一定を保ったが、血漿中の¹⁴Cは速やかに排泄された。尿及び膀胱内に排泄された未変化体は用量の2%未満であったため、筆者らは親化合物の急速な排泄は主に生体内変化によるものであるとした（Miller et al., 1982）。（JECFA, 2011b, ATSDR, 2009）胆管にカニューレを挿入したラットに10 mg/kgの¹⁴C-アクリルアミドを単回静脈内投与した試験では、投与された放射活性の約15%が代謝物として約6時間以内に排泄された。胆汁中の放射活性の<1%がアクリルアミドであった（Miller et al., 1982）。

100 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを静脈内投与したラットでは、放射活性の6%が投与後6～8時間の間にCO₂として捕獲された（Hashimoto and Aldridge, 1970）。

また、2 mg/kg体重の¹⁴C-アクリルアミドを静脈内投与したラットでは、それぞれ、放射活性の4%が投与後6～8時間の間にCO₂として捕獲された（Ramsey et al., 1984）。

雄F344ラットとB6C3F1マウスに、1.17ppmの¹³C-アクリルアミドと¹⁴C-アクリルアミドの混合ガス（9：1）を6時間鼻から曝露させた試験では、曝露後24時間において、ラットでは尿中31%、体への残留56%、糞便中3%、有機揮発物と¹⁴CO₂として2%が回収された。マウスでは、尿中27%、組織中46%、糞便中5%、有機揮発物2%、¹⁴CO₂として1%が回収された（Sumner et al., 2003）。雄F344ラットに¹⁴C-アクリルアミドを24時間閉塞的に皮膚曝露させた試験では、曝露後24時間に投与量の約8%（吸収量の36%）が尿中排泄され、揮発物と呼気中¹⁴CO₂が3%、糞便排泄が<1%、組織への残留が53%であった（Sumner et al., 2003）。

雌雄のラットに0.1 mg/kgのアクリルアミドを強制経口投与、または摂餌投与し、24時間の尿中の親化合物と代謝物の割合を測定した試験では、総投与量に対するアクリルアミドとその代謝物（グルシドアミド、AAMA及びGAMA）としての排泄量の割合は、平均49%であった（Doerge et al., 2007）。

③ヒト

6名の健常人に0.94mgのアクリルアミドを含む食事を摂取させた後、72時間に回収した尿中のアクリルアミドの未変化体、AAMA及びGAMAは、それぞれ、尿排泄の4%、50%及び6%であった。グリシドアミドは検出されなかった。アクリルアミド、AAMA及びGAMAの排泄半減期は、それぞれ、2.4時間、17.4時間及び25.1時間であった (Fuhr et al. 2006)。(ATSDR, 2009)

ドイツで無作為に抽出された5才から6才の子供110名（男子63名、女子47名）の試験において、数滴の尿が採取され、両親が子供の食事の習慣と周囲の煙草の煙への曝露について情報を提供した。尿中のアクリルアミド代謝物はLC-MS/MSによって分析された。尿中のアクリルアミドレベルの中央値(95パーセンタイル)は、AAMAでは 36.0 (152.7) $\mu\text{g/L}$ 、GAMAでは 13.4 (55.9) $\mu\text{g/L}$ であった。尿中代謝物レベルに基づき、アクリルアミドの平均一日摂取量は1.13 $\mu\text{g/kg}$ 体重/day (クレアチニン排出モデル) 及び 0.81 $\mu\text{g/kg}$ 体重/day (volume based model) であった。アクリルアミド摂取量の中央値は0.54 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日であった。フレンチフライや様々なポテト製品、他の揚げ物類を頻繁に摂取すると報告した子供は、有意に高いアクリルアミド代謝物の尿中濃度を示したが、その差は特にフレンチフライで顕著であった。子供のGAMA/AAMA比は約0.4であり、成人で観察された値 (Boettcher et al., 2006a) より2倍高く、子供においてアクリルアミドの酸化的代謝が高いことを示唆した (Heudorf et al., 2009)。(ATSDR, 2009)

ヒトへの経口投与の結果をまとめると、血中 t_{\max} が0.94時間、 $t_{1/2}$ が0.79時間であり (Kopp and Dekant, 2009)、投与量の34~71%が尿中に排泄された (Fennell et al., 2005, 2006, Boettcher and Angerer, 2005, Boettcher et al., 2006a, Fuhr et al., 2006, Hartmann et al., 2009, Kopp and Dekant, 2009)。尿中から検出された代謝物は、アクリルアミド、AAMA、グリシドアミド、2,3-ジヒドロキプロパナミド、N-アセチル-S-(1-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) システイン及びGAMAであった (Fennell et al., 2005, 2006, Boettcher and Angerer, 2005a, Boettcher et al., 2006a, Fuhr et al., 2006, Hartmann et al., 2009, Kopp and Dekant, 2009)。(NTP, 2012)

これらの代謝物に加え、げっ歯類では見られないN-アセチルS-(2-カルバモイル) システインS-スルホキシドが検出された。尿中の主要な排泄物は、60%以上がアクリルアミドの代謝産物AAMA及びそのスルホキシドであり、アクリルアミド由来の尿中排泄物に対するグリシドアミド由来の排泄物の割合は、0.02~0.16であった (Fennell et al., 2005, 2006, Boettcher and Angerer, 2005a, Boettcher et al., 2006a, Fuhr et al., 2006, Doroshenko et al., 2009, Hartmann et al., 2009, Kopp and Dekant, 2009)。グリシドアミド由来の代謝物の割合が低いことは、ヒトにおけるアクリルアミドからグリシドアミドへの変換がげっ歯類と比較してより少ないことの証拠となっている。(NTP, 2012)

管理条件下で曝露したヒトの健康状態を継続的にモニターし、ヒト曝露試験が行われた。試験に先立ち、アクリルアミド (3 mg/kg (1,2,3-¹³C₃)) を強制投与したラットにおいて低用量試験が実施された。標識アクリルアミドを不妊の男性ボランティアに水溶液で経口投与 (0.5、1.0、3.0 mg/kg単回投与) 又は経皮投与 (1日3.0 mg/kgを3回) した。尿試料 (3 mg/kg経口投与) を¹³C NMR分光法を用いて分析し、アクリルアミド代謝が測定された。

尿代謝物の約86%がGSH抱合体に由来し、N-アセチル-S- (3-アミノ-3-オキソプロピル) システイン 及びその S-酸化体として排泄された。グリシドアミド、グリセルアミド及び低レベルのN-アセチル-S- (3-アミノ-2-ヒドロキシ-3-オキソプロピル) システインが尿中に検出された。これらの結果から、経口投与では、ヘモグロビン中のN- (2-カルバモイルエチル) バリン (AA-Val) とN- (2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) バリン (GA-Val) に関して直線的用量反応が観察された。本試験により、ヒトがグリシドアミドによってアクリルアミドを代謝する程度はげっ歯類に比べて低く、経皮投与は経口投与により観察されたときの約6.6%であった。(Fennell TR et al., 2005) (ATSDR, 2009)

アクリルアミドの経皮曝露については、24名の成人男性ボランティアに3 mg/kgの¹³C₃-アクリルアミドを3回24時間閉鎖的に皮膚曝露させた試験において、4日間に投与量の約4.5% (吸収量の12.35%) が尿中排泄された。尿中には、¹³C₃-アクリルアミドが総尿中回収量の約4%、及び代謝物である¹³C₃-システイン-S-プロピオナミド (¹³C₃-CP) が~0.8%、¹³C₃-N-アセチルシステイン-S-プロピオナミド (¹³C₃-NACP) が約70%、¹³C₃-NACPスルホキシドが約22.5%、¹³C₃-GAMA3が約2.6%、及び¹³C₃-GAMA2が約0.4%含まれていた。¹³C₃-アクリルアミドと¹³C₃-CPは、2~4時間の尿中に検出された。¹³C₃-NACPとそのスルホキシドは、4~8時間の尿中で最初に検出された。グリシドアミドのメルカプツール酸 (¹³C₃-GAMA2、及び¹³C₃-GAMA3) は、8~16時間の尿中で最初に検出された。グリシドアミドは、4日間尿中に検出されなかった (Fennell et al., 2006)。(ATSDR, 2009)

5) PBPK モデル

ヒトにおけるアクリルアミドとグリシドアミドに対する内部曝露を推定する目的で、アクリルアミドの吸収、代謝及び体内動態に関する複数のPBPKモデル (Kirman et al., 2003、Walker et al., 2007、Young, Luecke and Doerge, 2007、Sweeney et al., 2010) が開発されており、これらのモデルによってアクリルアミドの神経毒性と発がん性に関するリスク評価のための内部曝露量比較が容易となった (JECFA, 2011b)。

Kirmanら (2003) のモデルでは、1980年代と1990年代初期のF344ラットのデータが用いられ、アクリルアミドとグリシドアミドの五つの区画 (動脈血、静脈血、肝臓、肺及びその他のすべての組織) への分布がモデル化されている (図2-8)。動脈血と静脈血の区画は、

ヘモグロビンとの結合などの特定の一連のデータをモデル化するために、さらに血清と血液細胞の亜区画に分けられており、静脈内投与、腹腔内投与、強制経口投与、飲料水による経口投与及び吸入を含むアクリルアミドの異なった曝露経路が示されている。アクリルアミドとグリシドアミドの代謝は、肝臓のみで、グリシドアミドを生成するCYP2E1によるエポキシ化と最終的にN-アセチル-S-(3-アミノ-3-オキソプロピル)システインを生成するグルタチオン-S-トランスフェラーゼを介したグルタチオンとの一次抱合の2経路を経由する。アクリルアミドに関する組織分配係数は、既存のアルゴリズム又は溶解性などの特定の化学的特性に基づき推定された。グリシドアミドの組織分配係数は、構造類似体（アクリロニトリル及びそのエポキシド代謝物であるシアノエチレンオキシド）に由来する比例定数3.2を用いてアクリルアミドの値から推定された。初期値パラメーターが設定され、モデル条件が一連のすべてのデータに十分フィットするまで微調整されている。（ATSDR, 2009、JECFA 2011b）

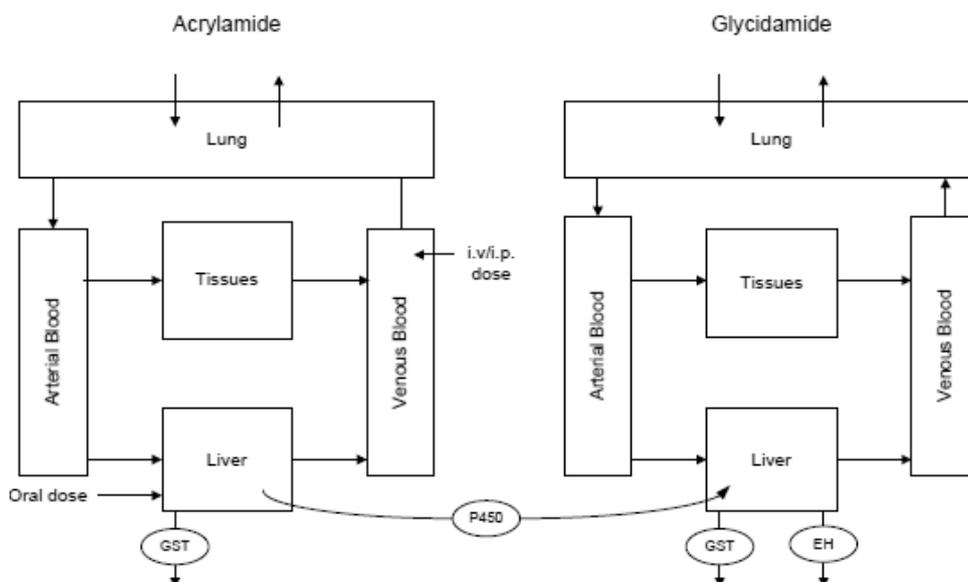


図2-8 アクリルアミドの生理学的PBPKモデル

EH = エポキシド加水分解酵素、GST = グルタチオンS-トランスフェラーゼ、i.p. = 腹腔内投与、i.v. = 静脈注射

(Kirman et al. 2003、ATSDR 2009)

Walker ら (2007) は、ラットとヒトのヘモグロビン付加物のデータ、尿代謝物のデータ (Bergmark et al., 1991、Fennell et al., 2005、Sumner et al., 2003) 及び*in vitro*の付加反応から得られた付加物形成の二次速度定数 (Fennell et al. 2005) に基づき、Kirmanら (2003) のモデルパラメーターを以下の式のように再調整した。ヘモグロビン付加物の形成は、反応物質の血中濃度と赤血球が曝露されている時間との一次関数として起こるため、アクリルア

ミドとグリシドアミドの血清中濃度の代用としてヘモグロビン付加物のデータが用いられた。尿代謝物とそれらの割合が特定の代謝経路とそれらの代謝経路からの血中又は組織中濃度を正確に反映したものであるという仮定に基づき、血清中濃度の代用として尿に関するデータが使用された。(ATSDR, 2009, JECFA, 2011b)

$$\text{Content at time } t + \Delta t (C_{t+\Delta t}) = C_t + \text{Inputs during } \Delta t \\ - \text{Losses during } \Delta t$$

(Walker et al., 2007)

EPAは、特にラットのバイオアッセイ用量反応性データからヒトの体内曝露当量を推定し、アクリルアミドの評価に関する基準値を導き出すために、このWalkerらのモデルを利用した(EPA 2007)。

Youngら(2007)のモデルは、マウス、ラット、及びヒトにおけるアクリルアミドとグリシドアミドの動態をモデル化し、グリシドアミドのDNA付加物形成をモデルに加えるため、PostNatalと呼ばれるPBTK/TDモデル化ソフトウェアプログラムとしてFDAのNCTRによって開発された。アクリルアミド、グリシドアミド、及びこれらのグルタチオン抱合体の4種のPBTKユニットがひとつの外郭構造の下に置かれており、複数の入力と出力のオプションがある。それぞれのユニットについて、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける複雑な曝露形態をモデル化し、薬物代謝と体内動態を評価するために、28の臓器・組織・体液の区画からなる独立したユニットとするか、代謝経路を通じて結合する。モデルを調整するために、DNA付加物とヘモグロビン付加物に関するデータを含めた多くの文献データが適合されている。代謝と排泄の過程、アクリルアミドとグリシドアミドのヘモグロビンとの結合と消失、及びグリシドアミドと肝臓の高分子との結合に関するすべての速度定数は、一次定数として表されている。(ATSDR, 2009, JECFA, 2011b)

$$dX/dt = K_f \times Y_i(\text{organ}_j, \text{chem}_i) - K_d \times X$$

(Young JF et al. 2007)

Sweeneyら(2010)は、ヒトとラットのアクリルアミドに関するPBTKモデルを報告した。Kirmanら(2003)によるモデルパラメーターを展開し、改良してヒトに拡大した。このモデル化には、Youngら(2007)とWalkerら(2007)によって適合された分配係数、血液と組織、ヘモグロビン付加物、及び尿中代謝物に関する雄F344ラットのすべての一連のデータが使用されている(Sweeney et al., 2010)。(JECFA, 2011b)

Sweeneyら(2010)のモデル、Youngら(2007)のモデル、Walkerら(2007)のモデルに

よるラットとヒトのアクリルアミドとグリシドアミドの内部薬量に関する出力を比較すると、アクリルアミドに関するAUC予測では、モデル間で最大3倍の開きがあり、グリシドアミドに関するAUCは、最大6.8倍の開きがあった。いずれのモデルにおいても用量の直線性が示されており、平均的なアクリルアミドの曝露量からヒトの内部薬量を予測することが可能である（JECFA, 2011b）。

6) トキシコキネティクス

アクリルアミド 0.1 mg/kg の静脈内、強制経口及び混餌投与による急性投与又は等モル量の GA の静脈内及び強制経口投与により、アクリルアミドとそのエポキシド代謝物グリシドアミドのトキシコキネティクスを比較した。

雄雌 B6C3F1 マウスの血清及び組織 におけるアクリルアミドは、経口投与では急速に吸収され、広範囲に組織分布し、効率的にグリシドアミドに変換された。グリシドアミド-DNA 付加体レベルは血清から完全に除去された後肝臓で増加した。また、相対的グリシドアミド曝露に対する同様な作用は、投与量を減じるにつれて明らかであり、そのことは投与比率が減少するにつれ、アクリルアミドのグリシドアミドへの変換がより効率的になることを示唆している。グリシドアミド投与では、急速な吸収、組織への広範囲の分布が起こり、肝臓の DNA 付加体を生成した。そのレベルはアクリルアミドの等モル用量によるものより約 40%高かった。経口投与は、混餌投与では 23%、また飲水強制経口投与の場合は 32～52% まで生物学的利用能を減退させることがわかった。また一方で、初回通過効果又は他の動態変化は、静脈経由と比べるとグリシドアミドへのより高い相対的内部曝露が認められた（Doerge DR et al., 2005a）。（ATSDR, 2009）

(2) 実験動物等への影響

1) 急性毒性試験

ラットでの経口LD₅₀値は150～203 mg/kgと報告されている（Fullerton and Barnes, 1966、Hashimoto et al., 1981、Keeler et al., 1975、McCollister et al., 1964、Tilson and Cabe, 1979）。急性症状として、アクリルアミド 250 mg/kg を単回経口投与した試験で後肢（協調）運動機能障害（及び筋肉機能障害）、反射亢進、けいれん、振戦、瞳孔散大がみられたが、7 日後には後肢機能は完全に回復した（Tilson and Cabe, 1979）。

マウスでのLD₅₀値は107 mg/kgであり、急性症状として、神経障害（Hashimoto et al., 1981）がみられた。（NITE, 2007）

ウサギでのLD₅₀値は150～180 mg/kgであった。（NITE, 2007）

2) 亜急性毒性試験

アクリルアミドの亜急性毒性試験でみられる重要な影響は、末梢神経障害と雄性生殖器障害である。マウス、ラット、ネコ、サル等での亜急性毒性試験で、後肢の脱力や運動失調等がみられ、病理組織学的には末梢神経軸索の変性及び脱髄がみられている。これらの神経障害は多くの場合、回復期間中にほぼ回復している。また、雄性生殖器障害として、マウス及びラットの強制経口及び飲水投与試験で、精巣重量減少、精子数減少及び精巣萎縮等がみられている。(NITE, 2007)

<アクリルアミド>

①13 週間亜急性毒性試験 (マウス)

B6C3F1 マウス (8 匹/性/群) を用いて、アクリルアミド (0、0.14、0.35、0.70、1.41、3.52 mM 濃度 (雄: 0、3.2、6.9、13.3、32.8、70.0 mg/kg/体重日、雌: 3.5、7.8、16.4、31.4、83.1 mg/kg 体重/日相当)) の飲水投与、又はアクリルアミド (0、18.5、37、74、185、370 mg/kg 飼料 (雄: 0、3.3、6.6、12.0、31.1、59.4 mg/kg 体重/日、雌: 0、3.7、7.5、13.9、35.1、64.0 mg/kg 体重/日相当)) の混餌投与による発がん性試験のための 13 週間用量設定試験が行われた。

混餌投与では185 mg/kg飼料以上投与群において死亡がみられた。飲水投与及び混餌投与のいずれにおいても最高用量である、飲水投与では70.0 (雄) 及び83.1 (雌) mg/kg体重/日、混餌投与では59.4 (雄)、64.0 (雌) mg/kg体重/日で、体重増加抑制、肝臓重量減少、脳重量減少、膀胱の拡張がみられ、さらに坐骨神経、脊髄、後肢の骨格筋、精巣及び卵巣に変化が認められた。軸索の肥大及び萎縮を伴うミエリン鞘の拡張及び空胞化を有する神経線維の変性を特徴とした神経根神経障害が認められた。雌では卵巣の変化として、排卵後の回帰、種々の発達段階の黄体の欠如が特徴的であり、雄では精巣精子細胞上皮の欠如がみられた (NTP, 2012)。

②5 日間亜急性毒性試験 (ラット)

7~8 週齢の昆明雄ラットに、アクリルアミド (0 (蒸留水)、20、40、60 mg/kg) の 5 日間強制経口投与試験が行われた。

その結果、40 及び 60 mg/kg 投与群の精巣及び精巣上体中のマロンジアルデヒド (MDA) は対照群と比較して有意に増加し、SOD は有意に減少した。著者らはアクリルアミドは精巣及び精巣上体の組織に酸化的な損傷を誘発すると結論した (Yang J et al., 2011)。

③14 日間亜急性毒性試験 (ラット)

F344 雄ラットのアクリルアミド 14 日間飲水投与 (0、2.5、10、50 mg/kg 体重/日) 試験が行われた。

アクリルアミドは 50 mg/kg 体重/日においてのみ、血中ホルモン、病理組織、精巣の遺

伝子発現及び細胞増殖に有意な変化を引き起こした。ライディッヒ細胞及び生殖細胞に対する有意な影響及び付随する mRNA 発現の変化を伴う病理組織変化及びテストステロンレベルの減少などの HPG-軸の活性化に関する強力な証拠があるにもかかわらず、アクリルアミド誘発性の精巣毒性の正確なメカニズムは明確にはなっていない。しかし、精巣周囲中皮 (Ki-67 抗体反応性) の増殖増加の証拠がないことは、アクリルアミドの発がん性に対する精巣周囲中皮のホルモン異常調節を支持していない。(Camacho L et al., 2012)

④4 週間亜急性毒性試験 (ラット)

3及び7週齢の雄SDラットを用いてアクリルアミド (0、50、100、200 ppm) を4週間飲水投与し、アクリルアミド誘発性の神経毒性及び精巣毒性に対する感受性の週齢差が検討された。神経系及び生殖器系臓器組織の病理組織学的検査が行われた。肝臓及び精巣のグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、及びグルタチオン (GSH) 含量についても測定された。

幼若動物及び成獣のいずれにおいても100 ppm以上投与群で体重当りのアクリルアミド摂取量に応じた神経毒性の増強がみられた。精巣においては、主として精子細胞の顕著な変性と剥離が幼若動物にのみ100 ppm以上投与群においてみられた。投与終了時の精巣中 GST活性は、投与とは関係なく、幼若動物の方が成獣より有意に低かった。肝臓及び精巣中のGSH含量には週齢差はみられなかった。神経毒性に対する感受性は、体重に基づいた曝露量で調整すると週齢差はみられなかった。精巣毒性に関しては性成熟付近の若齢動物は成獣と比較して感受性が高く、精巣GST活性が成獣よりも低いことに起因すると思われた (Takahashi et al., 2011)。

⑤12 週間亜急性毒性試験 (ラット)

アクリルアミドの幼若ラットに対する一般毒性学的プロフィールを明らかにするため、アクリルアミドを0、10、20及び40 ppmの濃度でF344ラットの分娩直後から哺育期間中(3週間)母動物に飲水投与し、離乳後は児動物に同じ濃度で9週間(全2週間)投与を継続した。投与期間中の平均アクリルアミド摂取量は雄で0、1.0、2.1及び4.4 mg/kg 体重/日、雌で0、1.2、2.5及び4.9 mg/kg 体重/日であった。

アクリルアミドの投与により、20及び40 ppm群のF1雌で、対照群と比較して、体重が減少した。器官重量には毒性学的意義のある変化は認められなかった。アクリルアミド誘発性の病理組織学的変化は40 ppm雄での精巣の精細管上皮の限局性壊死及び精巣上体管上皮の剥離に限定された。著者らは、既存の知見と合わせて考えると、幼若ラットは若年成獣と比較してアクリルアミド誘発性毒性に対して必ずしも感受性が高いとはいえないとしている (Takami S et al., 2012)。

⑥13 週間亜急性毒性試験（ラット）

F344/N ラット（8 匹/性/群）を用いて、アクリルアミド（0、0.14、0.35、0.70、1.41、3.52 mM 濃度（雄：0、0.8、2.1、4.5、8.6、22.3 mg/kg 体重/日、雌：0、1.1、2.7、6.0、12.3、26.3 mg/kg 体重/日相当）の飲水投与、又はアクリルアミド（0、7.4、18.5、37、74、185 mg/kg 飼料中濃度（雄：0、0.5、1.4、2.8、5.5、14.2 mg/kg 体重/日、雌：0.6、1.6、3.2、6.6、17.9 mg/kg 体重/日相当）の混餌投与による、発がん性試験のための 13 週間用量設定試験が行われた。

飲水投与では1.41又は3.52 mM投与群で、混餌投与では185 mg/kg飼料投与群で後肢麻痺、体重増加抑制、摂餌量の減少、飲水量の減少がみられた。飲水投与のみに脾臓及び骨髄に影響がみられた。軸索の肥大と萎縮を伴うミエリン鞘の拡張と空胞化を有する神経繊維の変性を特徴とした神経根神経障害がみられた。精子細胞の変性が、飲水投与では0.7 mM（4.5 mg/kg体重/日）以上投与群において、混餌投与では全投与群においてみられた（NTP, 2012）。

⑦93 日間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雄：26 匹/群（0.05、0.2、1、5 mg/kg 体重/日）；29 匹（20 mg/kg 体重/日）；26 匹（対照群）、雌：10 匹/群）を用いてアクリルアミド（0、0.05、0.2、1、5、20 mg/kg 体重/日）の 93 日間飲水投与試験が行われた。雄については、7 及び 33 日に電顕検査のために中間と殺された。

末梢神経障害として、着地開脚幅の増加、つま先変形、後肢開脚、運動協調障害が 20 mg/kg 体重/日投与群でみられ、光顕検査で脱髄及び軸索変性を特徴とする坐骨神経の変性が 5 mg/kg 体重/日以上投与群で観察された。電顕検査において、7 日と殺例では末梢神経に対する変化はみられなかったが、33 日と殺例ではシュワン細胞におけるミエリン変性及び脂質蓄積、ミエリン変性に伴う軸索変性及び欠損、細胞小器官や微小体を包含するミエリンの軸索鞘への陥入が 20 mg/kg 体重/日投与群でみられた。90 日には重篤な軸索変性及び軸索欠損が 20 mg/kg 体重/日投与群で認められ、より軽度ではあるが同様の変化が 5 mg/kg 体重/日投与群で認められた。20 及び 5 mg/kg 体重/日投与群よりも軽度な軸索鞘への陥入が 1 mg/kg 体重/日投与群で観察された。

雄性生殖器障害として、鉍物質や細胞屑を有する限局性あるいはびまん性の精細管萎縮が 20 mg/kg 体重/日投与群で認められた。その他、20 mg/kg 体重/日投与群のみにおいて体重増加抑制、飲水量減少、赤血球数／ヘマトクリット値／ヘモグロビン濃度の低下、骨格筋萎縮がみられた（Burek et al. 1980）。

JECFA により電子顕微鏡検査でみられた末梢神経障害を基にして、NOAEL は 0.2 mg/kg 体重/日とされた（JECFA, 2011b）。

⑧13 週間亜急性毒性試験（ハムスター）

膀胱癌の誘発に対して感受性があるシリアンハムシターでの慢性・発がん性試験の用量設定のために、アクリルアミド（0、20、30 及び 50 mg/kg 体重/日）の 13 週間飲水投与試

験が行われた。

アクリルアミド 50 mg/kg 体重/日で雌雄とも歩行異常がみられ、進行性に全例で後肢麻痺を引き起こした。30 及び 50 mg/kg 体重/日の雄及び 50 mg/kg 体重/日の雌で対照と比較して、体重が低値であった。試験終了時に 30 及び 50mg/kg 体重/日の雌で赤血球数及びヘモグロビンの減少又は減少傾向がみられた。組織学的には、坐骨神経の軸索/ミエリンの変性が全アクリルアミド投与群で用量相関的にみられた。いずれの群の動物にも腓管/腓小管に明らかな変化は見られなかった。雌雄シリアンハムスターにおけるアクリルアミドの長期試験の最大耐量は 20 mg/kg 体重/日以下であることが示唆された (Imai T and Kitahashi, 2012)。

<グリシドアミド>

①13 週間亜急性毒性試験 (マウス、ラット)

米国国家毒性研究センター (NCTR) 及び国家毒性プログラム (NTP) において、B6C3F1 マウス及び F334 ラット (8 匹/性/群) を用いたグリシドアミド (0, 0.14, 0.35, 0.70, 1.41, 3.52 mmol/L) の飲水投与による発がん性試験の用量設定のための 13 週間亜急性毒性試験が行われた。

グリシドアミドを 1.41 mmol/L を投与した雌マウス 1 例を除き、13 週間試験の終わりまで生存した。グリシドアミド 3.52 mmol/L 投与群の雌雄マウスの体重はそれぞれの対照群の約 90%であった。グリシドアミド 3.52 mmol/L 投与群の雄ラットの 2/8 例に後肢麻痺がみられ、また低頻度 (1/8 例) であるが、脊髄の変性及び膀胱の拡張がみられた。飲水投与による 0.70 mmol/L 投与群をラット 2 年間発がん性試験の高用量として選択し、以下に 0.35、0.175、0.0875 mmol/L を設定した。種間の比較を容易にするためにマウス及びラットにおいて同用量を用いた。なお、この試験は上述した NTP のアクリルアミドの 13 週間試験と同一プロトコールで同時に実施された (Beland, 2010、JECFA, 2011b)。

<参考>

①10 日間亜急性毒性試験 (マウス)

昆明雄マウス (12 匹/群) に、0、5、30、60 mg/kg 体重/日アクリルアミドを 10 日間腹腔内投与した。

ミトコンドリアのクレストはアクリルアミド投与群で減少又は消失した。一部のミトコンドリア膜は融解した。グリコーゲン減少し、筋節は不規則であった。用量増加に従い損傷は増加した。高及び中用量群では Na⁺-K⁺-ATPase が有意に減少した。Ca²⁺-ATPase 及びチトクローム-c 酸化酵素はアクリルアミド投与群で用量相関的に減少した (Wang Y et al., 2011a)。

②10日間亜急性毒性試験（マウス）

昆明雄マウス（10匹/群）にアクリルアミド（0、5、30、60 mg/kg 体重/日）を10日間腹腔内投与した。

海馬の微小構造に有意な変化はみられなかった。しかし、投与群で有意な海馬神経のGFAP発現とカスパーゼ-3の有意な増加がみられた。投与群間には有意な変化はみられなかった。投与群で海馬グリア細胞のGFAP発現が有意に増加し、高用量群のGFAP発現は低中用量群より強かった。これらのことより、著者らはアクリルアミドはマウス海馬のグリア細胞及びニューロンを損傷するとしている（Yuan X et al., 2011）。

③14日間亜急性毒性試験（マウス）

雄マウス（11匹/群）を用いてアクリルアミド（0、5、20、100 mg/kg）の腹腔内投与による14日間亜急性毒性試験が行われた。

アクリルアミド投与群（低中高）ではマウスの被毛の光沢がなくなり、運動が明らかに減少し、中用量の1例、高用量の7例が死亡した。血清中スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）、乳酸脱水素酵素（LDH）、AKP活性がアクリルアミド投与群で用量相関的に有意に減少した。NOS活性は増加傾向を示した。陽性対照との比較では血清酵素類に有意差はみられなかった。脾臓及び精巣重量はアクリルアミドの用量増加に従い減少した。精巣中のMDN含量は増加したが、T-AOCはアクリルアミド用量の増加に従い減少した（Yang C and Li X, 2011）。

④8週間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar雄ラット（9匹/群）を、アクリルアミドを0（生理食塩液）、20、40 mg/kg（濃度か体重当たりか原著に記載なし）の用量で、3回/週で8週間腹腔内投与した。

アクリルアミド投与したラットでは体重が減少した。高用量群の歩行スコアは増加した。低及び高用量群の遊泳時間は対照群よりそれぞれ63%及び92%の有意な減少がみられた。低及び高用量群の握力試験では握り時間がそれぞれ47%及び91%の有意な減少がみられた。アクリルアミドと対照群の間にはMorisの水迷路で有意差が見られ、高用量の潜時は168%に延長し、距離は110%に増加した。このように、アクリルアミドはラットにおいて運動機能及び学習記憶能を障害した（Zheng XE et al., 2011）。

表 2-28 亜急性毒性試験の概要

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
マウス B6C3F1 雌雄	飲水	13 週間	雄：0、3.2、6.9、 13.3、32.8、70.0 mg/kg 体重/日 雌：0、3.5、7.8、 16.4、31.4、83.1 mg/kg 体重/日	70.0 (雄) 及び 83.0 (雌) mg/kg 体重/日において、体重増加抑制、肝臓重量減少、脳重量減少、膀胱の拡張、軸索肥大/萎縮を伴うミエリン鞘の拡張、神経繊維の変性、卵巣の黄体欠如、精巣の精子細胞上皮の欠如	NTP, 2012
マウス B6C3F1 雌雄	混餌	13 週間	雄：0、3.3、6.6、 12.0、31.1、59.4 mg/kg 体重/日 雌：0、3.7、7.5、 13.9、35.1、64.0 mg/kg 体重/日	雄 31.1、雌 35.1mg/kg 体重/日以上で死亡発現、高用量で体重増加抑制、肝臓重量減少、脳重量減少、膀胱の拡張、軸索肥大/萎縮を伴うミエリン鞘の拡張、神経繊維の変性、卵巣の黄体欠如、精巣の精子細胞上皮の欠如	NTP, 2012
ラット 昆明 雄	経口 (強制)	5 日間	0 (蒸留水)、20、 40、60 mg/kg	40 及び 60 mg/kg 群のMDA 有意に増加。SOD は有意に減少	Yang J et al. 2011
ラット F344 雄	飲水 投与	14 日間	0、2.5、1050 mg/kg 体重/日	高用量において、血中ホルモン、病理組織、精巣の遺伝子発現及び細胞増殖。ライディッシュ細胞および生殖細胞に対する有意な影響。付随する mRNA 発現の変化を伴う病理組織変化。テストステロンレベルの減少。精巣周囲中皮 (Ki-67 抗体反応性) の増殖増加の証拠はない。	Camacho L et al 2012
ラット SD (幼弱、成獣)	飲水	4 週間	0、50、100、200 ppm	幼若：100 ppm 以上で神経毒性、精子細胞の変性及び剥離、精子細胞の DNA 損傷、精子細胞小核誘発、精巣 GST 活性低下 成獣：100 ppm 以上で神経毒性、精子細胞の DNA 損傷	Takahashi et al. 2011
ラット F344	飲水	12 週間	0 (対照群)、10、 20、及び 40 ppm	20 及び 40 ppm を与えた F (1) 雌において、体重減少。毒性学的に有意な臓器重量の変化は認められなかった。	Takami S et al. 2012

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
ラット F344/N 雌雄	飲水	13 週間	雄：0、0.8、2.1、 4.5、8.6、22.3 mg/kg 体重/日、 雌：0、1.1、2.7、 6.0、12.3、26.3 mg/kg 体重/日	雄 8.6、雌 12.3mg/kg 以上で後肢麻痺、体重増加抑制、摂餌量減少、飲水量減少、雌雄の高用量で坐骨神経、脊髓、後肢骨格筋、精巣及び精巣上体脾臓及び骨髄に変化、神経根の軸索肥大/萎縮/ミエリン鞘拡張/神経繊維変性、4.5mg/kg から精子細胞変性	NTP, 2012
ラット F344/N 雌雄	混餌	13 週間	雄：0、0.5、1.4、 2.8、5.5、14.2 mg/kg 体重/日 雌：0、0.6、1.6、 3.2、6.6、17.9 mg/kg 体重/日	高用量で後肢麻痺、体重増加抑制、摂餌量減少、飲水量減少、坐骨神経、脊髓、後肢骨格筋、精巣及び精巣上体に影響、神経根の軸索肥大/萎縮/ミエリン鞘拡張/神経繊維変性、低用量から精子細胞変性	NTP, 2012
ラット F344	飲水	93 日間	0、0.05、0.2、1、 5、20 mg/kg 体重 /日	20 mg/kg で体重増加抑制、飲水量減少、赤血球/ヘマトクリット/ヘモグロビン減少、骨格筋萎縮、後肢開脚幅の増加、つま先変形、後肢脆弱化、協調運動障害、5mg/kg 以上で坐骨神経の脱ミエリン/軸索変性、軸索欠損、1mg/kg 以上で細胞小器官及び濃密体による軸索鞘への陥入 NOAEL=0.2 mg/kg 体重/日	Burek et al. 1980
ハムスター シリアン	飲水	13 週間	0、20、30、50 mg/kg 体重/日	雄雌 50 で歩行異常、後肢麻痺、雄 30 以上、雌 50 で体重低値、雌 30 以上で赤血球数及びヘモグロビンの減少又は減少傾向、雄雌 20 以上で坐骨神経の軸索/ミエリンの変性 (長期試験の最大耐量は 20 mg/kg 以下)	Imai T et al. 2012
マウス B6C3F1, ラット F344/N 雌雄	飲水	13 週間	グリシドアミド 0、0.14、0.35、 0.70、1.41、3.52 mmol/L	マウス：3.53mmol/L で体重増加抑制（雌雄） ラット：3.53mmol/L で後肢麻痺（雄 2/8 例） 脊髓変性、膀胱拡張（雄 1/8 例）	Beland et al. 2010

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
マウス 昆明 雄	腹腔 内	10 日 (10 日 目にと 殺)	0 (対照群)、5、 30、60 mg/kg 体重 /日	ミトコンドリアのクレスト減少 又は消失。一部のミトコンドリア 膜の融解。グリコーゲン減少。筋 節は不規則。用量増加に従い損傷 は増加。高及び中用量群では Na ⁺ -K ⁺ -ATPase が有意に減少。 Ca ²⁺ -ATPase 及び CCO はアクリ ルアミド投与群で用量相関的に 減少。	Wang Y et al. 2011a
マウス 昆明 雄	腹腔 内	10 日 (10 日 目にと 殺)	0 対照群 (生理食 塩液)、5、30、60 mg/kg 体重/日	投与群で有意な海馬神経の GFAP 発現とカスパーゼ-3 の有意な増 加。海馬グリア細胞の GFAP 発現 が有意に増加。高用量群の GFAP 発現は低中用量群より強かった。	Yuan X et al. 2011
マウス 雄	腹腔 内	14 日間	0、5、20、100 mg/kg	被毛の光沢減少、運動減少、中用 量の 1 例、高用量の 7 例が死亡。 血清中 SOD、LDH、AKP 活性が 用量相関的に有意に減少。NOS 活 性は増加傾向。脾臓及び精巣重量 減少。精巣中の MDN 含量増加、 T-AOC 減少。	Yang C and Li X 2011
ラット Wistar 雄	腹腔 内	8 週間 3 回/週	0 (生理食塩液)、 20、40 mg/kg	体重減少。高用量群の歩行スコア 増加。低及び高用量群の遊泳時間 がそれぞれ 63%及び 92%の有意な 減少。低及び高用量群の握力試験 ではそれぞれ 47%及び 91%の有意 な減少。Moris の水迷路で、高用 量の潜時は 168%に延長し、距離 は 110%に増加。	Zheng XE et al. 2011

3) 慢性毒性試験・発がん性試験

<アクリルアミド>

①2年間慢性毒性・発がん性試験 (マウス)

米国 NTP において、B6C3F1 マウス (48 匹/性/群) を用いたアクリルアミド (0、0.0875、0.175、0.35、0.70 mmol/L) の 2 年間飲水投与試験が行われた。2 年間の飲水量に基づくアクリルアミドの平均用量は、雄では 0、1.05、2.23、4.16、9.11 mg/kg 体重/日、雌では 0、1.11、2.25、4.71、9.97 mg/kg 体重/日であった。一般状態観察は毎日、体重、摂餌量及び飲水量については毎週測定した。試験終了時に、生存例について安楽死させ剖検した。死亡例及び切迫と殺例についても剖検を実施した。検査した組織は以下のとおりである。脳 (大脳、

小脳、脳幹)、ハーダー腺、心臓、肝臓、肺、すい臓、末梢神経(坐骨神経)、卵巣、甲状腺、上皮小体、皮膚、乳腺、脊髄(胸部、腹部、頸部)前胃、腺胃及び精巣であった。

アクリルアミドを投与したマウスでは一般状態の変化はみられなかった。アクリルアミドの0.7mmol/L投与群の雄(最終剖検時28匹)、及びアクリルアミドの0.35及び0.7mmol/L投与群の雌(最終剖検時それぞれ15匹及び25匹)は、対照群(雄39匹、雌39匹)と比較して生存率が減少した。散発的ではあるが、統計的に有意な体重変化がみられたが、試験期間中対照群と比較して6%を超えることはなかった。飲水量に関しては、雄マウスではアクリルアミド投与による影響はみられなかったが、雌では80週から用量相関的な増加がみられた。非腫瘍性病変として、雌雄で白内障(雄;0.7mM、雌0.35mM以上)、前胃上皮の過形成(雌雄;0.7mM)、脾臓の造血細胞の増生(雄;0.7mM、雌0.35mM以上)、雄で包皮腺の炎症(0.35mM以上)が認められた。腫瘍性変化としては、雄では、用量依存的にハーダー腺腫及びハーダー腺腫+癌が全投与群で認められた。また、肺の肺胞/気管支腺腫及び肺の肺胞/気管支腺腫+癌が0.175及び0.70mM投与群でみられ、前胃の扁平上皮細胞乳頭腫及び前胃の扁平上皮細胞乳頭腫+癌の発現頻度が0.35mM以上投与群で増加した。雌では、ハーダー腺腫が全投与群で認められ、乳腺の腺棘細胞腫+癌が0.175、0.35、0.70mM投与群で、乳腺癌が0.175、0.70mM投与群でみられた。また、肺の肺胞/気管支腺腫及び肺の肺胞/気管支腺腫+癌、悪性間葉系皮膚腫瘍(線維癌、線維組織球腫、脂肪肉腫、粘液肉腫、神経線維肉腫又は肉腫)の発現頻度が0.35mM以上投与群で増加した。卵巣の良性顆粒膜細胞腫瘍及び乳腺の腺棘細胞腫の発現頻度が0.7mM投与群で増加した。雌雄共に上記の種々の腫瘍の発現頻度が増加し、アクリルアミドはB6C3F1マウスにおいて明瞭な発がん性を示した(NTP, 2012)。

②2年間慢性毒性・発がん性試験(ラット)

F344ラット(90匹/性/群)を用いてアクリルアミド(0、0.01、0.1、0.5、2.0mg/kg体重/日)の2年間飲水投与が行われた。

2.0mg/kg体重/日投与群の雌雄では生存率の低下がみられた。摂餌量、飲水量、尿検査、血液検査、血液生化学検査に投与に起因した変化はみられなかった。光学顕微鏡検査では、投与終了時に2.0mg/kg体重/日投与群の雌雄でミエリン及び軸索の断片化を伴う神経線維の局所的腫脹、及び円形好酸性小球とマクロファージを含む空胞形成からなる脛骨神経変性の頻度増加が認められた。腫瘍性変化については、雄では甲状腺濾胞細胞腺腫、精巣鞘膜(陰囊等)中皮腫、良性の副腎褐色細胞腫、雌では良性の乳腺腫瘍(腺腫、繊維腺腫、繊維腫)、グリア由来のCNS腫瘍、甲状腺濾胞細胞腺腫又は腺癌、口腔扁平上皮の乳頭腫、子宮腺癌、良性の陰核腺腺腫、下垂体腺腫の発現頻度がいずれも2.0mg/kg体重/日で有意に増加した(Johnson et al., 1986)。(JECFA, 2011b、EPA/IRIS, 2010)

③2年間慢性毒性・発がん性試験（ラット）

米国 NTP が GLP で実施した試験では、F344/N ラット（48 匹/性/群）を用いてアクリルアミド（0、0.0875、0.175、0.35、0.70 mmol/L）の2年間飲水投与試験が行われた。2年間の飲水量に基づくアクリルアミドの平均用量は、雄では0、0.34、0.67、1.36、2.78 mg/kg 体重/日、雌では0、0.45、0.90、1.88、4.09 mg/kg 体重/日であった。

アクリルアミドを投与したラットでは一般状態に変化はみられなかった。アクリルアミドを飲水投与した雄では生存率に影響はなかったが、雌では0.175、0.35、0.70 mmol/L 投与群で対照群と比較して生存率の低下がみられた。0.70 mmol/L 投与群の雌雄で8週から体重増加抑制がみられ、試験終了時には有意な体重減少がみられた。非腫瘍性病変として、雌雄で網膜の変性（雄 0.7 mM、雌 0.35 mM 以上）、坐骨神経の軸索変性（雄 0.35mM 以上、雌 0.7mM）、雄で包皮腺拡張症の頻度増加（0.175 mM 以上）、雌で脾臓の造血細胞の増生（0.7 mM）、副腎球状層又は索状層の限局性肥大（0.7 mM）、索状層又は網状層の細胞質の空胞化（0.7 mM）がみられた。投与に起因した腫瘍性病変として、雄で精巣上体の悪性中皮腫、精巣上体+精巣皮膜の中皮腫、心臓の悪性シュワン腫、膵島の腺腫、甲状腺濾胞細胞癌、甲状腺濾胞細胞腺腫+癌の発現頻度が0.7 mM 投与群で増加した。雌では陰核腺癌が0.0875、0.175、0.70 mM 投与群で認められ、乳腺線維腺腫が0.175 mM 以上投与群で、0.7 mM 投与群では口腔粘膜扁平上皮細胞乳頭腫、口腔粘膜+舌扁平上皮の細胞乳頭腫+癌、皮膚線維腫+線維癌、甲状腺濾胞細胞腺腫+癌の発現頻度の増加がみられた。雌雄共に上記の肉腫及び種々の腫瘍の発現頻度が増加し、アクリルアミドは F344/N ラットにおいて明瞭な発がん性を示した。（NTP, 2012）

④106週間飲水投与発がん性試験（ラット）

F344 ラットを用いてアクリルアミド（雄；0、0.1、0.5、2.0 mg/kg 体重/日、雌；0、1.0、3.0 mg/kg 体重/日）の106～108週間飲水投与試験が行われた。

生存率が高用量の雄で低下したが、雌では対照群と同等であった。平均体重の低値が高用量の雄でみられた。摂餌量及び飲水量には差はみられなかった。末梢神経（坐骨神経）の変性が顕微鏡検査で高用量の雌雄にみられた。NOAEL は雄で0.5、雌で1.0 mg/kg 体重/日であった。

腫瘍性病変として、雄では甲状腺濾胞細胞腺腫（又は腺腫+癌）、精巣鞘膜の中皮腫が2.0 mg/kg 体重/日投与群で認められた。雌では乳腺の線維腺腫又は線維腺腫+癌が1.0及び3.0 mg/kg 体重/日投与群でみられ、また、甲状腺濾胞細胞の腫瘍（腺腫+癌）の発現頻度増加が3.0 mg/kg 体重/日投与群でみられた。（Friedman et al., 1995、EPA/IRIS, 2010、EPA, 2010）

<グリシドアミド>

①2年間慢性毒性・発がん性試験（マウス）

NTP試験では、アクリルアミドと平行してグリシドアミドについても同一プロトコールで飲水投与による慢性毒性・発がん性試験が実施された。

B6C3F1マウス(48匹/性/群)を用いたグリシドアミド(0、0.0875、0.175、0.35、0.70 mmol/L)の2年間飲水投与試験が行われた。2年間の飲水量に基づくグリシドアミドの平均用量は雄で0、1.21、2.68、5.18、9.68 mg/kg 体重/日、雌で0、1.39、2.93、5.72、13.13 mg/kg 体重/日であった。

一般状態に変化はみられなかった。グリシドアミド 0.175、0.35 及び 0.7mmol/L 投与群の雄（最終剖検時それぞれ 34、26 及び 25 匹）、及びグリシドアミド 0.35 及び 0.7mmol/L 投与群の雌（最終剖検時それぞれ 31 匹及び 8 匹）は、対照群（雄 45 匹、雌 41 匹）と比較して生存率が減少した。統計的に有意な体重変化が、試験期間を通して散発的にみられた。飲水量については雌で 80 週以降用量相関的な増加がみられた。非腫瘍性病変として、肺胞上皮の過形成が高用量群の雄に、前胃上皮の過形成が高用量群の雄雌にみられた。加えて、腫瘍形成の増加に伴うと考えられる白内障、脾臓の造血細胞の過形成及び骨髄のミエロイドの過形成が投与動物で高頻度に見られた。腫瘍性病変として、雄ではハーダー腺腺腫/癌、肺胞及び気管支腺腫/癌、皮膚扁平上皮細胞乳頭腫、前胃扁平上皮細胞乳頭腫/癌、雌ではハーダー腺腫、肺胞及び気管支腺腫/癌、乳腺癌/棘細胞腺腫、皮膚線維肉腫、前胃扁平上皮細胞乳頭腫の発現頻度が有意に増加した（Beland, 2010）。

②2年間慢性毒性・発がん性試験（ラット）

NTPにおいてF344/Nラット(48匹/性/群)を用いたグリシドアミド(0、0.0875、0.175、0.35、0.70 mmol/L)の2年間飲水投与試験が行われた。2年間の飲水量に基づくグリシドアミドの平均用量は雄で0、0.39、0.80、1.59、3.40 mg/kg 体重/日、雌で0、0.55、1.10、2.27、4.72 mg/kg 体重/日であった。

グリシドアミドを投与されたラットでは一般状態に変化はみられなかった。0.35 及び 0.70 mmol/L 投与群の雌及び 0.70 mmol/L 投与群の雄で対照群と比較して生存率の低下がみられた。統計的に有意な体重減少が 0.70 mmol/L 投与群の雌雄にみられた。投与に起因した腫瘍性病変として、雄では精巣の中皮腫、心臓の悪性シュワン腫、口腔扁平上皮癌/乳頭腫/扁平上皮乳頭腫、甲状腺腺腫/腺癌、単核細胞白血病が認められた。また、雌では陰核腺癌/腺腫、乳腺線維腺腫/腺癌、口腔扁平上皮癌/扁平上皮乳頭腫/乳頭腫、甲状腺腺腫/腺癌、単核細胞白血病の発現頻度が有意に増加した（Beland, 2010）。

表 2-29 慢性毒性/発がん性試験の概要

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
マウス B6C3F1 (48匹/性/群)	飲水	2年間	0、0.0875、 0.175、0.35、 0.70 mM/L (雄：0、 1.05、2.23、 4.16、 9.11mg/kg 体重/日 雌：0、1.11、 2.25、4.71、 9.97 mg/kg 体重/日)	<u>慢性毒性</u> 生存率の低下 (雄 9.11, 雌 4.71mg/kg 以上)、白内障 (雄 9.11, 雌 4.71 以上)、 前胃上皮過形成 (雄 9.11、雌 9.77)、 脾臓造血細胞増生 (雄 9.11, 雌 4.71 以 上)、包皮腺炎症 (雄 4.16 以上) <u>腫瘍性変化</u> 雄：ハーダー腺腫+腺癌 (1.05 以上)、 肺胞・気管支腺腫+腺癌 (2.23 及び 9.11)、前胃扁平上皮細胞乳頭腫+乳頭 癌 (4.16 以上) 雌：ハーダー腺腫 (1.11 以上)、乳腺 の腺棘細胞腫+細胞癌 (2.25 以上)、 乳腺癌 (2.25、9.97)、肺胞・気管支腺 腫+腺癌 (4.71 以上)、悪性間葉系皮 膚腫瘍 (線維癌、線維組織球腫、脂肪 肉腫、粘液肉腫、肉腫) (4.71 以上)、 卵巣顆粒膜細胞腫瘍 (9.97)	NTP, 2012
ラット F344 (90匹/性/群)	飲水	2年間 (3、6、 12、18 か月に 中間と 殺)	0、0.01、0.1、 0.5、2.0 mg/kg 体重/ 日	<u>慢性毒性</u> 生存率低下 (雌雄 2.0mg/kg)、脛骨神 経軸索鞘の陥入 (電頭 3、6 か月；雄 2.0)、脛骨神経変性 (光頭 24 か月； 雌雄 2.0) <u>腫瘍性変化</u> 雄：甲状腺濾胞細胞腺腫 (2.0)、精巢 鞘膜中皮腫 (陰囊など) (2.0)、副腎褐色細胞種 (2.0) 雌：乳腺腫瘍 (腺腫、線維腺腫、線維 種) (2.0)、グリア由来中枢神経系腫瘍 (2.0)、甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌 (2.0)、口腔扁平上乳頭腫 (2.0)、子 宮腺癌 (2.0)、陰核腺腺腫 (2.0)、下 垂体腺腫 (2.0)	Jhonsen et al. 1986

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
ラット F344 (48匹/性 /群)	飲水	2年間	0、0.0875、 0.175、0.35、 0.70 mM/L (雄：0.34、 0.67、1.36、 2.78mg/kg 体重、 雌：0.45、 0.90、1.88、 4.09mg/kg 体重)	<u>慢性毒性</u> 生存率の低下 (雌 0.90mg/kg 以上)、 体重増加抑制 (雄 2.78、雌 4.09)、網 膜変性 (雄 2.78、雌 1.36 以上)、坐骨 神経軸索変性 (雄 1.36 以上、雌 4.09)、 包皮腺拡張症 (雄 0.67 以上)、脾臓造 血細胞増生 (雌 4.09)、副腎球状層又 は索状層限局性肥大 (雌 4.09)、副腎 索状層又は網状層の細胞質空胞化 (雌 4.09) <u>腫瘍性変化</u> 雄：精巣上体悪性中皮腫 (2.78)、精巣 上体/精巣皮膜の中皮腫 (2.78)、心臓 悪性シュワン腫 (2.78)、膵島腺腫 (2.78)、甲状腺濾胞細胞癌 (2.78)、 甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌 (2.78) 雌：陰核腺癌 (0.45、0.90、4.09)、乳 腺線維腺腫 (0.90 以上)、口腔粘膜扁 平上皮細胞乳頭腫 (4.097)、口腔粘膜/ 舌扁平上皮細胞乳頭腫/癌 (4.09)、皮 膚線維腫/線維癌 (4.09)、甲状腺濾胞 細胞腺腫/腺癌 (4.09)	NTP, 2012
ラット F344	飲水	106～ 108 週 間	雄：0、0.1、 0.5、2.0 mg/kg 体重/ 日 雌：0、1.0、 3.0 mg/kg 体 重/日	<u>慢性毒性</u> 生存率低下 (雄 2.0)、平均体重低下 (雄 2.0)、坐骨神経変性 (雄 2.0、雌 3.0) 雄 NOAEL=0.5 mg/kg 体重/日 雌 NOAEL=1.0 mg/kg 体重/日 <u>腫瘍性変化</u> 雄：甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌 (2 mg/kg 体重/日)、精巣鞘膜中皮種 (2) 雌：乳腺線維腺腫/腺癌 (1 以上)、甲 状腺濾胞細胞腺腫/腺癌 (3)	Friedman et al., 1995

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
マウス B6C3F1 48匹/性/ 群	飲水 (グリシ ドアミ ド)	2年間	0、0.0875、 0.175、0.35、 0.7 mmol/L (雄：0、 1.21、2.68、 5.81、9.68 mg/kg 体重/ 日 雌：1.39、 2.93、5.72、 13.13 mg/kg 体重/日)	<u>慢性毒性</u> 生存率低下 (雌 5.72 以上)、飲水量増加 (雌 5.72 以上)、肺胞上皮過形成 (雄 9.68)、前胃上皮過形成 (雄 9.68、雌 13.13) <u>腫瘍性変化</u> 雄：ハーダー腺腺腫/腺癌 (9.68mg/kg 体重/日)、肺胞及び気管支腺腫/腺癌 (9.68)、皮膚細胞上皮細胞乳頭腫 (9.68)、前胃扁平上皮細胞乳頭腫/癌 (9.68) 雌：ハーダー腺腺腫+腺癌 (13.13)、肺胞及び気管支腺腫/腺癌 (13.13)、乳腺癌/棘細胞腺腫 (13.13)、皮膚線維肉腫 (13.13)、前胃扁平上皮細胞乳頭腫 (13.13)	Beland 2010
ラット F344/N 48匹/性/ 群	飲水 (グリシ ドアミ ド)	2年間	0、0.0875、 0.175、0.35、 0.7 mmol/L (雄：0、 0.39、0.8、 1.59、3.40 mg/kg 体重/ 日 雌：0.55、 1.10、2.27、 4.72 mg/kg 体重/日)	<u>慢性毒性</u> 生存率低下 (雄 3.40、雌 2.27 mg/kg 体重/日以上)、体重低値 (雄 3.4、雌 4.72) <u>腫瘍性変化</u> 雄：精巢中皮種 (3.40)、心臓悪性シユワソン腫 (3.40)、口腔扁平上皮癌/乳頭腫/扁平上皮乳頭腫 (3.40)、甲状腺腺腫/腺癌 (3.40)、単核細胞白血病 (3.40) 雌：陰核腺腺腫/腺癌 (4.72)、乳腺線維腺腫/腺癌 (4.72)、口腔扁平上皮癌/扁平上皮乳頭腫/乳頭腫 (4.72) 甲状腺腺腫/腺癌 (4.72)、単核細胞白血病 (4.72)	Beland 2010

4) 生殖・発生毒性試験

アクリルアミドの生殖機能への影響を調べるために、飲水投与あるいは強制経口投与したマウス及びラットの雄と非曝露の雌との交配試験が行われており、着床前後の死胚数の増加、雌を妊娠させる能力の低下等がみられている (Bishop et al., 1991、Sakamoto and Hashimoto, 1986、Smith et al., 1986、Sublet et al., 1989、Tyl, 1998a、NTP, 1993、Zenick et al., 1986)。また受精率に対する影響がみられた用量において、精子数の減少や精子の形態異常の増加等の雄性生殖器に対する影響が報告されている (Sakamoto and Hashimoto, 1986、Zenick et al., 1986)。その他、受精率の低下は反復投与毒性試験でみられた神経毒性の二次的影響が示唆されており、NOAEL を求めるのが困難なデータがほとんどである。雌雄の

F344 ラットにアクリルアミド0、0.5、2、5 mg/kg体重/日を交配前、妊娠、出産、授乳期を通じて飲水投与した2世代生殖試験において、F0、F1 世代を通じて5 mg/kg体重/日で着床数、胎児数、一腹当たりの生存児数の減少等、妊娠率に影響がみられ、著者らはNOAEL を2 mg/kg体重/日としている (Tyl, 1987)。(NITE, 2007)

また母動物の哺育期に限定してアクリルアミドを強制経口投与した試験では、児動物に体重減少や神経毒性がみられたが、母動物毒性の二次的影響によるものか、あるいは乳汁の質的变化によるかについては解明されていない (Husain et al., 1987、Tyl, 1998b)。(NITE, 2007)

<生殖毒性>

①生殖毒性試験 (マウス)

NMRI マウスの雄 (8~10 週齢で体重 25~30g) 30 匹に、アクリルアミドをそれぞれ 0、5 及び 10 mg/kg 体重/日の用量で 2 か月間飲水投与試験が行われた。精子尾部の低浸透圧膨潤試験 (HOS-試験) 及び精子頭部のエオシン Y 染色により細胞膜健全性を評価すると共に精子パラメータに関する精子分析を行った。

低及び高用量群において、総精子運動能と直進運動率 (高速及び低速) は有意に減少したが、非直進運動率には有意な変化は認められなかった。高用量群においてのみ、総精子運動率は有意に減少した。対照群に比較して実験群において精子の有意な形態変化はなかった。精子の細胞膜健全性評価においては、精子尾部の機能が損なわれていない細胞膜は低工用量群とも有意に減少したが、精子頭部の細胞膜の健全性は高用量群においてのみ、有意に減少した。アクリルアミドは細胞膜健全性に影響することにより、直進運動率及び総運動量における精子パラメータ異常の原因となるとともに、精子活性を減少させることが示唆された (Kermani-Alghoraishi et al., 2010)。

②生殖毒性試験 (マウス)

C57Bl/6J マウスの雄 (5~30 週齢) に、正常食又はキロカロリーの 60%をラードからとった食餌のどちらかを与え、生殖毒性試験が行われた。生殖能力は、対照の雌との交配を通じて比較した。アクリルアミド誘発生殖毒性は、水又は 25 mg/kg 体重/日のアクリルアミドを 5 日間強制経口投与した後、対照の雌と交配した肥満又は痩せた雄で評価した。

肥満マウスは痩せた雄に比べ、精巣内のいくつかの遺伝子の mRNA に有意な差を示した。Pparg は 2.2 倍に増加したのに対し、Crem、Sh2b1、Dhh、Igf1、Lepr は、6.7、1.4、3.2、1.6、7.2 倍にそれぞれ減少した。肥満は、妊娠の有意な減少をもたらした。血清レプチン及びインスリンレベルは、痩せた雄マウスと比べ、肥満マウスでは、それぞれ約 5 倍高かった。肥満マウスからの精子は、痩せたマウスと対比すると、運動性の減少及び超活性運動の低下を示した。AA 投与は肥満及び痩せたマウスの雄不妊を悪化させたが、この影響は肥満マウ

スでより顕著であった。AA 投与された肥満マウスと交配させた雌は、生存胎仔の割合をさらに減少させる一方で吸収胚の割合を増加させた (Ghanayem B et al., 2010)。

③生殖毒性試験 (ラット)

SD ラットの雄 (21 日齢の離乳後) (10 匹/群) にアクリルアミドを 0、5、10 mg/kg 体重/日の用量で 8 日間投与して生殖毒性試験が行われた。

アクリルアミド投与ラットの成長は 5 mg/kg 体重/日で有意に抑制されたが、精巣及び精巣上体の相対重量には有意差はみられなかった。5 mg/kg 体重/日以上で精巣上体の精子保留量は有意に減少しており、精子細胞の部分的枯渇を示していた。また、10 mg/kg 体重/日で精巣に病理組織学的障害もみられた。さらに、10 mg/kg 体重/日で sCG ヘテロダイマーの明確な発現パターンがこの動物モデルでみられた。このことは精子形成及びステロイド産生において sGC サブユニットに種々の生理的役割があることを示唆している (Wang H et al., 2010)。

④生殖毒性試験 (ラット)

Sprague-Dawley ラット (3 週齢、12 匹/群) にアクリルアミドを 0、5、15、30 mg/kg 体重/日の用量で 1 週間に 5 回、4 週間投与して、生殖毒性試験が行われた。血清中卵胞刺激ホルモン (FSH)、テストステロン及び黄体形成ホルモン (LH) を測定し、生殖器の病理検査を実施した。

アクリルアミド投与群において用量依存的に有意に、血清中 FSH 及びテストステロン濃度が増加し、LH 濃度は減少した。また、アクリルアミド投与群において精巣上体の上皮損傷がみられ、30 mg/kg 体重/日投与群では睾丸上皮に病理組織変化がみられた。精子運動性、精子生存率、精子数が用量依存的に減少し、異常精子は用量依存的に有意に増加した (Ma Y et al., 2011)。

⑤2 世代生殖・発生毒性試験 (ラット)

F344ラットにアクリルアミド (0、0.5、2.0、5.0 mg/kg体重/日) を飲水投与して、2世代生殖毒性試験及び優性致死試験を組み合わせた試験が行われた。一部の動物を優性致死試験に用い、その他のラットを用いて2世代試験が行われた。

F0及びF1動物で頭位傾斜、開脚幅増加が0.5 mg/kg体重/日以上投与群で認められ、着床数及び1腹当たりの出生時生存児数の減少が5 mg/kg体重/日投与群でみられた。5 mg/kg体重/日投与群のF1雄では神経毒性として末梢神経軸索の断片化及び腫脹がみられたが、F1雌では脊髄に変化はみられなかった。5 mg/kg体重/日投与群で総着床数及び生存着床胚数の減少、着床前及び着床後胚吸収数の増加がみられ、優性致死率が増加した。全身毒性のNOAELを0.5 mg/kg体重/日以上、出生前優性致死のNOAELを2.0 mg/kg体重/日としている (Tyl et al., 2000a)。

<発生毒性試験>

①発生毒性試験（マウス）

Swissマウスにアクリルアミド（0、3、15、45 mg/kg体重/日）を妊娠6～17日まで12日間経口投与して、発生毒性試験が行われた。45 mg/kg体重/日で母動物の体重増加抑制、後肢開脚が、胎児では45 mg/kg体重/日で体重減少及び3 mg/kg体重/日以上で過剰肋骨の増加がみられた（Field et al., 1990）。

EU（2000）は、本試験でみられた胎児の体重減少及び過剰肋骨の増加については、母動物に対して体重の増加抑制と後肢の開脚等がみられた45 mg/kg体重/日投与群において、胎児への影響がみられていることから、この影響は母動物に対する毒性の二次的な影響であるとしている（EU, 2000）。

②発生毒性試験（ラット）

妊娠 CD（SD）IGS ラット（4 匹/群）にアクリルアミド（0、25、50、100 mg/L）を妊娠 6 日から生後 21 日まで飲水投与して、神経系及び雄性生殖器系に及ぼす発生毒性試験が行われた。生後 4 日に、児動物を無作為に間引いて一腹の児動物数を 8 匹とし、大部分について雌雄各 4 匹になるようにした。歩行異常と母動物、児動物の死亡率を含む一般状態を毎日観察した。児動物のアクリルアミド曝露範囲は、生後 14 日にヘモグロビン-アクリルアミド結合物及びアクリルアミド濃度を測定し、生後 21 日目の母動物のそれらの濃度と比較することにより推定した。未投与の 2 匹の母動物から得られた児動物に生後 2 日から 21 日までアクリルアミド（50 mg/kg）を週 3 回腹腔内投与した。

アクリルアミド 100 mg/L 投与群の母動物では哺育 2 日に歩行異常がみられ、その異常が進展して 21 日には重度になった。母動物及び児動物の体重も神経毒性の進展と平行して減少した。体重減少は児動物では統計学的有意差がみられたが母動物ではみられなかった。50 mg/L 投与群では、軽度な歩行異常が哺育 18 日からみられた。摂餌量及び飲水量の減少が 100 mg/L 投与群で哺育期間中にみられた。飲水量に基づき、妊娠期間及び哺育期間中のアクリルアミドの用量はそれぞれ 3.7 ± 0.3 、 7.9 ± 1.7 、 14.6 ± 2.5 mg/kg 体重/日であった。

投与された雌の児動物では投与に関連した死亡や一般状態に変化はみられなかったが、アクリルアミドを 50 mg/kg 腹腔内投与した児動物では生後 15 日から歩行異常がみられた。病理組織検査では、アクリルアミド 50 又は 100 mg/L 投与群の母動物及び腹腔内投与した児及び母動物の三叉神経で神経節細胞の中心崩壊がみられた。母動物の傷害の程度については、50 mg/L 投与群では軽度が 3 例、中等度が 1 例、100 mg/L では中等度が 3 例、重度が 1 例であった。腹腔内投与した 9 匹の児動物においては、7 例が軽度、残り 2 例が中等度であった。また、100 mg/L 投与群の母動物からの雄 5 例の児動物の全てに精子形成の遅れがみられ、軽度が 3 例、中等度が 2 例であった。50 mg/kg を腹腔内投与した児動物の雄 4 例にも同様な影響がみられ、2 例が軽度、残り 2 例が中等度であった。100 mg/L 投与群の母動物の坐骨神経の形態計測では、軸索変性数の増加及び直径 $3 \mu\text{m}$ 未満の有髄神経がみられた。また、100 mg/L

投与群で小脳分子層に点状のシナプトヒズム免疫反応構造が検出された。100 mg/L 投与群の母動物の児動物にこれらのパラメータに関する差異は認められなかったが、50 mg/kg を腹腔内投与した児動物では同様の変性がみられた。母動物及び児動物の血清及び母動物の乳汁中にアクリルアミドは検出されなかったが、アクリルアミド曝露の証拠は AA-Val 付加体により得られた。児動物の AA-Val レベルは 25、50、100 mg/L 投与群の母動物でみられたものより 15～17 倍低かった。著者らは、このアクリルアミド曝露量の低さが児動物においては神経毒性がみられなかった主な原因であると思われるとしている (Takahashi et al., 2009)。

<発達神経毒性>

①発達神経毒性試験 (ラット)

母ラットにアクリルアミドを妊娠 7 日から出産まで投与した児動物 (出生前投与群)、及び母ラットに妊娠 7 日から生後 27 日まで投与した児動物 (周産期投与群) について、外見及び小脳の発達に関する試験が行われた。

いずれの投与群でも児動物の体重増加の遅延がみられ、発達中の小脳においてチオバルビツール酸-反応性物質の増加及び酸化ストレスの増加 (還元型グルタチオン、総チオール、スーパーオキシドジスムターゼ及びペルオキシダーゼ活性の減少) がみられた。顆粒層の増殖の遅延、細胞移動及び細胞分化の遅延、さらにプルキンエ細胞消失もみられた。周産期投与群では電顕検査でプルキンエ細胞の微小空胞化及び細胞消失がみられた。著者らは、アクリルアミド或いはその代謝物は出生前及び周産期に生化学機構を攪乱して、酸化ストレスを誘発し、発達中の小脳に構造的変化を引き起こしたとしている (Allam et al., 2011)。

②発達神経毒性試験 (ラット)

アルビノラット (妊娠雌 60 匹) にアクリルアミド 0、30 mg/kg/day の用量又はフライドポテトチップスを約 30% 含有する飼料を妊娠期間中与え、新生児に対する影響が検討された。

アクリルアミド投与群に児動物の成長抑制、体重減少及び脳重量減少がみられた。投与した母動物の小脳皮質の光学顕微鏡検査ではプルキンエ細胞と内顆粒層の大幅な減少を示した。投与した母動物から生まれた児動物では脳のプルキンエ細胞とニューロンに様々なパターン of 細胞死がみられた。プルキンエ細胞の電子顕微鏡検査では小胞体の変化、ポリリボゾームの正常配列の欠如、異常に分化したクリステを有する肥大したミトコンドリア及び異常なゴルジ装置がみられた。アクリルアミド投与群の腓腹筋では、A、H、Z 帯の乏しい分化からも判るように筋原線維の広範な変性を示した。

著者らは、母動物へのアクリルアミド投与によるラット胎児曝露が児動物の生後発育期間中に小脳皮質不良及び腓腹筋の筋原線維変性を引き起こしたとしている (Allam A et al., 2011)。

③発達神経毒性試験（ラット）

ラットを用いた食物動機付け行動に対する低用量アクリルアミド毎日曝露の影響について検討した。妊娠 F344 ラットにアクリルアミド（0、0.1、0.3、1、5 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日から生後 85 日まで強制経口投与し、生後 1 日に、1 腹当たりの雌雄を 4 匹ずつに分けた。生後 1～21 日に母動物の投与量と同じ用量を児動物に強制経口投与した。生後 22 日に離乳させ、同腹同性の児動物をまとめて飼育し、アクリルアミドを 0、1、3、10、50 mg/L の用量で飲水投与に変更した。試験期間中にラットの食物強化因子の動機付けのために、ラットを制限給餌させた。

その結果、体重は自由摂取の背景値の約 90%であった。1 腹当たり雌雄各 1 例の児動物を用いて、約 6 から 12 週齢に食物強化因子について累進比率スケジュールにより試験した。14 の累進比率セッションを設け、約 6 週間で完了した。行動試験はレバー押し後の褒美の食物を通して成し遂げられるが、褒美の食物の獲得のために複数回のレバー押しが要求される累進比率課題を 3～6 週齢で導入した。

獲得した強化因子の数に対する有意なアクリルアミド投与の影響が試験 6 週後に示唆された。即ち、Turkey の HSD 事後解析では、対照群と比較して 5 mg/kg 体重/日群で有意に獲得した強化因子数が少なかった。また、アクリルアミド投与による応答率に対する有意な影響がみられ、Turkey の HSD 事後解析では、対照群と比較して 5 mg/kg 体重/日群では有意な応答率の低下を示した。また、その他の用量と比較的直線的な用量反応関係がみられた。投与、日にち、性或いは強化因子獲得後の休憩との間に相関性は認められなかった。著者らは、これらのデータはアクリルアミドの 5 mg/kg 体重/日曝露が食物動機付け行動に影響することを示したとしている（Garey and Paule, 2007、JECFA, 2011b）。

④発達神経毒性試験（ラット）

アクリルアミドの慢性的な食餌性曝露が学習能力を妨げるような脳毒性を発現させるかどうかをみるために、出生前から生涯にわたってアクリルアミドを毎日曝露されたラットについて学習課題成績に及ぼす影響を評価した。妊娠 F344 ラットにアクリルアミド（0、0.1、0.3、1、5 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日から分娩時まで強制経口投与した。その後同じ用量を生後 1 日から 22 日の離乳時まで児動物に投与し、23 日から飲水投与に変更して、投与を継続した。1 腹当たり雌雄各 1 例（8～9 例/群）を試験に用いた。

漸増反復獲得（IRA）課題による学習能力評価では、4 か月齢でアクリルアミド曝露による成績の変化が現れた。約 1～8 か月齢（240 日）の間に試行を 52 回実施したところ、課題終了率（PTC）に有意な減少がみられた。5 mg/kg 体重/日群で対照群と比較して有意な PTC の低下、及び応答率の減少がみられたが、正確性には有意差はみられなかった。このことは PTC の減少が、課題解決の正確性に影響するためではなく、応答率が低下するためであることを示唆した。運動機能に関する一連の試験及び動機付け評価のための累進比率課題を実施した以前の成果（上記試験、Garey and Paule, 2007）とあわせて考えると、この応答率の低下

が微妙な運動作用、又は精神運動速度の低下による可能性はあるものの、最もありそうなのは動機付け作用によるものであることが示唆された (Garey and Paule, 2010)。

⑤発達神経毒性試験 (ラット)

妊娠 F344 ラットにアクリルアミド (0、0.5、1.0、2.5、5、10 mg/kg 体重/日) を妊娠 7 日から分娩時まで強制経口投与した。その後児動物に生後 22 日まで強制経口投与し、生後 4~22 日に児動物の行動に及ぼす影響を検査した。

1 mg/kg 体重/日以上のアクリルアミド曝露児動物で有意な体重低値がみられた。正向反射、前肢握力、オープンフィールドでの活動性に有意差はみられなかった。10 mg/kg 体重/日で負の走地性に有意差、及び生後 21~22 日のローターロードで落下潜時に高用量になるほど短縮する一次の相関傾向がみられた。著者らは、これらの結果から、アクリルアミド曝露が離乳前の運動協調性及び発育に障害を引き起こすことが示唆されたとしている (Garey et al., 2005)。

⑥発達神経毒性試験 (ラット)

上の試験のデータを補強するために、さらにラットにおける離乳前行動、発達指標に及ぼすアクリルアミドの低用量曝露の影響について検討された。妊娠 F344 ラットにアクリルアミド (0、0.1、0.3、1、5 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日から分娩時まで強制経口投与し、その後児動物に生後 21 日まで強制経口投与した。

5 mg/kg 体重/日投与群では児動物の体重が、特に雄において僅かに減少したが、児動物の発毛、耳介回展、開眼への影響はみられず、また、正向反射 (生後 4~7 日)、傾斜版 (負の走地性) (生後 8~10 日)、前肢握力 (生後 12~16 日)、ローターロード (生後 21~22 日) にもアクリルアミド投与による有意な変化は観察されなかった。5 mg/kg 体重/日投与群の児動物の雌雄ともオープンフィールド (生後 19~20 日) で活動性が 30~49%低下した。妊娠 20 日の母動物とその胎児では血清中アクリルアミドレベルは同等であり、アクリルアミドが胎盤バリアを通過することが示された。児動物のグリシドアミドレベルには日齢差 (生後 1 日と 22 日) 及び性差はみられなかった。アクリルアミド及びグリシドアミドの血清中レベルはいずれの動物でも用量相関的であった。Grey et al. (2005) の試験と合わせて考えると、出生前及び出生後にアクリルアミド曝露されたラットでは、離乳前の神経行動への影響が明らかであるが、ただし高用量曝露時のみであった (Ferguson et al., 2010)。

⑦発達神経毒性試験 (ラット)

妊娠 SD ラットにアクリルアミドを 0、50、100、200 ppm の濃度で妊娠 10 日から生後 21 日まで飲水投与して、発達神経毒性試験が行われた。仔動物の病理組織検査を離乳時及び生後 11 週に行った。神経毒性については、坐骨神経の神経線維密度、変性割合及び短直

径軸索割合及び小脳分子層のシナプトフィジンにおける免疫反応性の異常な点状構造の数を基準にして定量的に評価した。

母動物の神経毒性は 100 ppm から明らかであったが、新生児では神経毒性及び精巣毒性が示唆される変化は見られなかった。低体重が雄では 50 ppm 以上で、雌では 100 ppm 以上で用量依存的に生後からみられた。母動物の栄養不良が哺育期間中に 100 ppm 以上で明らかであった。

著者らは、母動物毒性のため乳汁からのアクリルアミド曝露が少なかったことが、成長遅延以外のアクリルアミド誘発性の子動物毒性がなかった主要原因と思われたとしている (Takahashi M et al., 2008)。

⑧発達神経毒性試験 (ラット)

Sprague-Dawley ラットに、アクリルアミドを妊娠 10 日目から出産後離乳期の 21 日目まで飲水投与 (0、4、20、100 ppm) して、発達神経毒性試験が行われた。雄の子動物を生後 21 日目及び生後 77 日目に免疫組織化学的に調べた。比較のため、授乳期に直接アクリルアミド (50 mg/kg 体重、3 回/週) を腹腔内投与した対照の雄の子動物についても調べた。

生後 21 日目に、母動物はアクリルアミド曝露により 20 ppm から下帯 (SGZ) において前駆細胞増殖が減少し、100 ppm では門内でリーリン産生ニューロン及び NeuN 発現成熟ニューロンの密度が増加した。それは直接アクリルアミド注射した対照と同様であった。100 ppm で調べた SGZ において、免疫的にダブルコルチン又は dihydropyrimidinase-like 3 (分裂未熟顆粒細胞を示唆する) を発現する細胞集団は減少した。生後 77 日目に、SGZ 細胞増殖及びリーリン産生ニューロン密度は回復したが、肺門成熟したニューロンは 20 ppm から増加し続け、それは直接アクリルアミド注射した対照と同様であった (Ogawa B et al., 2012)。

表 2-30 アクリルアミドの生殖・発生毒性試験

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
生殖毒性					
マウス NMRI 雄	経口 or 飲水	2 か月	5、10 mg/kg 体 重/日	<p>総精子運動性と前進運動性（高速と低速）は有意に減少した（P=0.00）。II 群において総運動精子の割合は有意に減少した（P=0.01）。精子の細胞膜健全性評価においては、精子尾部の機能無損傷の細胞膜は I 群 II 群両方とも有意に減少した（P=0.01）。精子頭部の細胞膜の健全性は II 群においてのみ、有意に減少した（P=0.00）。</p>	Kermani-Alghorais hi M et al. 2010
マウス C57Bl/6J 雄	経口	5 日間	25 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・肥満マウスでは精巣内遺伝子の mRNA に有意な差。体脂肪率と体重が有意に増加。Pparg は 2.2 倍に増加、Crem、Sh2b1、Dhh、Igf1、Lepr は、6.7、1.4、3.2、1.6、7.2 倍に減少。血清レプチン及びインスリンレベルが約 5 倍上昇。精子の運動性の減少及び超活性運動の低下。交配した対照雌のプラグ及び妊娠の有意な減少。 ・アクリルアミド投与は肥満及び痩せたマウスの雄不妊を悪化させたが、この影響は肥満マウスでより顕著であった。 ・アクリルアミド投与された肥満マウスと交配させた雌は、生存胎仔の割合を減少、吸収胚の割合を増加。 	Ghanayem B et al. 2010
ラット SD 雄	強制経口	8 日間	0、5、10 mg/kg 体 重/日	<p>成長抑制。 精巣上体の精子保留量は有意に減少。精巣の病理組織学的障害。 SGC ヘテロダイマーの明確な発現パターンが発現。</p>	Wang H et al. 2010
ラット Sprague-Dawley 雄	強制経口	4 週間、5 回/週	0、5、15、 30 mg/kg 体重/日	<p>血清中 FSH 及びテストステロン濃度は増加。LH 濃度は減少。 病理組織変化及び異常精子がみられた。</p>	Ma Y et al. 2011

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
ラット F344 F0 雌 F1	飲水	F0 では 10 週間 F1 では 11 週間	0.5、2.0、5.0 mg/kg 体重/日 (平均 4.2、16.3、42.0 ppm)	体重増加抑制：F0 の交配前投与期間に 0.5 mg/kg 以上で、F0 で妊娠及び哺育期間に 5.0 mg/kg で、F1 の雄では影響は見られなかったが、雌では 2.0 mg/kg から認められた。 頭位傾斜及び開脚：F0 雌で 2.0 mg/kg から。F1 の雄に頭位傾斜のみ 生殖指数（妊娠動物数/交尾数）及び妊娠期間：影響は見られなかった。 1 腹当りの着床数、生存児数：5.0 mg/kg で減少着床後胚死亡率が増加した。 剖検：F0 及び F1 動物及び F1 及び F2 離乳児で影響は見られなかった。	Tyl RW et al. 2000a
発生毒性					
マウス Swiss 発生毒性	飲水	12 日間	0、3、15、45 mg/kg 体重/日	胎児の体重減少、過剰肋骨の増加。 45 mg/kg 体重/日以上投与群で、母動物体重の増加抑制と後肢の開脚等がみられていることから、この影響は母動物に対する毒性の二次的な影響であると考えられている	Field et al., 1990
ラット CD (SD) IGS 雌 (F0)	飲水	妊娠 6 日から生後 21 日まで	0、25、50、100 ppm (3.72、7.89、14.56 mg/kg 体重/日)	F0：50 ppm 以上で歩行異常、三叉神経神経節細胞の中心崩壊 F1：50ppm 以上で精子形成の遅れ、成長遅延発現。神経毒性及び精巣毒性はなし。 F1 の血清中、F0 ミルク中：アクリルアミド検出されず。 F1：アクリルアミドヘモグロビン付加体レベルは F0 の 1/15～1/17 倍	Takahashi M et al. 2009
ラット CD (SD) IGS	腹腔内	生後 2 日から 21 日まで (3 回/週)	50 mg/kg 体重	歩行異常、三叉神経節細胞の中心崩壊、精子形成の遅れ。	Takahashi M et al. 2009
発達神経毒性					
アルビ ノラット	強制経口投与	B：娠 7 日から出産まで C：妊娠 7 日から生後 27 日まで	0、10 mg/kg 体重/日	B、C：新生児体重増加遅延。小脳におけるチオバルビツール酸-反応性物質 (TBARS) の増加及び酸化ストレスの増加 (還元型グルタチオン (GHS)、総チオール、SOD 及びペルオキシダーゼ活性の有意な減少。顆粒層増殖の遅延、細胞移動及び細胞分化の遅延。プルキンエ細胞死。 C：プルキンエ細胞の微小空胞化及び細胞死。	Allam A et al. 2011

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
アルビノラット	混餌投与	妊娠期間中	0、30 mg/kg 体重/日	アクリルアミド投与群で、母動物の小脳皮質のプルキンエ細胞と内顆粒層動物の減少、児動物の体重減少、脳重量減少、脳プルキンエ細胞及び神経細胞に様々なパターンでの細胞死発現。プルキンエ細胞では小胞体の変化、ポリリボゾームの正常配列の欠如、ミトコンドリアの肥大、ゴルジ装置の異常が、腓腹筋では筋原線維の変性がみられた。	Allam A et al. 2011
ラット F344	F0：経口 F1：離乳前は経口、離乳後は飲水	F0：妊娠 6 日から分娩まで F1：同じ用量で生後 22 日まで強制経口、その後 85 日まで飲水投与	0、0.1、0.3、1.0、5.0 mg/kg 体重/日	アクリルアミド 5 mg/kg/day 群で食物強化因子の獲得数及び反応率とも低下。体重には有意差は見られなかった。	Garey J and Paule MG, 2007
ラット F344	F0：強制経口 F1：離乳前は強制経口、離乳後は飲水	F0：妊娠 6 日から分娩まで F1：同じ用量で 22 日まで強制経口、その後 240 日まで飲水投与で	0、0.1、0.3、1.0、5.0 mg/kg 体重/日	5 mg/kg/day 群で課題終了率 PTC が有意に低かった。5.0 mg/kg/day 群で反応率に有意な減少がみられた。	Garey J and Paule MG. 2010
ラット F344	強制経口	F0：妊娠 7 日から分娩まで F1：同じ用量で生後 22 日まで	0、0.5、1.0、2.5、5、10 mg/kg 体重/日	1 mg/kg 体重/日以上で有意な体重低値。正向反射、前肢握力、オープンフィールドでの活動性に有意差はみられなかった。10 mg/kg 体重/日で負の走地性に有意差、及び生後 21～22 日のローターロードで落下潜時に高用量になるほど短縮する一次の相関傾向がみられた。	Garey et al. 2005
ラット F344	経口	F0：妊娠 6 日から分娩日まで F1：生後 21 日まで	0.0, 0.1, 0.3, 1.0, or 5.0mg/kg 体重/日	F1 の体重は 5mg/kg 体重/日の雄で僅かに減少した。5 mg/kg 体重/日 の雌雄とも生後 19～20 日のオープンフィールドで 30～49%活動性が低下。血清中アクリルアミドレベルは妊娠 20 日の母動物及びその胎児で同じ。F1 のグリシドアミドレベルには日齢差(生後 1 及び 22 日)又は性差がなかった。	Ferguson SA et al. 2010

試験系	投与方法	投与期間	投与量	主な所見	文献
ラット SD	飲水	妊娠 10 日から生後 21 日まで	0、50、100、200 ppm	神経毒性：100 ppm 母動物のみ発現。 低体重：雄では 50 ppm 以上で、雌では 100 ppm 以上で用量依存的に生後から発現。 F0 栄養不良：哺育期間中に 100 ppm 以上で発現	Takahashi M et al. 2008
ラット Sprague-Dawley 雌	飲水	妊娠 10 日目から離乳期の 21 日目まで	0、4、20、100 ppm	PND21 日目に、20 ppm から下帯 (SGZ) において前駆細胞増殖が減少し、100 ppm では門内でリーリン産生ニューロン及び NeuN 発現成熟ニューロンの密度が増加。 100 ppm で調べた SGZ において、免疫的にダブルコルチン又は dihydropyrimidinase-like 3 (分裂未熟顆粒細胞を示唆する) を発現する細胞集団は減少した。 ・ PND77 日目に、SGZ 細胞増殖及びリーリン産生ニューロン密度は回復したが、肺門成熟したニューロンは 20 ppm から増加し続けた。	Ogawa B et al. 2012

5) 遺伝毒性試験

① *in vivo* 遺伝毒性試験

多くの *in vivo* 遺伝毒性試験がげっ歯類で実施されている。

<哺乳類による遺伝子突然変異試験>

優性致死突然変異はアクリルアミドをげっ歯類に経口、経皮、腹腔経由で投与した後に一貫して誘発されている (Adler et al., 2000、Chapin et al., 1995、Gutierrez-Espeleta et al., 1992、Sakamoto and Hashimoto, 1986、Shelby et al., 1987、Smith et al., 1986、Sublet et al., 1989、Tyl et al., 2000a, 2000b、Working et al., 1987、Zenick et al., 1986)。

腹腔内曝露では無処置の雌と交配させる前にアクリルアミド (50~125 mg/kg) を投与した雄マウスの児動物 (Ehling and Neuhäuser-Klaus, 1992、Russell et al., 1991)、及びアクリルアミド (50又は70 mg/kg) を投与した妊娠雌マウスの児動物 (Neuhäuser-Klaus and Schmahl, 1989) において特定座位突然変異がみられた。無処置雌と交配させる前にアクリルアミド 50~100 mg/kgを腹腔内又は経皮投与した雄マウスの児動物において、遺伝性転座又は相互転座がみられた (Adler, 1990、Adler et al., 1994, 2004、Shelby et al., 1987)。

マウスにアクリルアミドを腹腔内投与した試験では、リンパ球のtk及びHPRT (Manjanatha et al., 2006、Von Tungeln et al., 2009) に、また、トランスジェニックマウスのlac z (Hoorn et al., 1993、Krebs and Favor, 1997) に突然変異の増加がみられた。

Big Blue TG マウスを用いたアクリルアミド及びグリシドアミド(20及び100 mg/kg/日相当) の28日間飲水投与試験では、肺のcII突然変異頻度が3～5倍増加した (Guo et al., 2009) 。

Big Blue TG マウスにアクリルアミド及びグリシドアミド (5及び10 mg/kg体重/日相当) を60日間飲水投与した試験では、リンパ球Hprt変異体の発現頻度の増加、骨髄及び甲状腺のcII変異体に弱い陽性がみられた。乳腺、精巣及び肝臓のcII変異体の発現頻度には影響はみられなかった。また、アクリルアミド及びグリシドアミドのいずれにおいても小核を有する網状赤血球の発現頻度増加はみられなかった (Mei et al., 2010) 。

Gpt delta TG F344ラットの成獣及び幼弱雄を用いたアクリルアミド (0～80 ppm) の4週間飲水投与試験が行われた。精巣gpt-変異体頻度及び骨髄小核頻度が幼弱動物のみで増加した。40及び80ppm投与では幼弱及び成獣共に肝臓のコメットアッセイ陽性がみられた。また精巣のN7-GA-Gua付加体は幼弱動物で有意に高かった (Koyama et al., 2011a) 。

Big Blueマウスに最長4週間飲料水中で1.4 mM又は7.0 mMのアクリルアミド又はグリシドアミドを投与した試験において、低用量又は高用量を投与されたいずれのマウスの精巣cII MFにおいても、アクリルアミド及びグリシドアミドの濃度は有意に増加したが、低曝露濃度においてはアクリルアミドとグリシドアミドの間のcII MFに有意な差はなかった。突然変異スペクトルは、対照群のものとは有意に異なっていたが、アクリルアミドとグリシドアミド投与で、変異パターンに有意差はみられなかった。精巣と肝臓で、突然変異スペクトルを比較すると、アクリルアミド又はグリシドアミド投与の後の2つの組織間のスペクトルは有意差があったが、対照群のマウス由来の二つの組織における突然変異スペクトルは類似していた (Wang RS et al., 2010)。

MNU50 mg/kg体重の単回復空内投与でイニシエートしたラットにおいて誘発された乳腺腫瘍のH-ras遺伝子の変異を、その後続のアクリルアミド0、20、40 ppmによる30週間飲水投与について調べた。

コドン12のGGAからGAAへの変異の頻度は、アクリルアミドAA投与無しのラット (50%、18腫瘍中9例) に比べ、アクリルアミド投与ラット (82%、28腫瘍中 23例) では有意に ($p<0.05$) 高かった。H-ras変異保有の腫瘍の潜伏期と量は変異無しの腫瘍と同様であった。どちらの投与群においても、コドン13又は61の変異は検出されなかった (Cho YM et al., 2009)。

アクリルアミドを2週間経口投与したラットでは、精子遺伝子のインスリン様成長因子 II (Igf2) の示差的メチル化領域 (DMR2) のCpGアイランドの一部のシトシンメチル化が、35日目には消失した。アクリルアミドがメチル化不全を引き起こす程度は動物により異なっていた。これらのことから、有糸分裂の精原細胞と一次精母細胞は、アクリルアミド誘発性ゲノムインプリンティング異常に敏感であるということを示唆しており、アクリルアミドは精子形成におけるリモデリングプロセスに支配的に干渉することが示された (Wang Z et al., 2010)。

Big Blue マウスによる *in vivo* での遺伝毒性試験では、アクリルアミドとグリシドアミドを飲料水により投与 (AA 投与推定値、雄 98、及び雌 107 mg/kg 体重/日、3 週間) した結果、雄において末梢血中の小核網状赤血球頻度が 1.7~3.3 倍、雌雄において白血球の Hprt 突然変異体頻度が 16~25 倍、肝臓の cII 突然変異頻度が 2~2.5 倍に上昇した。cII 突然変異の分析結果では、アクリルアミド、及びグリシドアミドが類似した変異を引き起こしており、主な変異は G : C から T : A へのトランスバージョン、及びグアノシンのホモポリメリック・ラン中の -1/+1 フレームシフトであった。これらの結果は、アクリルアミドとグリシドアミドがマウスにおいていずれも変異原性を有することを示している。また、両者の突然変異頻度とその種類は類似しており、アクリルアミドがグリシドアミドに代謝されて変異原性が発揮されているものと理解される (Manjanatha et al., 2006)。

<哺乳類による染色体異常>

アクリルアミドの骨髄、脾臓、精原細胞での染色体異常試験は陽性 (Adler, 1990, Adler et al., 1988, Čihák and Vontorková, 1988) あるいは陰性 (Adler, 1990, Adler et al., 1988, Adler et al., 1988, Backer et al., 1989, Kligerman et al., 1991, Krishna and Theiss, 1995, Shiraishi, 1978) の両方の結果を示した。

in vivo での曝露に起因した染色体異常には、姉妹染色分体交換 (Backer et al., 1989, Kligerman et al., 1991)、小核形成 (Backer et al., 1989, Čihák and Vontorková 1988, 1990, Collins et al., 1992, Ghanayem et al., 2005b, Kligerman et al., 1991, Knaap et al., 1988, Lähdetie et al., 1994, Paulsson et al., 2002, Russo et al., 1994, Xiao and Tate, 1994, Zeiger et al., 2009)、及び異数性と倍数性 (Shiraishi, 1978) が含まれる。

アクリルアミドは少数のラット及びマウスを用いた試験では小核を誘発しなかった (Krishna and Theiss, 1995, Paulsson et al., 2002, Von Tungeln et al., 2009)。

雄マウス生殖細胞のシナプトネマ構造異常試験の結果は陰性又はわずかな陽性であった (Backer et al., 1989)。

アクリルアミドは腹腔内投与したマウスの骨髄における紡錘体形成不全を誘発しなかった (Adler et al., 1993)。

8週齢の雄SDラットにアクリルアミドを0、125、150、175 mg/kg bwの用量で単回強制経

口投与し、48時間後に骨髓を採取して、小核を有する多染性赤血球の発現頻度を測定した。また、多染性赤血球/正染性赤血球比を見ることにより、アクリルアミドの細胞毒性を評価した。全ての用量で小核を有する多染性赤血球の発現頻度が有意に増加し、高用量では3.75倍であった。さらに多染性赤血球/正染性赤血球比は対象と比較して減少し、骨髓の細胞毒性を示唆した (Yener Y and Dikmenli M, 2009)。

・DNA損傷/修復、DNA付加体形成

アクリルアミドは種々のげっ歯類組織(精巣及び雄精子細胞を含む)におけるDNA損傷、DNA切断 (Dobrzynska, 2007、Ghanayem et al., 2005b、Sega and Generoso, 1990)、不定期DNA合成 (Butterworth et al., 1992、Sega et al., 1990) 及びDNA付加体形成 (Doerge et al., 2005a、Gamboa da Costa et al., 2003、Sega et al., 1990、Segerbäck et al., 1995、Von Tungeln et al., 2009、Zeiger et al., 2009) を誘発する。アクリルアミド投与した雄ラットを無処置の雌と交配させた第1回目卵割受精卵において染色体異常の増加がみられた (Marchetti et al., 1997、Pacchierotti et al., 1994)。

雄マウスを用いた試験で、アクリルアミドは用量相関的にマウスの精巣細胞DNAを損傷した。精子細胞成熟はアクリルアミド用量の増加に伴い減少した (Zhang J et al., 2011)。

B6C3F1の雄マウスにアクリルアミド(0、0.125、0.25、1、2、4、6、8、12、16、24 mg/kg 体重/日)を28日間強制経口投与し、DNAアルカリ化の強さとアクリルアミド用量との相関の確認試験を行った。末梢血中網状赤血球及び赤血球中の小核の有無をフローサイトメトリーにより推定した。また、血漿中のグリシドアミド及びアクリルアミドヘモグロビン付加体(GA-Val、AA-Val)及び肝臓中のN7-GA-Gua付加体もモニターした。死亡動物はなく、毒性症状もみられなかった。統計的に有意な体重増加量の増加が幾つかの群にみられたが、用量との相関関係はみられなかった。赤血球中の小核の数に緩やかな直線性の増加がみられ、網状赤血球では、4 mg/kg 体重/日以上で有意な増加がみられた。ヘモグロビン付加体(GA-ValやAA-Val)又はDNA付加体(N7-GA-Gua)濃度といった、アクリルアミド曝露の体内マーカーを用いると、モデルにより良くフィットし、線形モデルでは1~2 mg/kg 体重/日が閾値であった (Zeiger et al., 2009)。(JECFA, 2011b)

3週齢及び11週齢のGpt deltaトランスジェニックF344ラット雄にアクリルアミド(0、20、40、80 ppm)を4週間飲水投与して、骨髓、肝臓及び精巣を用いて遺伝毒性誘発の週齢差について検討した。また、DNA付加体であるN7-GA-Guaの肝臓、精巣及び乳腺中濃度について測定した。40及び80 ppmにおいて、肝臓のコメットアッセイでは若齢及び成獣で同様な陽性結果が得られた。80 ppmにおいて、骨髓小核頻度及び精巣のgpt-突然変異は若齢動物でのみ有意差がみられ、精巣中のN7-GA-Gua濃度も若齢動物のほうが有意に高かった。著

者らはアクリルアミド誘発性の遺伝毒性について、成獣よりも若齢動物のほうが感受性が高いと報告している。(Koyama et al., 2011a)

・非哺乳類遺伝子突然変異

体細胞突然変異及び組換え (Batiste-Alentorn et al., 1991、Knaap et al., 1988、Tripathy et al., 1991) 及び伴性劣性致死突然変異 (Tripathy et al., 1991) がショウジョウバエ幼虫の混餌試験で誘発された。しかし腹腔内注入による他の試験では伴性劣性致死突然変異は陰性であった (Knaap et al., 1988、ATSDR, 2009)。

表2-31に*in vivo* 遺伝毒性試験の概要を示す。

表 2-31 *in vivo* 遺伝毒性の概要 (ATSDR, 2009 から引用してデータ追加)

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
哺乳類遺伝子突然変異				
マウス	優性致死	+	1×125 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 2000
マウス	優性致死	+	5×40 or 50mg/kg 腹腔内投与	Shelby et al. 1987
マウス	優性致死	+	6 週間、0.81, 3.19, 7.22mg/kg 体重/日 飲水投与	Chapin et al. 1995
マウス	優性致死	+	4 週間、3.3～16.3 mg/kg 体重/日 飲水投与	Sakamoto, Hashimoto 1986
ラット	優性致死	+	64 日間、0.5, 50 mg/kg 体重/日 飲水投与	Tyl et al. 2000a 2000b
ラット	優性致死	+	5 日間、5, 15, 30, 45, 60mg/kg 体重/日 飲水投与	Sublet et al. 1989
ラット	優性致死	+	5 日間、30 mg/kg 体重/日 強制経口	Working et al. 1987
ラット	優性致死	+	80 日間、1.5, 2.8, 5.8 mg/kg 体重/日 飲水投与	Smith et al. 1986
ラット	優性致死	+	10 週間、4.65, 7.86 11.53 mg/kg 体重/日 飲水投与	Zenick et al. 1986
マウス	優性致死	+	5 日間、25～125 mg/kg 体重/日 経皮投与	Guitierrez-Espeleta et al. 1992
マウス (脾臓リンパ、tk、HPRT 座)	遺伝子突然変異	-	0, 0.14, 0.70 mmol/kg を生後 1,8,15 日に腹腔内投与	Von Tungeln et al. 2009
マウス (脾臓リンパ、tk、HPRT 座)	遺伝子突然変異	+	0, 0.14, 0.70 mmol/kg を生後 1～8 日に腹腔内投与	Von Tungeln et al. 2009

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
マウス (肝細胞、リンパ球、tk,HPRT 座)	遺伝子突然変異	+	3~4 週間 ; 100, 500 mg/L 飲水投与	Manjanatha et al. 2006
Muta®マウス (lac z 座)	遺伝子突然変異	+	5×50 mg/kg 腹腔内投与	Hoorn et al. 1993
Muta®マウス (lac z 座)	遺伝子突然変異	-	1×50 ~ 100 mg/kg 腹腔内投与	Krebs, Favor et al. 1997
Big Blue TG マウス (リンパ球 Hprt 座)	遺伝子突然変異	+	60×5~10 mg/kg 体重/日 飲水投与	Mei et al. 2010
Big Blue TG マウス (骨髄、甲状腺 cII 座)	遺伝子突然変異	+	60×5~10 mg/kg 体重/日 飲水投与	Mei et al. 2010
Big Blue TG マウス (乳腺、精巣、肝臓 cII 座)	遺伝子突然変異	-	60×5~10 mg/kg 体重/日 飲水投与	Mei et al. 2010
Big Blue TG マウス (肺 cII 座)	遺伝子突然変異	+	28×20~100 mg/kg 体重/日 飲水投与	Guo et al. 2009
Big Blue マウス (精巣 cII)	遺伝子突然変異	+	1.4 mM 又は 7.0 mM の AA 又は GA 飲水投与	Wang RS et al. 2010
Gpt delta TG F344 ラット幼弱雄 (精巣 gpt 座)	遺伝子突然変異	+	28×40~80 ppm 飲水投与	Koyama et al. 2011
Gpt delta TG F344 ラット成獣雄 (精巣 gpt 座)	遺伝子突然変異	-	28×40~80 ppm 飲水投与	Koyama et al. 2011
マウス (出生児被毛色 遺伝子座)	遺伝子突然変異	+	1×50, 75 mg/kg を妊娠雌に腹腔内投与	Neuhaeuser-Klaus, Schmahl 1989
マウス (出生児被毛色 遺伝子座)	遺伝子突然変異	+	3×50, 75 mg/kg を妊娠雌に腹腔内投与	Neuhaeuser-Klaus, Schmahl 1989
マウス (出生児被毛色 遺伝子座)	遺伝子突然変異	+	5×50 mg/kg を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Russell et al. 1991
マウス (出生児被毛色 遺伝子座)	遺伝子突然変異	+	1×100~125 mg/kg を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Ehling, Neuhaeuser-Klaus 1992
ラット (乳腺腫瘍の H-ras 遺伝子)	遺伝子突然変異	+	MNU 50 mg/kg 体重の単回復空内投与でイニシエートした後、0、20、40 ppm で 30 週間飲水投与	Cho YM et al. 2009
ラット (精子遺伝子)	遺伝子突然変異	+	2 週間経口投与	Wang Z et al. 2010
Gpt deltaTG ラット (精巣 gpt)	遺伝子突然変異	+	0~80ppm 4 週間経口	Koyama et al., 2011

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
Big blue マウス (白血球、肝臓)	遺伝子突然変異	+	3 週間、約 100 mg/kg 体重/日飲水投与	Manjanatha et al., 2006
哺乳類細胞による染色体異常				
マウス (骨髄)	染色体異常	+	1×50~150 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1988
マウス (骨髄)	染色体異常	+	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Cihak, Vontorkova 1988
マウス (骨髄)	染色体異常	-	1×100~200 mg/kg 腹腔内投与	Shiraishi 1978
マウス (骨髄)	染色体異常	-	7~21 日、78 mg/kg 体重/日混餌	Shiraishi 1978
ラット (骨髄)	染色体異常	-	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Krishina, Theiss 1995
マウス (脾臓リンパ球)	染色体異常	-	1×50~125 mg/kg 腹腔内投与	Backer et al. 1989
マウス (脾細胞)	染色体異常	-	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Kligerman et al. 1991
マウス (精子細胞)	染色体異常	-	1×50~150 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1989
マウス (精子細胞)	染色体異常	-	1×50~125 mg/kg 腹腔内投与	Backer et al. 1989
マウス (精子細胞)	染色体異常	-	5×100 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1990
マウス (精子細胞)	染色体異常	+	1×50 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1990
マウス (一次分裂受精卵)	染色体異常	+	1×75, 125 mg/kg 又は 5×50 mg/kg を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Pacchierotti et al. 1994
マウス (一次分裂受精卵)	染色体異常	+	5×50 mg/kg 体重/日を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Marchetti et al. 1997
マウス (出生児精子細胞)	遺伝性形質転換	+	5×40~50 mg/kg 体重/日を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Shelby et al. 1987
マウス (出生児精子細胞)	遺伝性形質転換	+	1×50~100 mg/kg 体重/日を無処置雌との交配前に雄に腹腔内投与	Adler et al. 1994
マウス (出生児精子細胞)	遺伝性形質転換	+	5×50 mg/kg 体重/日を無処置雌との交配前に雄に経皮投与	Adler et al. 2004
マウス (出生児精子細胞)	遺伝性形質転換	+	5×50 mg/kg 体重/日腹腔内投与	Adler 1990
マウス (骨髄)	倍数性、異数性	+	1×100~200 mg/kg 腹腔内投与	Shiraishi 1978

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
マウス (骨髄)	倍数性、異数性	+	7~21 日間 78 mg/kg 混餌投与	Shiraishi 1978
マウス (骨髄)	紡錘体形成不全	-	1×120 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1993
マウス (骨髄)	小核	+	1×50~125 mg/kg 腹腔内投与	Adler et al. 1988
マウス (骨髄)	小核	+	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Čihák and Vontorková 1988
マウス (骨髄)	小核	+	2 日間 25~100 mg/kg 腹腔内投与	Cihak, Vontorkova 1988
Gpt deltaTG ラット (骨髄)	小核	+	0~80ppm 4 週間経口	Koyama et al., 2011
マウス (骨髄)	小核	+	1×136 mg/kg 腹腔内投与	Knaap et al. 1988
マウス (骨髄)	小核	+	1,2 又は 3 日間 42.5~100 mg/kg 腹腔内投与	Cihak, Vontorkova 1990
SD ラット (骨髄)	小核	-	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Paulsson et al. 2002
ラット (骨髄)	小核	-	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Krishina, Theiss 1995
ラット (骨髄)	小核	+	0、125、150、175 mg/kg bw 単回強制経口投与	Yener Y and Dikmenli M 2009
マウス (網状赤血球)	小核	+	1×50~100 mg/kg 腹腔内投与	Russo et al. 1994
マウス (網状赤血球)	小核	+	1×25~100 mg/kg 腹腔内投与	Paulsson et al. 2002
マウス (網状赤血球、非染色性赤血球)	小核	-	0, 0.14, 0.70 mmol/kg を生後 1,8,5 日に腹腔内投与	Von Tungeln et al. 2009
マウス (網状赤血球、非染色性赤血球)	小核	-	0, 0.14, 0.70 mmol/kg を生後 1~8 日に腹腔内投与	Von Tungeln et al. 2009
マウス (網状赤血球)	小核	+	28 日間、0~24 mg/kg 体重/日 強制経口投与	Zeiger et al. 2009
マウス (非染色性赤血球)	小核	+	28 日間、0~24 mg/kg 体重/日 強制経口投与	Zeiger et al. 2009
マウス (赤血球)	小核	+	5 日間、0, 25, 50 mg/kg 腹腔内投与	Ghanayem et al. 2005b
Big blue マウス (赤血球)	小核	+	3 週間、約 100 mg/kg 体重/日 飲水投与	Manjanatha et al., 2006
マウス (脾臓リンパ球)	小核	+	1×50~125 mg/kg 腹腔内投与	Backer et al. 1989

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
マウス (脾細胞)	小核	+	1×100 mg/kg 腹腔内投与	Kligerman et al. 1991
マウス (精子細胞)	小核	+	1×10~100 mg/kg 腹腔内投与	Collins et al. 1992
マウス (精子細胞)	小核	+	1×50 ~ 100 又は 4×50 mg/kg,腹腔内投与	Russo et al. 1994
Lewis ラット (精子細胞)	小核	+	1×50 ~ 100 又は 4×50 mg/kg,腹腔内投与	Xiao, Tates 1994
SD ラット (精子細胞)	小核	+	1×50 ~ 100 又は 4×50 mg/kg,腹腔内投与	Lahdetie et al. 1994
マウス (胚細胞)	対合装置異常	-	1×50~150 mg/kg,腹腔内投与	Backer et al. 1989
マウス (胚細胞)	対合装置異常	+	1×50~150 mg/kg,腹腔内投与、減数分裂前期の非対合	Backer et al. 1989
姉妹染色分体交換				
マウス (脾臓リンパ球)	染色分体交換	+	1×50~125 mg/kg,腹腔内投与	Backer et al. 1989
マウス (脾細胞)	染色分体交換	+	1×100 mg/kg,腹腔内投与	Kligerman et al. 1991
DNA 損傷				
マウス (精母細胞、精子細胞)	DNA 切断	+	1×0~125 mg/kg,腹腔内投与	Sega, Generoso 1990
マウス (骨髄、脾臓、肝臓、腎臓、肺、精巣)	DNA 切断	+	1×0~125 mg/kg,腹腔内投与	Dobrzynska et al. 2007
マウス (白血球、肺、肝)	DNA 切断	+	5 日間、0, 25, 50 mg/kg,腹腔内投与 (野生型マウス)	Ghanayem et al. 2005b
Gpt delta TG F344 ラット幼弱/成獣雄 (肝臓)	DNA 切断	+	28×40~80 ppm 飲水投与	Koyama et al. 2011
マウス (精巣細胞及び成熟精子)	DNA 切断	+	0 (水)、20、40、60 mg/kg 5 日間経口投与	Zhang J et al. 2011
ラット (肝細胞)	不定期 DNA 合成	-	1×100 mg/kg 又は 5×30 mg/kg 強制経口投与	Butterworth et al. 1992
ラット (精母細胞)	不定期 DNA 合成	+	1×100 mg/kg 又は 5×30 mg/kg 強制経口投与	Butterworth et al. 1992
マウス (胚細胞)	不定期 DNA 合成	+	1×7.8~125 mg/kg 腹腔内投与	Sega et al. 1990
マウス (精巣)	DNA 付加体 (アルキル化)	+	1×46 mg/kg 腹腔内投与	Sega et al. 1990
マウス (肝臓)	DNA 付加体 (アルキル化)	+	1×46 mg/kg 腹腔内投与	Sega et al. 1990
SD ラット (肝、肺、腎、脳、精巣)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	+	1×46 mg/kg 腹腔内投与	Seegerback et al. 1995

試験系	エンドポイント	結果	試験条件	文献
マウス (肝、腎、脳)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	+	1×53 mg/kg 腹腔内投与	Seegerback et al. 1995
マウス新生児 (全身)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua N3-GA-Ade)	+	1×50 mg/kg 腹腔内投与	Gamboa da Costa et al. 2003
マウス (肝、肺、腎)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua N3-GA-Ade)	+	1×50 mg/kg 腹腔内投与	Gamboa da Costa et al. 2003
マウス (肝、肺、)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua、 N3-GA-Ade)	+	1×1～10 mg/kg 腹腔内投 与	Gamboa da Costa et al. 2003
マウス (肺、肝、脾、 骨髄)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua N3-GA-Ade)	+	0、0.14、0.70 mmol/kg を 生後 1,8,15 日に腹腔内投 与	Von Tungeln et al. 2009
マウス (肺、肝、脾)	DNA 付加体 (N7-GA-GuaN 3-GA-Ade)	+	0、0.14、0.70 mmol/kg を 生後 1～8 日に腹腔内投与	Von Tungeln et al. 2009
マウス (肝)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	+	28 日間、0～24 mg/kg 体重 /日強制経口投与	Zeiger et al. 2009
マウス (肝、肺、腎、 白血球、精巢)	DNA 付加体 (N7-GA-GuaN 3-GA-Ade)	+	1×50 mg/kg 腹腔内投与	Doerge et al. 2005a
マウス (肝)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua N3-GA-Ade)	+	14 日間、1 mg/kg 体重/日 飲水投与	Doerge et al. 2005a
ラット (肝、脳、甲状 腺、乳腺、精巢)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua N3-GA-Ade)	+	1×50 mg/kg 腹腔内投与	Doerge et al. 2005b
ラット (肝)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	+	14 日間、1 mg/kg 体重/日 飲水投与	Doerge et al. 2005b
Gpt delta TG F344 ラ ット幼若雄 (精巢)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	+	28×40～80 ppm 飲水投与	Koyama et al. 2011
Gpt delta TG F344 ラ ット成獣雄 (精巢)	DNA 付加体 (N7-GA-Gua)	-	28×40～80 ppm 飲水投与	Koyama et al. 2011
非哺乳類遺伝子突然変異				
ショウジョウバエ	伴性劣性致死	-	1×40～50mM 腹腔投与	Knaap et al. 1988
ショウジョウバエ	伴性劣性致死	+	48 時間 0.25～5mM 幼虫混 餌	Tripathy et al. 1991
ショウジョウバエ	体細胞突然変異 及び組換	+	1～1.5mM、蛹化まで幼虫 混餌	Knaap et al. 1988
ショウジョウバエ	体細胞突然変異 及び組換	+	10～30mM、蛹化まで幼虫 混餌	Batiste-Alent orn et al. 1991
ショウジョウバエ	体細胞突然変異 及び組換	+	48 時間 0.25～5mM、幼虫 混餌	Tripathy et al. 1991

② *in vitro* 試験

in vitro 試験では、アクリルアミドはマウスリンフォーマL5178Y細胞 (Barfknecht et al., 1988、Knaap et al., 1988、Mei et al., 2008、Moore et al., 1987) 及びヒト前骨髄球性白血病HL-60及びNB4細胞 (Ao et al., 2008) のような哺乳類細胞による幾つかの試験でtk及びHPRT遺伝子座において突然変異を誘発した。

<微生物遺伝子突然変異>

アクリルアミドは*Salmonella typhimurium* or in *Escherichia coli* WP2uvrA-の複数の菌株で代謝活性化の有無にかかわらず復帰変異原性を誘発しなかった (Hashimoto and Tanii, 1985、Jung et al., 1992、Knaap et al., 1988、Lijinsky and Andrews, 1980、Müller et al., 1993、Tsuda et al., 1993、Zeiger et al., 1987)。しかし例外として、TA98及びTA100を用いた幾つかの試験でS9活性化したときのみ弱い陽性がみられた (Zeiger et al., 1987)。

アクリルアミドは、プレート及び液体懸濁アッセイのいずれにおいても、ラット肝ミクロソームの存在下、非存在下に関わらず、サルモネラ株TA 1535、TA 1537、TA 98、及び TA 100 では変異原としての活性はみられなかった (Bull RJ et al., 1984a)。

<哺乳類細胞遺伝子突然変異>

チャイニーズハムスターV79H3細胞 (CYP酵素の遺伝子を発現していない) において、アクリルアミドはHPRT遺伝子座で突然変異を誘発しなかった (Tsuda et al., 1993)。

アクリルアミド (処理濃度0~14 mM)、グリシドアミド (0~2.2 mM) にヒトリンパ芽球TK6細胞を代謝活性化 (ラットS9) 有無で4時間処理し、処理後4時間にCOMETアッセイ、処理後48時間に小核、処理3日にTK (チミジンキナーゼ) 遺伝子突然変異の誘発性を検討した。アクリルアミドは非代謝活性化の高濃度 (>10mM) において、小核及びTKアッセイで軽度の遺伝毒性を示したが、グリシドアミドはいずれの試験系においても0.5 mMから用量相関的かつ有意な遺伝毒性を誘発した。TK変異体の分子解析では、アクリルアミドが主として自然発生性のものと同様なヘテロ接合性の消失 (LOH) を誘発するのに対して、グリシドアミドは主として点突然変異を誘発した (Koyama N et al., 2006)。

<哺乳類細胞染色体異常試験>

哺乳類細胞を用いた染色体異常試験 (Knaap et al., 1988、Moore et al., 1987、Tsuda et al., 1993)、チャイニーズハムスター細胞を用いた紡錘体形成不全試験 (Adler et al., 1993、Knaap et al., 1988、Martins et al., 2007、Tsuda et al., 1993、Warr et al., 1990)、ヒトヘパトーマG2細胞を用いた小核試験 (Jiang et al., 2007) において染色体異常が誘発された。

アクリルアミドはラットの精細管を用いた *in vitro* 試験で小核を誘発しなかったが (Lähdetie et al., 1994)、*in vivo* でアクリルアミドに曝露したげっ歯類の精子細胞で小核を誘発した (Collins et al., 1992、Lähdetie et al., 1994、Russo et al., 1994、Xiao and Tates, 1994)。

<姉妹染色分体交換>

アクリルアミドはチャイニーズハムスターV79細胞において、姉妹染色分体交換を誘発した (Knaap et al., 1988、Tsuda et al., 1993、Martins et al., 2007)。

チャイニーズハムスターV79細胞をアクリルアミド、又はグリシドアミドで処理した試験では、SCEの誘導とDNA付加物であるN7-GA-Gua濃度との間に強い相関性が認められ ($r=0.987$ 、 $p=1.25 \times 10^{-12}$)、姉妹染色分体交換誘導にDNA付加物が重要な作用を及ぼしている可能性が示された。しかし、染色体変化は、N7-GA-Gua濃度と相関しなかったため、他のメカニズムの存在が考えられる (Martins et al., 2007)。

<DNA損傷/修復及びDNA付加体形成>

*Bacillus subtilis*におけるDNA損傷試験 (Tsuda et al., 1993)、ヒトヘパトーマG2細胞を用いたDNA鎖切断及び酸化的DNA損傷試験 (Jiang et al., 2007)、ヒト乳腺上皮細胞を用いた不定期DNA合成試験 (Butterworth et al., 1992)、チャイニーズハムスターV79細胞 (Martins et al., 2007)、マウス胚線維芽細胞 (Besaratina and Pfeifer, 2004) 及びヒト気管支上皮細胞 (Besaratina and Pfeifer, 2004) を用いたグリシドアミド-DNA付加体形成試験においてDNA損傷が誘発された。DNA付加体は、マウスリンフォーマ細胞を20 mMまでのアクリルアミドと培養したときには、検出されなかったが、0.5–4 mM濃度のグリシドアミドではこれらの細胞でDNA付加体が誘導された (Mei et al., 2008)。

発達中のマウス胚の1-, 2-, 4- 及び8-細胞ステージを用い、体外受精の技術 (IVF) 及びRT-qPCRによる単一胚の遺伝子発現 (SEGE) 技術を組み合わせ、主要なDNA修復遺伝子の発現を試験した結果、対照群と比較すると、父動物へのグリシドアミド曝露は胚の遺伝子発現のパターンに変化をもたらし、初期ステージでの発現低下に続き、8-細胞ステージでは発現を増加させた (Brevik A et al., 2011)。

マウスリンフォーマ (L5178Y/Tk⁺/-) にアクリルアミド、又はグリシドアミドを処理した試験では、12 mM以上のアクリルアミド、及び2 mM以上のグリシドアミドにおいて、突然変異頻度の有意な上昇が認められた。グリシドアミド処理細胞では、濃度依存的にグリシドアミドのDNA付加物が形成されたが、8–20 mMのアクリルアミド処理細胞では、グリシドアミドのDNA付加物は検出されなかった。突然変異体のDNA解析では、両者の変異に有意な相違 ($p<0.018$) が認められた。主要な変異は、いずれもTk遺伝子座のヘテロ

接合性の消失 (LOH) であったが、アクリルアミド処理細胞では染色体の半数以上に LOH が認められ、グリシドアミドとは異なったメカニズムによるものと考えられる。アクリルアミドは、酸化物から細胞を防御する求核物質である GSH と相互作用することから、酸化的ストレスを介した DNA 損傷を引き起こすものと思われる (Mei et al., 2008)。

正常な又は DNA 修復欠如したチャイニーズハムスター株化細胞を用いて、哺乳類細胞でのグリシドアミド誘発性の突然変異の性質が検討された。塩基除去修復、ヌクレオチド除去修復、相同的組換えがそれぞれ欠如した 3 種の株化細胞を用いた。塩基除去修復及びヌクレオチド除去修復の切断率で得られた結果は、グリシドアミドで誘発された傷害が、長パッチ修復又はヌクレオチド除去修復よりはむしろ短パッチ除去修復によって修復されることを示した。さらに、最大 8 mmol/L/hr までの濃度において、大部分がグリシドアミドにより誘発された損傷は鎖切断を生じさせるが、これはポリ ADP リボースポリメラーゼを含まないメカニズムによって修復された。著者らは、主鎖リン酸のアルキル化の結果生じる鎖切断が、複製時の相同的組換えによって誤修復されることから、突然変異よりは染色体異常の経路をとると推論している (Johansson et al., 2005)。(JECFA, 2011b)

マウスの精巣細胞及びヒトの末梢血リンパ球 (hPBL) で、アクリルアミドとは対照的にグリシドアミドにより、有意なレベルの DNA 損傷 (鎖切断及びアルカリに不安定な部位) が誘導された。Fpg を使用すると、グリシドアミド誘発 DNA 損傷は、検査した全ての細胞種で 20 から 50 倍の高い感受性が測定された。グリシドアミド誘発 DNA 損傷は、hOGG1 によっては認識できなかった。これは、修復酵素の既知の親和性にに基づき、グアニンの酸化よりむしろアルキル化が関与していることを示唆している。ヒトのリンパ球は、マウス細胞の両方の型よりもグリシドアミド誘発病変への感受性が高いと考えられた。マウスの精巣細胞及びリンパ球はグリシドアミド誘発の Fpg 感応性 DNA 損傷に同じように反応したことが示唆された。Ogg1 (+/+) 及び Ogg1 (-/-) マウス両方の雄生殖前駆細胞とリンパ球において、*in vitro*でのグリシドアミド誘発 Fpg 感応性損傷の修復の低さが観察された (Hansen Siri H et al., 2010)。

<セルトランスフォーメーション>

アクリルアミドの *in vitro* 曝露は幾つかのマウス細胞株及びシリアンハムスター胚細胞で細胞形質転換を誘発した (Abernethy and Boreiko, 1987, Banerjee and Segal, 1986, Park et al., 2002, Tsuda et al., 1993, ATSDR, 2009)。

表 2-32 *in vitro* 遺伝毒性 (ATSDR, 2009 から引用してデータ追加) の概要

試験系	エンドポイント	結果 +S9 -S9	試験条件	文献
微生物遺伝子突然変異試験				
TA98,TA100,TA1535 TA1537	復帰突然変異	- -	10~10,000 µg/plate	Zeiger et al. 1987
TA98,TA100,TA97, TA1535	復帰突然変異	- -	100~10,000 µg/plate	Zeiger et al. 1987
TA98,TA100,TA102, TA1535,TA1537	復帰突然変異	- -	1~100 mg/plate	Knaap et al. 1988
TA98,TA100,TA1535, TA1537	復帰突然変異	- -	0.5~50 mg/plate	Tsuda et al. 1993
TA1535	復帰突然変異	- -	~5 mg/plate	Muller et al. 1993
TA98,TA100,TA1535, TA1537,TA1538	復帰突然変異	- -	~1 mg/plate	Lijinsky and Andrews 1980
TA98,TA100,TA1535, TA1537,TA1538	復帰突然変異	- -	0.5~5,000 µg/plate	Hashimoto and Tanii 1985
TA98, TA100, TA1535, TA1537	復帰突然変異	- -	0.001~3 mg/plate、 3~30 mg/plate	Bull RJ et al. 1984a
WP2uvrA-	復帰突然変異	- -	0.5~50 mg/plate	Tsuda et al. 1993
哺乳類遺伝子突然変異試験				
マウスリンフォーマ L5178Y TK+,tk 座	遺伝子突然変異	+ +	10 mM	Barfknecht et al. 1988
マウスリンフォーマ L5178Y TK+,tk 座	遺伝子突然変異	ND +	0~0.85 mg/ml	Moor et al. 1987
マウスリンフォーマ L5178Y TK+,tk 座	遺伝子突然変異	ND +	0~18 mM	Mei et al. 1988
マウスリンフォーマ L5178Y TK+,tk およ び HPRT 座	遺伝子突然変異	- -	0.5~7.5 mg/ml 細胞毒性濃度でのみ 変異	Knaap et al. 1988
マウスリンフォーマ L5178Y TK+,tk およ び HPRT 座	遺伝子突然変異	+ +	0.1~0.5 mg/ml	Knaap et al. 1988
チャイニーズハムスタ ーV79H3,HPRT 座	遺伝子突然変異	ND -	1~7 mM	Tsuda et al. 1993
ヒト前骨髄球性白血病 HL-60 及び NB4, HPRT 座	遺伝子突然変異	ND +	0~700 mg/ml	Ao et al. 2008
ヒトリンパ芽球 TK6 細 胞	遺伝子突然変異		0~14 mM	Koyama N et al. 2006
哺乳類細胞染色体異常試験				

試験系	エンドポイント	結果		試験条件	文献
		+S9	-S9		
チャイニーズハムスターV79H3	染色体異常	ND	+	0.5~5 mM	Tsuda et al. 1993
チャイニーズハムスターV79	染色体異常	+	+	0.1~3 mg/ml	Knaap et al. 1988
チャイニーズハムスターV79	染色体異常	ND	-	0~2,000 µM	Martins et al. 2007
マウスリンフォーマL5178Y TK+/-	染色体異常	ND	+	0.65~0.85 mg/ml	Moore et al. 1987
チャイニーズハムスターV79H3	倍数性	ND	+	0.5~5 mM	Tsuda et al. 1993
チャイニーズハムスターLUC2 p5	倍数性	ND	+	0.0125~0.5 mg/ml	Warr et al. 1990
チャイニーズハムスターV79	紡錘体障害	ND	+	0.01~1 mg/ml	Adler et al. 1993
チャイニーズハムスターDON:Wg3H	紡錘体障害	ND	+	0.2~2 mg/ml	Warr et al. 1990
チャイニーズハムスターLUC2 p5	紡錘体障害	ND	+	0.01~1 mg/ml	Warr et al. 1990
ラット精細管切片	小核	ND	-	5~50 µg/ml	LAhdetie et al. 1994
ヒト HepG2	小核	ND	+	0~2.5 mM	Jiang et al. 2007
姉妹染色分体交換試験					
チャイニーズハムスターV79	染色分体交換	+	+	0.1~1 mg/ml	Knaap et al. 1988
チャイニーズハムスターV79	染色分体交換	ND	+	0.5~2.5 mg/ml	Tsuda et al. 1993
チャイニーズハムスターV79	染色分体交換	ND	+	0~2000 µM	Martins et al. 2007
DNA 損傷/修復及び DNA 付加体形成					
<i>Batillus sibtillis</i>	DNA 損傷	+	+	1~50 mg/disk	Tsuda et al. 1993
マウスの精巣細胞及びヒトの末梢血リンパ球	DNA 損傷	ND	+	1~5 mM (AA) 20~200 µM (GA)	Hansen Siri H et al. 2010
ヒト HepG2	DNA 鎖切断	ND	+	0~20 mM	Jiang et al. 2007
ヒト HepG2	酸化的 DNA 損傷	ND	+	0~20 mM	Jiang et al. 2007
チャイニーズハムスター株化細胞	DNA 切断・修復		+	0~8 mM	Johansson et al. 2005
F344 ラット初代培養肝細胞	不定期 DNA 合成	ND	-	0.01~1 mM	Butterworth et al. 1992
ヒト乳腺上皮	不定期 DNA 合成	ND	+	1~10 mM	Butterworth et al. 1992

試験系	エンドポイント	結果		試験条件	文献
		+S9	-S9		
チャイニーズハムスターV79	DNA 付加体 (N7-GA-Gua, N3-GA-Ade)	ND	+	0~2,000 µM	Martins et al. 2007
マウスリンフォームL5178Y TK ⁺	DNA 付加体 (N7-GA-Gua, N3-GA-Ade)	ND	-	0~20 mM	Mei et al., 2008
ビッグブルーマウス胎児線維芽細胞	DNA 付加体 (N7-GA-Gua, N1-GA-Ade N3-GA-Ade)	ND	+	0, 0.0032, 0.302, 16 mM	Besaratinia and Pfrifer 2004
ヒト気管支上皮	DNA 付加体 (N7-GA-Gua, N1-GA-Ade N3-GA-Ade)	ND	+	0, 0.320, 3.2 mM	Besaratinia and Pfrifer 2004
セルトランスフォーメーション					
マウス C3H/10T1/2	形質転換	ND	+	25~200 µ/ml	Banerjee and Segal 1986
マウス NIH/3T ₃	形質転換	ND	+	2~200 µ/ml	Banerjee and Segal 1986
マウス C3H/10T1/2	形質転換	ND	-	10~300 µ/ml	Abernethy and Boreiko 1987
マウス BALB/c3T ₃	形質転換	ND	+	0.5~2 mM	Tsuda et al. 1993
シリアンハムスター胚	形質転換	ND	+	0.1~0.7 mM	Park et al. 2002
シリアンハムスター胚	形質転換	ND	-	0.001~10 mM	Kaster et al. 1998

ND: no data, -: negative result, +: positive result

以上のように、代謝活性化を行わない条件ではアクリルアミドは非常に弱い変異原物質であるが、染色体異常誘発物質である。対照的にグリシドアミドは変異原物質であり、染色体異常誘発物質である。(JECFA, 2011b)

6) その他の試験

①炎症マーカー

ラットを用いて低及び高食餌性脂肪の存在下での食品中アクリルアミドと炎症性マーカーとの間の相関性が検討された。コーン油を 70 又は 174g/kg を含む合成飼料を摂食させている F344 雄ラット (8 匹/群) にアクリルアミド (0、5、10、50 mg/kg) を 8 週間投与した。

C 反応性蛋白、細胞間粘着分子-1、血清中パラオキシナーゼ-1 濃度、尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHDG) といった多くの測定パラメータが変化した。低脂肪食ラットではアクリルアミドの投与用量は尿 8-OHDG 及び血清中パラオキシナーゼ-1 活性と有意な正の相関がみられ、ホモシステインとの間では相関はなかった。高脂肪食ラットでは、アクリルアミドは血清パラオキシナーゼ-1 活性、C 反応性蛋白、細胞間粘着分子-1 レベルとの間に有意な負の相関がみられた。これらの変化に関する生物学的重要性は将来の研究に必要となるであろう (Jin et al., 2009)。(JECFA, 2011b)

②キネシン

Sickles らは、アクリルアミド又はグリシドアミドとキネシンの結合が高速の軸索輸送による物質移動を阻害し、その結果としてアクリルアミドの神経毒性が発生するという仮説を提唱した (Sickles et al., 1996)。この「キネシン/軸索輸送」仮説では、キネシン阻害によって高分子の輸送が低下し、最終的に軸索構造の維持と機能に必要なタンパク質の欠乏が引き起こされると考えられている。軸索の体積は非常に大きく、細胞体の直径の 100 倍の長さがあり、末端領域が長距離輸送に依存することから、末梢の軸索と神経終末は特に輸送の欠乏による損傷を受けやすい。牛の脳から精製したキネシンを用いた微小管運動性アッセイでは、用量依存的な阻害と微小管への感受性低下が認められた (Sickles et al., 2002)。(ATSDR, 2009、EPA/IRIS, 2010)

キネシン又はタキソールで安定化させた微小管をアクリルアミドと反応させると、キネシンと微小管との親和性 (キネシンに結合した微小管の数、又はキネシン上で運動する微小管の数) が低下した。運動している微小管はあまり方向性がなく、伸長のふらつきが認められた。これらの阻害は、スルフヒドリルアルキル化を介するアクリルアミドの共有結合的付加反応によるものと考えられた。非毒性類似体であるプロピオナミドには、阻害効果は認められなかった。他の研究では、N-エチルマレイミドやエタクリン酸などのスルフヒドリル剤によるキネシン阻害が確認されており、アクリルアミドと同様、これらのスルフヒドリル剤によって微小管のふらつきが認められた (Walker et al., 1997)。この反応はゆっくりしたものであり、温度依存的であることから、付加物形成の対象となるシステイン残基の立体障害によることが示唆された。グリシドアミドにおいても、キネシンに及ぼす同様の作用が示された (EPA/IRIS, 2010)。

軸索輸送仮説に関連し、キネシンノックアウト、及びヒトの疾患との類似性についていくつかの報告がなされている。ほとんどのキネシンノックアウトは致死的であるが、ショウジョウバエのキネシンモーターにおける低レベルの突然変異は、アクリルアミド曝露と同一の機能障害を示し、軸索病理の形態は類似性を示した (Gho et al., 1992、Hurd and Saxton, 1996)。(EPA/IRIS, 2010)

また、遺伝性痙性対麻痺に分類される神経障害群は、アクリルアミド曝露によって観察される運動失調、痙性、および筋衰弱と同様のパターンを示す。これらの内のいくつかは、キネシンモーターの突然変異と関連しており、その他のものは軸策、またはグリアの蛋白質の突然変異と関連している (Reid et al., 2002)。(EPA/IRIS, 2010)

種々の毒性影響、特に細胞分裂に対する影響を生じさせるアクリルアミドの共通作用部位にキネシンが存在するという仮説を検討するために、DNA 組換え技術を用いて、ラットの精巣由来キネシン関連タンパク質の遺伝子が単離された。適切なタンパク質系を用いて、アクリルアミド、グリシドアミド及びプロピオンアミド (非神経毒性代謝物) について2種の単離したキネシンモーター (KIFC5A、KRP2) の機能に及ぼす影響が検討された。有糸分裂紡錘体形成に必要な、KIFC5A 微小管束化活性 (microtubule bundling activity) を微小管結合アッセイにより測定した。アクリルアミド及びグリシドアミドのいずれにも同様の濃度依存性の微小管結合減少がみられた。アクリルアミド及びグリシドアミドとも 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で結合活性が 60%減少した。KRP2 微小管分解活性をタキソール安定化した微小管から分解したチューブリン量を用いて測定したところ、アクリルアミド及びグリシドアミドのいずれも KRP2 誘発性の微小管分解を阻害した。グリシドアミドは、より強く 500 $\mu\text{mol/L}$ で 60%の有意な阻害を引き起こすが、アクリルアミドで同様な阻害を引き起こすには 5 mmol/L の濃度を要する。プロピオンアミドは、10 mmol/L の KRP2 を除き、キネシンに有意な影響を及ぼさなかった。研究者らは、アクリルアミドが多様なキネシン類に作用して、微小管に基づく機能に高度に依存する器官に毒性を引き起こすと結論付けた (Sickles et al., 2007、JECFA, 2011b)。

③神経毒性の発現と発現機序

アクリルアミドの神経毒性の作用機序に関し、神経末端での NO シグナル伝達障害仮説、軸策輸送障害仮説、及びアクリルアミドが脂質過酸化反応増強や抗酸化状態の低下などに影響する可能性が提唱されている。

Zhu ら (2008) は、アクリルアミド曝露による脂質過酸化反応の増大、抗酸化容量の低下、神経 GSH と抗酸化酵素活性の枯渇などの結果として、活性酸素濃度の上昇、細胞高分子物質の損傷、それに続く神経組織の変性といった一連の事象が引き起こされるという仮説を提唱している。雄 Wistar ラットに 40 mg/kg のアクリルアミドを週に 3 回、2 週間、4 週間、6 週間、及び 10 週間、腹腔内投与した試験では、坐骨神経において時間依存的な MDA 濃度 (脂質過酸化反応の指標) の上昇、GSH 濃度の低下、及び抗活性酸素活性の低下が認められた。これらは、アクリルアミド誘導性神経毒性による電気生理的な変化 (神経伝導速度、複合活動電位の持続時間、振幅、及び潜伏時間) との高い相関性 ($p < 0.05$ 、 $|r| > 0.80$) を示し、上記仮説の根拠となっている (Zhu et al., 2008)。

アクリルアミドによる神経毒性が、NO シグナル伝達障害によって一次作用点である神経末端で起こるといふ仮説は、LoPachin らの研究によって支持されている (LoPachin and Barber, 2006、LoPachin et al., 2008)。アクリルアミドは求電子剤であり、求核剤とミカエリス型の付加物を形成する。生物系の求核剤としては、第一にシステイン残基のスルフヒドリル基が挙げられる (Hinson and Roberts, 1992、LoPachin and DeCaprio, 2005)。フリーのスルフヒドリル基は、還元型チオール状態またはアニオン性チオール化状態において存在し、高度に求核的なチオレートは、アクリルアミドの選択的な付加物の対象となることが示されている (Friedman et al., 1995、LoPachin et al., 2007b)。

In vitro、*in vivo* のいずれにおいても、アクリルアミドの曝露によって神経伝達物質の放出、再取り込み、及び小胞貯留の障害が生ずることが示されており (Barber and LoPachin, 2004、LoPachin et al., 2004、LoPachin et al., 2006、LoPachin et al., 2007)、プロテオーム解析では、シナプス機能の障害が細胞内小胞輸送を司る N-エチルマレイミド感受性因子の Cys264、及び v-ATPase の Cys254 などの神経伝達物質処理制御蛋白質のシステインとの付加物形成によることが示された (Barber and LoPachin, 2004、Barber et al., 2007、Feng and Forgac, 1992、LoPachin and Barber, 2006、LoPachin et al., 2007a、LoPachin et al., 2007b、LoPachin et al., 2009)。制御蛋白質のアニオン性スルフヒドリル基は NO の受容体であるため、アクリルアミドによって誘導される神経毒性は、神経の NO シグナル伝達障害による結果であるとの仮説が導き出された (LoPachin and Barber, 2006、LoPachin et al., 2008)。

F344 ラット (雄 7 匹 ; 中脳黒質及び線条体観察用、雄 8 匹 ; 頭頂葉皮質観察用) にアクリルアミド (44 mg/kg 体重/日) を 14 日間飲水投与し、その後のラット前脳の神経病理の兆候及び mRNA 発現の変化を観察した。線条体、黒質及び頭頂葉皮質中の mRNA レベルの変化について cDNA 及び/又は RT-PCR によって測定した。投与により有意な体重減少及び自発運動の減少がみられた。これらの生理学的影響は前脳の遺伝子発現の顕著な変化を伴ってはいなかった。大脳の 3 部位で評価された 1200 遺伝子でみられた全遺伝子発現変化は 1.5 倍以下であり、大部分は有意ではなかった。たとえあったとしてもほんの僅かではあったが、統計的有意差が線条体、黒質或いは頭頂葉皮質中のコリン作動性、ノルアドレナリン作動性、GABA 作動性或いはグルタミン作動性と直接関係する 50 以上の遺伝子の mRNA レベルにみられた。ドーパミン作動性機能と関連した遺伝子でみられた全発現変化は 1.5 倍以下であり、有意差もみられなかった。また、5HT1b 受容体についてはセロトニン関連遺伝子のみに影響がみられた。軸索細胞体、樹状細胞体或いは神経細胞体損傷に関する組織学的証拠は前脳ではみられなかった。著者らは、アクリルアミドは最大耐量においても顕著な遺伝子発現変化や中枢神経系の運動及び体性感覚野での神経毒性を誘発しないと結論した。 (Bowyer et al., 2009、JECFA, 2011b)

アクリルアミド投与により開脚幅の増加、握力の低下、自発運動の低下といった特徴的な神経症状が誘発された幼若ラットを用いて、Affimetrix Rat Genome 230 2.0 アレイによるトランスクリプトーム解析が行われた。筋収縮、疼痛、ドーパミン作動性ニューロンの関与する幾つかの遺伝子の発現に有意差がみられた。脊髄では筋収縮に関与する *MyIpf* 遺伝子の発現が、坐骨神経では神経因性疼痛を制御するオピオイド受容体遺伝子 *Oprk1* の発現が、小脳ではドーパミン作動性ニューロンの発達を必要とする核受容体遺伝子 *Nr4a2* の発現がいずれも抑制された。これらの遺伝子はアクリルアミドの神経毒性とは関係ないとされていたが、アクリルアミドにより誘発される健康影響のリスクを評価するバイオマーカーになるものと思われる。(Scale et al., 2012)

妊娠雌ラットの妊娠期間中にアクリルアミド (30 mg/kg 体重/日) 又はフライドポテトチップス (30%含有飼料) を与え、新生児の神経系に及ぼす影響が検討された。アクリルアミド又はフライドポテトチップス投与によりいずれも、児動物の成長抑制、体重低下、脳重量減少を示した。母動物の小脳皮質ではプルキンエ細胞と内顆粒層の減少が、児動物では脳のプルキンエ細胞と神経細胞に種々のパターンの細胞死がみられた。プルキンエ細胞の電顕検査では小胞体の変化、ポリリボゾームの正常配列の欠如、異常に分化したクリステを持つ肥大したミトコンドリア及びゴルジ装置の異常がみられた。腓腹筋では筋原線維の変性がみられた。(El-Sayyad et al., 2011a)

SD ラットにアクリルアミドを妊娠 6 日から生後 21 日の離乳時まで飲水投与し、児動物について免疫組織化学的に検査し、さらに海馬歯状回門のリーリンの発現が検討された。また、アクリルアミド (50 mg/kg) を哺育期間中の児動物の腹腔内に 3 回/週で直接投与する群を設けた。直接投与児動物と同様に母動物投与児動物において 100 ppm で体重減少がみられた。すなわち、リーリン免疫反応性細胞数 (25 ppm 以上) 及びグルタミン酸脱炭酸酵素 67-免疫反応性細胞数 (50 ppm 以上) に用量相関的な増加がみられ、 γ -アミノ酪酸作動性介在神経細胞の増加が確認された。海馬歯状回の下顆粒層で産生される神経芽細胞のアポトーシスが、100 ppm 群及び直接投与児動物でみられた。神経発達中に母動物にアクリルアミドを曝露することにより引き起こされた神経の発達障害及び神経細胞の誤移動を修正するための代償性の調節メカニズムが存在することが示唆された。アクリルアミドの LOAEL は 25 ppm (3.72 mg/kg 体重/日) であった。(Ogawa et al., 2011)

ラット脈絡叢の密着結合タンパクである ZO-1 及び血液脳脊髄液関門の透過性に対するアクリルアミドの影響が検討された。アクリルアミド (20 mg/kg 体重/日) を 5 日/週で 4 週間腹腔内投与し、神経行動試験 (知覚及び運動機能検査) 及び脳脊髄液中のエヴァンスブルー及びフルオレセイン-Na の測定を行った。また、脈絡叢上皮細胞中の ZO-1 mRNA を RT-PCR で測定した。テールフリック潜時が 3 週及び 4 週に 27.77%及び 53.71%延長し、同

じく後肢開脚幅は 131.76%及び 153.77%ひろがった。脳脊髄液中のエヴァンスブルー及びフルオレセイン-Na 濃度は有意に高く、脈絡叢上皮細胞中の ZO-1 mRNA の発現レベルは有意に低かった。以上のことから、アクリルアミドはラットの血液脳脊髄液関門の透過性を増加させ、中枢神経障害を引き起こすことを示唆した。(Yao et al., 2012)

腸管神経細胞、グリア細胞、及び平滑筋の *in vitro* 共培養モデルに、神経毒性物質であるボツリヌス A、過酸化水素及びアクリルアミドに曝露した際の影響を検討した。共培養モデルを神経毒性物質に急性曝露(0~24 時間)した際の、生存神経細胞、軸索の変性及び再生、及び神経伝達物質の放出、及びそれらの回復性(96~144 時間)が評価された。各々の神経毒性物質に対する固有或いは選択的な反応がみられ、アクリルアミド(0.5~2.0 mM)では神経細胞の欠損が無く、軸索数が 30%減少した。一方過酸化水素(1~200 microM)では軸索及び神経細胞数の両者において欠損がみられた。軸索損傷と平行して、脱分極によるアセチルコリン放出を強烈に抑制するシナプスの小胞タンパク欠損を免疫ブロッティングにより検出した。カスパーゼ阻害剤である zVAD は神経細胞死を有意に抑制したが、DEVD は抑制しなかった。このことは大部分がアネキシン V と開裂型カスパーゼ-3 染色により立証されるカスパーゼ-3/7 非依存性メカニズムのアポトーシスであることを意味している。対照的にボツリヌス A (2 microg/mL) は神経細胞の生存或いは軸索構造への影響はなく、アセチルコリンの放出を 40%低下させた。アクリルアミド及び過酸化水素への曝露後 96 時間に、一部の神経細胞欠損に関係なく、軸索数は回復し対照群より増えることもあったが、アセチルコリン放出は強烈に抑制されたままであった。神経毒性物質に対する神経系の反応は初期には固有のものであるが、その後強固な軸索変性に収束する。また、神経伝達物質の放出は損傷に対して弱く、回復は遅い。(Louressen et al., 2009)

雌ラット(成体)にアクリルアミド 50 mg/kg 体重を腹腔内に投与し、さらにアクリルアミド投与の前に 4 種のメラトニン誘導体(その化学構造はスペクトルデータを分析することにより確認した。) 50 mg/kg 体重を腹腔内投与した。アクリルアミド投与単独では、脳の MDA 及び LDH 活性の有意な増加をもたらした。脳モノアミンレベル及び抗酸化酵素活性の有意な減少をもたらした。アクリルアミドに先だってメラトニン誘導体 4 種を投与した場合は、脳 MDA レベル及び LDH 活性は減少し、それに付随して脳モノアミン及び抗酸化酵素活性は有意に増加した(Ahmed HH et al., 2010)。

マウスにおいて、アクリルアミドは、神経前駆細胞の増殖を有意に低減し、高濃度アクリルアミドは、アポトーシス及びネクローシス細胞死を誘導した。また、活性酸素種の細胞内レベルの上昇は、アクリルアミド媒介性細胞傷害に関与していた。幼若マウスにアクリルアミドを投与すると、海馬の歯状回で新たに生成された細胞の数が有意に減少し、それは成体の神経新生の減損を示唆した。これらの結果から、中枢神経系へのアクリルアミド

の有害な影響は、神経前駆細胞の死及び成体の神経新生障害に起因していることが示唆された (Park HR et al., 2010)。

SD ラットにおいて、メラトニンはラットでのアクリルアミド誘発性の毒性に対してほとんど影響を及ぼさなかった (Zeng L et al., 2011)。

④がんの発生機序

アクリルアミドについて、Sencar マウスで皮膚腫瘍イニシエーター及び A/J マウスで肺腺腫の誘発能力が調べられた。また、アクリルアミドは、雌の Sencar マウスの皮膚における腫瘍イニシエーターとしての能力はエチルカルバメートに近似していることがわかった。エチルカルバメート同様アクリルアミドは、局所適用に比較すると全身経路による投与の方が強力であった。さらに、アクリルアミドは、経口及び腹腔内投与 (いずれも 0、12.5、25、50 mg/kg で 6 回/2 週間) した雄及び雌の A/J マウスで肺腺腫を誘発することが判明した。アクリルアミドは、肺腺腫の誘発において、エチルカルバメートの約7分の1の強さであった。上記のデータは、アクリルアミドがエチルカルバメートに類似する発がん性を有するという仮説を実証するものである (Bull RJ et al., 1984a)。

12.5 から 50 mg/kg の用量範囲でアクリルアミドを雌の ICR-Swiss マウスに 2 週間に各 3 日以上 (合計用量 0、75、150、及び 300 mg/kg) 経口投与した。2 週間後、その動物の何匹かには、1 匹当たり 2.5 µg の TPA を週 3 回投与する等のプロモーション計画を開始した。皮膚は毎週、また肺は 1 年後に腫瘍生成を観察した。アクリルアミドは皮膚の扁平上皮細胞腺腫及びがんをイニシエートすることが判明し、肺の腺腫及びがんの生成を増加させた。皮膚腫瘍生成は 12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート (TPA) プロモーションに依存した一方、肺腫瘍誘発は依存しなかった (Bull RJ et al., 1984b)。

乳腺及び甲状腺に対するアクリルアミドの影響を修飾する可能性を持つ薬剤のスクリーニングをするための中期発がんモデルを確立するため、ラットに 7,12-ジメチルベンゾ (a) アントラセン (DMBA) を N-ビス (2-ヒドロキシプロピル) ニトロソアミン (DHPN) と組み合わせ、あるいは N-メチル-N-ニトロソ尿素 (MNU) 単独で前処置し、その後 アクリルアミド を 20 及び 40 ppm を飲料水中で 30 週間投与した。乳腺腫瘍の発生頻度及び多重性は、MNU 投与ラットの高用量群で増加した (p<0.05) が、DMBA+DHPN 投与ラットでは増加しなかった。いかなる試験条件においても、甲状腺腫瘍は誘発されなかった (Imai T et al., 2005)。

MNU でイニシエートしたラットにおいて誘発された乳腺腫瘍の H-ras 遺伝子の変異が、その後続のアクリルアミド投与の有無により調べられた。コドン 12 の GGA から GAA への変

異の頻度は、アクリルアミド投与無しのラット（50%、18 腫瘍中 9 例）に比べ、アクリルアミド投与ラット（82%、28 腫瘍中 23 例）では有意に（ $p<0.05$ ）高かった。H-ras 変異保有の腫瘍の潜伏期と量は変異無しの腫瘍と同様であった。どちらの投与群においても、コドン 13 又は 61 の変異は検出されなかった。コドン 12 における H-ras 遺伝子変異が、発がんのイニシエーションに重要な役割を果たすことが示された。N-メチル-N-ニトロソ尿素（MNU）投与ラットにおいて、アクリルアミド投与は、他のゲノム又は非ゲノム現象によりイニシエートされた細胞を選択的共刺激及び（又は）維持するという可能性があるようである（Cho YM et al., 2009）。

36 匹の産後の F344 ラットに、アクリルアミドを 0、20、40 又は 80 ppm 含む飲料水を授乳期 3 週間与え、離乳後の児動物に同じアクリルアミド含有量の水をさらに 3 週間与えた。仔動物に、その後 N-メチル-N-ニトロソ尿素（NMU；40 mg/kg 体重、腹腔内投与）を生後 7 週後に一度与えた。0 及び 40 ppm 群の半分のラットにはそれ以降追加的に抗甲状腺剤スルファジメトキシシン（SDM;125 ppm）を飲料水中で投与した。その結果、脳、脊髄、下垂体、甲状腺、副腎、子宮、乳腺、陰核腺、精巣鞘膜といった、アクリルアミド及び（又は）MNU の標的組織においては、過形成性及び腫瘍性病変の発生頻度に有意な差はなかった（Takami S et al., 2010）。

マウス上皮細胞において、アクリルアミドは COX-2 の発現を増加させた。AP-1 及び NF- κ B はアクリルアミド投与により、活性化された。アクリルアミドは ERK のリン酸化を誘発し、またこれは U0126 の投与により消失した。このことは MEK/ERK のシグナル伝達経路が COX-2 発現を調節することを示唆している。さらに、MEK/ERK シグナル伝達経路の天然物阻害剤であるミリセチンは AP-1 及び NF- κ B の活性化及びアクリルアミド誘発性の COX-2 プロモーター活性を減少させた（Lim TG et al., 2011）。

F344 雄ラットにあらかじめアゾキシメタンを単回皮下投与し、その後アクリルアミドを 0、5、10、50 mg/kg 飼料の用量で 8 週間混餌投与した。飼料は低脂肪（7%コーン油）又は高脂肪（23.9%コーン油）食とした。脂質含量にかかわらず、アクリルアミドの最高用量（50 mg/kg 飼料）を給餌したラットではそれぞれの対照群と比較して有意に総腺窩巣が少なく（ $P<0.05$ ）また、大きな腺窩巣（4 個以上の腺窩/巣； $P<0.001$ ）も少なかった。高脂肪対照群と比較して、高脂肪のアクリルアミド 10 mg/kg 飼料群で大きい腺窩巣の数が有意に少なかった。これは、アクリルアミドがラット結腸のアゾキシメタン誘発性の前癌病変を進展させるリスクを増加させないことを示唆した（Raju J et al., 2011）。

⑤内分泌

Fischer 344 雄ラットにアクリルアミド (25、100、500 μ g/mL (2.5、10 及び 50 mg/kg 体重/日相当)) を 14 日間飲水投与し、内分泌反応性器官において腫瘍を誘発する原因としての内分泌機能障害を検討する試験が行われた。これらの用量は、低用量としては生涯曝露で発がん性を示す用量に基づき、高用量としては神経毒性を発現させる用量に基づき設定した。エンドポイントとして甲状腺ホルモン及び下垂体ホルモンの血清濃度、ホルモン合成、放出、受容体を含む標的器官の遺伝子発現、内分泌の恒常性に影響する中枢神経系の神経伝達物質、標的器官の病理検査を含めて測定した。

どの群にも死亡はみられなかった。2.5 及び 10 mg/kg 体重/日投与群では一般状態の変化はみられなかったが、50 mg/kg 体重/日投与群では嗜眠及び後肢麻痺及び体重増加抑制 (対照群の 7~8%) がみられた。視床下部及び下垂体中甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、甲状腺ホルモン受容体 α 及び β の mRNA レベルに有意な変化は認められなかった。また、その他のホルモン或いは放出因子である、甲状腺中サイログロブリン、サイロイドペルオキシダーゼ、Na-I 共輸送体或いは I 型脱ヨード酵素の mRNA レベル、血清中 TSH、T3 (T4 は高用量のみ減少した) 濃度、視床下部及び下垂体中のドーパミン作動性緊張或いは甲状腺又は下垂体の細胞増殖の増加 (Mki67 mRNA レベル及び Ki-67 蛋白量は上昇しなかった) はみられなかった。対照群と比較して、高用量群で細胞の形態 (肥大、過形成、巨大核及び変性)、細胞増殖或いはアポトーシス等の変化は誘発されなかった。著者らはげっ歯類におけるアクリルアミドの発がん性に関する作用機作の一つである内分泌障害とこれらの結果とは一致しないと結論した。(Bowyer et al., 2008a,b, JECFA, 2011b)

⑥肝ミトコンドリア関連遺伝子

トランスジェニック Big Blue マウスにアクリルアミドを 500 mg/mL 又は等モルのグリシドアミドを 3 又は 4 週間飲水投与し、肝臓ミトコンドリア関連遺伝子の発現量が検討された。アクリルアミド及びグリシドアミド投与マウスにおいて、542 のミトコンドリア関連遺伝子の転写プロファイリングでは 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase family と関連した遺伝子に有意なダウンレグレーションがみられ、肝ステロイドの代謝変換にこれらの物質が何らかの役割を果たしていることが示された。また、脂質代謝と関連した遺伝子にも変化がみられた。アクリルアミド投与のみで、酸化的リン酸化、特に ATP 合成関連遺伝子の発現量が有意に増加し、肝臓でのエネルギー要求の増加を示唆した。さらにアクリルアミド投与では、還元型グルタチオン (GHS) 濃度の減少と共にグルタチオン-s-トランスフェラーゼ活性に有意な増加がみられ、このことはアクリルアミドの肝臓での GHS 抱合能の増加を示唆した。以上、アクリルアミド及びグリシドアミドは肝臓で種々の作用を示し、ミトコンドリアが重要な役割を果たすことが示唆された。(Lee et al., 2012)

(3) ヒトへの影響

1) 急性毒性

アクリルアミドの中毒例として、中枢及び末梢神経系の障害が認められている。

アクリルアミドによる中毒では、筋力低下、感覚異常、四肢の知覚麻痺、歩行異常といった神経障害がみられ、症例によっては異常な疲労感、嗜眠、記憶障害、めまい、手足の異常発汗、言語障害も認められる (Nordander et al., 1998、森本ら, 1975)。

①経口曝露

アクリルアミドの急性中毒例として、体重 48 kg の女性がアクリルアミド約 18 g を自殺目的で服用し、5 時間後に幻覚、血圧低下、9 時間後に消化管出血、末梢神経障害、肝障害、それらに起因する発作がみられた (Donovan and Pearson, 1987)。

福岡県の家族 5 名が 500 ppm 前後のアクリルアミドに汚染された井戸水を約 1 か月間飲用した中毒例では、歩行障害、記憶障害、幻覚、言語障害、四肢のしびれ感、手足の異常発汗、味覚異常等が報告されている (森本ら, 1975、Igisu H et al., 1975)。

②職業曝露

米国の工場労働者でアクリルアミドと接触して 6 か月間経費曝露を受けた (曝露量不明) 25 歳男性の中毒患者では、手のひら、足の裏に強い刺激、しびれ、潰瘍、疲労感、食欲減退、過度の発汗、言語障害、前肢運動不調和、運動失調がみられ、対称的多発性神経障害が引き起こされた。また、腓腹神経生検材料の電子顕微鏡検査では焦点軸索腫が頻繁にみられた (Davenport et al., 1976)。

工場労働者のアクリルアミド中毒 6 例 (曝露量不明) について、神経系-末梢神経障害と中脳障害が示されており、主な症状は、手足の痺れと感覚異常、脱力感 (下肢で最も顕著)、手の発汗増加と掌の紅斑と皮膚剥離等であった。曝露を除去した後は、重症性の低い中毒者は完全に回復するが、それには 2 か月から 12 か月かかる場合がある。より重篤な中毒者に関しては、完全な回復が出来るかどうか懐疑的である。(Garland TO and Patterson MWH, 1967)。

仕事中にアクリルアミドに曝露し、その後末梢神経障害及び運動障害を引き起こした 6 名の患者のうち 3 名に対して抹消神経伝導の電気生理学的試験が、2 名に対して腓腹神経生検が実施された。神経障害は運動及び感覚繊維両方に及んでいた。運動失調は感覚喪失に比例していなかったため、抹消神経のみならず脳幹が毒されていることを示唆していると思われたとしている (Fullerton PM., 1969)。

アクリルアミドを掘削した土、粘土、石の壁の中に触媒と一緒に液体状態で汲み上げ、その後重合して防水シールドを作る作業員（21 歳、男性）についての中毒報告（曝露量不明）では、14 週間の作業（曝露量不明）で、接触性皮膚炎、及び、汗を滴下し、青ざめ、四肢が冷えるような症状を伴う多発性神経障害を引き起こした。アクリルアミドとの接触を絶った後 6 か月時点では、その患者は臨床的に完全に回復した（Auld RB and Bedwell SF, 1967）。

中国河西省でアクリルアミドとアクリルニトリルの混合物に重度に曝露した 41 名の作業員に対し、総合的な医療検査及び神経学的検査を実施した。また、血液及び尿について数種の曝露バイオマーカーを用いた測定を行った。アクリルアミドが誘発する末梢神経障害に特化した神経毒性指数は、徴候や症状、振せんしきい値及び神経筋電図測定値などの定量可能な指標に基づいて設計した。

同都市の対照群と比較すると、曝露した作業員では神経系障害の症状と徴候の頻度は統計的に増加していた。神経毒性指数は、24 時間後の尿中のメルカプツール酸のレベル、アクリルアミドのヘモグロビン付加体、*in vivo* 投与したアクリルアミドの推定存続時間、就業時間、及び振動感度と有意に相関していた。神経毒性指数はアクリルアミドのヘモグロビン付加体とも相関していた。バイオマーカーとして、ヘモグロビン付加体はアクリルアミド誘発抹消神経障害の予測因子として有用であり、振せんしきい値はアクリルアミドへの危険な曝露をとまなう仕事場での早期神経毒性影響を同定するために有用とされた（Calleman CJ et al. 1994）。

スウェーデンにおける薬液注入工事の工事作業員 242 名中 223 名に対する調査（曝露量不明）では、6 か月の経皮曝露及び吸入曝露があった。皮膚や粘膜に対する刺激性、咳、息切れ、頭痛、吐き気、めまい 77 名の血液サンプルからヘモグロビン付加体検出 50 名に対して 6 か月後再調査手足のチクチクした痛み、しびれ感がみとめられた。（Nordander et al. 1998、Hagmer et al. 1998）。

アクリルアミドに曝露した 71 名の作業員及び 51 名の非曝露対照者について試験した。本試験の職業的アクリルアミド中毒の診断基準において、重度の中毒 3 例、中程度の中毒 6 例、軽度な中毒 43 例が明らかになった。アクリルアミド中毒の総有病率は 73.2 %であった。アクリルアミドに曝露した作業員の初期症状は、足の弱り及び手足のしびれと、それに先立つ手の皮膚剥離であった。これらの初期の兆候は、つま先の振動感覚障害（しびれ）及び足首の反射喪失であった。3 例では曝露量の高さにより小脳の障害（cerebellar involvement）とそれに引き続く多発性神経障害が起こった。筆者らは本調査から、感覚活動電位の振幅（the sensory action potential amplitude）の減少、筋電図検査での神経異常、足首腱反射遅延の延長などを含む神経筋電図の変化は、アクリルアミドの神経毒性の早期発見に大きな重要性を持つ。なぜなら、これらの変化は神経障害の症状及び徴候に先行する可能性がある

からであるとしている (He et al.1989)。

表 2-33 アクリルアミドの職業曝露等による毒性発現の事例

対象集団 性別・人数	曝露状況	曝露量	結果	文献
女性 体重: 48 kg	経口曝露 単回 自殺目的で服用	約 18 g	5 時間後幻覚、血圧低下がみられ、9 時間後まで発作がみられた。3 日後には消化管出血、呼吸困難、末梢神経障害、肝障害がみられた。	Donovan and Pearson, 1987
家族 5 名 (成人 3 明、 児童 2 名) 福岡県	経口曝露 1 か月 薬液注入工事によるアクリルアミド汚染井戸水の摂取中毒	500 ppm のアクリルアミドを含む井戸水	歩行障害、記憶障害、幻覚、言語障害、四肢のしびれ感、手足の異常発汗、味覚異常、全身の冷熱感覚異常、複視、尿閉	森本ら, 1975 Igisu H et al. 1975
工場労働者 25 歳男性 米国	経皮曝露 6 か月	ND	手のひら、足の裏に強い刺激、しびれ、潰瘍、疲労感、食欲減退、過度の発汗、言語障害、前肢運動不調和、運動失調、大径神経線維の消失	Davenport et al. 1976
工場労働者 6 名	経皮曝露、吸入 曝露	ND	手足の痺れ、感覚異常、脱力感(下肢で最も顕著)、手の発汗増加、掌の紅斑、皮膚剥離等。運動失調及び末梢神経障害	Garland TO and Patterson MWH, 1967
工場労働者 (上記)のうち 3 名	経皮曝露、吸入 曝露	ND	神経障害は運動繊維及び感覚繊維に及んでいた	Fullerton PM., 1969
工事作業員 1 例	経皮曝露、吸入 曝露	ND	接触性皮膚炎、発汗、青ざめ、四肢が冷えるような症状を伴う多発性神経障害	Auld RB and Bedwell SF, 1967
工場作業員 41 名	経皮曝露、吸入 曝露	ND	神経系障害の症状と徴候の頻度増加。	Calleman CJ et al. 1994
工事作業員 242 名 スウェーデン	経皮曝露、吸入 曝露 6 か月 薬液注入工事	ND	242 人中 223 人に対する調査。皮膚や粘膜に対する刺激性、咳、息切れ、頭痛、吐き気、めまい 77 人の血液サンプルからヘモグロビン付加体検出 50 人に対して 6 か月後再調査手足のチクチクした痛み、しびれ感	Nordander et al. 1998 Hagmer et al. 1998
工場労働者 71 名 中国	経皮曝露 1~18 か月	0.03 mg/m ³ 最大 410mg/L	手の皮膚の落屑、手足の麻痺、手足の冷え、疲労、眠気、筋力低下、食欲不振、倦怠感、歩行障害、発汗、把握困難、めまい	He et al. 1989

ND: 不明

2) 慢性毒性及び発がん性

食事とがんに関するオランダのコホート研究では、55～69歳の62,573名の女性について、そこから2,589名の女性のランダムなサブコホートが選択された。11.3年のフォローアップ後、子宮内膜癌、卵巣癌、乳癌、各327、300及び1,835事例が記載された。食事中のアクリルアミド摂取が増加すると、特に非喫煙者において、閉経後の子宮内膜癌及び卵巣癌のリスクの増加が観察された。乳癌リスクとアクリルアミド摂取との関連はみられなかった (Hogervorst et al., 2007)。

2009年には、55～69歳の男性58,279名、女性62,573名の中でオランダ症例-コホート研究を実施して肺癌リスクと食事からのアクリルアミド摂取との関係を調べた。その結果、男性では肺癌リスクと関連していなかったが、女性では逆の関連がみられ、腺癌で最も強くみられた。この所見はアクリルアミドがヒトの発がんに関連する経路により関与していることを示唆している (Hogervorst et al., 2009b)。

また、同様のオランダコホート研究で、ランダムな5,000人のサブ集団の16.3年の追跡期間中には口腔癌、口腔一下咽頭癌、喉頭癌、甲状腺癌がそれぞれ、101、83、180、66例みられた。これらのがんリスクと食事からのアクリルアミド摂取とは関連していなかった (Schouten et al., 2009)。

スウェーデンの前向きコホートにおける長期の食事摂取からのアクリルアミド曝露と、前立腺癌 (Larsson et al., 2009a)、乳癌、上皮性卵巣癌、子宮内膜癌の関連性が調査された。前立腺癌については、平均9.1年の追跡期間中にコホート中2,696例の前立腺癌を確認し、アクリルアミド摂取量との関連はみられなかった。また、スウェーデン・マンモグラフィ・コホートは66,651人(1914～1948年生まれ)で平均17.4年の追跡期間中にコホート中に、浸潤性乳癌の診断2,952例 (Larsson et al., 2009d)、浸潤性上皮性卵巣癌の発生368例 (Larsson et al., 2009e)、子宮内膜癌687例の子宮内膜腺癌 (Larsson et al., 2009b) については、食事からのアクリルアミドの摂取との関連性があるという証拠は得られなかった。

米国における食事中アクリルアミドの摂取と閉経前の乳癌との25～42歳の女性登録看護師(116,671名)の前向きコホート研究であるNurses' Health Study IIの下で、不適格者を除いた90,628名を対象に調べた疫学研究が行われた。14年間の追跡期間中に1,179例の浸潤性乳癌が確認された。最高五分位(平均37.8 µg/日曝露)の最低五分位(平均10.8 µg/日曝露)に対する閉経前乳癌の調整相対リスクは0.92 (95% CI, 0.76～1.11; Ptrend = 0.61)であった。この結果は喫煙の状況や、腫瘍のエストロゲン及びプロゲステロン受容体の状態によらず同じであった。また、年齢、BMI、アルコール摂取、血糖負荷で層化してもAA摂取と乳癌リスクの関連に有意な違いは認められなかった。フレンチフライ、コーヒー、セリアル、ポテトチップ、ジャガイモ、焼き菓子等のAA含量の高い食品と乳癌リスクとの関連も認められなかった。(Wilson KM et al., 2009b)。

同様に、Nurses' Health Study の米国人女性看護師（30～55 歳）121,700 名を対象に 1976 年に開始された前向きコホート研究では、1980 年から 2006 年の間に 6,301 例の浸潤性乳癌、484 例の浸潤性子宮内膜腺癌、416 例の上皮性卵巣癌が確認され、乳癌には関連はみられなかった。子宮内膜癌及びおそらく卵巣癌のリスクは、高アクリルアミド摂取者で高かった（Wilson et al., 2010）。

米国における前立腺癌に関する前向きコホート研究についても、1986～2006 年まで、5,025 の前立腺癌症例、642 の致死癌の症例については、米国の食事の範囲内において、アクリルアミド摂取量が前立腺癌リスクの増加と関連するという証拠は見いだせなかった（Wilson KM et al., 2012）。

英国で、11 年を中央値として追跡調査した英国女性のコホート研究における 35～69 歳の女性 33,731 名では、1,084 の乳癌症例について食事中からのアクリルアミド摂取との間に関連性は示されなかった（Burley VJ et al., 2010）。

食品中からのアクリルアミド摂取と、エストロゲン及びプロゲステロン受容体と関連付けた閉経後乳癌リスクとの関連がオランダの食事とがんに関するコホート研究において評価された。5569 歳の女性 62,573 名を登録して 1986 年に開始された。13.3 年の追跡期間後、2,225 件の乳癌発症が確認され、ホルモン受容状態情報は 43%であった。エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）と喫煙状況に関して階層化し、食物からのアクリルアミド摂取の五分位ハザード比を決定するため、Cox 比例ハザード解析が適用された。

喫煙状態に関わらず、全体的乳癌リスクにも受容体陰性乳癌リスクにも関連性は見受けられなかった。非喫煙女性において、統計的に有意ではないリスク増加が、ER 陽性、PR 陽性及びその両方の受容体陽性乳癌で見受けられた。アクリルアミド摂取量の最高五分位群（中央値 36.8 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）の女性を最低五分位群（中央値 9.5 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）の女性と比較した場合、多変量補正ハザード比は、ER 陽性に対して 1.31（95% CI: 0.87～1.97, P（傾向）= 0.26）、PR 陽性に対して 1.47（0.86～2.51, P（傾向）= 0.14）及び ER と PR 陽性に対して 1.43（0.83～2.46, P（傾向）= 0.16）であった。閉経後の喫煙未経験女性における、食物からのアクリルアミド摂取と受容体陽性乳癌リスクの間には、正の相関性があるといういくつかの兆候が示された（Pedersen GS et al., 2010）。

イタリアのケースコントロール研究では、主要な大学付属総合病院に入院した 326 名の偶発的な膵臓癌の患者に対して、飲食物中のアクリルアミドと膵臓癌の間に何ら関連性は見いだせなかった（Pelucchi C et al., 2011a）。

アクリルアミド曝露とがん研究に関する文献 586 件を対象として、クリティカルレビュー及びメタ解析が実施された。10 g/日以上のアクリルアミド摂取に対する相対リスクは、全てのがんに対して1に近く、食道癌の0.98から大腸、子宮、卵巣及び腎臓癌の1.01の範囲に及んだが、推計値はいずれも有意ではなかった。高度職業曝露に対する標準化死亡比は、膵臓癌に対しては1.67 (95% CI 0.83~2.99) で、腎臓癌に対しては2.22 (95% CI 0.81~4.84) であった。ほとんどの種類のがんについて、アクリルアミドへの曝露によるリスクの増加はみられないことが示唆されたが、腎臓癌については、主要な関係性をさらにモニターすることが必要であるとしている (Pelucchi C et al., 2011b)。

T1J2 閉経後のデンマーク人女性における乳癌診断前のアクリルアミド曝露については、診断前のアクリルアミドへの曝露は乳癌患者の死亡率に関連している可能性があり、特に、大半の内分泌関連タイプの乳癌と関連性がある可能性が示唆された (Olsen A et al., 2012)。

表 2-34 アクリルアミド摂取と発がん性に関する疫学研究

癌	リスク	曝露 (平均曝露量)	疫学調査	調査規模	参照
乳癌	0.9 (0.8~1.1) >1/week vs 0	フライ/焼きポテト	ケースコントロール	2569/2588	Pelucchi 2003
	1.19 (0.91~1.55) highest vs lowest quintile	FFQ (25.9 µg/日)	コホート	667/43404	Mucci 2005
	1.27 (1.12~1.44) per additional serving/week	FFQ	ケースコントロール	582/1569	Michels 2006
	1.06 (0.88~1.28) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコントロール	2900/3122	Pelucchi 2006
	0.90 (0.73~1.13) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコホート	1350/1796	Hogervorst 2007
	1.5 (0.8~3.0) per 10-fold increase in adduct concentration	ヘモグロビンアダクト	ネステッドケースコントロール	374/374	Olesen 2007
	1.19 (0.91~1.55) highest vs lowest quintile	FFQ	コホート	667/43404	Mucci 2005
	1.06 (0.88~1.28) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコントロール	2900/3122	Pelucchi 2006
	0.90 (0.73~1.13) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコントロール	1350/1796	Hogervorst 2007
	1.5 (0.8~3.0) per 10-fold increase in adduct concentration	ヘモグロビンアダクト	ネステッドケースコントロール	374/374	Olesen 2008

癌	リスク	曝露（平均曝露量）	疫学調査	調査規模	参照
卵巣癌	0.97 (0.73~1.31) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコホート	1031/2411	Pelucchi 2006
	1.77 (1.11~2.82) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコホート	195/1778	Hogervorst 2007
子宮内膜癌	1.17 (0.76~1.79) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコホート	221/1481	Hogervorst 2007
腎臓癌	1.0 (0.6~1.8) highest vs lowest quartile	FFQ	ケースコントロール	133/538	Mucci 2003
	1.1 (0.7~1.8) highest vs lowest quartile	FFQ	ケースコントロール	379/353	Mucci 2004
	1.20 (0.88~1.63) highest vs lowest quartile	FFQ	ケースコントロール	767/1534	Pelucchi 2007
	1.59 (1.09~2.30) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコホート	339/4095	Hogervorst 2008
結腸直腸癌	1.0 (0.71~1.42) highest vs lowest quartile	FFQ	ケースコントロール	591/538	Mucci 2003
	0.97 (0.80~1.18) highest vs lowest quintile	FFQ	ケースコントロール	2280/4675	Pelucchi 2006
	0.9 (0.7~1.2) highest vs lowest quintile	FFQ	コホート	741/61467	Mucci 2006

(注) FFQ : Food Frequency Questionnaire (食事摂取頻度調査票)
(EFSA, 2008g)

表 2-35 疫学研究

対象集団 性別・人数	がん症例数など	曝露量、曝露調査	結果	文献
55~69歳の男女、5,000名（オランダ）	16.3年の追跡期間中に解析対象として216例の脳腫瘍	アクリルアミド摂取量の10 µg/日増加に伴う脳腫瘍の多変量調整ハザード比は1.02 (95%CI=0.89~1.16)	(脳腫瘍)アクリルアミド摂取量は脳腫瘍のリスクと関連なし	Hogervorst et al. 2009a
オランダコホート研究 (55~69歳の男性58,279名、女性62,573名)	13.3年の追跡期間後に確認された肺癌2,649例	肺癌のハザード比は男性で1.03 (95%CI = 0.77 ~ 1.39, P _{trend} = 0.85) 女性では0.45 (95%CI=0.27~0.76, P _{trend} =0.01)	(肺癌)アクリルアミド摂取は男性では肺癌リスクと関連なし。女性では逆の関連が見られ、膵癌で最も強くみられた。	Hogervorst et al. 2009b

対象集団 性別・人数	がん症例数など	曝露量、曝露調査	結果	文献
オランダコ ホート研究 (55～69 歳 の 男 性 58,279 名、女 性 62,573 名)	16.3 年の追跡期 間中に口腔癌、 口腔一下咽頭 癌、喉頭癌、甲 状腺癌がそれぞ れ、101、83、180、 66 例	平均アクリルアミ ド摂取量 男性： 22.5±12.2 µg/日 女性： 21.1±11.9 µg/日 平均： 21.8±12.1 µg/日	(頭頸部及び甲状腺癌)ア クリルアミド摂取は、女性 非喫煙者における口腔癌 のリスクを除いて、頭頸部 及び甲状腺癌のリスクと 関連なし	Schouten et al. 2009
米国の女性 (24～42 歳) 90,628 名	14 年間の追跡期 間中に 1,179 例 の浸潤性乳癌	平均アクリルアミ ド摂取量 低摂取量群： 10.8 µg/日 高摂取量群： 37.8 µg/日	(乳癌)アクリルアミド摂 取が閉経前の乳癌のリス ク増加に関連なし	Wilson et al. 2009b
スウェーデ ンの男性(45 ～79 歳) 45,306 名	1998～2007 の追 跡期間中に 2696 名が前立腺癌と 診断	平均アクリルアミ ド摂取量 36.1±9.6 µg/日	(前立腺癌)食事から摂取 する量のアクリルアミド が前立腺癌のリスクと関 連しているという証拠な し	Larsson et al. 2009a
スウェーデ ンの女性 (1914 ～ 1948 年生ま れ) 61,433 名	17.4 年の追跡期 間中にコホート 中に 2,952 例の浸 潤性乳癌が診断	平均アクリルアミド 摂取量 24.6 ± 7.6 µg/日 (0.38±0.17 µg/kg 体重/日に相当)	(乳癌)食事からのアクリ ルアミドが乳癌のリスク と正の関連を示すという 仮説を支持していない	Larsson et al. 2009d
スウェーデ ンの女性 (1914 ～ 1948 年生ま れ) 61,057 名	平均 17.5 年の追 跡期間中にコホ ート中に 368 例 の浸潤性上皮性 卵巣癌の発生	平均アクリルアミ ド摂取量 24.6±7.6 µg/日	(上皮性卵巣癌)食事中の アクリルアミドが卵巣癌 のリスクと関連なし	Larsson et al. 2009e
スウェーデ ンの女性 (1914 ～ 1948 年生ま れ) 61,226 名	平均 17.7 年の追 跡期間中にコホ ート中に 687 例 の子宮内膜腺癌	平均アクリルアミ ド 摂 取 量 は 24.6±7.6µg/ 日 (0.38±0.176 µg/kg 体重/日に相当)	(子宮内膜癌)食事からの アクリルアミド摂取が子 宮内膜癌と正の関連を示 すという仮説を支持しな い。	Larsson et al. 2009b
米国の女性 (30～55 歳) 121,700 名	最終対象者は乳 癌で 88,672 名、 子宮内膜癌で 69,019 名、卵巣 癌で 80,011 名	平均アクリルアミ ド摂取量 低摂取量群： 8.7 µg/日 高摂取量群： 25.1 µg/日	(乳癌、子宮内膜癌及び卵 巣癌)アクリルアミド摂 取と乳癌には関連なし。子 宮内膜癌及びおそらく卵 巣癌のリスクは高摂取者 で高かった。	Wilson et al. 2010

対象集団 性別・人数	がん症例数など	曝露量、曝露調査	結果	文献
スウェーデンの男性	2001年、2002年診断前立腺癌患者1,499名、対照1,130名	平均アクリルアミド摂取量 8~125 µg/日 (0.08 ~ 1.59 µg/kg 体重/日)	(前立腺癌)アクリルアミド曝露は前立腺癌のリスクと関連なし	Wilson et al. 2009a
米国男性 47,896名	1986年~2006、5,025の前立腺癌症例、642の致死がんの症例	前向きコホート 食物摂取頻度アンケート	(前立腺癌)アクリルアミド摂取量が前立腺癌リスクの増加と関連する証拠なし	Wilson KM et al. 2012
デンマーク人の閉経後女性 24,697名 1993年から1997年	420人が2001年以前に乳癌を発症し、110名が2009年以前に死亡	コホート ヘモグロビン付加体(診断前曝露)	(乳癌)アクリルアミドへの曝露は乳癌患者の死亡率に関連している可能性があり、特に、大半の内分泌関連タイプの乳癌と関連性がある可能性が示唆された	Olsen A et al. 2012
主要大学付属総合病院に入院した 326名の偶発的膵臓癌患者 イタリア	すい臓癌患者 326名(男性174名、女性152名)	症例対照研究、アクリルアミドに対するすい臓癌のオッズ比は1.49(95% (±0.83~2.70))	(すい臓癌)アクリルアミド曝露と膵臓癌の間に何ら関連なし	Pelucchi C et al. 2011a
50才から69才の喫煙男性 27,111名 フィンランド	肺癌1,703、前立腺癌799例、尿路上皮癌365例、大腸癌316例、胃癌224例、すい臓癌192例、腎細胞癌184例、及びリンパ腫175例	食事に関するアンケート	男性喫煙者におけるアクリルアミドの高摂取は肺癌のリスク増加と関連性があるが、他の癌との関連性はない	Hirvonen T et al. 2010
35才から69才の英国女性 35才~69才 33,731名	1,084の乳癌症例	コホート 食物摂取頻度調査	(乳癌)アクリルアミド摂取と乳癌の間に関連性を示す証拠はない。閉経前の乳癌とは弱い相関性が存在する可能性があるが、さらに調査が必要	Burley VJ et al. 2010

アクリルアミドによる職業曝露とヒトのがんに対する疫学調査が行われた(NITE 2007、Collins et al., 1989、Marsh et al., 1999、Sobel et al., 1986)。最近の米国の調査において、アクリルアミドに職業曝露した個人に、自己免疫疾患の特徴と類似した症状がみられ、曝露との関連性が示唆されている。

アクリルアミド製造中にアクリルアミドのモノマー及びポリマーの操作に割り当てられた 371 名の従業員の死亡歴について調査された。特に、動物試験から同定された、中枢神経系、甲状腺、他の内分泌腺及び中皮腫などの部位のがんに特に重点が置かれた。

1982 年まで、合計 29 名の死亡が観察された（予測では、38.0 人）。コホート全体では統計学的に有意な増加はみとめられず、がんの仮説部位に対して死亡例はみられなかった。全ての種類のがんに対してコホート全体で認められた死亡は幾分多かった（11 対 7.9）が、これは、その前に有機色素に曝露したサブグループにおける消化管または呼吸器系のがん過剰がその原因とされている。有機色素に曝露していない従業員においては、6.5 例の予想に対して 4 例が悪性腫瘍によるものであった。本調査では、作業現場におけるアクリルアミドへの曝露と総死亡率、総悪性新生物、または任意の特定のがんとの間に関係があることは、裏付けられなかった（Sobel W et al., 1986）。（EPA/IRIS, 2010、JECFA, 2011b）

上記の追跡調査として、1955～2001 年に従事していた従業員 696 名に対する研究が行われた。アクリルアミドによる曝露は、1958～1970 年は 0.25 mg/m^3 、1970～1989 年は 0.05 mg/m^3 とされ、141 人が死亡した。曝露に関連した死亡率増加はみられなかったが、すい臓癌による死亡数の用量非依存的な増加がみられた（Swan et al. 2007）。（EPA/IRIS, 2010、JECFA, 2011b）

また、調査対象を広げた研究も進められ、1925 年から 1983 年までアクリルアミドに曝露した一群の作業員 8,854 名中 2,293 名の死亡率が調査された。この一群は 2 か国（米国及びオランダ）の四つの工場の個体群で構成されており、喫煙歴についても調査された。

その結果、アクリルアミドに曝露した作業員において、いずれの原因についても死亡率の統計的に有意な増加はみられなかった。アクリルアミド曝露レベルの分析については、数カ所のがん部位で死亡リスクの増加傾向はみられず、アクリルアミドがヒトの発がん性物質であるという仮説は裏付けられなかった（Collins J et al. 1989）。

1984～1994 年において米国内の三つの工場でアクリルアミドに被曝した 8,508 名の作業員の 2,148 名の死亡歴から、部位特異的ながんリスクが評価された。 $0.30 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{years}$ を超えてアクリルアミドに累積曝露した作業員では、膵臓癌に対して 2.26 倍（95% CI で 1.03 ～ 4.29）の有意なリスクが認められた。しかし、RR 回帰モデルをアクリルアミドへの初期曝露以降の経過時間に合わせて調整した場合に考察した曝露計算では、いかなる一貫性のある用量-反応関係も検出されなかった。1,115 の追加的死亡例及び 11 年間の追跡期間における約 60,000 人-年の貢献により、アクリルアミドへの曝露と任意のがん部位（当初の関心部位も含み）の死亡率の間には因果関係を示す証拠はほとんどないという最初のコホート調査の知見が裏付けられたとされた（Marsh GM et al., 1999）。

さらに、上記調査に継続して、米国コホート（3 工場作業員 8,508 名中 4,650 名死亡）における 1925～2002 年の試験期間、及びオランダコホート（1 工場 344 名（当初は 346 名であった）中 71 名死亡）における 1965～2004 年の追跡調査が行なわれた。

悪性新生物による死亡率はアクリルアミド摂取に関して、米国では有意でない 4%の増加がみられたものの、有意な増加はみられなかった。オランダでは統計的に有意でない肝臓（2 例）及び甲状腺（1 例）新生物の増加がみられたが、全体において有意な減少がみられた。米国の膵臓癌に対する以前の予備的調査の分析では、アクリルアミドとの曝露-反応関係の可能性を示す証拠はさらに少ないことがわかった（Marsh GM et al., 2007）。（EPA/IRIS, 2010、JECFA, 2011b）

アクリルアミド及び N-メチロールアクリルアミドを含むグラウトに過去に曝露したトンネル作業員における、曝露に関連する可能性のある症状及び神経心理学的変化が検討された。過去にグラウティング作業中にアクリルアミド及び N-メチロールアクリルアミドに曝露した 44 名の男性トンネル作業員に対し、最終の曝露から 2～10 年後に神経心理学的テストを実施した。対照群はアクリルアミド曝露歴のない 49 名の男性トンネル作業員で構成し、作業中に遡及して思い出した症状と調査時点での症状をアンケートを使って評価した。

曝露群は対照群と比べて、作業期間中の手足の感覚異常及び脚のけいれんの有病率は高かった。曝露作業員においては、皮膚のかゆみ、手の皮膚剥離、白指発作、頭痛、息切れの自己申告有病率も高かった。現在の症状についての Q-16 のアンケートでは、曝露群の間で記憶や集中力障害、感情変化、睡眠障害、倦怠感、頭痛、感覚性又は運動性の変化を示した。対照的に、関連する交絡因子の影響を調整した場合は、神経心理学的テスト結果とアクリルアミド曝露の間に何ら関連性はみとめられなかった。しかし、選択した運動症状は、対応する運動機能のテスト結果と関連性がみられた。これらの結果から、自己申告された現在の症状の有病率は曝露群においては対照群に比べて高いにもかかわらず、職業的アクリルアミド曝露と選択した神経心理学的テストで計測した健康結果の間には関連性はみとめられなかった（Goffeng LO et al., 2011）。

職業的に派生した自己免疫疾患の一連の症例が調査された。アクリルアミドに職業曝露した個人に関し、自己免疫疾患の証拠に対して臨床的、及び生化学的/免疫学的に評価した。症状、兆候及び免疫反応性を、その個人の臨床的評価の一部として、非曝露及び再曝露期間中に監視した。その結果、職業的にアクリルアミドに曝露した 6 名は、薬物誘発性自己免疫疾患に特徴的な臨床的及び実験的な変性を持っていた。具体的にはループス、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、強皮症、多発性筋炎などであった。報告された患者における全範囲の疾患と、プロカインアミドの患者でみうけられる疾患との類似性から、職業的曝露の影響が強く示唆されている（Rothschild B, 2010）。

表 2-35 アクリルアミドの職業曝露に対する疫学調査

対象集団 性別・人数	曝露状況	曝露量	結果	文献
工場従業員 371 名	吸入曝露 1979～1982 年 (曝露期間不明)	曝露量不明 8 時間 TWA 値 1957 年以前: 0.1～1 mg/m ³ 1957～1970 年: 0.1～0.6 mg/m ³ 1970 年以降: <0.1 mg/m ³	29 名死亡 がんによる死亡の増加は認められなかった	Sobel et al. 1986
追跡調査 696 名	1955～2001 年	1958～1970 年 : 0.25 mg/m ³ 1970～1989 年 : 0.05 mg/m ³	141 名死亡 曝露に関連した死亡率増加はみられなかったが、すい臓癌による死亡数の用量非依存的な増加がみられた	Swaen et al. 2007
工場従業員 オランダ 1 工場 男性 346 名	吸入曝露 1925 年 1 月 1 日～ 1973 年 1 月 31 日 1983 年 12 月 31 日 まで追跡調査	曝露群: >0.001 mg/m ³ / 年 (>0.3 mg/m ³ / 日相当) 非曝露群: <0.001 mg/m ³ /年	11 名死亡、20 名追跡調査中に不明、死亡原因不明 2 人、がんによる死亡の増加はみられなかった	Collins et al. 1989
工場従業員 米国 3 工場 男性 8,508 名	1984 年～1994 年の 追跡調査		2,148 名死亡、513 名追跡調査中に不明、死亡原因不明 111 名 がんによる死亡数の増加はみられなかった。 0.30 mg/m ³ .years を超えて累積曝露した作業員で一貫性のある用量-反応関係なし	Marsh et al. 1999
工場従業員 米国 3 工場 8508 人 オランダ 1 工場 344 名	オランダ: 1984 年 ～2004 年 米国: 1995 年～ 2002 年 の追跡調査		新たな死亡 275 名、 死亡合計: 米国 4,650 名、 オランダ 71 名 悪性新生物による死亡率は米国では有意でない 4% 増加、オランダでは有意な減少。	Marsh et al. 2007
トンネル作業員 44 名の 男性ノルウェー	最終の吸入曝露 から 2～10 年後に 神経心理学的 テストを実施	主に経皮経路	職業的アクリルアミド曝露と選択した神経心理学的テストで計測した健康結果の間には関連性は認められなかった	Goffeng LO et al. 2011
職業的にアクリルアミドに曝露した 6 名、米国	アクリルアミドに職業曝露した個人に関し、自己免疫疾患の証拠に対して臨床的、及び生化学的/免疫学的に評価	-	報告された患者における全範囲の疾患(薬物誘発性自己免疫疾患に特徴的な臨床的及び実験室の変性)プロカインアミドの患者で見うけられる疾患との類似性から、職業的曝露の影響が強く示唆される。	Rothschild B 2010

3) 胎児・乳幼児への影響

BfR は食品中アクリルアミドと食品摂取量についてのドイツとヨーロッパのデータをもとに各種の消費者のアクリルアミド推定摂取量を比較した。推定摂取量は食品や摂取量データから推定するより、血中や尿中のバイオマーカを調べる方が良いことを示唆している。また、がんリスクをより詳細に記述するために BfR はモデル計算を行った。これらの計算は EFSA の推奨する曝露マージン概念に基づく。この概念は動物実験で有害影響が示された用量から導き出された用量とアクリルアミド摂取量の違いを示す。モデル計算の結果、アクリルアミド含量の高い食品をたくさん食べる消費者や子どものマージンは小さく、したがって健康リスクとなることが明らかになった。BfR の見解としては、加工食品のアクリルアミド含量を減らす努力は継続すべきとしている。アクリルアミド含量は焦げ色が多いほど多いので、消費者やレストランは「焦がさないで黄金色に焼く」という規則を守り、包装にある調理方法は常に考慮すべきである。(BfR, 2011b)

ノルウェーにおいて母親の食事からの有毒物質の胎児期曝露が子供の免疫健康に影響を及ぼすかどうかを研究することを目的として、出生コホート調査が実施された。

生後1年目の子供における一般的感染症、湿疹又はかゆみ、10日以上続く空咳、胸の苦しき又は喘鳴をアンケートデータ (n=195) によって評価したが、アクリルアミドへの胎児期曝露と調査した健康影響の間には、何ら関連性は認められなかった (Stølevik SB et al., 2011)

4) DNA との付加物形成

ヒトでは、最近の薬物動態的/薬力学的モデルから、食事によるアクリルアミド曝露によって 10^8 ヌクレオチド当たり0.06~0.5のN7-GA-Guaが形成されることが示唆されている (Doerge et al., 2008、Young et al., 2007) が、アクリルアミドのDNA付加物形成に関する報告はなされていない。

ヒト体内でのグリシドアミドのDNA付加体の測定ができればよいが、まだ技術的に可能でない。バイオマーカーは比較的短期の曝露の指標にしかならないこと、また食事以外の因子の交絡を受けることを認識することが必要である (EFSA, 2008)。

2. 国際評価機関等の評価

(1) JECFA (FAO (国際連合食糧農業機関) /WHO 合同食品添加物専門家会議)

JECFA は 2005 年及び 2011 年にアクリルアミドの評価を行った (JECFA, 2006a、2006b、2011a、2011b)。

①JECFA (2006a、2006b)

アクリルアミドの一日摂取量を、各国における推定値に基づき、一般人口集団で 1 µg/kg 体重/日、曝露の高い消費者で 4 µg/kg 体重/日として MOE を求めた。この摂取量を、アクリルアミド投与されたラットにおける神経形態変化 (電子顕微鏡で検出) の NOEL 0.2 mg/kg 体重/日 (Burek ら 1980。F344 ラットの 90 日飲水投与試験) と比較したところ、MOE はそれぞれ 200 及び 50 となった。摂取量をげっ歯類における生殖・発生その他の非発がん影響に対する NOEL 2 mg/kg 体重/日 (Tyl et al., 2000a。F344 ラットの 2 世代飲水投与試験) と比較したところ、MOE はそれぞれ 2,000 及び 500 となった。JECFA は、推定平均摂取量では有害影響は起こりそうにないが、非常に摂取量の多い人においては神経の形態変化の可能性が排除できないと結論した。

一般人におけるアクリルアミドの一日摂取量を 1 µg/kg 体重/日として、ラットにおける乳腺腫瘍誘導に関する BMDL、0.30 mg/kg 体重/日 (Johnson ら 1986。F344 ラットの 2 年間飲水投与発がん試験での乳腺腫瘍データを用いて得られた BMDL の最も低い値) と比較したところ、MOE は 300 となった。高摂取者の一日摂取量、4 µg/kg 体重/日では MOE は 75 となった。JECFA はこの値は遺伝毒性発がん物質に対しては低く、健康に対する懸念を与えるものであり、食品及び飲料中のアクリルアミド濃度を低減するための適切な努力を継続することが必要であるとした。

JECFA は、新たな発がん試験及び長期神経毒性データの結果を用いて再評価を行うこと、ヒトにおけるバイオマーカーデータを実験動物での摂取量及び毒性影響に結び付ける PBPK モデルの利用に関する研究を継続すること、食品中のアクリルアミド濃度を低減する努力を継続することを勧告し、開発途上国で摂取される食品中のアクリルアミドのデータを入手することが、摂取量の評価及びヒト曝露低減のアプローチを検討する上で有益であろうとした。

②JECFA (2011a、2011b)

2003 年以降、食品中のアクリルアミドの低減が報告されており、曝露量が有意に低くなった個人や人口亜集団が存在すると考えられたが、JECFA は、すべての国の一般人口集団の食品からの曝露にはほとんど影響はみられないであろうと考え、一般人口集団 (1 µg/kg 体重/日) 及び高パーセンタイル消費群 (4 µg/kg 体重/日) の推定平均アクリルアミド曝露量は第 64 回会合から変更しなかった。したがって、最も感受性の高い非発がんエンドポイント (ラットの神経の電子顕微鏡で検出される形態変化) の NOEL である 0.2 mg/kg 体重/日

に対する MOE は、前回と変わらず、一般人口集団、高曝露消費者でそれぞれ、200 及び 50 となった。JECFA は第 64 回会合と同様、推定平均曝露では有害影響は起こりそうにないが、高い食品経由の曝露では神経の形態変化の可能性を排除できないとした。

発がん影響については、平均曝露量及び高曝露量を、雌ラットの乳腺腫瘍の BMDL₁₀ である 0.31 mg/kg 体重/日と比較したところ、MOE はそれぞれ、310 及び 78 となった。また、マウスのハーダー腺腫瘍の BMDL₁₀ は 0.18 mg/kg 体重/日であり (NCTR/NTP の F344 ラット及び B6C3F1 マウスの 2 年間飲水投与発がん試験)、MOE はそれぞれ、180 及び 45 となった。

JECFA は、遺伝毒性発がん物質についてはこの値は健康に対する懸念を与えるものであるとされた。また、これらの MOE の値は、第 64 回会合での値と同程度であり、ラット及びマウスの幅広い発がん試験、体内用量の PBPK モデルによる解析、多数の疫学研究及び新たな食品からの曝露評価は以前の評価を支持している、とした。

JECFA はヒトにおける食品からの曝露推定値とアクリルアミド曝露の体内バイオマーカー (AA-Val 及び GA-Val アダクト) に良い一致がみられないこと、労働者コホートの疫学研究ではアクリルアミド曝露が発がん発生率を増加させるという証拠がみられないことから、個人における体内のアクリルアミド及びグリシドアミドのヘモグロビンアダクトレベルを、その時の食品からの曝露量と関係づけて測定する長期研究を勧告した。

(2) WHO (飲料水水質ガイドライン、IARC) 等)

①WHO 飲料水水質ガイドライン第 4 版 (WHO, 2011) の根拠文書

WHO 飲料水水質ガイドライン第 2 版の根拠文書 (WHO, 1996) では、Johnson ら (1986) のラット飲水投与試験において雌ラットにみられた乳腺、甲状腺、及び子宮の腫瘍をもとに、線形多段階モデルを用いて上限過剰生涯発がんリスクが 10^{-5} となる値として 0.5 µg/L が推定され、この値がガイドライン値とされた。その後、JECFA は新たに得られた試験データ及び曝露データに基づき MOE の算出を行い、曝露を技術的に可能な限り低くすべきであると勧告した (JECFA, 2011a, b)。したがって現在の WHO 飲料水水質ガイドライン値 0.5 µg/L は、曝露を技術的に可能な限り低くすべきであるというただし書きを加えて維持される。

②IARC (1994)

グループ 2A : 恐らくヒトに対して発がん性をもつ。

ヒトに対する発がん性の証拠は不十分である。

実験動物に対する発がん性の証拠は十分である。

評価に当たって、作業グループは下記の補強的証拠を考慮した。

(i) アクリルアミド及び代謝物 (グリシドアミド) はマウス及びラットの DNA と共有

結合付加体を形成する。

- (ii) アクリルアミド及びグリシドアミドは曝露されたヒト及びラットのヘモグロビンと共有結合付加体を形成する。
- (iii) アクリルアミドは、マウスの生殖細胞に遺伝子突然変異及び染色体異常、ラットの生殖細胞に染色体異常を誘導し、また、*in vivo* でマウスの生殖細胞でプロタミンと共有結合付加体を形成する。
- (iv) アクリルアミドは *in vivo* でげっ歯類の体細胞に染色体異常を誘導する。
- (v) アクリルアミドは *in vitro* で培養細胞に遺伝子突然変異及び染色体異常を誘導する。
- (vi) アクリルアミドはマウスの細胞株に細胞トランスフォーメーションを誘導する。

(3) EU (EFSA、BfR、ANSES 等の欧州各国における評価)

①SCF (2002)

EU の食品に関する科学委員会 (Scientific Committee on Food, SCF) は 2002 年 7 月、揚げたりオープンで焼いた普通の食品中に高濃度のアクリルアミドが生成するというスウェーデンの 2002 年 4 月の報告を受けて、食品中のアクリルアミドレベル、食品からのアクリルアミド摂取量、アクリルアミドの毒性及びリスク評価に関する既存の情報をレビューし、アクリルアミドが遺伝毒性発がん物質であることから、現時点では食品中のアクリルアミド曝露による実際のリスクを判定することは不可能であるとし、曝露を合理的に達成可能な限り低く (as low as achievable, ALARA) すべきである勧告した (SCF 2002)。

なお、SCF によりアクリルアミドは遺伝毒性発がん物質と認定されている (CCFAC 2006)。

② EFSA (2005)

EFSA の食物連鎖中の汚染物質に関する科学パネル (Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain, CONTAM) は 2005 年、JECFA の第 64 回会合のサマリーレポート (JECFA, 2005) について検討し、同報告書が欧州委員会と EFSA が協力して集めた情報を含む欧州各国のデータを取り込んで MOE (margin of exposure) アプローチを採用していることを認めた。そして、JECFA の主要な結論及び勧告に同意し、EFSA による追加の評価は現時点では不要であると結論した (EFSA 2005a)。

遺伝毒性発がん物質については、一般に如何なる曝露であってもリスクがあると考えられている。このような物質のリスク評価法については国際的な合意がなく、EU においては、リスク評価者はリスク管理者に対して曝露を合理的に達成可能な最低レベル (as low as reasonably achievable, ALARA) に抑えるよう助言している。しかし、このような助言では、措置の緊急性及び措置の程度に関して優先度が示されないため、EFSA は科学委員会に対し、遺伝毒性発がん物質の食品からの摂取のリスクをどのように特性づけるべきか諮問した。

その回答として意見書（EFSA 2005b）が出された。これは、アクリルアミドの食品影響評価に直接的に関係したものではないが、示されたアプローチは JECFA やフランス、ドイツ、オランダにおいて食品からのアクリルアミド曝露のリスク評価に用いられている。

意見書では、発がんのプロセス、動物での発がんデータのヒト集団への外挿法に関する既存の知見をまとめ、それに代わりうる方法として MOE 法について検討した。有害性の指標としての参照点の選び方、及びヒトにおける食品からの曝露量の推定について解説し、さらに、算出された MOE の解釈についての手引きを示した。

高用量での動物データからヒトでの低用量曝露に外挿するためのモデルが考えられ、線形多段階モデルや one hit model を使用する機関もあるが、特定の物質にどのモデルが当てはまるかは殆どの場合不明であり、しかも得られるリスク推定値はモデルにより数桁も変わる。委員会はモデルによる外挿は採用せず、MOE 法を採用することとした。MOE 法では、用量-反応曲線から参照点を求め、その参照点とヒトの曝露レベルの比を求める。参照点としては、TD50（生存率で補正して 50%が腫瘍にならない用量）、T25（自然発生率で補正して 25%に腫瘍ができる mg/kg 体重/日で表した慢性投与量）、ベンチマーク用量（BMD）があるが、委員会は BMDL₁₀（10%の発がんを示す用量の 95%信頼限界下限値）を参照点とするのが適当であると考えている。データが BMDL₁₀ の導出に適していない場合は、T25 を用いる。MOE は参照点（BMDL₁₀ 又は T25）を摂取量で除して得られる。MOE の解釈では、委員会は、種間及び種内の変動の不確実性、発がんプロセスに伴う不確実性（細胞周期のコントロールや DNA 修復）、参照点（BMDL₁₀ 又は T25）は NOAEL ではないためそれ以下では影響を生じないレベルが不明であること考慮し、種間及び種内の変動の不確実係数の 100 にさらに不確実係数 100 を適用し、動物実験での BMDL₁₀ より算出した MOE が 10,000 以上の場合には公衆衛生の観点から懸念は低く、リスク管理措置の優先度は低いとした。ただし、最終的な判断はリスク管理者が行う。

結論として以下がまとめられた。

1. 遺伝毒性及び発がん性を示す物質のリスク評価に MOE アプローチを採用することを提案する。MOE は用量-反応曲線（通常動物試データ）上の参照点をヒトの摂取量推定値で除したものである。
2. 参照点として BMDL₁₀ を用いることを推奨する。データが BMDL₁₀ の推定に適していない場合は T25 を用いる。
3. MOE の算出には、様々な曝露シナリオ及び人口集団に関係する一連のヒト摂取量推定値を用いる。
4. 小さな MOE は大きな MOE よりも高リスクを示す。したがってリスク管理者はこの情報を優先度の判断に用いることができる。
5. 委員会は、動物実験での BMDL₁₀ より算出した MOE が 10,000 以上の場合には、一般に公衆衛生の観点から懸念は低く、リスク管理措置の優先度は低いと考える。ただし、最終的な判断はリスク管理者が行うべきである。またこの大きさの MOE では、ヒトの

曝露低減のためのリスク管理措置の適用を除外すべきではない。

6.MOE アプローチは遺伝毒性及び発がん性を持つ物質が発生源によらず食品中に存在し、曝露されたヒトに対するガイダンスが必要な場合に適用することができると思う。

7.委員会は原則として、遺伝毒性及び発がん性をもつ物質を食品に意図的に加えてはならないと考える。また、このような性質を持つ残留物を生じる物質を食品網の上流で使用してはならないと考える。(EFSA 2005b)

③EFSA (2011)

EFSA は加盟国が欧州委員会の 2007 年 5 月の勧告 (2007/331/EC) に従い 2007 年、2008 年、2009 年に行った食品中のアクリルアミドレベルのモニタリング結果を取りまとめ、その結果と食品摂取量に基づき、異なる人口集団 (国、年齢層) における曝露推定値を報告した。欧州全体での平均曝露レベル推定値は、成人 (>18 歳) で 0.31~1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、思春期 (11~17 歳) で 0.43~1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、子供 (3~10 歳) で 0.70~2.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、幼児 (1~3 歳) で 1.2~2.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった (EFSA 2011)。

また、EFSA (2008c) では、食事曝露と発がんの最新疫学データに基づき、乳癌、卵巣癌、子宮内膜癌、腎臓癌、大腸癌について、アクリルアミドの摂取と発がんとの明確な関連性はみられていないとしている (EFSA, 2008c, g)。

④AFSSA (2005)

フランス食品衛生安全庁 (L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments, AFSSA) は 2005 年、食品中のアクリルアミドに関するインフォメーションポイント No.3 を発表した。フランス人における食品からのアクリルアミド曝露評価では、2004 年時点のアクリルアミド摂取量は、子供 (3~14 歳) の平均値が 1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、95 パーセンタイル値が 2.54 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、成人 (15 歳以上) の平均値が 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、95 パーセンタイル値が 0.98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日 となり、2002 年時点での数値 (子供ではそれぞれ、1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、2.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、成人ではそれぞれ、0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、1.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) と大きく異ならなかった。消費者に対するリスクについては、JECFA (2005、JECFA の第 64 回会合のサマリーレポート) による評価を紹介するにとどめ、独自の評価は行っていない。

⑤ANSES (2011)

フランス食品環境労働衛生安全庁 (L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, ANSES) は 2006~2010 年、2011 年、に実施した大規模なトータル・ダイエット・スタディーの結果を報告した。フランス人のアクリルアミドの平均摂取量は成人で 0.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、子供で 0.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であり、95 パーセンタイル値はそれぞれ、1.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、1.80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。この値は 2005 年の値より低く、JECFA が 2010 年に一般人口集団について推定した値 (JECFA, 2011b) の 1/2~1/4 である。ANSES は

この値とJECFA (JECFA, 2011b) が示したBMDL₁₀値 (0.18 mg/kg/体重/日及び0.31mg/kg/体重/日) を比較し、MOEを、成人では平均的曝露で419及び721、95パーセンタイル値で176及び304、子供では平均的曝露で261及び449、95パーセンタイル値で100及び172とした。この値はJECFAが一般人口集団について報告している値 (95パーセンタイル値でそれぞれ、45及び78) よりも高い。しかし、EFSA/WHO 2005の報告書は、実験動物で得られたBMDL₁₀に基づくMOEが10,000より低い場合はヒトの健康に大きな懸念をもたらし、食品からの曝露低減の努力を継続すべきであるとしている。したがって、食品からのアクリルアミド曝露を低減する努力を継続し、アクリルアミド曝露の影響に関する疫学研究を進めることが必要であると結論した。

⑥FSA

英国の食品規格庁 (Food Standards Agency, FSA) は EU の勧告に基づく食品中のアクリルアミドレベルのモニタリングは行っているが、独自の曝露評価、用量-反応評価は行っていない。

⑦BfR (2011)

ドイツ連邦リスク評価研究所 (Bundesinstitut für Risikobewertung, BfR) は 2011 年、食品中のアクリルアミドに関する意見書を公表した。

BfR は、ラットやマウスを用いた長期試験ではアクリルアミドに発がん性が認められていること、また、遺伝毒性も発がん影響もみられない閾値を議論した文献もあるが、入手できる実験から閾値は導出されていないことから、低用量での影響についての知見は不十分であるとし、アクリルアミドの分子レベルでの影響やホルモン作用の可能性については追加の研究が必要としている。

また、BfR は、各種がんについてアクリルアミドの摂取量との関連を調べた 13 の疫学研究を評価し、一部の研究ではアクリルアミドの摂取量が多いこととがんリスクが増加することが関連し、別の研究ではそのような関連は見られないことから、これらの研究結果は矛盾しているとしている。したがって、アクリルアミドの摂取量と発がんの関連はあるともないとも言えないとし、がんになるリスクが現実に存在するとしても現在の摂取量では証明が困難である可能性もあるとしている。

BfR は NTP の F344 ラットの乳腺腫瘍データ及び雄の B6C3F1 マウスのハーダー腺腫瘍データに基づき、BMDL₁₀をそれぞれ、0.30、0.16 とした。ドイツ人におけるアクリルアミド曝露の評価には EFSA (2011) の推定値 (平均値 0.34 µg/kg 体重/日、95 パーセンタイル値 0.83 µg/kg 体重/日) 及び Hartmann ら (2008) の 6~80 歳のババリアの非喫煙者 91 名の血中ヘモグロビンアダクトレベルからの推定値 (平均値 0.43 µg/kg 体重/日、最高値 1.04 µg/kg 体重/日) を用いた。EFSA の 95 パーセンタイル値及び Hartmann の最高値を用いて算出したところ、MOE は 154~361 となった。遺伝毒性発がん物質の動物実験から導出した BMDL₁₀

を用いてヒトにおける発がんリスクを推定する場合、MOE が 10,000 以上の場合は、リスクは比較的低い（懸念が低い）と判断され、MOE が 10,000 より低い場合はリスクがあり低減措置が必要であると判断される。BfR は上記の MOE の値より、アクリルアミド摂取のさらなる低減が必要である、とした。ドイツの子供のアクリルアミド摂取量推定値については EFSA (EFSA, 2011) が報告しているが、この値は非常に高く、子供は大人の 3~5 倍であった。一方バイオマーカーからは子供の摂取量は大人の 1.3~1.5 倍であった。BfR は子供に対する MOE を算出せず、子供のアクリルアミド及びグリシドアミド曝露の確かなデータを得るためにはさらなる研究が必要であるとしたが、小さな子供では成人より MOE が低くなることから、さらなるアクリルアミド摂取量の低減の必要性がさらに強調される、とした。

③RIVM (2009)

オランダの国立公衆衛生環境研究所 (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, RIVM) は 2~6 歳の子供におけるアクリルアミド摂取量を、子供の食品摂取量データ (Dutch National Food Consumption Survey-Young Children, 2005/2006) 及びオランダにおける食品中のアクリルアミドレベルのデータを組み合わせて求めた。2~6 歳児のアクリルアミド摂取量は中央値が 0.7 µg/kg 体重/日、99 パーセンタイル値が 1.5 µg/kg 体重/日であった。この値と、ラット神経の電子顕微鏡で検出される形態学的変化 (Burek et al., 1980) の NOAEL (0.2 mg/kg 体重/日) 及び JECFA (JECFA, 2006) の算出したラットの乳腺腫瘍 (Johnson et al., 1986) の BMDL₁₀ (0.30 mg/kg 体重/日) を組み合わせて、MOE 値としてそれぞれ 133、200 を得た。非発がん影響については、この亜急性試験での NOAEL が慢性試験での NOAEL よりも低かったため、MOE が 100 以上であれば有害な健康影響を与えないと考えられるため、MOE は十分高いと判断された。一方、発がん影響については MOE が 10,000 よりも低いいため、有害健康影響が生じる可能性があるとして判断された。ただし、現在の疫学研究の状況から、発がんが生じる程度についてはしっかりした結論を導くことはできない、とした。

(4) 米国 (FDA、EPA) 等

①FDA (2006)

FDA は個々の食品中のアクリルアミドレベルの調査及びトータル・ダイエット・スタディーの結果に基づき、2 歳以上の米国人の平均アクリルアミド摂取量は 0.4 µg/kg 体重/日であり 2003 年以降、変化はみられない、と報告している。曝露評価結果の詳細な報告書は現在公開されていない。

②EPA/IRIS (2010)

a. 経口参照用量 (RfD)

Johnson ら (1986) による F344 ラットを用いた 2 年間の飲水投与試験で観察された神経変性を臨界影響とし (LOAEL : 2.0 mg/kg 体重/日、NOAEL : 0.5 mg/kg 体重/日) RfD を求

めるための出発点 (POD) をベンチマーク法により求めた。試験設計及び影響の性質から、BMD を求めるための反応を 5%としたところ、BMD₅は 0.58 mg/kg 体重/日、BMDL₅は 0.27 mg/kg 体重/日となった。この値を POD とし、アクリルアミドの体内用量 (AUC) を介してヒトにおける等量を求めたところ、ヒトにおける等量 (HED_{BMDL}) は 0.053 mg/kg 体重/日となった。この値を不確実係数 30 (3 : 種間のトキシコダイナミクスの外挿の不確実性、10 : 種内の変動を考慮する不確実性) で除して、RfD は 0.002 mg/kg 体重/日となった。

b. 発がん性

Johnson ら (1986) による F344 ラットを用いた 2 年間の飲水投与試験で雄ラットに観察された甲状腺腫瘍及び精巣鞘膜中皮腫瘍 (tunica vaginalis mesothelioma) の BMDL₁₀ (0.15mg/kg 体重/日) を POD として経口傾斜係数を求めた。ラットにおける BMDL₁₀ をアクリルアミド代謝物であり、アクリルアミドによる発がんの直接的な原因物質であるグリシドアミドの体内用量 (AUC) を介してヒトにおける等量を求めたところ、ヒトにおける等量 (HED_{BMDL}) は 0.194 mg/kg 体重/日となった。この濃度は 10%の過剰発がんを生じる濃度であることから、経口傾斜係数 (1 mg/kg 体重/日曝露当たりの過剰発がんリスク) は 0.5 [mg/kg 体重/日]¹となった。

なお、EPA はアクリルアミドによる発がんの作用機序は突然変異によるとし、幼少時曝露に対する感受性が高いと考えられることから、16 歳以下の子供に対するリスク評価に際しては、この値にさらに調整係数 (age dependent adjustment factor, ADAF) を適用することとし、ADAF として 2 歳未満の場合は 10 を、2 歳から 16 歳未満までは 3 を適用すべきであるとしている。

(5) その他の海外諸国

①Health Canada (2012)

食品中のアクリルアミドモニタリングプログラムで得られた食品中のアクリルアミド濃度及び 2004 年に実施した食品摂取量データに基づきカナダ人におけるアクリルアミド曝露評価を行った。1~18 歳の平均値は 0.356~0.609 µg/kg 体重/日、19 歳以上の平均値は 0.157~0.288 µg/kg 体重/日であった。JECFA (2010、第 72 会合の summary and conclusions) による非発がん影響に対する NOAEL (200 µg/kg 体重/日) 及び発がん影響に対する BMDL₁₀ (ラットの乳腺腫瘍 : 310 µg/kg 体重/日、マウスのハーダー腺腫瘍 : 180 µg/kg 体重/日) を用いて MOE を算出した。JECFA の算出している MOE より数値は大きい、食品からのアクリルアミドへの曝露には潜在的な健康懸念があると結論した。

②New Zealand Food Safety Authority / Ministry Of Agriculture And Forestry (2012)

ニュージーランドの食品中のアクリルアミド濃度を調べ、トータルダイエット法及びモデル法によりアクリルアミド曝露量を推定した。成人の平均曝露推定値は 0.72~1.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であり、2006 年の調査と類似しており、推定方法により変わらなかった。

(6) 日本

厚生労働省 (2003)

我が国における水質基準の見直しの際の評価の概要は以下のとおりである。

飲料水を用いた研究 (Johnson et al., 1986) で雌ラットに観察された乳腺、甲状腺及び子宮の腫瘍データから線形マルチステージモデルを使用して生涯過剰発がんリスクが 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} となる場合の濃度を求めると、それぞれ 0.005、0.0005、0.00005 となった。したがって、アクリルアミドモノマーの評価値は、0.0005 mg/L となる。

第3章 まとめ

1. 物質の概要

(物理化学的性状)

アクリルアミド (CAS No. : 79-06-1、分子量 : 71.08) は、常温では無色固体 (融点 84.5 °C) である。水によく溶け、その溶解度は 2155 g/L (30°C) である。また、加熱や紫外線の影響により重合することがある。

(用途)

アクリルアミドは、国内では産業界において、広く使用されている。例えば、ポリアクリルアミドの原料などに利用されている。すなわち、紙力増強剤、繊維加工、沈殿物凝集剤、土壌改良剤、接着剤及び塗料などの用途がある。一方、多くの普通の食品を調理する際に生成する。また、アクリルアミドは、タバコの煙の成分でもある。

(現行規制等)

アクリルアミドは、化学物質排出把握管理促進法では、第一種指定化学物質である。国内における水質基準値は、設定されていないが、目標値として、0.0005 mg/L がある。

(存在形態)

アクリルアミドは、化学物質審査規制法に基づく好氣的生分解性試験において、生物化学的酸素消費量 (BOD) 測定での分解率は 70% であり、良分解性と判定されている。アクリルアミドは、水に良く溶け、微生物によって分解されることから、生物濃縮性は低いと推定される。

アクリルアミドの環境中での分布をフガシティモデル・レベル III により推定すると、アクリルアミドが大気に排出された場合は、土壌に 5 割強、水域に約 4 割分布し、水域に排出された場合は主に水域に分布し、また、土壌に排出された場合は土壌に 6 割強、水域に 3 割強分布するものと推定される。

一方、アクリルアミドは、水環境中では、高度に、流動的であり、容易に、土壌に浸出する。アクリルアミドは、粘土質土壌においてよりも砂質土では、高い移動性及び低い分解速度を有することから、地下水を汚染する可能性がある。

(食品中での生成)

スウェーデン政府は、ストックホルム大学と共同で行った研究の結果、ジャガイモのようなデンプンなどの炭水化物を多く含む食材を高温で加熱した場合、高濃度のアクリルア

ミドが生成されることを発表した（2002年）。その後、世界各国で研究が行われ、調理中の加熱（120℃以上）により「アミノカルボニル反応（メイラード反応）」と呼ばれる化学反応により、食品中のアミノ酸の一種であるアスパラギンがブドウ糖、果糖などの還元糖と反応してアクリルアミドへ変化することが明らかになった。その他にも、食品に含まれる脂質が分解して生成するアクロレインの酸化による経路や、アスパラギン酸から生成したアクリル酸がアンモニアと反応して生成する経路、セリンやシステインといったアミノ酸から生成した乳酸がアンモニアと反応して生成する経路、アスパラギンの酵素的脱炭酸反応により生成した 3-アミノプロパンアミドが脱アミノ反応する経路などの生成経路が、研究によって推定されている。

（食品、魚、飲料水及び環境等からの検出状況）

国内においては、国立医薬品食品衛生研究所 2002b（加工食品）、吉田充他 2002（加工食品）農林水産消費技術センター 2003（茶葉などの飲料）、農林水産省 2004～2008（加工食品、食パンなど、乳幼児用菓子など、みそ、しょう油、市販惣菜、外食料理）、環境省, 2007（魚体内濃度）、環境省 2001（地下水中濃度）によって、さまざまな食品中のアクリルアミドについて、実態調査が実施された。その結果は、次のように纏められる。すなわち、

加工食品：ポテトスナックからは、調査したすべての試料からアクリルアミドが検出され、最大値は 4.7mg/kg と調査した中でもっとも高い濃度であった。一方で、同じスナック類でもコーンスナックは、ポテトスナックと比べると低い含有濃度で、アクリルアミドが検出されないものもあった。また、日本特有の食品である米菓、麦茶、ほうじ茶からも、調査したすべての試料からアクリルアミドが検出された。インスタント麺は、3割の試料からはアクリルアミドが検出されず、検出されたとしても今回調査した食品の中ではとても低い濃度であった（農林水産省, 2004）。また、食パン、ロールパン、フライドポテト、ビスケット類及び乳幼児用ビスケット類の含有量は、食品の種類、試料によりばらつきはあるものの、いずれも諸外国で報告されている測定結果の範囲内であった。さらに、アイスコーヒー及び缶コーヒーについて、米国食品医薬品庁（FDA）が実施したコーヒーの測定結果と比較したところ、米国における測定結果とおおむね同程度の濃度であった（農林水産省, 2005）。一方、乳幼児用菓子類について、さらに調査した結果、米菓、ボーロ、レンジケーキでは定量限界未満の濃度の試料の割合が多く、ビスケット類、ウエハース、スナック類に比べて濃度が低い傾向を示した（農林水産省, 2006）。また、みそについては 50 点の試料すべてが定量限界未満、しょうゆについては 50 点のうち 4 点を除いて定量限界未満の濃度を示した（農林水産省, 2005）。

魚体：アクリルアミドの魚体内濃度は、1991年に調査した 147 検体において、いずれも不検出であった。一方、2007年の調査においては、調査した 80 検体のうち 75 検体に、2.4×

$10^{-5} \sim 1.9 \times 10^{-3} \mu\text{g/g}$ 体重/日の範囲で、アクリルアミドが検出された（環境省, 2007）。

地下水：アクリルアミドの水道水中濃度について、報告は得られなかった。しかし、地下水中濃度として、調査した 15 検体いずれにおいても不検出（検出限界 $0.02 \mu\text{g/L}$ ）であった（環境省, 2001）。

大気：アクリルアミドの大気中濃度について、報告は得られなかった。そこで、アクリルアミドの 2003 年度 PRTR 排出量データと広域大気拡散モデル AIST-ADMER Ver.1.5（産業技術総合研究所, 2005）を用いて、全国 11 地域（北海道、東北、北陸、関東、中部、東海、近畿、中国、四国、九州、沖縄）の大気中濃度が推定された（NITE, 2006）。その結果、最大値は、近畿地方の $5.1 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ であった。

（曝露状況）（大気、飲料水及び食品、一日推定摂取量等）（国内）

大気及び飲料水：大気からの摂取量推定に用いるアクリルアミドの大気中濃度は、測定結果の採用候補が得られていないため大気中濃度の推定結果における最大値 $5.1 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ を用いた。また、飲料水からの摂取量推定に用いる飲料水中濃度は、浄水に関する測定結果が入手できなかったため、アクリルアミドの地下水中濃度における検出限界の 1/2 の値である $0.01 \mu\text{g/L}$ を用いた。成人の体重を平均 50 kg と仮定して、体重 1kg 当たりの摂取量を求めると次のようになる（NITE, 2006）。

吸入摂取量： $0.10 (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}) / 50 (\text{kg}/\text{人}) = 2.0 \times 10^{-3} (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日})$

経口摂取量（地下水）： $(0.020) (\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}) / 50 (\text{kg}/\text{人}) = 4 \times 10^{-4} (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日})$

一方、環境省（2003）では、アクリルアミドの一般環境大気及び地下水の実測値を用いて、人に対する曝露の推定を行った。なお、一日曝露量の算出に際しては、人の 1 日の呼吸量及び飲水量をそれぞれ 15 m^3 及び 2 L と仮定し、体重を 50 kg と仮定している。

吸入摂取量： $0.006 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 未満

経口摂取量（地下水）： $0.0008 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 未満

食物：日本人の食物からのアクリルアミドの摂取量は、加工食品中のアクリルアミド濃度（国立医薬品食品衛生研究所, 2002a）及び厚生労働省国民栄養調査結果（厚生労働省, 2002b）に基づいて、算出された。また、お茶からのアクリルアミドの摂取量は、日本食品分析センターの分析結果から浸出液の報告をもとに、浸出液中のアクリルアミドの最大濃度 $14 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、お茶の摂取量を $0.30 \text{ kg}/\text{人}/\text{日}$ を用いて算出された（NITE, 2007）。

お茶からの摂取量：14 (μg/kg) × 0.30 (kg/人/日) = 4.2 (μg/人/日)

食物からの摂取量は、食物からのアクリルアミド摂取量合計 137 (μg/人/日) とお茶からの摂取量 4.2 (μg/人/日) を足し合わせた 141 (μg/人/日) とした。すなわち、

成人の体重を平均 50 kg として、体重 1kg 当たりの摂取量を求めると次のようになった。

経口摂取量：141 (μg/人/日) / 50 (kg/人) = 2.8 (μg/kg/日)

以上から、アクリルアミドは、主に食物から、またわずかに大気、飲料水を通じてヒトに摂取されると推定される。成人の体重を平均 50 kg と仮定して、それぞれの経路からの一日推定摂取量は、以下のように推定された (NITE, 2007)。

吸入 (大気)： 2.0×10^{-3} μg/kg/日

経口 (飲料水：地下水)： 4.0×10^{-4} μg/kg/日

経口 (食物)：2.8 μg/kg/日

総摂取量 (全経路)：2.8 μg/kg/日

乳幼児用菓子類及びみそ、しょうゆ：加工食品中のアクリルアミドに関する予備調査の結果及び国民健康・栄養調査のデータをもとに、対象食品からの乳幼児又は大人の体重 1 kg 当たりの平均的な摂取量が推定された (農林水産省, 2006)。なお、摂取量の計算には、以下の計算式を使用した。

摂取量 (μg/kg 体重/日) = 食品摂取量 (g/日) × 平均含有濃度 (mg/kg) / 平均体重 (kg 体重)

ただし、みそ、しょうゆの場合は、大人の平均体重 (= 53.3kg) を使用。乳幼児用菓子類は、平成 16 年国民健康・栄養調査の身体状況調査の結果から試算した 1~5 歳児平均体重 (14.7kg) を使用した。

一方、第 64 回 JECFA においては、アクリルアミドの重要な健康影響を遺伝毒性発がん性であると評価したことから、摂取量の推定値と JECFA がリスク評価に用いた動物実験データに基づく発がんの BMDL から、曝露幅 (MOE) についても併せて計算した。

曝露幅 = BMDL (μg/kg 体重/日) / 摂取量の推定値 (μg/kg 体重/日)

その結果を以下に示した。

乳幼児用菓子類（1～5 歳児）：0.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日（曝露幅＝2 300）

みそ（大人）：0.002 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日（曝露幅＝150 000）

しょうゆ（大人）：0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日（曝露幅＝300 000）

欧州連合は、遺伝毒性を持つ発がん物質については、動物実験データに基づく発がんの BMDL から、ヒトのリスクを推定する際の不確実係数の積を 10 000 とし、曝露幅の値がそれよりも大きい場合は消費者への健康リスクが小さく、リスク管理措置をとる優先度が低いとし、曝露幅の値がそれよりも小さい場合には健康リスクを無視できず、リスク管理措置をとる優先度が高いという考え方を示している。

農林水産省（2006）の計算結果では、乳幼児菓子類に由来する乳幼児による体重 1 kg 当たりのアクリルアミド摂取量の推定値と発がんの BMDL から算出した曝露幅は、10 000 よりも小さい値となっており、欧州連合の考え方に従えば、乳幼児による菓子類からのアクリルアミド摂取による、健康リスクを無視できず、リスク管理措置の必要性を検討する優先度が高いと考えられる。なお、第 64 回 JECFA は、諸外国が実施したアクリルアミド摂取量の推定では、子供の体重当たりの摂取量は大人の 2～3 倍であると報告した。我が国においても、乳幼児など子供では体重当たりの摂取量が大人よりも大きい可能性があることから、子供が消費する食品の含有実態や消費の状況については引き続き情報を収集する必要がある。

みそ及びしょうゆについては、日本人（大人）によるこれらの食品からのアクリルアミド摂取量の推定値が十分に小さい値であり、不確実性を考慮しても発がん性に基づく BMDL に対して曝露幅が十分に大きいことから、その他の食品に比べてリスク管理措置を検討する優先度は現時点では低いと言える。

（測定方法と検出限界）

大気：大気試料を固相カートリッジに通気してアクリルアミドを捕集し、精製水とメタノールで抽出してから窒素気流下で濃縮、精製水で定容した後、LC/MS/MS（ESI-positive、SRM）で分析する。この方法では、検出下限 6.7 ng/m^3 、及び定量下限 17 ng/m^3 とする大気試料中のアクリルアミドの定量分析が可能である（環境省, 2011）。

食品：（GC-MS・LC-MS）食品中のアクリルアミドの分析法として安定同位体を内標とし、臭素誘導体化後 GC-MS で測定する方法、及び誘導体化せずにカラムスイッチング使用の LC-MS で測定する方法では、検出限界は各々 9 ng/g であった（国立医薬品食品衛生研究所, 2002b）。

2. 体内動態

(吸収)

ヒト、及び動物におけるアクリルアミドの曝露経路は、飲料水及び食物の摂取による経口曝露、大気からの吸入曝露、経皮曝露である。ヒトの服用事例やマウス、又はラットを用いた経口、吸入曝露及び経皮曝露試験において、アクリルアミドが速やかに吸収されることが報告されている。また、アクリルアミドの曝露に関するバイオマーカーとして、ヘモグロビン付加物が利用されている。

(分布)

動物試験では放射能標識したアクリルアミドの放射活性が吸収後に、赤血球及び後期精子細胞を除き、どの組織にも明確に蓄積することなく、広く分布することを示している。

(代謝)

ラットとマウスの試験の結果から、アクリルアミドが速やかに代謝され、主に代謝物として尿中に排泄されることが示されている。代謝経路は、グルタチオン抱合体を形成し、さらに代謝されて尿中排泄される経路、及びチロクローム P450 2E1 (CYP2E1) によって反応性の高いグリシドアミドへ生体内変換される経路の2つがある。

(排泄)

アクリルアミドは速やかに尿中に排出される。アクリルアミドと生体内変換されたグリシドアミドは、主にグルタチオン抱合によって解毒され、尿中に排泄される。

3. 動物に対する毒性

(急性毒性)

アクリルアミドの実験動物を用いた経口投与による急性毒性試験での LD50 値は 107～203 mg/kg であった。急性症状として神経障害、反射亢進、痙攣、振戦、瞳孔散大等が見られている。

(亜急性毒性)

亜急性毒性試験では、アクリルアミド又はグリシドアミドの投与により、マウス、ラット又はハムスターなどで、後肢麻痺や、末梢神経のミエリン変性や軸索変性などの神経への影響及び精子数の減少や精巣萎縮等の雄性生殖器に対する影響が発現した。

神経毒性の発現機序に関する試験が多く実施されており、その一つにキネシン類に対す

る影響がある。アクリルアミド又はグリシドアミドはキネシン類と微小管との結合を阻害し、微小管の機能に高度に依存する器官に毒性を引き起こすものと推定されている。その他、アクリルアミド曝露に伴う、シグナル伝達障害、軸索輸送障害、脂質過酸化反応増強や抗酸化状態の低下などによる可能性や脳内神経伝達物質系と関連する遺伝子のmRNAレベル解析、トランスクリプトーム解析、小脳皮質のプルキンエ細胞の電顕検査、血液脳脊髄関門の透過性測定などの手法により解析が進められている。

雄性生殖器毒性の発現機序に関する試験として、*in vivo*の遺伝毒性試験における優性致死、出生児精子細胞の形質転換、精子細胞の小核、不定期 DNA 合成、DNA 損傷又は DNA 付加体形成等の諸試験において陽性結果が以前から得られており、精子細胞の染色体異常等により精子数の減少や精子形態異常が発現すると考えられている。なお、亜急性毒性試験の最も低い NOAEL は Burek ら (1980) が実施した 93 日間試験で得られた 0.2 mg/kg 体重/日であり、電顕検査による末梢神経障害に基づくものである。

(慢性毒性及び発がん性試験)

JECFA から 2011 年のモノグラフ 8 に記載されていた NTP で実施したマウス及びラットにおける慢性毒性試験及び発がん性試験のドラフト技術報告書が 2012 年 7 月に最終化され公表された。内容はドラフト報告書とほとんど同じである。慢性毒性試験は、それまでの試験 (Jhonson et al., 1986、Friedman et al., 1995) と同様に、生存率の低下及び末梢神経の変性が見られている。13 週間試験よりも用量がかなり低いために雄性生殖器に対する影響はほとんど認められていない。NOAEL については NTP 試験では記載されていない。Friedman ら (1995) が実施したラット 106 週間試験では NOAEL が公表されており、末梢神経の変性により雄で 0.5、雌で 1.0 mg/kg 体重/日であった。

発がん性については、マウスでは雌雄にハーダー腺腫又は腺ガン、肺胞・気管支腺腫/腺ガンが、雄に前胃扁平上皮細胞乳頭腫/腺ガンが、雌に間葉系悪性皮膚腫瘍及び卵巣顆粒膜細胞腫瘍が認められている。ラットによる以前の試験では雌雄に甲状腺濾胞細胞腫、雄に精巣鞘膜中皮腫、雌に乳腺腫瘍が認められていたが、これに加えて今回の NTP 試験では雄に心臓悪性シュワン腫、睪島腺腫、雌に陰核腺がん、口腔粘膜扁平上皮乳頭腫瘍などが新たに見られている。グリシドアミドにおいてもアクリルアミドと同様な腫瘍が見られており、いずれも発がん物質である。なお、IARC ではアクリルアミドを 2A (ヒトに対して恐らく発がん性がある物質) に分類している。

(生殖発生毒性試験)

生殖発生毒性については、亜急性毒性試験等でみられたアクリルアミドの精子細胞への影響により、授精能の低下、着床前後の胚死亡数の増加が見られている。Tyl ら (2000) の

2世代生殖発生毒性試験では高用量（5 mg/kg 体重/日）で F0、F1 世代を通して着床数の減少、着床前後の胚吸収数の増加が見られており生殖に対する NOAEL を 2 mg/kg 体重/日としている。発生毒性試験では催奇形性は認められていないが、神経毒性に基づく母動物の歩行異常や後肢開脚などが見られている。また、妊娠期間中及び哺育期間を通してアクリルアミドを投与すると、生後の児動物の学習能力や運動協調性などに障害が見られている。

（遺伝毒性）

遺伝毒性については、*in vitro* では代謝活性化しない Ames 試験で全て陰性、哺乳類細胞を用いた染色体異常試験や姉妹染色分体交換試験では代謝活性化の有無にかかわらず大部分の試験で陽性を示し、*in vivo* では雄性致死試験では全て陽性、種々の組織の特定遺伝子（HPRT、lac z、cII、gpt など）の変異体に関する遺伝子突然変異試験、骨髄や精子細胞を用いた染色体異常試験や小核試験では陰性と陽性が混在した。即ち、アクリルアミドは遺伝子突然変異物質としては非常に弱い、染色体異常誘発物質である。

4. ヒトに対する影響

（急性毒性）

アクリルアミドの職業曝露や汚染水の飲用による中毒例で、急性毒性として中枢及び末梢神経系の障害が認められている。主な症状は、筋力低下、感覚異常、歩行異常といった神経障害で、症例によっては異常な疲労感、記憶障害、めまい、手足の異常発汗、言語障害もみられる。また、皮膚や粘膜に対して刺激性を有しており、皮膚接触によってしびれ感や落屑がみられる。

（慢性毒性/発がん性）

オランダ、スウェーデン、米国、イタリア、フィンランド、英国、中国等で、中毒例や大規模な疫学研究が進められ、乳がん、卵巣がん、子宮内膜がん、腎臓がん、大腸がん等の臓器特異的な種々のがんについて、食品中のアクリルアミド摂取と発がんとの関連について疫学調査が行なわれてきた。

一部の研究ではアクリルアミドの摂取量が多いこととがんリスクが増加することが関連し、別の研究ではそのような関連は見られないため、アクリルアミドの摂取量と発がんの関係ははっきりしていない。

5. 海外の評価機関の評価

（JECFA）

・アクリルアミドの1日摂取量を、各国における推定値に基づき、一般人口集団で 1 µg/kg

体重/日、曝露の高い消費者で 4 µg/kg 体重/日として MOE を求めた。

- この摂取量を、アクリルアミド投与されたラットにおける神経形態変化（電子顕微鏡で検出）の NOEL、0.2 mg/kg 体重/日（Burek ら 1980。F344 ラットの 90 日飲水投与試験）と比較したところ、MOE はそれぞれ、200 及び 50 となった。
- 摂取量をげっ歯類における生殖・発生その他の非発がん影響に対する NOEL、2 mg/kg 体重/日（Thy et al., 2002。F344 ラットの 2 世代飲水投与試験）と比較したところ、MOE はそれぞれ 2,000 及び 500 となった。
- JECFA は、推定平均摂取量では有害影響は起こりそうにないが、非常に摂取量の多い人においては神経の形態変化の可能性が排除できないと結論した。（JECFA, 2006a, 2011b）

（WHO）

- ラット飲水投与試験において雌ラットにみられた乳腺、甲状腺、及び子宮の腫瘍（Johnson, 1986）をもとに、線形多段階モデルを用いて上限過剰生涯発がんリスクが 10^{-5} となる値として 0.5µg/L が推定された。（WHO, 1996）
- 新たに得られた試験データ及び曝露データに基づき MOE の算出を行い、曝露を技術的に可能な限り低くすべきであると勧告した（JECFA, 2011a（WHO Technical Report Series 959）、JECFA 2011b（WHO Food Additives Series: 63（FAO JECFA Monograph 8）））。
- 現在の WHO 飲料水質ガイドライン値 0.5µg/L は、曝露を技術的に可能な限り低くすべきであるという但し書きを加えて維持される。

（EU）

- 加盟国が欧州委員会の 2007 年 5 月の勧告（2007/331/EC）に従い 2007 年、2008 年、2009 年に行った食品中のアクリルアミドレベルのモニタリング結果を取りまとめ、その結果と食品摂取量に基づき、異なる人口集団（国、年齢層）における曝露推定値を報告した。
- 欧州全体での平均曝露レベル推定値は以下であった。
 - 成人（>18 歳）で 0.31～1.1 µg/kg 体重/日
 - 思春期（11～17 歳）で 0.43～1.4 µg/kg 体重/日
 - 子供（3～10 歳）で 0.70～2.05 µg/kg 体重/日
 - 幼児（1～3 歳）で 1.2～2.4 µg/kg 体重/日

（米国）

- 経口参照用量（RfD）

F344 ラットの 2 年間飲水投与試験で観察された神経変性（Johnson et al., 1986）を臨界影響とし（LOAEL：2.0 mg/kg 体重/日、NOAEL：0.5 mg/kg 体重/日）、RfD を求めるための POD をベンチマーク法により求めた。その結果、BMD₅ は 0.58 mg/kg 体重/日、BMDL₅

は 0.27 mg/kg 体重/日となった。この値を POD とし、アクリルアミドの体内用量 (AUC) を介してヒトにおける等量を求めたところ、ヒトにおける等量 (HEDBMDL) は 0.053 mg/kg 体重/日となった。この値を不確実係数 30 (3: 種間のトキシコダイナミクスの外挿の不確実性、10: 種内の変動を考慮する不確実性) で除して、RfD は 0.002 mg/kg 体重/日となった。

・発がん性

F344 ラットの 2 年間飲水投与試験で雄ラットに観察された甲状腺腫瘍及び精巣鞘膜中皮腫瘍の BMDL10 (0.15mg/kg 体重/日) を POD として、経口傾斜係数 (1 mg/kg 体重/日曝露当たりの過剰発がんリスク) は 0.5 [mg/kg 体重/日]⁻¹ となった。

なお、EPA はアクリルアミドによる発がんの作用機序は突然変異によるとし、16 歳以下の子供に対するリスク評価に際しては、さらに調整係数 (ADAF) として 2 歳未満の場合は 10 を、2 歳から 16 歳未満までは 3 を適用すべきであるとしている。

<略号>

略称	正式名称 (英語)	日本語訳
3-APA	3-Aminopropionamide	3-アミノプロピオンアミド
8-OHDG	8-Hydroxydeoxyguanosine	8-ヒドロキシ-2'-デオキシングアノシン
AAMA	N-Acetyl-S- (2-carbamoyl ethyl) -L-cysteine	N-アセチル-S- (2-カルバモイルエチル) -L-システイン
AA-Val	Acrylamide-Valine	アクリルアミドのヘモグロビン付加物
AIST-ADMER	National institute of Advanced Industrial Science and Technology - Atmospheric Dispersion Model for Exposure and Risk Assessment	一曝露・リスク評価大気拡散モデル
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry	米国毒性物質疾病登録機構
AUC	Area Under the Curve	血中濃度一時間曲線下面積
BCF	Bioconcentration Factor	生物濃縮係数
BMDL	Benchmark Dose Lower Confidence Level	ベンチマーク用量信頼下限値
BOD	Biochemical Oxygen Demand	生物化学的酸素要求 (消費) 量
CAS	Chemical Abstracts Service	ケミカル・アブストラクツ・サービス
CCFAC	Codex Committee on Food Additives and Contaminants	コーデックス食品添加物汚染物質部会
CE	Capillary Electrophoresis	キャピラリー電気泳動
CIAA	Confederation of the Food and Drink Industries of the European Union	欧州飲食業界連盟
CP	Cysteine-S-propionamide	システイン-S-プロピオナミド
CYP2E1	Cytochrome P450 2E1	チロクローム P450 2E1
FAPAS	Food Analysis Performance Assessment Scheme	国際的分析技能試験
EFSA	European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
EIA (ELISA)	Enzyme Immunoassay (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)	酵素免疫測定法
EPA	U.S. Environmental Protection Agency	米国環境保護庁
ER	Estrogen receptor	エストロゲン受容体
ESI	Electrospray Ionization	エレクトロスプレーイオン化
EtOAc	Ethyl Acetate	酢酸エチル
EUSES	EU System for the Evaluation of Substances	欧州化学物質影響評価システム
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
FDA	Food and Drug Administration	(米国) 食品医薬品局
FSH	Follicle Stimulating Hormone	卵胞刺激ホルモン
GAMA	N-Acetyl-S- (3-amino-2-hydroxy-3-oxopropyl) -L-cysteine	N-アセチル-S- (2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) -L-システイン

略称	正式名称 (英語)	日本語訳
GA-Val	Glycidamide-Valine	グリシドアミド-バリン (グリシドアミドのヘモグロビン付加物)
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry	ガスクロマトグラフ質量分析法
GEMS/Food	Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme	地球環境モニタリングシステム/食品汚染モニタリングプログラム
GSH	Glutathione-SH	グルタチオン
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
Hprt	Hypoxanthine phosphoribosyltransferase	ヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IPCS	International Programme on Chemical Safety	国際化学物質安全性計画 (WHO)
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements	標準物質計測研究所
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LH	Lutenizing hormone	黄体形成ホルモン
LOD	Limit of Detection	検出下限 (検出限界)
LOH	Loss of heterozygosityloh	ヘテロ接合性の消失
MDA	Malonaldehyde	マロンジアルデヒド
MOE	Margin of Exposure	曝露マージン
N3-GA-Ade	N3- (2-carbamoyl-2-hydroxyethyl) adenine	N3- (2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) アデニン
N7-GA-Gua	N7- (2-carbamoyl-2-hydroxyethyl) guanine	N7- (2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル) グアニン
NACP	n-acetyl cysteine-S-propionamide	N-アセチルシステイン-S-プロピオナミド
NCTR	National Center for Toxicological Research	米国国立毒性研究センター
NFPA	National Fire Protection Association	(米国) 防火協会
NIST	National Institute of Standards and Technology	米国立標準技術研究所
NITE	National Institute of Technology and Evaluation	独立行政法人 製品評価技術基盤機構
NO	Nitric Oxide	一酸化窒素
NSF	National Science Foundation	(米国) 国立科学基金
NTP	National Toxicology program	米国国家毒性プログラム
NTP-CERHR	National Toxicology Program - Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction	(米国) 国家毒性プログラム - ヒト生殖リスク評価センター
PBPK	Physiologically-based pharmacokinetics	生理学に基づくファーマコキネティクス

略称	正式名称（英語）	日本語訳
PBTK	Physiologically based toxicokinetics	生理学に基づくトキシコキネティクス
PRTR	Pollutant Release and Transfer Register	環境汚染物質排出移動登録
SCE	Sister chromatid exchange	姉妹染色分体交換
SOD	Superoxide dismutase	スーパーオキシドジスムターゼ
SPE	Solid-Phase Extraction	固相抽出
SRC	Syracuse Research Corporation	シラキューズリサーチ株式会社
SRM	Selected Reaction Monitoring	選択反応モニタリング
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
t_{max}	Time of maximum concentration	最高血中濃度到達時間
TOC	Total Organic Carbon	全有機炭素
UPLC	Ultra (High) Performance Liquid chromatography	ウルトラパフォーマンス液体クロマトグラフィー
WHO	World Health Organization	世界保健機関

< 参照 >

- Abdelmagid HM, Tabatabai MA: Decomposition of acrylamide in soils. J Environ Qual 1982; 11: 701-704
- Abernethy DJ, Boreiko CJ: Acrylonitrile and acrylamide fail to transform C3H/10T1/2 cells. Environ Mutagen 1987; 9: 2
- Adler I, Ingwersen I, Kliesch U, El-Tarras A: Clastogenic effects of acrylamide in mouse bone marrow cells. Mutat. Res 1988; 206: 379-385
- Adler ID: Clastogenic effects of acrylamide in different germ-cell stages of male mice. In: Allen B, Bridges B, Lyon M, eds. Biology of mammalian germ cell mutagenesis. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press 1990; 115-131
- Adler LD, Zouh R, Schmid E: Perturbation of cell division by acrylamide *in vitro* and *in vivo*. Mutat Res 1993; 301: 249-254
- Adler ID, Reitmeir P, Schmöller R, Schriever-Schwemmer G: Dose response for heritable translocations induced by acrylamide in spermatids of mice. Mutat Res 1994; 309: 285-291
- Adler ID, Baumgartner A, Gonda H, Friedman MA, Skerhut M: 1-Aminobenzotriazole inhibits acrylamide-induced dominant lethal effects in spermatids of male mice. Mutagenesis 2000; 15: 133-136
- Adler ID, Gonda H, Hrabé de Angelis M, Jentsch I, Otten IS, Speicher MR: Heritable translocations induced by dermal exposure of male mice to acrylamide. Cytogenetic and Genome Research 2004; 104: 271-276
- AFSSA (French Agency for Food Sanitary Security) : Acrylamide : Point d'information N3, Afssa – Saisine n 2002-SA-0300 le 13 mai 2005
- Ahmed HH, Elmegeed GA, el-Sayed el-Sayed M, Abd-Elhalim MM, Shousha WG, Shafic RW : Potent neuroprotective role of novel melatonin derivatives for management of central neuropathy induced by acrylamide in rats. European journal of medicinal chemistry 2010; 11: 5452-9
- Allam A, El-Ghareeb AA, Abdul-Hamid M, Baikry A, Sabri MI: 2011, Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies, Toxicology and industrial health 2011; 27: 291-306
- Alpmann A, Morlock G: Rapid and sensitive determination of acrylamide in drinking water by planar chromatography and fluorescence detection after derivatization with dansulfinic acid, Journal of Separation Science 2008; 31: 71–77
- Amrein TM, Andres L, Escher F, et al.: Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options. Food Addit Contam 2007; 24: 13-25
- Anese M et al.: Effect of low-temperature long-time pre-treatment of wheat on acrylamide concentration in short dough biscuits, Molecular Nutrition and Food Research 2009; 53: 1526–1531
- ANSES (National Social Security Administration) Etude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2), June 2011; <http://www.anses.fr/Documents/PASER2006sa0361Ra2.pdf>
- Ao L, Liu SX, Yang MS, Fong C-C, An H, Cao J: Acrylamide-induced molecular mutation spectra at

- HPRT locus in human promyelocytic leukaemia HL-60 and NB4 cell lines. *Mutagenesis* 2008; 23: 309-315
- Arimitsu H, Ikebukuro H, Seto I: The biological degradability of acrylamide monomer. *Journal of the Japan Water Works Association* 1975; 487: 31–39
- Arribas-Lorenzo G, Morales FJ: Dietary exposure to acrylamide from potato crisps to the Spanish population. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 2009; 26: 289–297
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) : *ToxGuide™ for Acrylamide* 2009
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-203.pdf>
- Auld RB, Bedwell SF: Peripheral neuropathy with sympathetic over activity from industrial contact with acrylamide. *Can Med Assoc J* 1967; 96: 652-654
- Aureli F, Di Pasquale M, Lucchetti D, Aureli P, Coni E: An absorption study of dietary administered acrylamide in swine. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45: 1202–1209.
- Australian Department of Health and Aging: *Acrylamide. Priority Existing Chemical Assessment Report No.23, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme* 2002.
http://nicnas.gov.au/Publications/CAR/PEC/PEC23/PEC_23_Full_Report_PDF.pdf
- Backer LC, Dearfield KL, Erexson GL, Campbell JA, Westbrook-Collins B, Allen JW: The effects of acrylamide on mouse germ-line and somatic cell chromosomes. *Environ Mol Mutagen* 1989; 13: 218-226
- Baka S, Erim FB : NACE for the analysis of acrylamide in food. *Electrophoresis* 2007; 28: 4108-4113
- Banerjee S, Segal A : *In vitro* transformation of C3H/10T1/2 and NIH/3T3 cells by acrylonitrile and acrylamide. *Cancer Lett.* 1986; 32: 293-304
- Barber DS, Hunt JR, Ehrich MF, Lehning EJ, LoPachin RM: Metabolism, toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats following subacute and subchronic acrylamide dosing. *NeuroToxicology* 2001; 22: 341-353
- Barber DS, LoPachin RM: Proteomic analysis of acrylamide-protein adduct formation in rat brain synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 201: 120-136
- Barber DS, Stevens S, LoPachin RM: Proteomic analysis of rat striatal synaptosomes during acrylamide intoxication at a low dose rate. *Toxicol Sci* 2007; 100: 156-167
- Barfknecht TR, Mecca DJ, Naismith RW: The genotoxic activity of acrylamide. *Environ Mol Mutagen* 1988; 11: 9
- Başkan S, Erim FB: NACE for the analysis of acrylamide in food. *Electrophoresis* 2007; 28: 4108–4113
- Batiste-Alentorn M, Xamena N, Creus A, Marcos R : Genotoxicity studies with the unstable zeste-white (UZ) system of *Drosophila melanogaster*: results with ten carcinogenic compounds. *Environ. mol. Mutag* 1991; 18: 120-125
- Baum M, et al.: Fate of ¹⁴C-acrylamide in roasted and ground coffee during storage. *Molecular Nutrition and Food Research* 2008; 52: 600–608
- Becalski A, et al.: Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51: 802–808

- Beland FA: Technical report for experiment No. 2150.05 and 2150.07. Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide and its metabolite, glycidamide, in rodents: two year chronic study of acrylamide in B6C3F1 mice and F334 rats. Submitted to FAO/WHO by the United States National Center for Toxicological Research, Jefferson, AK 2010
- Bergamini CM, Signorini M: *In vivo* inactivation of transglutaminase during the acute acrylamide toxic syndrome in the rat. *Experientia* 1990; 46, 278-281
- Bergmark E, Callemann CJ, Costa LG: Formation of hemoglobin adducts of acrylamide and its epoxide metabolite glycidamide in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991; 111: 352-363
- Bergmark E, Callemann CJ, He E, Costa LG: Determination of hemoglobin adducts in humans occupationally exposed to acrylamide. *Toxicol. appl Pharmacol* 1993; 120: 45-54
- Bergmark E : Hemoglobin adducts of acrylamide and acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers. *Chem. Res. Toxicol* 1997; 10: 78-84
- Bermudo E, et al.: Microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of acrylamide in food. *Electrophoresis* 2004; 25: 3257–3262
- Bermudo E, et al.: Analysis of acrylamide in food samples by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 2006a; 1120: 199–204
- Bermudo E, et al.: Analysis of acrylamide in food products by in-line preconcentration capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 2006b;1129: 129–134
- Bermudo E, et al.: Field amplified sample injection–capillary electrophoresis–tandem mass spectrometry for the analysis of acrylamide in foodstuffs. *Journal of Chromatography A* 2007; 1159: 225–232
- Bermudo E, et al.: Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of acrylamide in typical Spanish products. *Talanta* 2008; 76:389–394
- Besaratinia A, Pfeifer GP : Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *J. Natl. Cancer Inst* 2004; 96, 1023-1029
- BfR (The Federal Institute for Risk Assessment, Germany) : Acrylamid in Lebensmitteln Stellungnahme Nr. 043/2011, Stellungnahme Nr. 043/2011 des BfR vom 29 2011a
- BfR: Acrylamide in Food BfR Opinion Nr. 043/2011, 29 June 2011b, <http://www.bfr.bund.de/cm/349/acrylamide-in-food.pdf>
- Biedermann M, Grob K : In GC-MS, acrylamide from heated foods may be coeluted with 3-hydroxy propionitrile. *European Food Research and Technology* 2008; 227: 945–948
- Bishop J, Chapin R, Fai P, George J, Grizzle T, Sadler B, Heindel J: Acrylamide induced dominant lethality in mice following low dose chronic administration in drinking water. *Environ. Mol. Mutagen* 1991; 17: A25 11
- Bjellaas T, Janák K, Lundanes E, Kronberg L, Becher G: Determination and quantification of urinary metabolites after dietary exposure to acrylamide. *Xenobiotica* 2005; 35: 1003-1018
- Bjellaas T, et al.: Urinary acrylamide metabolites as biomarkers for short-term dietary exposure to acrylamide. *Food and Chemical Toxicology* 2007a; 45: 1020–1026
- Bjellaas T, Oleson PT, Frandsen H, Haugen M, Stølen LH, Paulsen JE, Alexander J, Lundanes E, Becher G : Comparison of estimated dietary intake of acrylamide with hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide. *Toxicol Sci* 2007b; 98: 110-117

- Boettcher MI, Angerer J : Determination of the major mercapturic acids of acrylamide and glycidamide in human urine by LC-ESI-MS/MS. *J. Chromatogr.* 2005; B 824, 283-294
- Boettcher MI, Schettgen T, Kutting B, Pischetsrieder M, Angerer J: Mercapturic acids of acrylamide and glycidamide as biomarkers of the internal exposure to acrylamide in the general population. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2005; 580: 167-176
- Boettcher MI, Bolt HM, Drexler H, Angerer J: Excretion of mercapturic acids of acrylamide and glycidamide in human urine after single oral administration of deuterium-labelled acrylamide. *Arch. Toxicol* 2006a; 80, 55-61
- Boettcher MI, Bolt HM, Angerer J: Acrylamide exposure via the diet: influence of fasting on urinary mercapturic acid metabolite excretion in humans. *Arch Toxicol* 2006b; 80: 817-819
- Bowyer JF, Latendresse JR, Delongchamp RR, Muskhelishvili L, Warbritton AR, Thomas M, Tareke E, McDaniel LP, Doerge DR : The effects of subchronic acrylamide exposure on gene expression, neurochemistry, hormones, and histopathology in the hypothalamus-pituitary-thyroid axis of male Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008a; 230: 208-215
- Bowyer JF, Latendresse JR, Delongchamp RR, et al.: Corrigendum to "The effects of subchronic acrylamide exposure on gene expression, neurochemistry, hormones, and histopathology in the hypothalamus-pituitary-thyroid axis of male Fischer 344 rats", Erratum to: *Toxicol Appl Pharmacol* 2008b; 230: 208-215
- Bowyer JF, et al.: The mRNA expression and histological integrity in rat forebrain motor and sensory regions are minimally affected by acrylamide exposure through drinking water. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 240:401–411
- Brevik A, Rusnakova V, Duale N, Slagsvold HH, Olsen AK, Storeng R, Kubista M, Brunborg G Lindeman B : Preconceptional paternal glycidamide exposure affects embryonic gene expression: single embryo gene expression study following *in vitro* fertilization. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), (2011 Dec) 2011; 32: 463-71
- Brown L, Rhead MM: Liquid chromatographic determination of acrylamide monomer in natural and polluted aqueous environments. *Analyst*, 1979; 104:391–399
- Brown L, Bancroft KCC, Rhead MM: Laboratory studies on the adsorption of acrylamide monomer by sludge, sediments, clays, peat and synthetic resins. *Water Res* 1980; 14, 779-781
- Brown L, Rhead MM and Bancroft KCC: Qualitative and quantitative studies on the in situ adsorption, degradation and toxicity of acrylamide by the spiking of the wastes of two sewage works and river. *Water Res* 1982; 16, 579-591
- Bull RJ, Robinson M, Laurie RD, Stoner GD, Greisiger E, Meier JR, Stober J: Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Res.* 1984a; 44, 107-111
- Bull RJ, Robinson M, Stober JA: Carcinogenic activity of acrylamide in the skin and lung of Swiss-ICR mice. *Cancer Lett* 1984b; 24, 209-212
- Burek JD, Albee RR, Beyer JE, Bell TJ, Carreon RM, Morden DC, Wade CE, Hermann EA, Gorzinski SJ: Subchronic toxicity of acrylamide administered to rats in the drinking water followed by up to 144 days of recovery. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1980; 4: 157-182
- Burley VJ, Greenwood DC, Hepworth SJ, Fraser LK, de Kok TM, van Breda SG, Kyrtopoulos SA,

- Botsivali M, Kleinjans J, McKinney PA, Cade JE : Dietary acrylamide intake and risk of breast cancer in the UK women's cohort. *British journal of cancer* 2010; 103: 1749-54
- Butterworth BE, Eldridge SR, Sprankle CS, Working PK, Bentley KS, Hurtt ME: Tissue-specific genotoxic effects of acrylamide and acrylonitrile. *Environ Mol Mutagen* 1992; 20: 148-155
- Calleman CJ, Wu Y, He F, Tian G, Bergmark E, Zhang S, Deng H, Wang Y, Crofton KM, Fennell T, et al.: Relationship between biomarkers of exposure and neurological effects in a group of workers exposed to acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 126: 361-371
- Camacho L, Latendresse JR, Muskhelishvili L, Patton R, Bowyer JF, Thomas M, Doerge DR: Effects of acrylamide exposure on serum hormones, gene expression, cell proliferation, and histopathology in male reproductive tissues of Fischer 344 rats, *Toxicol Lett.* 2012; 211: 135-143
- Carrington CD, Lapadula DM, Dulak L, Friedman M, Abou-Donia, MB: *In vivo* binding of (¹⁴C) acrylamide to proteins in the mouse nervous system. *Neurochem. int.* 1991;18: 191-197
- Casado FJ, Montano A: Influence of processing conditions on acrylamide content in black ripe olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 2021–2027
- Casella IG, Pierri M, Contursi M: Determination of acrylamide and acrylic acid by isocratic liquid chromatography with pulsed electrochemical detection. *Journal of Chromatography A* 2006; 1107: 198–203
- Castle L, Eriksson S: Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. *J AOAC* 2005; Int 88: 274-284
- CCCF (Codex Committee on Contaminants in Foods): Report of the Thirty-second Session of the Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy, 29 June – 4 July, 2009. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (ALINORM 09/32/41), http://www.codexalimentarius.net/download/report/722/al32_41e.pdf
- CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants): Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Thirty-eighth Session the Hague, the Netherlands, 24 – 28 April 2006 Discussion Paper on Acrylamide, 2006; ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFAC/ccfac38/fa38_35e.pdf
- CERI (化学物質評価研究機構): 既存化学物質安全性(ハザード)評価シート, 2002; http://qsar.cerij.or.jp/SHEET/F96_32.pdf
- Chapin RE, Fail PA, George JD, Grizzle TB, Heindel JJ, Harry GJ, Collins BJ, Teague J: The reproductive and neuronal toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol. *Toxicol Sci* 1995; 27: 9-24
- Chen MJ, Hsu HT, Lin CL, Ju WY: A statistical regression model for the estimation of acrylamide concentrations in French fries for excess lifetime cancer risk assessment. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2012
- Chen Q, Zhao W, Fung Y: Determination of acrylamide in potato crisps by capillary electrophoresis with quantum dot-mediated LIF detection. *Electrophoresis* 2011; 32: 1252-7
- Chevolleau S, Jacques C, Canlet C, Tulliez J, Debrauwer L: Analysis of hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass

- spectrometry, as exposure biomarkers in French population. *J Chromatogr A* 2007; 1167: 125-134
- Cho YM, Imai T, Hasumura M, Watanabe N, Ushijima T, Hirose M, Nishikawa A: Increased H-ras mutation frequency in mammary tumors of rats initiated with N-methyl-N-nitrosourea (MNU) and treated with acrylamide, *Journal of Toxicological Sciences* 2009; 34, 407-412
- Chu FL, Yaylayan VA: FTIR monitoring of oxazolidin-5-one formation and decomposition in a glycolaldehyde–phenylalanine model system by isotope labeling techniques. *Carbohydrate Research* 2009; 344: 229–236
- Chu SG, Metcalfe CD: Analysis of acrylamide in water using a coevaporation preparative step and isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2007; 79: 5093-5096
- Chuda Y, Ono H, Yada H, Ohara-Takada A, Matsuura-Endo C, Mori M: Effects of Physiological Changes in Potato Tubers (*Solanum tuberosum* L.) after Low Temperature Storage on the Level of Acrylamide Formed in Potato Chips. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2003; 67: 1188-1190
- Churchwell MI et al.: Improving LC-MS sensitivity through increases in chromatographic performance: comparisons of UPLC-ES/MS/MS to HPLC-ES/MS/MS. *Journal of Chromatography B* 2005; 825: 134–143
- CIAA (Confederation of the Food and Drink Industries): The CIAA acrylamide “toolbox”. Brussels, Confederation of the Food and Drink Industries of the EU 2009a; http://www.ciaa.be/documents/brochures/ac_toolbox_20090216.pdf
- CIAA (Confederation of the Food and Drink Industries): Presentation made by the Confederation of the Food and Drink Industries of the EU at a meeting with the European Commission’s “Expert Group on Environmental and Industrial Contaminants”, 26 October 2009b, Brussels, Belgium
- Ciesarova Z, Suhaj M, Horvathova J: Correlation between acrylamide contents and antioxidant capacities of spice extracts in a model potato matrix. *Journal of Food and Nutrition Research* 2008; 47: 1–5
- Cihák R, Vontorková M: Cytogenetic effects of acrylamide in the bone marrow of mice. *Mutat. Res.* 1988; 209: 91-94
- Cihák R, Vontorková M: Activity of acrylamide in single-, double-, and triple-dose mouse bone marrow micronucleus assays. *Mutat Res*, 1990; 234: 125-127
- Claus A, et al.: Pyrolytic acrylamide formation from purified wheat gluten and glutensupplemented wheat bread rolls. *Molecular Nutrition and Food Research* 2006; 50: 87–93
- Claus A, Carle R, Schieber A: Acrylamide in cereal products: a review. *Journal of Cereal Science*, 2008; 47: 118–133
- Collins IJ, Swaen GMH, Marsh GM, Utidjian HMD, Caporossi IC, Lucas LI: Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J occup. Med*, 1989; 31, 614-617
- Collins BW, Howard DR, Allen JW.: Kinetochores-staining of spermatid micronuclei: studies of mice treated with X-radiation or acrylamide. *Mutat. Res* 1992; 281, 287-294
- Conway EJ, Petersen RJ, Collingswrth RF, Graca JG, Carter JW: Assessmen of the need for and character of limitations on acrylamid and its compounds, Washington DC, US Environmental

- Protection Agency 1979 (Report Prepared for the Office of Pesticides and Toxic Substances, Contract No. 68-10-4308)
- Crofton KM, Padilla S, Tilson HA, Anthony, DC, Raymer JH, MacPhail RC: The impact of dose rate on the neurotoxicity of acrylamide: the interaction of administered dose, target tissue concentrations, tissue damage, and functional effects. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996; 139: 163-176
- Dabrio M, et al.: Production of a certified reference material for the acrylamide content in toasted bread. *Food Chemistry* 2008; 110: 504–511
- Davenport JG, Farrell DF, Sumi SM: Giant axonal neuropathy' caused by industrial chemicals: Neurofilamentous axonal masses in man. *Neurology* 1976; 26: 919-923
- Diembeck W, Dusing HJ, Akhiana M: Dermal absorption and penetration of acrylamide ([¹⁴C] acrylamide as tracer) in different cosmetic formulations and polyacrylamide-solution after topical application to excised pig skin. Beiersdorf. Hamburg, Germany 1998
- Dixit R, Seth PK, Mukhtar H: Metabolism of acrylamide into urinary mercapturic-acid and cysteine conjugates in rats. *Drug Metab Disp.* 1982; 10: 196-197
- Dobrzynska MM: Assessment of DNA damage in multiple organs from mice exposed to x-rays or acrylamide or a combination of both using the comet assay. *In Vivo* 2007; 21: 657-662
- Doerge DR, Young JF, McDaniel LP, Twaddle NC, Churchwell MI: Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005a; 202: 258-267
- Doerge DR, Young JF, McDaniel LP, Twaddle NC, Churchwell MI: Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005b; 208: 199-209
- Doerge DR, Gamboa da CG, McDaniel LP, Churchwell MI, Twaddle NC, Beland FA: DNA adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats. *Mutat. Res.* 2005c; 580: 131-141
- Doerge DR, et al.: Urinary excretion of acrylamide and metabolites in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice administered a single dose of acrylamide. *Toxicology Letters* 2007; 169: 34–42
- Doerge DR, Young JF, Chen JJ: Using dietary exposure and physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in human risk extrapolations for acrylamide toxicity. *J Agric Food Chem.* 2008; 56: 6031-6038
- Donovan JW, Pearson T: Ingestion of acrylamide with severe encephalopathy, neurotoxicity and hepatotoxicity. *Veterinary and Human Toxicology* 1987; 29:462 (abstract)
- Doroshenko O, et al.: *In vivo* role of cytochrome P450 2E1 and glutathione-S-transferase activity for acrylamide toxicokinetics in humans. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2009; 18:433–443
- Dow Chemical Company: Appendix I to acrylamide monomer two-year chronic toxicity-oncogenicity study, histopathologic observations--male rats. Dow Chemical Company 1984
- Duale N, Bjellaas T, Alexander J, Becher G, Haugen M, Paulsen JE, Frandsen H, Olesen PT, Brunborg G: Biomarkers of human exposure to acrylamide and relation to polymorphisms in metabolizing genes. *Toxicol Sci* 2009; 108: 90-99
- Dunovska L, et al.: Direct determination of acrylamide in food by gas

- chromatography–high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2006; 578: 234–240
- Edwards PM: The distribution and metabolism of acrylamide and its neurotoxic analogues in rats. *Biochem. Pharmacol.* 1975; 24: 1277-1282
- EFSA (European Food Safety Authority): Statement of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain to a Summary Report on Acrylamide in Food of the 64th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 2005a
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Statement/contam_acrylamide_statement1,0.pdf
- EFSA: Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a harmonised approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic, 2005b
- EFSA: EFSA's 11th Scientific Colloquium - Acrylamide carcinogenicity - New evidence in relation to dietary exposure - 22 and 23 May 2008, Tabiano (PR), Italy 2008a
- EFSA: Summary Report EFSA Scientific Colloquium No. 11 Acrylamide Carcinogenicity New Evidence in Relation to Dietary Exposure 22-23 May 2008, Tabiano (PR), Italy 2008c;
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/colloquiaacrylamide.pdf>
- EFSA: Dietary exposure to acrylamide and cancer risk: a summary of recent epidemiological evidence, 2008g; <http://www.efsa.europa.eu/en/events/documents/colloque080522-p3.pdf>
- EFSA: Discussion Group 1 Epidemiological studies –evaluating evidence and addressing uncertainties, 2008l; <http://www.efsa.europa.eu/en/events/documents/colloque080522-p8.pdf>
- EFSA: Results on the monitoring of acrylamide levels in food, The EFSA Scientific Report, 2009; 285: 1–26, <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/285r.pdf>
- EFSA: Scientific Report of EFSA Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessment 2011,
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2133.pdf>
- Ehling UH, Neuhäuser-Klaus A: Reevaluation of the induction of specific-locus mutations in spermatogonia of the mouse by acrylamide. *Mutat. Res.* 1992; 283, 185-191
- Ehling S, Hengel M, Shibamoto T: Formation of acrylamide from lipids. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2005; 561:223–233
- El-Ghorab AH, Fujioka K, Shibamoto T: Determination of acrylamide formed in asparagine/D-glucose Maillard model systems by using gas chromatography with headspace solid-phase microextraction. *Journal of AOAC International*, 2006; 89: 149–153
- El-Sayyad HI, Abou-Egla Mohamed H, El-Sayyad Fawkia I, El-Ghawet Heba A, Gaur Rajiv L, Fernando Augusta, Raj Madhwa H G, Ouhtit Allal: Effects of fried potato chip supplementation on mouse pregnancy and fetal development. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 2011a; 27: 343-50
- El-Sayyad HI, El-Gammal Hekmat L, Habak Lotfy A, Abdel-Galil Heba M, Fernando Augusta, Gaur Rajiv L, Ouhtit Allal: Structural and ultrastructural evidence of neurotoxic effects of fried potato chips on rat postnatal development. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 2011 Oct 2011b; Vol. 27, No. 10, pp. 1066-75
- EPA (United States Environmental Protection Agency): Peer Review Draft of Toxicological Review of Acrylamide. Integrated Risk Information System, National Center for Environmental

- Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC. 2007; <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recorddisplay.cfm?deid=187729>
- EPA (United States Environmental Protection Agency): Toxicological review of acrylamide (CAS No. 79-06-1) In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS) 2010, <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0286tr.pdf>
- EPA-IRIS (United States Environmental Protection Agency/Integrated Risk Information System): Toxicological review of acrylamide (CAS No. 79-06-1) In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS) Acrylamide 2010, <http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm>
- Eriksson S, Karlsson P: Alternative extraction techniques for analysis of acrylamide in food: influence of pH and digestive enzymes. *LWT – Food Science and Technology* 2006; 39: 393–399
- EU (European Union): European Union Risk Assessment Report, Acrylamide. ECB, European Chemical Bureau 2000
- FDA (US Food and Drug Administration): The 2006 Exposure Assessment for Acrylamide 2006
- Feng CH, Lu CY: Modification of major plasma proteins by acrylamide and glycidamide: Preliminary screening by nano liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *Analytica chimica acta* 2011; 684: 80-6
- Feng Y, Forgac M: Cysteine 254 of the 73kDa A subunit is responsible for inhibition of the coated vesicle (H⁺) -ATPase upon modification by sulfhydryl reagents. *J Biol Chem.* 1992; 267: 5817-5822
- Fennell TR, Sumner SCJ, Snyder RW, Burgess J, Spicer R, Bridson WE, Friedman MA; Metabolism and hemoglobin adduct formation of acrylamide in humans. *Toxicol. Sci.* 2005; 85: 447-459
- Fennell TR, Sumner SC, Snyder RW, Burgess J, Friedman MA: Kinetics of elimination of urinary metabolites of acrylamide in humans. *Toxicological Sciences* 2006; 93: 256–267
- Ferguson, SA, Garey J, Smith ME, Twaddle NC, Doerge DR, Paule MG: Prewaning behaviors, developmental landmarks, and acrylamide and glycidamide levels after pre- and postnatal acrylamide treatment in rats, *Neurotoxicology and Teratology* 2010; 32, 373-382
- Fernandes JO, Soares C: Application of matrix solid-phase dispersion in the determination of acrylamide in potato chips. *Journal of Chromatography A* 2007; 1175:1–6
- Field EA, Priece C1, Sleet RB, Marr MC, Schwetz BA, Morrissey RE: Developmental toxicity evaluation of acrylamide in rats and mice. *Fundam. appl. Toxicol.* 1990; 14: 502-512
- Fohgelberg P, et al.: The acrylamide intake via some common baby food for children in Sweden during their first year of life—an improved method for analysis of acrylamide. *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43: 951–959
- Foot RJ, et al.: Acrylamide in fried and roasted potato products: a review on progress in mitigation. *Food Additives and Contamination* 2007; Suppl. 1: 37–46
- Frantz SW, Dryzga MD, Fresheur NL: *In vitro/in vivo* determination of cutaneous penetration of residual acrylamide monomer from polyacrylamide water solutions. Dow Chemical Toxicology Research Laboratory. Midland, Michigan 1995
- Friedman M, Dulak L, Stedham M.: A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam.*

- Appl. Toxicol. 1995; 27, 95-105
- Friedman M, Levin CE: Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 6113–6140
- Fuhr U, Boettcher MI, Kinzig Schippers M, Weyer A, Jetter A, Lazar A, Taubert D, Tomalik Scharte D, Pournara P, Jakob V, Harlfinger S, Klaassen T, Berkessel A, Angerer J, Sorgel F, Schomig E: Toxicokinetics of acrylamide in humans after ingestion of a defined dose in a test meal to improve risk assessment for acrylamide carcinogenicity. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2006, 15: 266–271
- Fujiki M, Asada J, Shimizu T: Studies on analytical method of acrylamid monomer and accumulation into fish. 1982, NTIS/AD P004 743.
- Fullerton PM, Barnes JM: Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *Br J Ind Med* 1966, 23: 210-221
- Fullerton PM: Electrophysiological and histological observations on peripheral nerves in acrylamide poisoning in man. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1969, 32: 186-192
- Gamboa da Costa G, Churchwell MI, Hamilton LP, Von Tungeln LS, Beland FA, Marques MM, Doerge DR: DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem. Res. Toxicol.* 2003; 16, 1328-1337
- Garabagiu S, Mihailescu G: Simple hemoglobin-gold nanoparticles modified electrode for the amperometric detection of acrylamide, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 2011; 659: 196-200
- Garey J, Ferguson SA, Paule MG: Effect of low-dose acrylamide exposure on preweaning behavior of Fisher 344 rats. *Neurotoxicol Teratol* 2005; 27: 379-380
- Garey J, Paule MG: Effects of chronic low-dose acrylamide exposure on progressive ratio performance in adolescent rats. *Neurotoxicology* 2007, 28: 998-1002
- Garey J, Paule MG: Effects of chronic oral acrylamide exposure on incremental repeated acquisition (learning) task performance in Fischer 344 rats. *Neurotoxicology and teratology*, 2010; 32: 220-5
- Garland TO: Patterson MWH: Six cases of acrylamide poisoning. *Br Med J* 1967; 4: 134-138
- Geng Z, Wang P, Liu A: Determination of acrylamide in starch-based foods by HPLC with pre-column ultraviolet derivatization. *Journal of chromatographic science* 2011; 49: 818-24
- Geng ZM, Jiang R, Chen M: Determination of acrylamide in starch-based foods by ionexclusion liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis* 2008; 21: 178–182
- Gertz C, Klostermann S: Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002; 104: 762–771
- Gertz K, Kochhar: Deep frying: the role of water from food being fried and acrylamide formation. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 2003; 10: 297–303
- Ghanayem BI, McDaniel LP, Churchwell MI, et al.: Role of CYP2E1 in the epoxidation of acrylamide to glycidamide and formation of DNA and hemoglobin adducts. 2005a
- Ghanayem BI, Witt KL, Kissling GE, Tice RR, Recio L: Absence of acrylamide-induced genotoxicity in CYP2E1-null mice: evidence consistent with a glycidamide-mediated effect. *Mutation Res.* 2005b; 578, 284-297

- Ghanayem BI, Witt KL, El-Hadri L, Hoffler U, Kissling GE, Shelby MD, Bishop JB: Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide: Evidence supporting a glycidamide-mediated effect. *Biol Reprod* 2005c; 72: 157-163
- Ghanayem BI, Bai RK, Grace E, Travlos G, Hoffler U: Diet-induced obesity in male mice is associated with reduced fertility and potentiation of acrylamide-induced reproductive toxicity. *Biology of Reproduction* 2010; 82: 96-104
- Gho M, McDonald K, Ganetzky B, Saxton WM: Effects of kinesin mutations on neuronal functions. *Science* 1992; 258: 313-316
- Goffeng LO, Heier MS, Kjuus H, et al.: Nerve conduction, visual evoked responses and electroretinography in tunnel workers previously exposed to acrylamide and N-methylolacrylamide containing grouting agents. *Neurotoxicol Teratol* 2008; 30:186-194
- Goffeng LO, Alvestrand M, Ulvestad B, Sorensen KA, Skaug V, Kjuus H: Self-reported symptoms and neuropsychological function among tunnel workers previously exposed to acrylamide and N-methylolacrylamide. *Scandinavian journal of work, environment & health* 2011; 37: 136-46
- Gökmen V, et al.: Determination of acrylamide in potato chips and crisps by highperformance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2005; 1088: 193–199
- Goldmann T, et al.: Impact of extraction conditions on the content of acrylamide in model systems and food. *Food Additives and Contaminants* 2006; 23: 437–445
- Granvogl M, Schieberle P: Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 5933–5938
- Granvogl M, Schieberle P: Quantification of 3-aminopropionamide in cocoa, coffee and cereal products. *European Food Research and Technology* 2007; 225: 857–863
- Granvogl M, et al.: Quantitation of 3-aminopropionamide in potatoes—a minor but potent precursor in acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004; 52: 4751–4757
- Grob K: Options for legal measures to reduce acrylamide contents in the most relevant foods. *Food Additives and Contaminants* 2007; 24: 71–81
- Guo L, Shelton S, Moore M, Manjanatha M: Acrylamide and glycidamide induce cII mutations in lung tissue of Big Blue mice. *Environ. Mol. Mutagen* 2009; 50: 570
- Gutierrez-Espeleta GA, Hughes LA, Piegorsch WW, Shelby MD, Generoso WM: Acrylamide: dermal exposure produces genetic damage in male mouse germ cells. *Fundam. appl. Toxicol.* 1992; 18: 189-192
- Hagmar L, Bonassi S, Strömberg U, Mikoczy Z, Lando C, Hansteen IL, Montagud AH, Knudsen L, Norppa H, Reuterwall C, Tinnerberg H, Brogger A, Forni A, Högstedt B, Lambert B, Mitelman F, Nordenson I, Salomaa S, Skerfving S: Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: A report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutat Res* 1998; 405: 171-178
- Hagmar L, Törnqvist M, Nordander C, Rosén I, Bruze M, Kautiainen A, Magnusson AL, Malmberg B, Aprea P, Granath F, Axmon A: Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scand J Work Environ Health* 2001; 27: 219-226
- Hagmar L, Wirfalt E, Paulsson B, Törnqvist M: Differences in hemoglobin adduct levels of

- acrylamide in the general population with respect to dietary intake, smoking habits and gender. *Mutat Res* 2005; 580: 157-165
- Hamzalioglu A, Mogol BA, Lumaga RB, Fogliano V, Gokmen V: Role of curcumin in the conversion of asparagine into acrylamide during heating. *Amino acids* 2011
- Hansen SH, Olsen AK, Soderlund EJ, Brunborg G: *In vitro* investigations of glycidamide-induced DNA lesions in mouse male germ cells and in mouse and human lymphocytes. *Mutation research* 2010; 696: 55-61
- Hartmann EC, Boettcher MI, Schettgen T, Fromme H, Drexler H, Angerer J: Hemoglobin adducts and mercapturic acid excretion of acrylamide and glycidamide in one study population. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 6061-6068
- Hartmann, EC, Boettcher MI, Bolt HM, Drexler H, Angerer J: N-Acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cysteine (iso-GAMA) a further product of human metabolism of acrylamide: comparison with the simultaneously excreted other mercapturic acids. *Arch. Toxicol.* 2009; 83: 731-734
- Hasegawa K, Miwa S, Tajima T, et al.: A rapid and inexpensive method to screen for common foods that reduce the action of acrylamide, a harmful substance in food. *Toxicol Lett* 2007; 175: 82-88
- Hashimoto K, Aldridge WN: Biochemical studies on acrylamide, a neurotoxic agent. *Biochem Pharmacol* 1970; 19: 2591-2604
- Hashimoto K, Tanii K: Mutagenicity of acrylamide and its analogues in *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 1985; 158: 129-133
- Hashimoto K, Sakamoto I, Tanii H: Neurotoxicity of acrylamide and related compounds and their effects on male gonads in mice. *Archives of Toxicology* 1981; 47: 179-189
- He F, Zhang S, Wang H, Li G, Zhang Z, Li F, Dong X, Hu F: Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 1989; 15, 125-129
- Health Canada: Health Canada's Revised Exposure Assessment of Acrylamide in Food, Health Canada's Revised Exposure Assessment of Acrylamide in Food. August 2012
- Hedegaard RV, et al.: Acrylamide in bread. Effect of prooxidants and antioxidants. *European Food Research and Technology* 2008; 227: 519-525
- Hendriksen HV, et al.: Evaluating the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using an asparaginase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; 57:4168-4176
- Heudorf U, Hartmann E, Angerer J: Acrylamide in children - exposure assessment via urinary acrylamide metabolites as biomarkers. *Int J Hyg Environ Health* 2009; 212: 135-141
- Hinson JA, Roberts DW: Role of covalent and noncovalent interactions in cell toxicity: Effects on proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 471-510
- Hirvonen T, Kontto J, Jestoi M, Valsta L, Peltonen K, Pietinen P, Virtanen S M, Sinkko H, Kronberg-Kippila C, Albanes D, Virtamo J: Dietary acrylamide intake and the risk of cancer among Finnish male smokers. *Cancer causes & control : CCC* 2010; 21: 2223-9
- Hoenicke K, et al.: Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid

- chromatography–tandem mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2004; 520: 207–215
- Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA: A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial, ovarian, and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2304-2313
- Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA : Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1428-1438
- Hogervorst JG, et al.: Lung cancer risk in relation to dietary acrylamide intake. *Journal of the National Cancer Institute* 2009a; 101: 651–662
- Hogervorst JG, et al.: Dietary acrylamide intake and brain cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2009b; 18: 1663–1666
- Hoorn AJW, Custer LL, Myhr BC, Brusick D, Gossen J, Vijg J: Detection of chemical mutagens using Muta® Mouse: a transgenic mouse model. *Mutagenesis* 1993; 8: 7-10
- Howland RD, Vyas IL, Lowndes HE: The etiology of acrylamide neuropathy: possible involvement of neuron specific enolase. *Brain Res.* 1980a; 190: 529-535
- HSDB (Hazardous Substances Data Bank): Bethesda, MD, US NLM, US National Library of Medicine. 2003
- Hurd DD, Saxton WM: Kinesin mutations cause motor neuron disease phenotypes by disrupting fast axonal transport in *Drosophila*. *Genetics* 1996; 144: 1075-1085
- Husain R, Dixit R, Das M, Seth PK: Neurotoxicity of acrylamide in developing rat brain: Changes in the levels of brain biogenic amines and activities of monoamine oxidase and acetylcholine esterase. *Ind Health* 1987; 25: 19-28
- IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Volume 60 (1994) Some Industrial Chemicals ACRYLAMIDE, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Vol. 60: 389-433. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol60/mono60-16.pdf>
- Igisu H, et al.: Acrylamide encephaloneuropathy due to well water pollution. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 1975; 38: 581–584
- Ikeda GI, Miler E, Sapienza, PP, Michel TC, King MT, Turner VA, Blumenthal H, Jackson WE, Levin S: Distribution of ¹⁴C-labelled acrylamide and betaine in foetuses of rats, rab bits, beagle dogs and miniature pigs. *Food chem. Toxicol.* 1983; 21: 49-58
- Ikeda, GI, Miller E, Sapienza PP, Michel TC, King MT, Sager AO: Maternal-foetal distribution studies in late pregnancy. II. Distribution of 1-¹⁴C-acrylamide in tissues of beagle dogs and miniature pigs. *Food chem. Toxicol.* 1985; 23: 757-761
- Imai T, Cho YM, Hasumura M, Hirose M: Enhancement by acrylamide of N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary tumor development-possible application for a model to detect co-modifiers of carcinogenesis. *Cancer Lett* 2005; 230: 25-32
- Imai T, Takami S, Cho Y, et al.: Inhibitory effects of antioxidants and phase II-enzyme inducers on acrylamide induced rat mammary carcinogenesis. *Toxicol Sci* 2006; 90(1-S): 408-409

- Imai T, Kitahashi T: A 13-week toxicity study of acrylamide administered in drinking water to hamsters. *J Appl Toxicol.* 2012; 6: doi: 10.1002/jat.2831
- IPCS (International Programme on Chemical Safety): Acrylamide. Environmental Health Criteria 49. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 49) 1985
- IPCS: ICSC, International Chemical Safety Cards, Geneva. 2000;
<http://www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/index.htm>
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food, 25–27 June 2002. Geneva, Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization
- JECFA; Evaluation of certain food contaminants (Sixty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 930, 2006a
- JECFA: Acrylamide. Monograph prepared for the 64th JECFA meeting. WHO Food Additives Series 55 (2006b); http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660554_ACR_eng.pdf
- JECFA: Evaluation of certain contaminants in food Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 959, 2011a
- JECFA: WHO Food Additives Series: 63 FAO JECFA Monographs 8 Safety evaluation of certain contaminants in food Prepared by the Seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Safety evaluation of certain contaminants in food. WHO Food Additives Series: 63 (FAO JECFA Monographs 8) 2011b; 1-152
- Jiang L, Cao J, An Y, Geng C, Qu S, Jiang L, Zhong L: Genotoxicity of acrylamide in human hepatoma G2 (HepG2) cells. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 1486-1492
- Jin X, et al.: Effects of dietary acrylamide on systematic oxidative stress and inflammatory markers in rats. Unpublished. Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario. Submitted to FAO/WHO by Health Canada. 2009
- Johansson F, et al.: Mutagenicity and DNA repair of glycidamide-induced adducts in mammalian cells. *Mutation Research* 2005; 580:81–89
- Johnson KA, Gorzinski SJ, Bodner KM, Campbell RA, Wolf CH, Friedman MA, Mast RW: Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats, *Toxicol. appl. Pharmacol* 1986; 85: 154-168
- Johnsrud EK, Koukouritaki SB, Divakaran K, Brunengraber LL, Hines RN, McCarver DG: Human hepatic CYP2E1 expression during development. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 402-407
- Jones K, et al.: Correlation of haemoglobin–acrylamide adducts with airborne exposure: an occupational survey. *Toxicology Letters* 2006; 162: 174–180
- JSOH: The Japan Society for Occupational Health, Recommendation of occupational exposure limits (2009-2010): the Japan society for occupational health, *Journal of Occupational Health* 2011; 53: 395–411
- Jung R, Engelhart G, Herbolt B, Jäckh R, Müller W: Collaborative study of mutagenicity with *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat Res* 1992; 278: 265-270
- Kadry AM, Friedman MA, Abdel-Rahman MS: Pharmacokinetics of acrylamide after oral

- administration in male rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 1999; 7: 127-133
- Karasek L, Szilaguy S, Wenzl T: Proficiency test on the determination of acrylamide in potato crisps. Final report. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities JRC Scientific and Technical Reports, EUR 23276 EN-2008, 2008;
<http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/activities/acrylamide/EUR23276EN.pdf>
- Keeler P, Betso J, Yakel H: Acute toxicological properties and industrial handling hazards of a 50.7% aqueous solution of acrylamide. Dow Chemical USA, Midland, Michigan 48640, USA. 1975
- Kellert M, Scholz K, Wagner S, Dekant W, Völkel W: Quantitation of mercapturic acids from acrylamide and glycidamide in human urine using a column switching tool with two trap columns and electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2006; 1131: 58-66
- Kermani-Alghoraishi M, Anvari Mortaza, Talebi Ali Reza, Amini-Rad Omid, Ghahramani Rahil, Miresmaili Seyed Mohsen: The effects of acrylamide on sperm parameters and membrane integrity of epididymal spermatozoa in mice. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2010 ; 153: 52-5
- Kim SH, Hwang JH, Lee KG: Analysis of acrylamide using gas chromatography-nitrogen phosphorus detector (GC-NPD), *Food Science and Biotechnology* 2011; 20: 835-839
- Kirman CR, Gargas ML, Deskin R, Tonner-Navarro L, Andersen ME: A physiologically based pharmacokinetic model for acrylamide and its metabolite, glycidamide, in the rat. *J Toxicol Environ Health A Curr Iss* 2003; 66: 253-274
- Kligerman AD, Atwater AL, Bryant MF, Erexson GL, Kwanyuen P, Dearfield KL: Cytogenetic studies of ethyl acrylate using C57BL/6 mice. *Mutagenesis* 1991; 6: 137-141
- Klump JV, Remsen CL, Turnquist KA: Biodegradation of acrylamide in natural systems. Report for American Cyanamid Inc. 1986
- Knaap A, Kramers P, Voogd C, Bergkamp W, Groot M, Langebroek P, Mout H, van der Stel J, Verharen H: Mutagenic activity of acrylamide in eukaryotic systems but not in bacteria. *Mutagenesis* 1988; 3: 263-268
- Koch M, et al.: Development of two certified reference materials for acrylamide determination in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; 57: 8202–8207
- Koh BK: Determination of acrylamide content of food products in Korea. *Koh B.-K. J. Sci. Food & Agric.* 2006; 86: 2587–2591
- Konings EJ, et al.: Acrylamide in cereal and cereal products: a review on progress in level reduction. *Food Additives and Contaminants* 2007; 24: 47–59
- Kopp EK, et al.: Rapid and sensitive HILIC-ESI-MS/MS quantitation of polar metabolites of acrylamide in human urine using column switching with an online trap column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 9828–9834
- Kopp EK, Dekant W: Toxicokinetics of acrylamide in rats and humans following single oral administration of low doses. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 235: 135–142
- Koray Palazoglu T, Coskun Yunus, Kocadagli Tolga, Gokmen Vural: Effect of Radio Frequency Postdrying of Partially Baked Cookies on Acrylamide Content, Texture, and Color of the Final Product. *Journal of food science* 2012 Apr 10
- Koyama N, Sakamoto H, Sakuraba M, et al.: Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human

- lymphoblastoid TK6 cells. *Mutat Res* 2006; 603: 151-158
- Koyama N, Yasui M, Kimura A, Takami S, Suzuki T, Masumura K, Nohmi T, Masuda S, Kinae N, Matsuda T, Imai T, Honma M: 2011a, Acrylamide genotoxicity in young versus adult gpt delta male rats. *Mutagenesis* 2011; 26: 545-9
- Koyama N, Yasui M, Oda Y, Suzuki S, Satoh T, Suzuki T, Matsuda T, Masuda S, Kinae N, Honma M: Genotoxicity of acrylamide *in vitro*: Acrylamide is not metabolically activated in standard *in vitro* systems, *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2011b; 52: 12-19
- Krebs O, Favor J: Somatic and germ cell mutagenesis in lambda lacZ transgenic mice treated with acrylamide or ethylnitrosourea. *Mutat. Res.* 1997; 388: 239-248
- Krishna G, Theiss JC: Concurrent analysis of cytogenetic damage *in vivo*: a multiple endpoint-multiple tissue approach. *Environ Mol Mutagen* 1995; 25: 314-320
- Kuehn R, Stadeler M, Sohmen R, Grieshaber R: Environmental tobacco smoke exposure and hemoglobin adducts among employees in the catering trade. *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 2011; 71: 39-46
- Kühn R, Stadeler M, Sohmen R, Grieshaber R: Environmental tobacco smoke exposure and hemoglobin adducts among employees in the catering trade, *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 2011; 71: 39-46
- Kutting B, Uter WW, Drexler H: The association between self-reported acrylamide intake and haemoglobin adducts as biomarkers of exposure. *Cancer Causes and Control* 2008; 19: 273–281
- Kutting B, et al.: Acrylamide as environmental noxious agent: a health risk assessment for the general population based on the internal acrylamide burden. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2009; 212: 470–480
- Lähdetie J, Suutari A, Sjöblom T: The spermatid micronucleus test with the dissection technique detects the germ cell mutagenicity of acrylamide in rat meiotic cells. *Mutat Res* 1994; 309: 255-262
- Lande SS, Bosch SJ, Howard PH: Degradation and leaching of acrylamide in soil. *J Environ. Mental Quality* 1979; 8: 133-137
- Larsson SC Åkesson A and Wolk A: Dietary acrylamide intake and prostate cancer risk in a prospective cohort of Swedish men. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2009a; 18: 1939–1941
- Larsson, S.C. Håkansson, N. Åkesson, A. and Wolk, A: Long-term dietary acrylamide intake and risk of endometrial cancer in a prospective cohort of Swedish women. *Int. J. Cancer* 2009b; 124: 1196-1199
- Larsson SC, Kesson A, Bergkvist L, et al.: Dietary acrylamide intake and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of men. *Eur J Cancer* 2009c; 45: 513-516
- Larsson SC, Akesson A, Wolk A: Long-term dietary acrylamide intake and breast cancer risk in a prospective cohort of Swedish women. *Am J Epidemiol* 2009d; 169: 376-381
- Larsson SC, Akesson A, Wolk A: Long-term dietary acrylamide intake and risk of epithelial ovarian cancer in a prospective cohort of Swedish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009e; 18: 994-997

- Kaster J, Kamendulis L, Friedman M, Klaunig J: Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation by acrylamide and hormones. *Toxicologist* 1998; 42: A375
- Latzin JM, Schindler Birgit K, Weiss Tobias, Angerer Jurgen, Koch Holger M: Determination of 2,3-dihydroxypropionamide, an oxidative metabolite of acrylamide, in human urine by gas chromatography coupled with mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2012; 402: 2431-8
- Lee Taewon, Mugimane G. Manjanatha, Anane Aidoo, Carrie L. Moland, William S. Branham, James C. Fuscoe, Akhtar A. Ali, Varsha G. Desai, Expression analysis of hepatic mitochondria-related genes in mice exposed to acrylamide and glycidamide. *Journal of toxicology and environmental health. Part A* 2012; 75: 324-39
- Levine RA, Smith RE: Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53: 4410-4416
- Lijinsky W, Andrews AW: Mutagenicity of vinyl compounds in *Salmonella typhimurium*. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 1980; 1: 259-267
- Lim Tae-Gyu, Lee Bo Kyung, Kwon Jung Yeon, Jung Sung Keun, Lee Ki Won: Acrylamide up-regulates cyclooxygenase-2 expression through the MEK/ERK signaling pathway in mouse epidermal cells. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2011; 49: 1249-54
- Lin, Chien-Yu, Lin, Yu-Chuan, Kuo, Hsu-Ko, Hwang, Juey-Jen, Lin, Jiunn-Lee, Chen, Pau-Chung, Lin, Lian-Yu: Dietary acrylamide and risk of prostate cancer, *Diabetes Care* 2009; 32: 2206-2211
- Lin, Yulan, Lagergren, Jesper, Lu, Yunxia, Dietary acrylamide intake and risk of esophageal cancer in a population-based case-control study in Sweden, *International Journal of Cancer* (2010) , Volume Date 2011; 128: 676-681
- Lipscomb JC, Teuschler LK, Swartout J, Popken D, Cox T, Kedderis GL: The impact of cytochrome P450 2E1-dependent metabolic variance on a risk-relevant pharmacokinetic outcome in humans. *Risk Anal* 2003; 23: 1221-1238
- Lipscomb JC: Evaluating the relationship between variance in enzyme expression and toxicant concentration in health risk assessment. *Hum Ecol Risk Assess* 2004; 10: 39-55
- LoPachin RM, DeCaprio AP: Protein adduct formation as a molecular mechanism in neurotoxicity. *Toxicol Sci* 2005; 86: 214-225
- LoPachin RM, Barber DS: Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants., *Toxicol Sci* 2006; 94: 240-255
- LoPachin RM, Barber DS, Geohagen BC, Gavin T, He D, Das S: Structure-toxicity analysis of type-2 alkenes: *In vitro* neurotoxicity. *Toxicol Sci* 2007a; 95: 136-146
- LoPachin RM, Gavin T, Geohagen BC, Das S: Neurotoxic mechanisms of electrophilic type-2 alkenes: Soft soft interactions described by quantum mechanical parameters. *Toxicol Sci* 2007b; 98: 561-570
- LoPachin RM, Barber DS, Gavin T: Molecular mechanisms of the conjugated alpha,beta-unsaturated carbonyl derivatives: Relevance to neurotoxicity and neurodegenerative diseases. *Toxicol Sci* 2008; 104: 235-249

- LoPachin RM; Geohagen BC; Gavin T: Synaptosomal toxicity and nucleophilic targets of 4-hydroxy-2-nonenal. *Toxicol Sci* 2009; 107: 171-181
- Lourenssen S, Miller KG, Blennerhassett MG: Discrete responses of myenteric neurons to structural and functional damage by neurotoxins *in vitro*. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 2009; 297: G228-39
- Lu H, Zheng H: Fractal colour: A new approach for evaluation of acrylamide contents in biscuits, *Food Chemistry* 2012; 134: 2521-2525
- Ma Y, Shi J, Zheng M, Liu J, Tian S, He X, Zhang D, Li G, Zhu J: Toxicological effects of acrylamide on the reproductive system of weaning male rats. *Toxicology and industrial health* 2011; 27: 617-27
- Mackay D, Paterson S, Shiu WY: 1992, Generic models for evaluating the regional fate of chemicals, *Chemosphere* 1992; 24: 695-717
- Manière I, Godard T, Doerge DR, Churchwell MI, Guffroy M, Laurentie M, Poul JM: 2005, DNA damage and DNA adduct formation in rat tissues following oral administration of acrylamide. *Mutat. Res.* 2005; 580: 119-129
- Manjanatha MG, Aidoo A, Shelton SD, Bishop ME, McDaniel LP, Lyn-Cook LE, Doerge DR: Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female Big Blue mice. *Environ. Mol. Mutagen.* 2006; 47: 6-17
- Marchetti F et al.: Induction of chromosomal aberrations in mouse zygotes by acrylamide treatment of male germ cells and their correlation with dominant lethality and heritable translocations. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 1997; 30: 410–417
- Marín JM et al.: Study of different atmospheric-pressure interfaces for LC-MS/MS determination of acrylamide in water at sub-ppb levels. *Journal of Mass Spectrometry* 2006; 41: 1041–1048
- Marlowe C, Clark MJ, Mast RW, Friedman MA, Waddell WJ: The distribution of (¹⁴C) acrylamide in male and pregnant Swiss-Webster mice studied by whole-body autoradiography. *Toxicol. appl. Pharmacol.* 1986; 86: 457-465
- Marsh GM, Lucas LJ, Youk AO, Schall LC: Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: 1994 follow up. *Occup Environ Med* 1999; 56: 181-190
- Marsh GM, Youk AO, Buchanich JM, Kant IJ, Swaen G: Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: Updated follow up. *J Occup Environ Med* 2007; 49: 82-95
- Martins C, Oliveira NG, Pingarilho M, Gamboa da Costa G, Martins V, Marques MM, Beland FA, Churchwell MI, Doerge DR, Rueff J, Gaspar JF: Cytogenic damage induced by acrylamide and glycidamide in mammalian cells: Correlation with specific glycidamide-DNA adducts. *Toxicol Sci* 2007; 95: 383-390
- Marty JP, Vincent CM: *In vitro* percutaneous absorption of acrylamide across human skin. Research Unit in Dermopharmacology and Cosmetology, University of Paris. Paris, France. 1998
- Mastovska K, Lehotay SJ: Rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 7001–7008
- Matissek R, Raters M: Analysis of acrylamide in food: dedicated to Professor Dr. Werner Baltes. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2005; 561:293–302

- Matsuoka M, Igisu H, Lin J, Inoue N: 1990, Effects of acrylamide and N,N'-methylenebis-acrylamide on creatine kinase activity. *Brain Res.* 507, 351-353
- Matsuura-Endo C, Ohara-Takada A, Chuda Y, Ono H, Yada H, Yoshida M, Kobayashi A, Tsuda S, Takigawa S, Noda T, Yamauchi H, Mori M: Effects of the storage temperature on the content of sugars and free amino acids in tubers from different potato cultivars and acrylamide in chips. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2006; 70: 1173-1180
- McCollister DD, Oyen F, Rowe VK: Toxicology of acrylamide. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1964; 6:172–181
- Medeiros VR, Mestdagh F, Van Poucke C, Kerkaert B, de Muer N, Denon Q, Van Peteghem C, De Meulenaer B: Implementation of acrylamide mitigation strategies on industrial production of French fries: challenges and pitfalls. *Journal of agricultural and food chemistry* 2011; 59: 898-906
- Mei N, Hu J, Churchwell MI, Guo L, Moore MM, Doerge DR, Chen T: Genotoxic effects of acrylamide and glycidamide in mouse lymphoma cells. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46: 628-636
- Mei N, McDaniel LP, Dobrovolsky VN, Guo XQ, Shaddock JG, Mittelstaedt RA, Azuma M, Shelton SD, McGarrity LJ, Doerge DR, Heflich RH: The genotoxicity of acrylamide and glycidamide in Big Blue rats. *Toxicol. Sci.* 2010; 115: 412-421
- Merck: The Merck Index, Merck & Co. Inc. Whitehouse Station, NJ. 2006
- Mestdagh F et al.: Importance of oil degradation components in the formation of acrylamide in fried foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 6141–6144
- Mestdagh FJ et al.: Influence of oil type on the amounts of acrylamide generated in a model system and in french fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53: 6170–6174
- Michalak J, Gujska E, Klepacka J: The effect of domestic preparation of some potato products on acrylamide content. *Plant foods for human nutrition (Dordrecht, Netherlands)* 2011 Nov; 66: 307-12
- Michels KB, Rosner BA, Chumlea WC, Colditz GA, Willett WC: Preschool diet and adult risk of breast cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 749-754
- Miller MJ, Carter DE, Sipes IG: Pharmacokinetics of acrylamide in Fischer-334 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 63: 36-44
- Ministry of Health, People's Republic of China: GB/T 5009.204-2005: GC-MS method for determination of acrylamide in food. Beijing, Standard Press of China. Issued on 9 September 2005
- Ministry of Health, People's Republic of China: GB/T 5009.204-2010: Determination of acrylamide in foods. Beijing, Standard Press of China. Updated in 2010
- Mizukami Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Hayashi N, Sawai Y, Chuda Y, Ono H, Yada H, Yoshida M: Analysis of acrylamide in green tea by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 7370–7377
- Moore MM; Amtower A; Doerr C; Brock KH; Dearfield KL: Mutagenicity and clastogenicity of acrylamide in L5178Y mouse lymphoma cells. *Environ Mutagen* 1987; 9: 261-267
- Motwani HV, Toernqvist M: Quantitative analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of glycidamide using the cob (I) alamin trapping method: Validation and

- application to *in vitro* metabolism of acrylamide. *Journal of Chromatography, A* 2011; 1218: 4389-4394
- Mucci LA, Dickman PW, Steineck G, Adami HO, Augustsson K: Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder: Absence of an association in a population-based study in Sweden. *Br J Cancer* 2003; 88: 84-89
- Mucci LA, Lindblad P, Steineck G, Adami HO: Dietary acrylamide and risk of renal cell cancer. *Int J Cancer* 2004; 109: 774-776
- Mucci LA, Sandin S, Bälter K, Adami HO, Magnusson C, Weiderpass E: Acrylamide intake and breast cancer risk in Swedish women. *JAMA* 2005; 293: 1326-1327
- Mucci LA, Adami HO, Wolk A: Prospective study of dietary acrylamide and risk of colorectal cancer among women. *Int J Cancer* 2006; 118: 169-173
- Müller W, Engelhart G, Herbold B, Jäckh R, Jung R: Evaluation of mutagenicity testing with *Salmonella typhimurium* TA102 in three different laboratories. *Environ Health Perspect* 1993; 101: 33-36
- Muttucumaru N et al.: Reducing acrylamide precursors in raw materials derived from wheat and potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56:6167–6172
- Neafsey P et al.: Genetic polymorphism in CYP2E1: population distribution of CYP2E1 activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B* 2009; 12: 362–388
- Neely WB, Baranson DR, Blau CE: Partition coefficient to measure bioconcentration potential of organic chemicals in fish. *Environmental Science and Technology* 1974; 8: 1113–1115
- Neuhäuser-Klaus A, Schmahl W: Mutagenic and teratogenic effects of acrylamide in the mammalian spot test. *Mutat. Res.* 1989; 226: 157-162
- New Zealand Food Safety Authority: Acrylamide In New Zealand Food And Updated Exposure. Assessment Report Number FW11061 2012; <http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/acrylamide-in-nz-food-updated-exposure-assessment.pdf>
- NFPA (National Fire Protection Association): *Fire Protection Guide to Hazardous Materials*, 13th ed. Quincy, MA. 2002
- Nielsen NJ et al.: A liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for simultaneous analysis of acrylamide and the precursors, asparagine and reducing sugars in bread. *Analytica Chimica Acta* 2006; 557: 211–220
- NIST (National Institute of Standards and Technology): *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library*, Gaithersburg, MD. 1998
- NITE (独立行政法人 製品評価技術基盤機構): 独立行政法人 製品評価技術基盤機構, 財団法人 化学物質評価研究機構, 委託元 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構, 化学物質の初期リスク評価書 アクリルアミド, 化学物質排出把握管理促進法政令号番号 : 1-2, 2007
- Nordander C, Tornqvist M, Malmberg B, Kautiane A, Aprea P, Magnusson AL, Eriksson A, Hagmer L: Results of health checks on tunnel workers exposed to Rhoca Gilwork-related symptoms, haemoglobin adducts of acrylamide and the effect on vibration thresholds. Report 05.02.1998. Clinic for Occupational and Environmental Medicine, Lund University Hospital, 221 85 Lund,

- Sweden. 1998
- NSF (National Sanitation Foundation): Drinking water treatment chemicals — health effects. Ann Arbor, MI, National Sanitation Foundation (Standard 60-1988)
- NTP (National Toxicology Program): Final report on the reproductive toxicity of acrylamide (ACRL) (CAS No. 79-06-1) in CD-1 (trade name) swiss mice. National Toxicology Program. Research Triangle Park, NC. 224289 1993
- NTP: Report of Carcinogens, Twelfth Edition (2011) Acrylamide.
<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/Acrylamide.pdf> 2011
- NTP: NTP Technical Report on The Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylamide (CAS NO. 79-06-1) in F344/N Rats and B6C3F1 mice (Feed and Drinking Water Studies). 3-Month Study in Rats, NTP TR 575, NIH Publication No. 11-5917, 2012; p.8
- NTP-CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction): NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Acrylamide. NIH Publication 2005; No. 05-4472. pp. i-III-76.
- Ogawa M, Oyama T, Isse T, Yamaguchi T, Murakami T, Endo Y, Kawamoto T: Hemoglobin adducts as a marker of exposure to chemical substances, especially PRTR class I designated chemical substances. *J Occup Health* 2006; 48: 314-328
- Ogawa B, Ohishi T, Wang L, Takahashi M, Taniai E, Hayashi H, Mitsumori K, Shibutani M: Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Archives of toxicology* 2011; 85: 987-94
- Ogawa B, Wang L, Ohishi T, Taniai E, Akane H, Suzuki K, Mitsumori K, Shibutani M: Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch Toxicol.* 2012; 86: 779-90
- Ohara-Takada A, Mastuura-Endo C, Chuda Y, Ono H, Yada H, Yoshida M: Change in Content of Sugars and Free Amino Acids in Potato Tubers under Short-Term Storage at Low Temperature and the Effect on Acrylamide Level after Frying. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2005; 69: 1232-1238
- Olesen PT, Olsen A, Frandsen H, Frederiksen K, Overvad K, Tjønneland A: Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health Study. *International Journal of Cancer* 2008, 122:2094–2100
- Olsen A, Christensen J, Outzen M, Olesen PT, Frandsen H, Overvad K, Halkjær J: Pre-diagnostic acrylamide exposure and survival after breast cancer among postmenopausal Danish women. *Toxicology* 2012; 296: 67-72
- Ono H, Chuda Y, Ohnishi-Kameyama M, Yada H, Ishizaka M, Kobayashi H, Yoshida M: Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. *Food Addit Contam.* 2003 ; 20: 215-20
- Pacchierotti F, Tiveron CD, Archivio M, Bassani B, Cordelli E, Leter G, Spano M: Acrylamide-induced chromosomal damage in male mouse germ cells detected by cytogenetic analysis of one-cell zygotes. *Mutat. Res.* 1994; 309: 273-284
- Paleologos EK, Kontominas MG: Determination of acrylamide and methacrylamide by normal phase liquid chromatography and UV detection. *Journal of Chromatography A* 2005; 1077:

- Park HR, Kim MS, Kim SJ, Park M, Kong KH, Kim HS, Kwack SJ, Kang TS, Kim SH, Kim HS, Lee J: Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Toxicology letters* 2010; 193: 86-93
- Park J, Kamendulis LM, Friedman MA, Klaunig JE: Acrylamide-induced cellular transformation. *Toxicol. Sci.* 2002; 65: 177-183
- Paulsson B, Grawé J, Törnqvist M: Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or N-methylolacrylamide treatment. *Mutat Res.* 2002; 516: 101-111
- Pedersen GS, Hogervorst JGF, Schouten LJ, Konings EJM, Goldbohm RA, van den Brandt PA: Dietary acrylamide intake and estrogen and progesterone receptor-defined postmenopausal breast cancer risk. *Breast cancer research and treatment* 2010; 122: 199-210
- Pelucchi C, Galeone C, Levi F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Bosetti C, Giacosa A, La Vecchia C: Dietary acrylamide and human cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 467-471.
- Pelucchi C, Galeone C, Dal Maso L, Talamini R, Montella M, Ramazzotti V, Negri E, Franceschi S, La Vecchia C: Dietary acrylamide and renal cell cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1376-1377
- Pelucchi C, Galeone C, Talamini R, Negri E, Polesel J, Serraino D, La Vecchia C: Dietary acrylamide and pancreatic cancer risk in an Italian case--control study. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2011a; 22: 1910-5
- Pelucchi C, La Vecchia C, Bosetti C, Boyle P, Boffetta P: Exposure to acrylamide and human cancer--a review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2011b; 22: 1487-99
- Perez LC, Yaylayan V: A. Further insight into thermally and pH-induced generation of acrylamide from glucose/asparagine model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 6069–6074.
- Petersen DW, Kleinow KM, Kraska RC, Lech JJ: Uptake, disposition and elimination of acrylamide in rainbow trout. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 80: 58-65
- Petersson EV et al.: Critical factors and pitfalls affecting the extraction of acrylamide from foods: an optimisation study. *Analytica Chimica Acta* 2006; 557:287–295
- Preston A, Fodey T, Elliott C: Development of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for the routine detection of the carcinogen acrylamide in food, via rapid derivatisation pre-analysis. *Analytica Chimica Acta* 2008; 608: 178–185
- Quan Y, Chen M, Zhan Y, Zhang G: Development of an enhanced chemiluminescence ELISA for the rapid detection of acrylamide in food products. *Journal of agricultural and food chemistry* 2011; 59: 6895-9
- Raju J, Sondagar C, Roberts J Aziz SA, Caldwell D, Vavasour E, Mehta R: Dietary acrylamide does not increase colon aberrant crypt foci formation in male F344 rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2011; 49: 1373-80
- Ramsey J, Young J, Gorzinski S: Acrylamide: toxicodynamics in rats. Dow Chemical USA, Midland, Michigan 48640, USA. 1984
- Reid E, Kloos M, Ashley-Koch A, Hughes L, Bevan S, Svenson IK, Lennon Graham F, Gaskell PC,

- Dearlove A, Pericak-Vance MA, Rubinsztein DC, Marchuk DA: A kinesin heavy chain (KIF5A) mutation in heredity spastic paraplegia (SPG 10). *Am J Hum Genet* 2002; 71: 1189-1194
- RIVM (The National Institute for Public Health and the Environment, Netherlands) : Risk assessment of the dietary exposure to contaminants and pesticide residues in young children in the Netherlands. RIVM report 2009; 350070002/2009
- Rommens CM et al.: Low-acrylamide french fries and potato chips. *Plant Biotechnology Journal* 2008; 6: 843–853
- Rosén, J. Hellenäs KE: Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst* 2002; 127: 880-882
- Rosén J, Nyman A, Hellenas KE: Retention studies of acrylamide for the design of a robust liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for food analysis. *Journal of Chromatography A* 2007, 1172:19–24
- Rothschild Bruce, Acrylamine-induced autoimmune phenomena. *Clinical rheumatology* 2010; 29: 999-1005
- Rüdiger W: Acrylamide in heated potato products—analytics and formation routes. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2004; 106:786–792
- Rufián -Henares JA, Morales FJ: Determination of acrylamide in potato chips by a reverse-phase LC-MS method based on a stable isotope dilution assay. *Food Chemistry* 2006; 97: 555–562
- Rufián -Henares JA, Delgado-Andrade C, Morales FJ: Relationship between acrylamide and thermal-processing indexes in commercial breakfast cereals: a survey of Spanish breakfast cereals. *Molecular Nutrition & Food Research* 2006, 50:756–762
- Russell L, Hunsicker P, Cacheiro N, Generoso W: Induction of specific-locus mutations in male germ cells of the mouse by acrylamide monomer. *Mutat. Res.* 1991; 262: 101-107
- Russo A, Gabbani G, Simoncini B: 1994, Weak genotoxicity of acrylamide on premeiotic and somatic cells of the mouse. *Mutat Res* 1994; 309: 263-272
- Sakamoto J, Hashimoto K: Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice—effects on fertility and sperm morphology. *Arch Toxicol* 1986; 59: 201-205
- Sanchez J et al.: Formation of hemoglobin adducts of acrylamide after its ingestion in rats is dependent on age and sex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 5096–5101
- SCF (European Commission Scientific Committee on Food): Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food, Scientific Committee on Food, European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General 2002a
- Schettgen T, Kutting B, Hornig M, et al.: Trans-placental exposure of neonates to acrylamide—a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health* 2004a; 77: 213-216
- Schouten LJ et al.: Dietary acrylamide intake and the risk of head–neck and thyroid cancers: results from the Netherlands Cohort Study. *Amer. J. Epidemiol* 2009; 170: 873-884
- Schutte K, Boeing H, Hart A, Heeschen W, Reimerdes E, Santare D, Skog K, Chiodini A: Application of the BRAFO tiered approach for benefit-risk assessment to case studies on heat processing contaminants. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2012

- Seale SM, Feng Q, Agarwal AK, El-Alfy Abir T: eurobehavioral and transcriptional effects of acrylamide in juvenile rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2012; 101: 77-84
- Sega GA, Alcota RP, Tancongo CP, Brimer PA: Acrylamide binding to the DNA and protamine of spermiogenic stages in the mouse and its relationship to genetic damage. *Mutat Res* 1989; 216:221-230
- Sega GA, Generoso EE, Brimer PA: Acrylamide exposure induces a delayed unscheduled DNA synthesis in germ cells of male mice that is correlated with the temporal pattern of adduct formation in testis DNA. *Environ Mol Mutagen* 1990; 16: 137-142
- Sega GA, Generoso EE: Measurement of DNA breakage in specific germ-cell stages of male mice exposed to acrylamide, using an alkaline-elution procedure. *Mutat Res* 1990; 242: 79-87
- Segerback D, Faustman E, Costa L, Calleman, CJ: Formation of N-7-(2-carbamonyl-2-hydroxyethyl) guanine in DNA of the mouse and the rat following intraperitoneal administration of [¹⁴C] acrylamide. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1161-1165
- Shelby M, Cain K, Cornett C, Generoso W: Acrylamide: induction of heritable translocations in male mice. *Environ. Mutagen* 1987; 9: 363-368
- Shiraishi Y: Chromosome aberrations induced by monomeric acrylamide in bone marrow and germ cells of mice. *Mutation Research* 1978; 57:313–324
- Sickles DW, Brady ST, Testino A, Friedman MA, Wrenn RW: Direct effect of the neurotoxicant acrylamide on kinesin-based microtubule motility. *J Neurosci* 1996; 46: 7-17
- Sickles DW, Stone JD, Friedman MA: Fast axonal transport: a site of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2002; 23: 223-251
- Sickles DW et al.: Acrylamide effects on kinesin-related proteins of the mitotic/meiotic spindle. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2007, 222:111–121
- Smith MK, Zenick H, Preston RI, George EL, Long RE: Dominant lethal effects of subchronic acrylamide administration in the male Long-Evans rat. *Mutat. Res.* 1986; 173: 273-277
- Soares C, Cunha S, Fernandes J: Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an improved SPE clean-up. *Food Additives and Contaminants* 2006; 23:1276–1282
- Sobel W, Bond G, Parsons T, Brenner F: Acrylamide cohort mortality study. *Brit. J. Ind. Med.* 1986; 43: 785-788
- Solomon JJ, Fedyk J, Muka F, Segal A: Direct alkylation of 2'-deoxynucleosides and DNA following *in vitro* reaction with acrylamide. *Cancer Res.* 1985; 45: 3465-3470
- Spencer PS, Schaumburg HH. A review of acrylamide neurotoxicity. Part I. Properties, uses and human exposure. *Can J Neurol Sci* 1974; 1: 143-150
- Spencer PS, Schaumburg HH: Ultrastructural studies of the dying-back process. IV Differential vulnerability of PNS and CNS fibers in experimental central-peripheral distal axonopathies. *J Neuropath Exp Neurol* 1977; 36:300-320
- SRC (Syracuse Research Corporation) : PhysProp Database, North Syracuse, NY. 2002; <http://esc.syrres.com./interkow/physdemo.htm>
- SRC: 2003a; AopWin Estimation Software, ver. 1.90, North Syracuse, NY.
- SRC: 2003b; KowWin Estimation Software, ver. 1.66, North Syracuse, NY.

- SRC: 2003c; PcKocWin Estimation Software, ver. 1.66, North Syracuse, NY.
- SRC: 2003d; HydroWin Estimation Software, ver. 1.67, North Syracuse, NY.
- Stølevik SB, Nygaard UC, Namork E, Haugen M, Kvalem HE, Meltzer HM, Alexander J, van Delft Joost HM, Loveren H, Lovik M, Granum B: Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins is associated with increased risk of wheeze and infections in infants. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2011; 49: 1843-8
- Sublet VH, Zenick H, Smith MK: Factors associated with reduced fertility and implantation rates in females mated to acrylamide-treated rats. *Toxicology* 1989; 55: 53-67
- Sumner SC, MacNeela JP, Fennell TR: Characterization and quantitation of urinary metabolites of [1,2,3-¹³C]acrylamide in rats and mice using ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chemical Research in Toxicology* 1992; 5:81-89
- Sumner SCJ, Fennell TR, Moore TA, Chanas B, Gonzalez F, Ghanayem BI: Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice. *Chem. Res. Toxicol.* 1999; 12: 1110-1116
- Sumner SCJ, Asgharian B, Williams CC, Fennell TR: Acrylamide: metabolism, distribution, and hemoglobin adducts in male F344 rats and B6C3F1 mice following inhalation exposure and distribution and haemoglobin adducts following dermal application to F344 rats. *Research Triangle Park, NC, CIIT, Centers for Health Research (Sponsored by Polyelectrolyte Producers group)* 2000
- Sumner SCJ, Williams CC, Snyder RW, Krol WL, Asgharian B, Fennell TR: Acrylamide: a comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. *Toxicol. Sci.* 2003; 75: 260-270
- Swaen GM, Haidar S, Burns CJ, Bodner K, Parsons T, Collins JJ, Baase C: Mortality study update of acrylamide workers. *Occup Environ Med* 2007, 64: 396-401
- Swedish National Food Administration: An on-going trend study on acrylamide levels in food products sold in Sweden. Interim summary report for the years 2005 to 2009. 2009
- Sweeney LM et al.: Development of a physiologically-based toxicokinetic model of acrylamide and glycidamide in rats and humans. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 668-685
- Takahashi M, Shibutani M, Inoue K, Fujimoto H, Hirose M, Nishikawa A: 2008, Pathological assessment of the nervous and male reproductive systems of rat offspring exposed maternally to acrylamide during the gestation and lactation periods-a preliminary study. *J Toxicol Sci* 2008; 33: 11-24
- Takahashi M, Shibutani M, Nakahigashi J, Sakaguchi N, Inoue K, Morikawa T, Yoshida M, Nishikawa A: Limited lactational transfer of acrylamide to rat offspring on maternal oral administration during the gestation and lactation periods. *Archives of Toxicology* 2009, 83:785-793
- Takahashi M, Inoue K, Koyama N, Yoshida M, Irie K, Morikawa T, Shibutani M, Honma M, Nishikawa A: Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity. *Archives of toxicology* 2011; 85: 1109-20
- Takami S, Imai T, Cho YM, Hirose M, Nishikawa A: Lack of modifying effects of prepubertal

- exposure to acrylamide (AA) on N-methyl-N-nitrosourea (MNU) -induced multi-organ carcinogenesis in F344 rats. *J Toxicol Sci.* 2010; 35: 57-68
- Takami S, Imai T, Cho YM, Ogawa K, Hirose M, Nishikawa A: Juvenile rats do not exhibit elevated sensitivity to acrylamide toxicity after oral administration for 12 weeks. *J Appl Toxicol.* 2012; 32: 959-67
- Tareke E, Twaddle NC, McDaniel LP, Churchwell MI, Young JF, Doerge DR: Relationships between biomarkers of exposure and toxicokinetics in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice administered single doses of acrylamide and glycidamide and multiple doses of acrylamide. *Appl. Pharmacol.* 2006; 217: 63-75
- Tezcan F, Erim FB: On-line stacking techniques for the nonaqueous capillary electrophoretic determination of acrylamide in processed food. *Analytica Chimica Acta* 2008; 617:196–199
- Thanyacharoen U, Tani A, Charoenpanich J: Isolation and characterization of *Kluyvera georgiana* strain with the potential for acrylamide biodegradation. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* 2012; 47: 1491-9
- Tilson HA, Cabe PA, Spencer PS: Acrylamide neurotoxicity in rats: A correlated neurobehavioral and pathological study. *Neurotoxicology* 1979; 1: 89-104
- Tilson HA: The neurotoxicity of acrylamide: An overview. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1981; 3: 445-461
- Tran NL et al.: Dietary acrylamide exposure and hemoglobin adducts—National Health and Nutrition Examination Survey (2003–04). *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 3098–3108
- Tripathy NK, Patnaik KK, Nabi MJ: Acrylamide is genotoxic to the somatic and germ cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 1991; 259: 21-27
- Tsuda H, Shimizu C, Taketomi M, Hasegawa M, Hamada A, Kawata K, Inui N: Acrylamide: induction of DNA damage, chromosome aberrations and cell transformation without gene mutations. *Mutagenesis* 1993; 8: 23-29
- Tsukakoshi Y, Ono H, Kibune N, Isagawa S, Yamazaki K, Watai M, Yoshida M: Monitoring of acrylamide concentrations in potato chips in Japan between 2006 and 2010. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 2012; 29: 1212-8
- Tsutsumiuchi K, Watanabe Y, Watanabe M, Hibino M, Kambe M, Okajima N, Negishi H, Miwa, Taniguchi H: Formation of acrylamide from glucans and asparagine. *New biotechnology* 2011; 28: 566-73
- Twaddle NC, McDaniel LP, Gamboa da Costa G, Churchwell MI, Beland FA, Doerge DR: Determination of acrylamide and glycidamide serum toxicokinetics in B6C3F1 mice using LC-ES/MS/MS. *Cancer Lett.* 2004; 207: 9-17
- Tyl R: Combined two-generation reproduction study and dominant lethal assay in Fischer 344 rats administered acrylamide in drinking water. Union Carbide Report no. 4-551, Bushy Run Research Center, Export, Pennsylvania 15632, USA. 1987
- Tyl R: Modified dominant lethal evaluation of acrylamide monomer administered by gavage to male Long-Evans rats. RTI Project No. 605-6821-200, Research Triangle Park, North Carolina 27709-2194 USA. 1998a

- Tyl R: Effects of administration of acrylamide monomer by gavage to maternal Wistar rats during lactation on dams and offspring. RTI Project No.604-6821-100, Research Triangle Park, North Carolina 27709-2194, USA. 1998b
- Tyl RW, Friedman MA: Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reprod Toxicol* 2003; 17: 1-13.
- Tyl RW, Friedman MA, Losco PE, Fisher LC, Johnson KA, Strother DE, Wolf CH: Rat two-generation reproduction and dominant lethal study of acrylamide in drinking water. *Reprod Toxicol* 2000a, 14: 385-401
- Tyl RW, Marr MC, Myers CB, Ross WP, Friedman MA: Relationship between acrylamide reproductive and neurotoxicity in male rats. *Reprod Toxicol* 2000b, 14: 147-157
- United States Testing Company Inc.: Modified OECD test for readily biodegradability. test report. 063102-4. 1991
- Urban M, Kavvadias D, Riedel K, Scherer G, Tricker AR: Urinary mercapturic acids and a hemoglobin adduct for the dosimetry of acrylamide exposure in smokers and nonsmokers. *Inhal Toxicol* 2006; 18: 831-839
- Vesper HW, Slimani N, Hallmans G, Tjønneland A, Agudo A, Benetou V, Bingham S, Boeing H, Boutron-Ruault MC, Bueno-de-Mesquita HB, Chirlaque D, Clavel-Chapelon F, Crowe F, Drogan D, Ferrari P, Johansson I, Kaaks R, Linseisen J, Lund E, Manjer J, Mattiello: Cross-sectional study on acrylamide haemoglobin adducts in subpopulations from European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIS) Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 6046–6053
- Vikstroem AC, Abramsson-Zetterberg L, Naruszewicz M, Athanassiadis I, Granath FN, Toernqvist MA: *In Vivo* Doses of Acrylamide and Glycidamide in Humans after Intake of Acrylamide-Rich Food. *Toxicological Sciences* 2011; 119: 41-49
- Vikstrom AC, Warholm M, Paulsson B, Axmon A, Wirfalt E, Tornqvist M: Hemoglobin adducts as a measure of variations in exposure to acrylamide in food and comparison to questionnaire data. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2012; 50: 2531-9
- Von Tungeln LS, Churchwell MI, Doerge DR, Shaddock JG, McGarrity LJ, Heflich RH, Gamboa da CG, Marques MM, Beland FA: DNA adduct formation and induction of micronuclei and mutations in B6C3F1/Tk mice treated neonatally with acrylamide or glycidamide. *Int. J. Cancer* 2009; 124: 2006-2015
- Von Tungeln LS, Doerge DR, Gamboa da CG, Matilde MM, Witt WM, Koturbash I, Pogribny IP, Beland FA: 2012, Tumorigenicity of acrylamide and its metabolite glycidamide in the neonatal mouse bioassay. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 2012; 131: 2008-15
- Walker RA; O'Brien ET; Epstein DL; Sheetz MP: N-Ethylmaleimide and ethacrynic acid inhibit kinesin binding to microtubules in a motility assay. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997; 37: 289-299
- Walker K, Hattis D, Russ A, Sonawane B, Ginsberg G: 2007, Approaches to acrylamide physiologically based toxicokinetic modeling for exploring child-adult dosimetry differences. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A.* 2007; 70: 2033-2055

- Wang H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K, Shi F: 2010, Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.) 2010; 29: 225-30
- Wang HY et al.: SPE/HPLC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods. *Microchemical Journal* 2008; 89: 90–97
- Wang, RS. McDaniel LP, Manjanatha MG, Shelton SD, Doerge DR, Mei N: Mutagenicity of acrylamide and glycidamide in the testes of Big Blue mice. *Toxicol. Sci.* 2010; 117: 72-80
- Wang Y, Ma Q, Yuan X, Mao Z, Yang J, Yang Z, Wen X: Effect of acrylamide on cardiac ultrastructure and mitochondria enzymes of mice. *Dulixue Zazhi* 2011a; 25: 214-216
- Wang Y, Ma Q, Bai H, Wang C, Xi H, Liu X: Determination of acrylamide and its migration in plastic toys by high performance liquid chromatography. *Fenxi Kexue Xuebao* 2011b; 27: 435-438
- Wang Z, Lu S, Liu C, Yao N, Zhang C, Ma X: Acrylamide disturbs genomic imprinting during spermatogenesis. *Frontiers in bioscience (Elite edition)* 2010; 2: 165-70. Electronic Publication: 2010-01-01
- Warr TJ, Parry IM, Callander RD, Ashby J: Methyl vinyl sulphone: a new class of Michael-type genotoxin. *Mutat. Res.* 1990; 245: 191-199
- Wenzl T, Anklam E: 2007, European Union database of acrylamide levels in food: Update and critical review of data collection. *Food Addit Contam* 2007; 24 (Suppl 1):5-12
- Wenzl T, de la Calle MB, Anklam E: Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. *Food Additives and Contaminants* 2003; 20:885–902
- Wenzl T et al.: Collaborative trial validation study of two methods, one based on high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and on gas chromatography–mass spectrometry for the determination of acrylamide in bakery and potato products. *Journal of Chromatography A* 2006; 1132:211–218
- Wenzl T, Lachenmeier DW, Gokmen V: Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2007; 389:119–137
- Wenzl T et al.: Validation by collaborative trial of an isotope dilution liquid chromatographic tandem mass spectrometric method to determine the content of acrylamide in roasted coffee. *Food Additives and Contaminants* 2009; 26:1146–1152
- WHO (World Health Organization): Acrylamide 1996:
PIM652 <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim652.htm>
- WHO: Acrylamide in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/03.04/71/Rev/1, 2011
- Wilson KM, Balter K, Adami HO, Grönberg H, Vikström AC, Paulsson B, Törnqvist M, Mucci LA: Acrylamide exposure measured by food frequency questionnaire and hemoglobin adduct levels and prostate cancer risk in the cancer of the prostate in Sweden study. *Int J Cancer* 2009a; 124: 2384-2390
- Wilson KM, Mucci LA, Cho E, Hunter DJ, Chen WY, Willett WC: Dietary acrylamide intake and risk of premenopausal breast cancer. *Am J Epidemiol* 2009b; 169: 954-961
- Wilson KM et al.: Validation of a food frequency questionnaire measurement of dietary acrylamide

- intake using haemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide. *Cancer Causes and Control* 2009c; 20: 269–278
- Wilson KM, Mucci LA, Rosner BA, Willett WC: A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of breast, endometrial, and ovarian cancers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010; 19: 2503-2515
- Wilson KM, Giovannucci E, Stampfer MJ, Mucci LA: Dietary acrylamide and risk of prostate cancer. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 2012; 131: 479-87
- Wirfält E, Paulsson B, Tornqvist M, et al.: 2008, Associations between estimated acrylamide intakes, and hemoglobin AA adducts in a sample from the Malmö diet and cancer cohort. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 314-323
- Working PK, Bentley KS, Hurtt ME, Hurtt ME, Mohr KL: Dominant lethal assay of acrylonitrile and acrylamide in the male rat. *Environ Mutagen* 1987; 9: 115
- Xiao Y, Tates AD: Increased frequencies of micronuclei in early spermatids of rats following exposure of young primary spermatocytes to acrylamide. *Mutat Res* 1994; 309: 245-254
- Yamazaki K, Isagawa S, Kibune N, Urushiyama T: 2012, A method for the determination of acrylamide in a broad variety of processed foods by GC-MS using xanthidrol derivatization. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 2012; 29: 705-15
- Yang C, Li X: Effects of acrylamide on the blood biochemical indexes and oxidative injury of testis of male mice. *Heilongjiang Xumu Shouyi* 2011; 5: 128-130
- Yang J, Yang Y, Ma H, Cui H, Bian S, Zhao X: Oxidative damage of acrylamide in mice testes and epididymis tissue. *Dulixue Zazhi* 2011; 25: 211-213
- Yao X, Zeng F, Yao L, Yan L, Wang M, Wang M, Hao Y, Zhang Y: Effects of acrylamide on permeability of blood cerebrospinal fluid barrier in rats. *Zhonghua Laodong Weisheng Zhiyebing Zazhi* 2012; 30: 81-84
- Yasuhara A et al.: Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51:3999–4003
- Yener Y, Dikmenli M.: Increased micronucleus frequency in rat bone marrow after acrylamide treatment. *Food and Chemical Toxicology* 2009, 47:2120–2123
- Yoshida M, Ono H, Chuda Y, Yada H, Ohnishi-Kameyama M, Kobayashi H, Ohara-Takada A, Matsuura-Endo C, Mori M, Hayashi N, Yamaguchi Y: Acrylamide in Japanese processed foods and factors affecting acrylamide level in potato chips and tea. *Adv Exp Med Biol.* 2005; 561:405-13
- Yoshida M, Miyoshi K, Horibata K, Mizukami, Y, Takenaka M, Yasui A: Estimation of acrylamide intake from cooked rice in Japan. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 2011; 58: 525-530
- Young JF, Luecke RH, Doerge DR: 2007, Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for acrylamide and its metabolites in mice, rats, and humans. *Chem. Res. Toxicol.* 2007; 20: 388-399
- Yuan X, Ma Q, Mao Z, Wang Y, Yang J, Wen X: Changes on microstructure and expressions of Caspase-3 and GFAP in mouse hippocampus after acrylamide exposure. *Dulixue Zazhi* 2011; 25: 187-190

- Zamora R, Delgado RM, Hidalgo FJ: Model reactions of acrylamide with selected amino compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58:1708–1713
- Zangrando R, Gambaro A, De Pieri S, Gabrieli J, Barbaro E, Barbante C, Cescon P: Acrylamide determination in atmospheric particulate matter by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2012; 92: 1150-1160
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W: Salmonella mutagenicity tests III: Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1987; 9: 61-109
- Zeiger E, Recio L, Fennell TR, Haseman JK, Snyder RW, Friedman M: Investigation of the low-dose response in the *in vivo* induction of micronuclei and adducts by acrylamide. *Toxicol. Sci.* 2009; 107: 247-257
- Zeng L, Zhu L, Guo X, Yan H: Protective effects of melatonin on toxicity induced by acrylamide in rats. *Dulixue Zazhi* 2011; 25: 37-40
- Zeinick H, Hope E, Smith MK: Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats. *J Toxicol. environ. Health* 1986; 17: 457-472
- Zhang G, Huang G, Xiao L, Seiber J, Mitchell AE: Acrylamide formation in almonds (*Prunus dulcis*) : influences of roasting time and temperature, precursors, varietal selection, and storage. *Journal of agricultural and food chemistry* 2011; 59: 8225-32
- Zhang J, Yang Y, Wang W, Ma H, Li T, Zhang X, Yang, J: The study on the reproductive toxicity of acrylamide in male mice. *Dulixue Zazhi* 2011; 25: 90-92
- Zhang Y et al.: Determination of acrylamide in infant cereal-based foods by isotope dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2005; 551: 150–158
- Zhang Y et al.: Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture detector. *Journal of Chromatography A* 2006; 1116:209–216
- Zhang Y et al.: An improved method validation for rapid determination of acrylamide in foods by ultra-performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2007; 1142: 194–198
- Zhang Y, Zhang GY, Zhang Y: Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: review and recent developments. *Journal of Chromatography A* 2005, 1075: 1–21
- Zhang Y, Ren YP, Zhang Y: New research developments on acrylamide: analytical chemistry, formation mechanism, and mitigation recipes. *Chemical Reviews* 2009, 109: 4375–4397
- Zhang Yu, Ren Yiping, Jiao Jingjing, Li Dong, Zhang Ying: Ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the simultaneous analysis of asparagine, sugars, and acrylamide in Maillard reactions. *Analytical chemistry* 2011; 83: 3297-304
- Zhao R et al.: Determination of acrylamide in heated starchy food by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography* 2005, 23: 289–291
- Zheng XE, Jiang C, Yang XT: Effects of acrylamide on motor function and learning-memory of rats. *Huanjing Yu Jiankang Zazhi* 2011; 28: 14-16

Zhou S et al.: Antigen synthetic strategy and immunoassay development for detection of acrylamide in foods. *Analyst* 2008; 133:903–909

Zhou X et al.: Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Talanta* 2007; 71:1541–1545

Zhu YH et al.: Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector. *Food Chemistry* 2008; 109: 899–908

Zyzak DV, Robert AS, Marko S, Daniel HT, B. Loye E, Deborah KE, David CG, Thomas RM, Melissa A, George PR, Maria DV: Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 4782-4787

青柳光敏, 久保亜希子, 新山和人, 兼俊明夫, 小田淳: パン中のアクリルアミドの定量。北海道立衛生研究所報 2004; 第54集: 55-58

環境省: 水環境中の要調査項目存在状況調査結果 (平成12 年度調査)。2001;
<http://www.env.go.jp/water/chosa/index.html>

環境省: 化学物質の環境リスク初期評価 アクリルアミド。2002;
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h14-05/chap01/03/01.pdf>

環境省: 化学物質の環境リスク初期評価 アクリルアミド。2003;
<HTTP://www.env.go.jp/chemi/report/h15-01/pdf/chap01/03-2/01.pdf>

環境省: 表3 化学物質環境調査結果概要一覧表 (昭和49年度-平成22年度)。環境調査実施化学物質一覧 (昭和49年度～平成22年度) 2007; 387

環境省: 総合環境政策局環境保健部環境安全課:化学物質と環境。平成22年度化学物質分析法開発調査報告書 2011; 289–303

経済産業省: 特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律第11条に基づく開示 (排出年度 : 平成15年度、平成14年度 (修正版)、平成13年度 (修正版)) 2005

厚生労働省: 水道水質基準について、要検討項目と目標値。水道水質基準について、要検討項目と目標値 2002a;
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/kijunchi.html>

厚生労働省: 平成14年 国民栄養調査結果の概要について 第3部 栄養素等摂取状況 2002b; <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2003/12/h1224-4d.html>

厚生労働省: 検05 : アクリルアミド, 水質基準の見直しにおける検討概要 (平成15年4月) 2003

厚生労働省: 平成16年国民健康・栄養調査報告 第1部 栄養素等摂取状況調査の結果 2004; p51-132、<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoubu06/01.html>

国立医薬品食品衛生研究所: 食品中のアクリルアミド分析結果。
<http://www.mhlw.go.jp/topics/2002/11/tp1101-1a.html> 2002a

国立医薬品食品衛生研究所:加工食品中のアクリルアミドの測定・分析及びリスク評価等に関する研究 2002b; <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NISR00.do>

製品評価技術基盤機構: 化学物質のリスク評価及びリスク評価手法の開発プロジェクト/平成14年度研究報告書 (新エネルギー・産業技術総合開発機構 委託事業) 2003

製品評価技術基盤機構: 化学物質のリスク評価及びリスク評価手法の開発プロジェクト/平

成 17 年度研究報告書（新エネルギー・産業技術総合開発機構 委託事業）2006
通商産業省：製品評価技術基盤機構：化学物質管理情報。通商産業省公報（1975年8月27日），
製品評価技術基盤機構 化学物質管理情報 1975; <http://www.nite.go.jp>
内閣府食品安全委員会：ファクトシート 加工食品中のアクリルアミドについて。2007;
<http://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets.html>、
<http://www.fsc.go.jp/sonota/acrylamide-food170620.pdf>
内閣府食品安全委員会：アクリルアミドに関する情報整理シート。2011
農林水産消費技術センター：食の安全・安心情報交流ひろばメールマガジン 第1号
2003.7.3; http://www.famic.go.jp/mail_magazine/backnumbers/No1.htm
農林水産省：平成16年度加工食品中のアクリルアミドの含有実態調査の結果について。平成
16年12月16日公表（プレスリリース） 2004;
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/nousui/h16kekka.html
農林水産省：平成17年度加工食品中のアクリルアミドの含有実態調査の結果について
2005; http://www.maff.go.jp/j/press/2006/20060619press_1.html
農林水産省：平成18年度加工食品中のアクリルアミド含有実態調査の結果について 2006;
http://www.maff.go.jp/j/press/2007/20070618press_4.html
農林水産省：農林水産技術会議事務局：食品の安全性及び機能性に関する総合研究, 445号,
第 2 編 食品の安全性に関するリスク分析確立のための研究開発 2008; 164-174,
<http://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2039014628.pdf>
農林水産省：食品中のアクリルアミドができる仕組み。食品中のアクリルアミドに関する情
報、詳細編 2011a;
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/about/sikumi.html
農林水産省：食品事業者ができること。食品中のアクリルアミドに関する情報、詳細編
2011b; http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/teigen/zigyosya.html
農林水産省：アクリルアミドとは何か。食品中のアクリルアミドに関する情報、基礎編
2011c; http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_kiso/about.html
農林水産省：4汚染実態の報告（国内）。食品安全に関するリスクプロファイルシート（検討
会用）（化学物質）2012a;
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/pdf/chem_aa.pdf
農林水産省：有害化学物質含有実態調査結果データ集（平成15～22年度）2012b;
<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/seisaku/pdf/chem15-22r.pdf>
森本昌宏, 森彬, 中村周三, 深町和美, 高尾真一, 森田邦正, 永淵義孝, 森本弘樹, 江崎義憲,
岸川昭夫, 田上四郎, 木藤壽正, 高橋克巳, 猿田南海雄, 松尾和彦: 福岡県におけるア
クリルアミド混入井戸水に起因する中毒患者の発生。用水と廃水1975; 17: 51-62.
吉田充, 他: 日本で市販されている加工食品中のアクリルアミドの分析。日本食品科学工学
会誌 2002; 49: 822-825
吉田充: 日本における炊飯米由来のアクリルアミド摂取量評価。日本食品科学工学会誌
2011; 58 (11) : 525-530

