

## ジアシルグリセロール (DAG) の安全性資料

平成 17 年 10 月 13 日

- 概要：ジアシルグリセロール (DAG) の安全性 ----- 1
- 安全性試験一覧：ジアシルグリセロール (DAG) の安全性試験一覧 ----- 17
- 参考資料-1：ジアシルグリセロール (DAG) の構造とプロテインキナーゼ C (PKC) の活性化
- 参考資料-2：ジアシルグリセロール (DAG) 推定摂取量と食餌中 DAG 濃度の関係
- 参考資料-3：ジアシルグリセロール (DAG) の発がんプロモーション試験報告に対する GRAS エキスパートパネルの見解
- 添付資料：
  - No. 5: 試験報告書, Diglyceride Bacterial Mutation Assay (1992)
  - No. 6: Kasamatsu T., et al, Genotoxicity Studies on Dietary Diacylglycerol (DAG) Oil (2005)
  - No. 8: 試験報告書, A One-Year Dietary Toxicity Study of DAG in Prejuvenile Dogs (2002)
  - No.11: Soni M.G., et al., Chronic Study of Diacylglycerol Oil in Rats (2001)
  - No.12: 試験報告書, A 24-Month Dietary Carcinogenicity Study of DAG in Rats (2003)
  - No.13: 試験報告書, A 24-Month Dietary Carcinogenicity Study of DAG in Mice (2004)
  - No.17: 試験報告書, DAG の中期多臓器発がん試験 (2005)
  - No.18: Osaki N., et al., Metabolites of Dietary Triacylglycerol and Diacylglycerol During the Digestion Process in Rats (2005)
  - No.19: 社内報告書, DAG oil の血清中 1,2-DAG 量への影響 (2004)
  - No.20: 社内報告書, DAG oil の大腸内容物および糞便中 1,2-DAG 量への影響 (2004)
  - No.21: 社内報告書, DAG oil の消化管粘膜組織のプロテインキナーゼ C 活性化への影響 (2004)
  - No.38: Sugano M., et al., Dimethylbenz(a)anthracene-induced Mammary Tumorigenesis in Sprague-Dawley Rats Fed Saturated and Polyunsaturated Triacylglycerols and Diacylglycerols (2002)

# ジアシルグリセロール (DAG) の安全性

2005年10月13日

ジアシルグリセロール (DAG) は植物油・動物油を問わず、ほとんどの食用油に数%含有されており、人類が長年摂取してきた食経験豊富な油脂成分であるといえます<sup>1)</sup>。摂取量を見ても、例えばオリーブ油は5~6%のDAGを含みますが、地中海地方では1日60g近いオリーブ油を食べることから<sup>2)</sup>、結果として毎日3g程度のDAGを食べていることとなります。近年、酵素処理法による高純度DAG (80%以上) を生産する技術が開発され、その安全性の確認が進められるとともに栄養機能評価が行われてきました。以下に、DAGの安全性に関する報告をまとめます。

## DAGの安全性に関する報告の概要

DAGの安全性評価試験及び関連試験として、急性毒性試験、変異原性試験、反復投与毒性試験、長期栄養試験、発がん性試験、生殖毒性試験、加熱処理DAGの安全性試験、発がんプロモーション試験、消化器内容物および血清、糞便中の1,2-DAG量の測定、消化管粘膜組織、およびヒト大腸由来細胞を用いたPKC活性測定が実施され、いずれの試験においても、安全性上問題のないことが確認されています。

### 1) これまでに実施したジアシルグリセロールの安全性及びその関連試験

#### ①急性毒性試験：

SD系ラット (雄雌、6週齢、各群5匹) に、DAG (原料) 又はDAG製品 (DAG油) を経口投与 (体重100g当たり1.5mL) し、対照の菜種TAG又はキャノーラサラダ油と毒性学的影響について比較した。その結果、死亡はなく、油の物性によると考えられる下痢が認められたものの、対照群との間に差はなく、剖検においても異常は認められなかった。本試験条件下において、DAGの致死量は雌雄ともに15000mg/kgを上回ると推定された<sup>3,4)</sup>。

#### ②変異原性試験：

DAGの遺伝毒性を細菌、哺乳類培養細胞、動物を用いて検討した<sup>5,6)</sup>。

##### 【Ames試験】

Salmonella typhimurium TA98、TA1537、TA100、TA1535、Escherichia coli WP2 uvrAの計5菌株を用い、プレインキュベーション法にて、ラット肝から調製したS9による代謝活性化の存在下および非存在下にて、復帰突然変異誘発能の有無を試験した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株に対しても復帰変異コロニー数を用量相関的に増加させず、溶媒対照と比較して2倍以上のコロニー数の増加も観察されなかった。以上の結

果より、本試験条件下において DAG は復帰突然変異誘発能を有しないと判断された。

#### 【染色体異常試験】

0.5% CMC-Na を溶媒として用い、チャイニーズハムスター肺由来細胞株 (CHL/IU) に対する染色体異常誘発性を、ラット肝から調製した S 9 による代謝活性化の存在下および非存在下にて試験した (試験濃度: 1250・2500・5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。その結果、染色体の構造異常ならびに数的異常の出現率は、いずれも 5% 以下であり、本試験油に染色体異常誘発性はないと判断された。

#### 【小核試験】

DAG を 24 時間間隔で 2 回、ICR マウスに強制経口投与した (投与量: 500・1000・2000mg/kg)。最終投与 24 時間後に骨髓細胞を採取して標本を作製し、小核をもつ多染性赤血球の出現頻度について試験した。その結果、いずれの投与群も陰性対照群と比較して小核の誘発性に有意差は認められなかった。

### ③反復投与毒性試験:

#### 【ラット経口 28 日間試験】

対照にコーン油を用い、総脂質量を 10% として、DAG を 0.2% (コーン油 9.8%)、1.0% (コーン油 9.0%)、5.0% (コーン油 5.0%) に設定した飼料をラットに 28 日間混餌投与し、毒性学的な影響を検索した。その結果、0.2、1.0、または 5.0% の DAG を少なくとも連続 28 日間にわたって混餌投与したラットでは、顕著な毒性の徴候は認められなかった。無毒性量 (NOAEL) は、最高用量である混餌濃度 5% であった<sup>7)</sup>。

#### 【イヌ経口 1 年間慢性毒性試験】

脂肪酸組成をあわせたトリアシグ リセロール (TAG) を対照に、総脂質量を 9.5% として、DAG を 0%、1.5%、5.5%、9.5% を含む飼料をビーグル犬 (2.5 ヲ月齢<sup>8)</sup>) に 1 年間摂取させ、毒性学的な影響を検索した。その結果、死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、尿検査項目、血清生化学検査値、眼科的所見、心電図所見、剖検所見、病理組織所見および臓器重量に DAG 投与に起因する変化は見られなかった。すなわち、DAG を 2.5 ヲ月齢から投与してもイヌの正常な成長・発達に影響を及ぼさなかった。無毒性量は試験最高用量である混餌濃度 9.5% であった<sup>8)</sup>。

### ④催奇形性試験:

ラットにコーン油を溶媒にして、妊娠 6 日から 17 日の期間、5mL/kg を最高用量とし、以下、2.5 (コーン油 2.5)、1.25 (コーン油 3.75)、0 (コーン油 5) mL/kg の用量で強制経口投与し、母動物および胎児に対する影響を評価した。その結果、DAG を投与した全ての群で一般状態、母動物体重、体重増加量、摂餌量に DAG 投与の影響はみられず、胎児の成

長や生存性への影響、催奇形性も認められなかった。無毒性量は、試験最高用量である 5mL/kg であった<sup>9)</sup>。

#### ⑤二世世代生殖毒性試験：

ラット雌雄にコーン油を溶媒にして、5mL/kg を最高用量とし、以下、2.5 (コーン油 2.5)、1.25 (コーン油 3.75)、0 (コーン油 5) mL/kg の用量で交配前 70 日より交配期間、哺育期間を通して F2 出生児の離乳時まで反復強制経口投与し、F0 世代及び F1 世代での親動物の生殖への影響を評価した。また、DAG と脂肪酸組成を同一に調整した TAG を比較対照として設定した。その結果、F0 および F1 親世代の生殖パラメーター、F1 および F2 世代での新生児生存率、成長、発達への影響は認められなかった。無毒性量は試験最高用量である 5mL/kg であった<sup>10)</sup>。

#### ⑥長期（2年間）栄養試験：

ラットに総脂質量を 7.0%として、DAG または TAG を飼料中に 2.65%、及び 5.3%含む食餌を 105 週間与え、30、77、105 週での栄養特性および毒性試験項目を評価した。その結果、TAG との比較において、DAG は途中死亡動物数、体重推移、摂餌効率、尿検査、血液学的検査、病理学的検査において毒性学的な差は認められなかった。無毒性量は、試験最高用量である混餌濃度 5.3%であった<sup>11)</sup>。

#### ⑦発がん性試験：

##### 【ラットがん原性試験】

ラットに、DAG を最大 5.5%配合した飼料を 104 週間混餌投与して、死亡、一般状態観察、詳細観察、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学、尿検査、眼科学的検査、剖検、臓器重量、病理検査を実施した。対照群には 1 群：脂質 4.5%の基礎飼料、2 群 TAG5.5%を用い、1~5 群は制限給餌（雌雄各 50 匹）、6、7 群は自由摂取（雌雄各 65 匹）とした。その結果、基礎飼料群（1 群）に対し、TAG、DAG 群ともに、生存率の低下、体重、体脂肪の増加等が認められたが、制限給餌群、自由摂取群ともに TAG、DAG の違いによる差は認められず、舌を含め全身諸臓器に DAG 投与による一般毒性学的な影響およびがん原性は認められなかった。無毒性量は試験最高用量である混餌濃度 5.5%であった<sup>12)</sup>。

##### 【マウスがん原性試験】

マウスに、DAG を最大 6.0%配合した飼料を 2 年間混餌投与し（自由摂取）、死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液検査、剖検、臓器重量、病理検査を実施した。餌中配合濃度は 1.5、3.0、6.0%とし餌中の脂質含量は脂肪酸組成を合わせたトリアシグリセロールを対照として、6%に

統一させた。その結果、舌を含め全身諸臓器に DAG 投与による一般毒性学的な影響およびがん原性は認められなかった。無毒性量は試験最高用量である混餌濃度 6.0%であった<sup>13)</sup>。

#### ⑧加熱処理 DAG の安全性試験：

実際の調理場面を想定し、加熱処理（フライ調理）を行った DAG の安全性を確認する目的でラットにおける経口急性毒性試験、細菌、培養細胞および動物を用いた変異原性試験、ラットにおける 90 日間経口反復投与毒性試験を実施した。

##### 【急性毒性試験結果】

ポテト 8 時間連続フライ使用油 DAG (COV=31、重合物 12%程度)および TAG (COV=33、重合物 12%程度)を用い、5000 mg/kg の用量にて単回の強制経口投与を行った。その結果、死亡はなく、外観及び行動等に異常は認められなかった。体重は、雌雄共に順調に増加し、LD50 値は 5000 mg/kg 以上であった<sup>14,15)</sup>。

##### 【変異原性試験結果】

ポテト 8 時間×3 日連続フライ使用 DAG 油を用い、変異原性を Ames 試験、染色体異常試験、小核試験にて評価した。なお、試験条件は、加熱処理をしていない場合と同一とした。その結果、いずれの試験系においても DAG に変異原性は認められなかった<sup>6)</sup>。

##### 【90 日間反復投与毒性試験結果】

ポテト 8 時間×3 日連続フライ使用 DAG 油をラットに 90 日間混餌投与し、一般状態、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学、尿検査、眼科学的検査、剖検、臓器重量、病理検査を実施した。投与は、餌中の加熱処理した DAG を 5.5%、2.75%、1%、0%に設定し、加熱処理をしていない DAG をそれぞれ 0%、2.75%、4.5%加えることにより、総脂質量を 5.5%とした。また、対照として市販のサラダ油を同様に加熱処理した群を設けた。その結果、死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査項目（血液学、血液生化学、尿検査）、自発運動量、臓器重量に DAG 投与による影響はなく、市販のサラダ油との間にも毒性学的な差は認められなかった。無毒性量は試験最高用量である混餌濃度 5.5%であった<sup>16)</sup>。

#### ⑨発がんプロモーション試験（中期多臓器発がん性試験）：

主要各臓器に対する 5 種類のイニシエーター (DMBDD) をラット [F344/DuCrj 系 (SPF) 雌雄] に投与した後、DAG を 24 週間最大 5.5%の濃度で混餌投与し、全身諸臓器に対する発がん修飾作用の有無を評価した。その結果、舌を含め全身諸臓器に DAG 投与に起因すると考えられる腫瘍発生の増加はみられず、DAG は全身諸器官への発がん修飾作用を有さないことが示された<sup>17)</sup>。

#### ⑩消化管内容物および血清、糞便中の1,2-DAG量の測定

DAG油摂取時の消化管（胃、小腸、盲腸、大腸）内容物中、血清中、糞便中の1,2-DAG量を、ラットを用いて同脂肪酸組成のTAG油摂取時と比較検討をした。

##### 【胃、小腸、血清の試験結果】

10% DAG油配合食餌もしくは、10% TAG油（DAG油と同脂肪酸組成）配合食餌、を1時間自由摂取させ、胃内容物、小腸内容物及び血清中の1(3),2-DAG量を測定した。その結果、DAG油摂取とTAG油摂取間で胃内容物、小腸内容物及び血清中の1(3),2-DAG量に差は認められなかった<sup>18,19)</sup>。

##### 【盲腸、大腸、糞便中の試験結果】

10% DAG油配合食餌もしくは、10% TAG油（DAG油と同脂肪酸組成）配合食餌、を30日間自由摂取させ、盲腸及び大腸内容物中、糞便中の1(3),2-DAG量を測定した。その結果、DAG油摂取とTAG油摂取間で盲腸及び大腸内容物中、糞便中の1(3),2-DAG量に差は認められなかった<sup>20)</sup>。

#### ⑪消化管粘膜組織、およびヒト大腸由来細胞を用いたプロテインキナーゼC（PKC）活性測定

DAG油摂取時のラット消化管粘膜組織、及びDAG油添加時のヒト大腸由来培養細胞のPKC活性を、同脂肪酸組成のTAG油摂取（添加）時と比較検討をした。

##### 【消化管粘膜組織の試験結果】

DAG油（5%、23%）配合食餌もしくはTAG油（5%、23%、DAG油と同脂肪酸組成）配合食餌を30日間自由摂取させ、消化管（食道、胃、小腸、盲腸、大腸）を摘出後、各部位の粘膜を採取し、蛋白抽出、精製後にPKC活性を測定した。その結果DAG油摂取とTAG油摂取間で消化管粘膜組織のPKC活性に差は認められなかった<sup>21)</sup>。

##### 【ヒト大腸由来細胞の試験結果】

DAG油（50 $\mu$ g/ml）またはTAG油（50 $\mu$ g/ml）を、培養したヒト大腸由来細胞（Caco2細胞）に添加60分後に細胞を採取し、蛋白抽出、精製後にPKC活性を測定した。DAG油添加とTAG油添加でCaco2細胞のPKC活性に差は認められなかった<sup>21)</sup>。

また、これまでに実施された DAG のヒト臨床試験においても、被験者の血液および身体上の検査項目に問題は認められていないことが確認されています。

## 2) ヒト摂取試験 論文リスト

被験対象	摂取期間	試験油の摂取量	文献
成人男性 17 名	単回	0.59 g(体重 1 kg 当たり)	22)
成人男性 13, 10, 17 名	単回	10, 20, 44 (g)	23)
成人男性 6 名	単回	30 g(体表面積 m <sup>2</sup> 当たり)	24)
成人男性 15 名	3 ヶ月	20 g(1 日当たり)	25)
成人 39 名 (男性 21, 女性 18)	3 ヶ月	0.5g(体重 1 kg 当たり)	26)
成人男性 19 名	4 ヶ月	10 g(1 日当たり)	27)
成人男性 23 名	4 ヶ月	10 g(1 日当たり)	28)
成人(米国) 65 名 (男性 25, 女性 40)	6 ヶ月	総摂取量の 15%	29)
成人 109 名 (男性 89, 女性 20)	9 ヶ月	自由摂取	30)
成人 60 名 (男性 51, 女性 9)	24 ヶ月	自由摂取	31)
子供 (7-17 歳) 11 名 (男性 7, 女性 4)	5 ヶ月	自由摂取	32)
若年女性 (約 20 歳) 23 名	2 ヶ月	20 g (1 日当たり)	33)
成人(高脂血症糖尿病患者) 8 名(男性 3, 女性 5)	3 ヶ月	10.6 g (1 日当たり)	34)
成人(高脂血症透析患者)10 名(男性 7, 女性 3)	3 ヶ月	自由摂取	35)

また、その他の文献等の情報として、DAG の安全性に関する以下の情報があげられます。

- 1) モノアシルグリセロール(MAG)およびDAGは、JECFA(The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)およびFASEB(Federation of American Societies for Experimental Biology)により、実際的な供与量において安全であると結論されています<sup>36, 37)</sup>。
- 2) ラットにおける化学発ガン物質誘導乳がんおよび脂肪腫に及ぼす脂質の影響を検討した中で、同じ脂肪酸組成のDAGとTAGとにおいて発がん性に差のないことが報告されています<sup>38)</sup>。
- 3) 27名の健康な男性に1日20gのDAGとTAGを摂取させたときの脂溶性ビタミン

の血清動態への影響を検討した結果、ビタミンA、E、Dについては摂取した脂質の違いによる変化は認められないことが報告されています<sup>25)</sup>。

ジアシルグリセロール (DAG) の安全性関連試験の一覧 (別紙) を添付します。



## 海外でのDAGの安全性に関する審査状況

DAGの食品素材としての利用に関しては、海外でも各国の食品安全性に関する審査制度のもと評価を受けています。これまでに、米国でのFDA（食品医薬品局）「GRAS（一般に安全と認められる食品）」<sup>39-45</sup>、カナダ（Novel Food）<sup>46-48</sup>、オーストラリア（Novel Food）<sup>49-51</sup>、ニュージーランド（Novel Food）<sup>49-51</sup>、中華民国（健康食品）<sup>52-55</sup>に、ジアシルグリセロールのクッキングオイル等への食品使用を申請し、各国の専門家の審査を経て認可を得ています。さらに、EU（欧州）<sup>56-59</sup>とブラジル<sup>60,61</sup>では現在、審査中の状況です（別紙一覧）。

これら海外での食品安全性の審査方法は、米国FDAのGRAS制度、カナダ、オーストラリア、ニュージーランド、EU、ブラジルの新規食品（Novel Foods）制度、および日本の特定保健用食品の制度を参考に作られた中華民国の健康食品制度の大きく3つに大別されます。

以下に、海外の審査方法の概要と経過を記載します。

### 1. 米国：FDA（食品医薬品局）に対するGRASとしての届出

（審査方法）

米国の食品安全性に関する審査制度で、食品またはその原料を販売する場合には、GRAS（Generally Recognized as Safe：一般に安全と認められる食品）であることが望ましいとされており、1997年より自己確認（Self-Affirmation）による届出制が実施されています。いずれの申請者も、申請品の安全性を第三者に評価を依頼することが求められており、通常、申請者は安全性のエキスパートパネルを設立して、そこに評価を依頼します。申請者は、そのエキスパートパネルから出された安全性に関する見解書を申請書に添付して、FDAに申請品が安全である旨の届出を行います（GRAS Notification）。これに対し、FDAが原則90日以内にコメントを公開するシステムです。

（安全性評価）

DAGの場合は、食品毒物学、脂質栄養学の著名研究者4名から構成されるエキスパートパネルを作成し、評価を依頼しました。その結果、科学的な評価により安全であることが認められ、GRAS申請書類にエキスパートパネルによる見解書「Critical evaluation of DAG」を添付しFDAへの届出を行った結果、FDAからDAGの安全性に関し、「異議なし」のLetterを受け取り、GRASリストに登録されました。さらに、2002年にはDAGの使用用途拡大のための申請を行い、同様の過程を経て、FDAから「異議なし」のLetterを受け、同様にGRASリストに登録されています。

(DAGの発がんに関する質問)

DAGの安全性評価においてエキスパートパネルの1名から、「DAGによるPKC活性化」特に大腸がんとの関連性についての質問を受けました。本件について、PKCを活性化する可能性が考えられるのは *sn*-1,2-DAG であり、その *sn*-1,2-DAG は一般の食用油 (TAG) の消化過程でも生じていること、および長鎖のDAGは細胞膜を透過しないと報告されていることを説明し、エキスパートパネルの理解を得ました。

関連資料一覧	
米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: エキスパートパネルによる DAG oil 安全性に対する見解書 (2000)	39)
米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: GRAS 申請書 (2000)	40)
米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: FDA からの「異議なし」レター; GRN No. 56 (2000)	41)
米国 GRAS, 用途拡大: エキスパートパネルによる DAG oil 安全性に対する見解書 (2002)	42)
米国 GRAS, 用途拡大: GRAS 申請書 (2002)	43)
米国 GRAS, 用途拡大: FDA からの「異議なし」レター; GRN No. 115 (2003)	44)
米国 FDA ウェブサイトに掲載された GRAS リスト (2004) [ <a href="http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html#grastop">http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html#grastop</a> ]	45)

2. カナダ、オーストラリア/ニュージーランド、ブラジル: Novel Foods の申請

(審査方法)

カナダ、オーストラリア/ニュージーランド、ブラジルでは、すべての遺伝子組み換え食品や、新規の食品は、それらの国での販売前に各国専門家による安全性の評価と承認を受けることが必要とされています。

(安全性評価と許可)

カナダでは、カナダ政府機関の Health Canada に申請し、2004年に、DAGは Novel Food として登録されました。

オーストラリア/ニュージーランドでは、Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) によって審査され、パブリックコメントが募集された後に、2004年に FSANZ より Final Assessment が公開になり、Novel Food として登録されました。

ブラジルでは、ブラジル政府機関が審査し、現在、健康機能表示に関する審査が実施されている状況です。

(DAGの発がんに関する質問)

四カ国における安全性審査機関からは、審査の過程でDAGの発がん性に関する質問はありませんでした。

関連資料一覧	
カナダ (Health Canada) への Novel Food 申請書 (2002)	46)
カナダ (Health Canada) からの「異議なし」レター (2002)	47)
Health Canada ウェブサイトに掲載された Novel Food リスト (2004)	48)
Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)への Novel Food 申請書 (2003)	49)
FSANZ の Novel Food 最終評価報告書 (2004)	50)
FSANZ ウェブサイトに掲載された Novel Food のリスト (2004)	51)
ブラジルへの Novel Food 申請書－食品素材－ (2003)	60)
ブラジルへの Novel Food 申請書－食用油－ (2003)	61)

### 3. EU : Novel foods の申請

(審査方法)

EU (欧州) では、現在、欧州食品安全機関 EFSA (European Food Safety Authority) により、Novel Food の安全性が審査されています。DAGは、DG SANCO (健康および消費者保護総局 : Consumer and Health Protection Directorate General) に申請を行い、EFSAが安全性に関し審議を行っています。

(安全性評価と見解)

2004年12月に、「DAGは、ヒトの摂取用として安全である」との見解がEFSAから出されています。

なお、この見解には「DAGを新規食用油として通常の植物油に置換えるのであれば、消費者に栄養学的な不利益を与えないように、トランス酸を1%以下にすべきである」とのコメントが記載されています。これに対し、「一般的な食用油のトランス酸レベルが2~3%であるのに対し、1%以下の要求は科学的根拠に乏しい」との意見を提出し、現在審議継続中となっています。現時点でDAGのトランス酸含量は、原料や製造工程の見直しにより低減化を図り、日本国内、米国ともに2~3%程度で推移しています。

(発がん性に関する質問)

安全性評価がなされている過程で、スウェーデンから「DAGのPKC活性化作用に関して、安全性の見解を示すように」との質問を受けました。これに対して、1) in vitro でPKC活

性化を示すのは(*sn*-)1,2-DAG であること。2)構成脂肪酸の鎖長および不飽和度により影響が異なり、生体内においては 1-stearoyl-2-arachidonyl-glycerol (SAG)がPKC活性化の主要因子と考えられている、との論文が報告されていることを示しました。その上で、1)食用のDAG中にはSAGが含まれていないこと、および、2)最も重要なこととして、2年間のラット長期試験の結果において、対象群に比べて、口腔内、食道、胃において、腫瘍や組織病変に違いを認めなかったことを2003年4月に回答しました<sup>59)</sup>。その結果、欧州食品安全機関(EFSA)は、2004年12月に「DAGは、ヒトの摂取用として安全である」との見解を出しています。

関連資料一覧	
EU への Novel Food 申請書 (2004)	56)
European Food Safety Authority (EFSA) の見解 (2004)	57)
EU ウェブサイトに掲載された Novel Food 申請リスト (2004)	58)
スウェーデンの質問に対する回答書 (2003)	59)

#### 4. 中華民国：健康食品制度

##### (審査方法)

日本における個別認可型の特定保健用食品制度を参考に設けられた表示許可制度です。特定保健用食品と同様に、中華民国衛生署が指名した専門家からなる評価委員会により、商品ごと、表示内容ごとにその有効性と安全性が評価され、許可されます。

##### (安全性評価と許可)

DAGを利用した食用油は、安全性に関する質問はなく、「食後の血中中性脂肪低減」と「体に脂肪がつきにくい」の2つの表示許可を受けています。

関連資料一覧	
中華民国，健康食品申請書－食後血中中性脂肪の減少－ (2003)	52)
中華民国，健康食品許可証，番号：A00047号，行政院衛生署	53)
中華民国，健康食品申請書－体に脂肪がつきにくい－ (2004)	54)
中華民国，健康食品許可証，番号：A00057号，行政院衛生署	55)

海外におけるジアシルグリセロール申請／承認状況一覧

(2005.09.16現在)

国名	対象制度	使用用途	申請日	承認日	販売状況	各国における90% タイルのDAG-oil推 定摂取量 (g/kg-体重/day)*
アメリカ	GRAS	食用油、マーガリン／スプレッド (DAG oil: 0.38 g/kg 体重/day)	2000/8/11	2000/12/4	地区限定: 2003/01~ 全米販売: 2005/01~	0.3-0.5 (幼児0.49)
		用途拡大: 食用油、マーガリン／スプレッド、ドレッシング、マヨネーズ、ベーカリー製品、ピザ、朝食／スナック／パワーバー、スープ／グレイビー、ミールリプレースメント、冷凍食品 (DAG oil: 0.5 g/kg 体重/day)	2002/8/19	2003/2/24		
カナダ	Novel Food	焼成食品、ピザ、油脂類(食用油、マーガリン、マヨネーズ、ドレッシング)、健康バー、ミールリプレースメント、冷凍食品、スープ、スープミックス／グレイビー	2002/10/29	2004/9/10	未	ケベック:0.33 サスカチュワン:0.33
オーストラリア/ ニュージーランド	Novel Food	食用油、マーガリン、ドレッシング、マヨネーズ、焼成食品(パン、ケーキ、ペストリー、クッキー、クロワッサン、ビスケット、ピザ)、健康バー、ミールリプレースメント	2003/6/6	2004/10/6	未	AUS: 0.23-0.52 NZ: 男性0.29-0.46 女性0.23-0.38
EU	Novel Food	食用油、スプレッド／マーガリン、ドレッシング／マヨネーズ、ベーカリー製品、健康バー、健康ドリンク(ミールリプレイサー)、ヨーグルト	2002/9/2	審議中 (EFSA: 見解 発行済)	未	0.7 (オランダ:0.50)
ブラジル	Novel Food	食品素材: マーガリン／スプレッド、ドレッシング、マヨネーズ、ベーカリー製品、ピザ、朝食／スナック／パワーバー、スープ／グレイビー、ミールリプレースメント、冷凍食品	2003/1/13	2004/11/29	未	-
		食用油	2003/1/13	健康機能表示内容について審査中		
台湾	健康食品	食用油 (食後の血中中性脂肪の減少)	2003/7	2004/7/18	未	-
		食用油 (体に脂肪がつきにくい)	2003/7	2005/2/25		

\* 各国が推定した、ヘビーユーザーのDAG oil推定摂取量

※ 米国GRASの食用油・マーガリンスプレッド申請、台湾健康食品申請以外の申請はパートナー会社が行っております。

引用文献

- 1) D' alonzo R.P., et al., J. Am. Oil. Chem. Soc., 59(7), 292-295 (1982)
- 2) Luchetti F., Eur. J. Lipid Technol., 104, 559-563 (2002)
- 3) 試験報告書 (ボゾリサーチセンター), ジグリセリド油のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 (1996)
- 4) 試験報告書 (ボゾリサーチセンター), ジグリセリド健康油のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 (1996)
- 5) 試験報告書 (Huntington Res. Centre), Diglyceride Bacterial Mutation Assay (1992)
- 6) Kasamatsu T., et al, Food Chem. Toxicol., 43(2), 253-260 (2005)
- 7) 試験報告書 (Hazleton Washington, Inc.), 4-Week Subacute Oral Toxicity Study in Rats (1991)<sup>\*1</sup>
- 8) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A One-Year Dietary Toxicity Study of DAG in Prejuvenile Dogs (2002)<sup>\*1</sup>; Food Chem. Toxicol., in press
- 9) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A Study of the Effects of DAG on Embryo/Fetal Development in Rats (2004)<sup>\*1</sup>
- 10) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A Two-Generation Reproductive Toxicity Study of DAG Administered Orally by Gavage in Rats (2004)<sup>\*1</sup>
- 11) Soni M.G., et al., Food Chem. Toxicol., 39, 317-329 (2001)
- 12) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A 24-Month Dietary Carcinogenicity Study of DAG in Rats (2003)<sup>\*1</sup>; Food Chem. Toxicol., in press
- 13) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A 24-Month Dietary Carcinogenicity Study of DAG in Mice (2004); Food Chem. Toxicol., in press
- 14) 試験報告書 (薬物安全性試験センター), TG-5 のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 (2003)
- 15) 試験報告書 (薬物安全性試験センター), DG-5 のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 (2003)
- 16) 試験報告書 (WIL Research Lab.), A 90-Day Dietary Toxicity Study of Heated KA-1 and Heated NI-1 in Rats 2004)<sup>\*1</sup>
- 17) 試験報告書 (DIMS 医科学研究所), DAG の中期多臓器発がん試験 (2005)<sup>\*1</sup>
- 18) Osaki N., et al., Lipids, 40(3), 281-286 (2005)
- 19) 社内報告書, DAG oil の血清中 1,2-DAG 量への影響 (2004)
- 20) 社内報告書, DAG oil の大腸内容物および糞便中 1,2-DAG 量への影響 (2004)
- 21) 社内報告書, DAG oil の消化管粘膜組織のプロテインキナーゼ C 活性化への影響 (2004)
- 22) 渡邊浩幸ら, 日本油化学会誌, 46(3), 309-314 (1997)

- 23) Taguchi H., et al., *J. Am. Coll. Nutr.*, 19(6), 789-796 (2000)
- 24) Tada N., et al., *Clin. Chim. Acta*, 311(2), 109-117 (2001)
- 25) Watanabe H., et al., *Ann. Nutr. Metab.*, 45, 259-264 (2001)
- 26) Yasunaga K., et al., *Food Chem. Toxicol.*, 42(9), 1419-1429 (2004)
- 27) Nagao T., et al., *J. Nutr.*, 130(4), 792-797 (2000)
- 28) 武井章ら, *健康・栄養食品研究*, 4(3), 89-101 (2001)
- 29) Maki K.C., et al., *Am. J. Clin. Nutr.*, 76(6), 1230-1236 (2002)
- 30) 桂木能久ら, *健康医学 (日本人間ドック学会誌)*, 14(3), 258-262 (1999)
- 31) 大月和宣ら, *健康医学 (日本人間ドック学会誌)*, 19(1), 29-32 (2004)
- 32) 松山健, *小児科*, 43(7), 928-933 (2002)
- 33) Yanagisawa Y., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 302(4), 743-750 (2003)
- 34) Yamamoto K., et al., *J. Nutr.*, 131(12), 3204-3207 (2001)
- 35) 寺本民生ら, *日本臨床栄養学会雑誌*, 21(3,4), 35-38 (2000)
- 36) JECFA: Toxicological Evaluation of Some Food Additives Including Anticaking Agents, Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers and Thickening Agents. 17th JECFA Session, 25 June-4 July, 1973, Geneva FAO Nutrition Meetings Report Series, No. 53A. WHO Technical Report Series, No. 539. WHO Food additives Series). No. 5, pp. 238-263 (1974)
- 37) FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology): Evaluation of the Health Aspect of Glycerin and Glycerides as Food Ingredients. FASEB, US Department of Commerce, National Technical Information Service, PB-254536 (1975)
- 38) Sugano M., et al., *J. Oleo Sci.*, 51, 583-588 (2002)
- 39) 米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: エキスパートパネルによる DAG oil 安全性に対する見解書 (2000)
- 40) 米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: GRAS 申請書 (2000)
- 41) 米国 GRAS, 食用油・マーガリン/スプレッド申請: FDA からの「異議なし」レター (2000)  
GRN No. 56, List of the substances that are the subject of each GRAS Notice and the file number that FDA has assigned to the notice, FDA, US.  
[<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g056.html>]
- 42) 米国 GRAS, 用途拡大: エキスパートパネルによる DAG oil 安全性に対する見解書 (2002)
- 43) 米国 GRAS, 用途拡大: GRAS 申請書 (2002)
- 44) 米国 GRAS, 用途拡大: FDA からの「異議なし」レター (2003)  
GRN No. 115, List of the substances that are the subject of each GRAS Notice and the file number that FDA has assigned to the notice, FDA, US.

- [<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gl15.html>]
- 45) 米国FDAウェブサイトに掲載された GRAS リスト(2004)  
[<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html#grastop>]
  - 46) カナダ (Health Canada) への Novel Food 申請書 (2002)
  - 47) カナダ (Health Canada) からの「異議なし」レター (2002)
  - 48) Health Canada ウェブサイトに掲載された Novel Food リスト (2004)  
Health Canada, [[http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/index\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/index_e.html)]
  - 49) Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)への Novel Food 申請書 (2003)
  - 50) FSANZ の Novel Food 最終評価報告書 (2004)
  - 51) FSANZ ウェブサイトに掲載された Novel Food のリスト (2004)  
Foods Standards Australia New Zealand,  
[[http://www.foodstandards.gov.au/\\_srcfiles/fsc\\_1\\_5\\_1\\_Novel\\_Foods\\_v78.pdf](http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/fsc_1_5_1_Novel_Foods_v78.pdf)]
  - 52) 中華民国, 健康食品申請書－食後血中中性脂肪の減少－ (2003)
  - 53) 中華民国, 健康食品許可証, 番号: A00047 号, 行政院衛生署
  - 54) 中華民国, 健康食品申請書－体に脂肪がつきにくい－ (2004)
  - 55) 中華民国, 健康食品許可証, 番号: A00057 号, 行政院衛生署
  - 56) EU への Novel Food 申請書 (2004)
  - 57) European Food Safety Authority (EFSA) の見解 (2004)
  - 58) EU ウェブサイトに掲載された Novel Food 申請リスト (2004)
  - 59) EU Novel Food 申請; スウェーデンの質問に対する回答書 (2003)
  - 60) ブラジルへの Novel Food 申請書－食品素材－ (2003)
  - 61) ブラジルへの Novel Food 申請書－食用油－ (2003)

#### DAGの安全性について書かれた総説

- 62) 板倉 弘重, 栄養－評価と治療－, 19, 504-511 (2002)
- 63) Borzelleca J.F., et al., Diacylglycerol oil, 165-181, AOCS Press, Champaign, IL.  
(2004)

\*1: 試験報告書は個表を除いたレポート部分のみを添付しています。



ジアシルグリセロール安全性関連試験-1

試験	雑誌名／ 報告方法／ (試験期間)	著者／ 試験実施 機関名	表題／ 実験名称／ 【目的】	対象 n(DAG群n/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法／項目	結果	引用 文献 資料 番号
急性毒 性試験	試験報告書 (1996.2)	ボソリサ チセンター	ラットを用いた経口投与によ る単回投与毒性試験 【対照:ナタネTG】	ラット(SD) 1.5ml/100g	一夜絶食したSD系ラット(雄雌、6週齢、各群5匹)に、 DAG(DAG:原料)を経口投与(体重100g当たり1.5mL) し、対照の菜種TAGと比較した。検査項目:死亡および 一般状態・体重変化・剖検	死亡および体重異常は見られず、体外表、頭部、胸部及び腹部の 臓器・組織の肉眼的観察では、いずれの動物にも異常所見はみら れなかった。本試験条件下において、DAGの致死量は雌雄ともに1 5000mg/kgを上回ると推定された。	3
	試験報告書 (1996.2)	ボソリサ チセンター	ラットを用いた経口投与によ る単回投与毒性試験 【対照:キャノラサラダ油】	ラット(SD) 1.5ml/100g	一夜絶食したSD系ラット(雄雌、6週齢、各群5匹)に、 DAG(DAG油:製品)を経口投与(体重100g当たり 1.5mL)し、対照のキャノラサラダ油と比較した。検査項 目:死亡および一般状態・体重変化・剖検	死亡および体重異常は見られず、体外表、頭部、胸部及び腹部の 臓器・組織の肉眼的観察では、いずれの動物にも異常所見はみら れなかった。本試験条件下において、DAGの致死量は雌雄ともに1 5000mg/kgを上回ると推定された。	4
変異原 性試験	試験報告書 (1992.5~1992.8)	ハンチン ン・リサーチ センター	微生物を用いる復帰突然変 異試験 【DAG変異原性試験】	細菌	塩基対置換型変異株 Salmonella typhimurium TA100, TA1535, Escherichia coli WP2uvrA及びフレームシフト 型変異株 Salmonella typhimurium TA98, TA1537の 計5菌株を用い、エタノールを溶媒として、Amesらの方法 に準拠したプレート法にて、ラット肝から調製したS9による 代謝活性化の存在下および非存在下にて、復帰突然変 異誘発能の有無を試験。	代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株に対しても復帰変 異コロニー数を用量相関的に増加させず、溶媒対照と比較して2倍 以上のコロニー数の増加も観察されなかった。以上の結果より、本試 験条件下においてDAGは復帰突然変異誘発能を有しないと判断さ れた。	5
	Food Chem. Toxicol., 43(2), 253-260, 2005	T. Kasamats u et al.	Genotoxicity studies on dietary diacylglycerol (DAG) oil	細菌 培養細胞(CHL/IU) マウス(ICR、オス) 500,1000,2000 mg/kg	1)塩基対置換型変異株及びフレームシフト型変異株計 5菌株を用い、DMSOを溶媒として、Amesらの方法に準 拠したプレインキュベーション法にて、ラット肝から調製したS 9による代謝活性化の存在下および非存在下にて、復帰 突然変異誘発能の有無を試験。2)0.5% CMC-Naを溶 媒として用い、DAGのチャイニーズハムスター肺由来細胞 株(CHL/IU)に対する染色体異常誘発性を、ラット肝から 調製したS9による代謝活性化の存在下および非存在下 にて試験した(試験濃度:1250・2500・5000μg/mL)。 3)DAGを24時間間隔で2回、ICRマウスに強制経口投与 した(投与量:500・1000・2000mg/kg)。最終投与24時 間後に骨髓細胞を採取して標本を作製し、小核をもつ多 染性赤血球の出現頻度について試験した。	1)代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株に対しても復帰変 異コロニー数を用量相関的に増加させず、溶媒対照と比較して2倍 以上のコロニー数の増加も観察されなかった。以上の結果より、本試 験条件下においてDAGは復帰突然変異誘発能を有しないと判断さ れた。 2)染色体の構造異常ならびに数的異常の出現率は、いずれも5%以 下であり、本試験油に染色体異常誘発性はないと判断された。 3)いずれの投与群も陰性対照群と比較して有意な小核の誘発は認 められなかった。	6
反復投 与毒性	試験報告書 (1991.7)	Hazleton Washingto n, Inc.	ラット28日間反復投与毒性 試験 【DAG亜急性毒性試験】	ラット(SD) 餌中DAG0.2~5.0% 28日間混餌投与	総脂質量を10%として、DAGを0.2%、1.0%、5.0%に設定し、 Corn Oilをそれぞれ9.8%、9.0%、5.0%配合した群を設定し た。28日間混餌投与し、死亡数、一般状態、体重、 摂餌量、血液学検査、血液生化学、尿検査、眼科学的 検査、剖検、臓器重量、病理検査から毒性を評価した。	0.2、1.0、または5.0%(重量/重量)のDAGを少なくとも連続28日間 にわたって混餌投与したラットでは、顕著な毒性の徴候は認められな かった。NOAEL:混餌濃度5%(最高濃度)	7

## ジアシルグリセロール安全性関連試験-2

試験	雑誌名／ 報告方法／ (試験期間)	著者／ 試験実施 機関名	表題／ 実験名称／ 【目的】	対象 n(DAG群n/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法／項目	結果	引用 文献 資料 番号
反復投 与毒性	試験報告書 (2001.3-2002.3) C. P. Chengelis et al., Food Chem. Toxicol., in press	WIL Research Lab.	幼若イヌを用いたDAGの1年 間慢性毒性試験 〔成長・発育期長期摂取に よる慢性毒性試験〕	ビーグル犬(2.5ヵ月 齢) 餌中DAG0.9.5% 1年間混餌投与	DAG0%・1.5%・5.5%・9.5%を含む脂肪量9.5%の餌を1年間 ビーグル犬に摂取させた。死亡、一般状態観察、体重、 摂餌量、血液学検査、血液生化学、眼科学的検査、心 電図、剖検、臓器重量、病理検査	DAG摂餌量は雄で326,1227,2541mg/kg/日、雌で348、1487、 2300mg/kg/日であった。死亡はなく、一般状態、体重、体重増加 量、摂餌量にDAGの影響はなかった。また、血液学的検査、尿 検査項目への影響はなく、毒性所見を示唆する血清生化学検査値 の変化も見られなかった。さらに毒性を示唆する眼科的所見、心電 図所見もなく、剖検所見、病理組織所見および臓器重量に被験物 質に起因する変化は見られなかった。DAGを2.5ヵ月齢から投与し てもイヌの正常な成長・発達に影響を及ぼさなかった NOEL:混餌濃度9.5%(最高濃度)	8
催奇形 性試験	試験報告書 (2003.8-2004.3)	WIL Research Lab.	ラットを用いた催奇形性試 験	ラット(SD) 強制経口投与 5mL/kg 妊娠6-17日	DAGをコーン油を溶媒にして、妊娠6日から17日の期間、 強制経口投与し、母動物および胎児に対する影響を評 価した。投与量は、5mL/kgを最高にして、2.5(コーン油 2.5)、1.25(コーン油3.75)、0(コーン油5) mL/kgとした。	一般状態観察においていずれの群においてもDAG投与の影響はみ られなかった。DAGを投与した全ての群で母動物体重、体重増加 量、摂餌量にDAG投与の影響はみられず、胎児の成長や生存性 にも何ら影響は認められなかった。さらに、本試験においてDAG投与に起 因すると思われる胎児の奇形及び変異も認められなかった。 NOAEL:5mL/kg(最高用量)	9
二世 代生 殖毒 性試験	試験報告書 (2003.8-2004.9)	WIL Research Lab.	ラットを用いた経口投与によ る二世代生殖毒性試験	ラット(SD) 強制経口投与 5mL/kg	DAGをコーン油を溶媒にして、(F0)交配70日前から、交 配期間、哺育期間を通して5mL/kgにて、経口投与した。 F1出生児にも同様に投与し、F2出生児の離乳時まで、 投与を継続し、生殖機能に対する影響を評価した。	F0およびF1の生殖パラメーター、生存率、一般状態、平均体重、摂 餌量、剖検、病理検査、器官重量、出生児の発育、生存にDAG 投与による影響は認められなかった。NOAEL:5mL/kg (4.63g/kg/day:最高用量)	10
長期栄 養試験	Food Chem. Toxicol., 39, 317-329(2001)	M.G.Soni et al.	Chronic study of diacylglycerol oil in rats. 〔ラットを用いたDAG長期栄 養試験〕	ラット 餌中:最大5.3% 2年間混餌投与	DAGまたはTAGを食餌中に2.65%、及び5.3%含む食餌を 105週間与え、30,77,105週での栄養特性および安全性 項目を評価。	TAGとの比較において、DAGは途中死亡動物数、体重推移、摂餌 効率、尿検査、血液学的検査、病理学的検査において差はなかつ た(毒性変化なし)。 (本報文はラットを用いた長期栄養試験の内容である。)	11
発がん 性試験	試験報告書 (2000.4~2003.4) C. P. Chengelis et al., Food Chem. Toxicol., in press	WIL Research Lab.	ラットを用いた混餌投与によ る2年間ガン原性試験 〔DAG長期摂取時の毒性お よび発ガン性への影響評価〕	ラット 餌中:最大5.3% 2年間混餌投与	DAGを最大5.5%配合した飼料を104週間混餌投与した。 対照群には1群:脂肪4.5%の基礎飼料、2群TAG5.5%を用 い、1~5群は制限給餌(雌雄各50匹)、6、7群は自由摂 取(雌雄各65匹)とし、2年間混餌投与を行ない、死亡、 一般状態観察、詳細観察、体重、摂餌量、血液学検 査、血液生化学、尿検査、眼科学的検査、剖検、臓器 重量、病理検査を実施。	基礎飼料群(1群)に対し、TAG,DAG群ともに、生存率の低下、体 重、体脂肪の増加等が認められたが、制限給餌群、自由摂取群と もにTAG,DAGの違いによる差は認められず、DAG投与による一般毒 性学的な影響およびガン原性は認められなかった。 NOEL=5.5%混餌濃度	12
	試験報告書 (2000.11~2004.1) C. P. Chengelis et al., Food Chem. Toxicol., in press	WIL Research Lab.	マウスを用いた混餌投与によ る2年間ガン原性試験 〔DAG長期摂取時の毒性お よび発ガン性への影響評価〕	マウス 最大9796mg/kg 2年間混餌投与	DAGを最大6.0%配合した飼料を2年間混餌投与した(自 由摂取)。餌中配合濃度は1.5、3.0、6.0%とし餌中の 脂質含量は脂肪酸組成を合わせたトリアシルグリセロール を用い、6%に統一させた。検査項目:一般状態、体重、 摂餌量、血液検査、剖検、臓器重量、病理検査を 実施。	生存率、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検所見、 臓器重量、病理組織学的検査にDAGに起因する変化なし。DAG を6.0%まで飼料に配合して2年間投与した結果、DAG投与に起因 する毒性所見および腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。 NOEL=6.0%混餌濃度(最高用量)	13

ジアシルグリセロール安全性関連試験-3

試験	雑誌名/ 報告方法/ (試験期間)	著者/ 試験実施 機関名	表題/ 実験名称/ [目的]	対象 n(DAG群n/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法/項目	結果	引用 文献 資料 番号
加熱処理DAGの安全性試験	試験報告書 (2003.4)	薬物安全性試験センター	TG-5のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 [加熱劣化油急性毒性試験: 対照群(TAG)]	ラット(SD) 加熱劣化TAG 5000mg/kg	ポテト8時間連続フライ使用油(COV=33、重合物12%程度)TAGを用い、5000mg/kgの用量にて単回の強制経口投与を行った。投与後、一般状態及び体重を、14日間にわたり観察・測定し、また、生存例すべてについて、剖検による全身諸臓器の肉眼的観察を実施した。	投与・観察期間中の死亡例は雌雄共に見られず、外観及び行動等に異常は認められなかった。体重は、雌雄共に観察期間を通じて正常と思われる増加推移を示した。雌雄共に体表に異常は認められず、頭蓋腔、胸腔、腹腔内の器官及び組織の肉眼的観察において異常は認められなかった。以上、本試験条件下において、加熱劣化TAG(TG-5)のLD50値は5000mg/kg用量以上であった。(本試験はDAGoil試験の対照として行ったものである。)	14
	試験報告書 (2003.4)	薬物安全性試験センター	DG-5のラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験 [加熱劣化油急性毒性試験: (DAG群)]	ラット(SD) 加熱劣化DAG 5000mg/kg	ポテト8時間連続フライ使用油(COV=31、重合物12%程度)DAGを用い、5000mg/kgの用量にて単回の強制経口投与を行った。投与後、一般状態及び体重を、14日間にわたり観察・測定し、また、生存例すべてについて、剖検による全身諸臓器の肉眼的観察を実施した。	投与・観察期間中の死亡例は雌雄共に見られず、外観及び行動等に異常は認められなかった。体重は、雌雄共に観察期間を通じて正常と思われる増加推移を示した。雌雄共に体表に異常は認められず、頭蓋腔、胸腔、腹腔内の器官及び組織の肉眼的観察において異常は認められなかった。以上、本試験条件下において、加熱劣化DAG(DG-5)のLD50値は5000mg/kg用量以上であった。	15
	Food and Chemical Toxicology (Food Chem Toxicol), 43(2), 253-260, 2005	T. Kasamatsu et al.	Genotoxicity studies on dietary diacylglycerol (DAG) oil	細菌培養細胞(CHL/IU)マウス(ICR、オス) 500, 1000, 2000 mg/kg	ポテト8時間×3日連続フライ使用DAG油を用い、1)塩基対置換型変異株及びフレームシフト型変異株計5菌株を用い、DMSOを溶媒として、Amesらの方法に準拠したプレインキュベーション法にて、ラット肝から調製したS9による代謝活性化の存在下および非存在下にて、復帰突然変異誘発能の有無を試験。2)0.5% CMC-Naを溶媒として用い、DAGのチャイニーズハムスター肺由来細胞株(CHL/IU)に対する染色体異常誘発性を、ラット肝から調製したS9による代謝活性化の存在下および非存在下にて試験した(試験濃度: 1250・2500・5000 µg/mL)。3)DAGを24時間間隔で2回、ICRマウスに強制経口投与した(投与量: 500・1000・2000mg/kg)。最終投与24時間後に骨髓細胞を採取して標本を作製し、小核をもつ多染性赤血球の出現頻度について試験した。	1)代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株に対しても復帰変異コロニー数を用量相関的に増加させず、溶媒対照と比較して2倍以上のコロニー数の増加も観察されなかった。以上の結果より、本試験条件下においてDAGは復帰突然変異誘発能を有しないと判断された。 2)染色体の構造異常ならびに数異常の出現率は、いずれも5%以下であり、本試験油に染色体異常誘発性はないと判断された。 3)いずれの投与群も陰性対照群と比較して有意な小核の誘発は認められなかった。 本試験条件下において、加熱した場合に市販のサラダ油と毒性学的な差は認められなかった。	6
	試験報告書 (2003.12~2004.9)	WIL Research Lab.	Heated KA-1の混餌投与による90日間反復投与毒性試験	ラット(SD) 餌中DAG5.5% 90日間混餌投与	ポテト8時間×3日連続フライ使用DAG油を用い、加熱処理したDAGを5.5%, 2.75%, 1%, 0%に設定し、加熱処理をしていないDAGをそれぞれ0%, 2.75%, 4.5%配合して、総脂質量を5.5%とした。また、対照として市販のサラダ油(トリアシルグリセロール)を同様に加熱処理した群を設けた。90日間混餌投与し、死亡数、一般状態観、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学、尿検査、眼科学的検査、剖検、臓器重量、病理検査から毒性を評価した。	死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査(血液学、血液生化学、尿検査)項目、自発運動量、臓器重量にDAG投与による影響は認められなかった。本試験条件下において、加熱した場合に市販のサラダ油と毒性学的な差は認められなかった。NOAEL: 混餌濃度5.5%(最高用量)	16
発がんプロモーション試験	試験報告書 (2004.1~2005.1) 報告書修正 2005.10	DIMS医学研究所	DAGの中期多臓器発がん試験	ラット(F344雄) 餌中DAG5.5%	主要各臓器に対する5種類のイニシエーター(DMBDD)をラット[F344/DuCrj系(SPF)雄]に投与した後、DAGを24週間最大5.5%混餌投与し、諸臓器に対する発がん修飾作用の有無を評価した。	DAG投与に起因すると考えられる腫瘍発生の増加はみられず、DAGは全身諸臓器への発がん修飾作用を有さないことが示された。DAG(1.375%, 2.75%, 5.5%)の発がん修飾作用を検討した結果、TG 5.5%群との比較において、DAGによる発がん促進作用は無いと判断した。	17

## ジアシルグリセロール安全性関連試験-4

試験	雑誌名/ 報告方法/ (試験期間)	著者/ 試験実施 機関名	表題/ 実験名称/ [目的]	対象 n(DAG群n/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法/項目	結果	引用 文献 資料 番号
消化管 内容物 および 血清、 糞便中 の1,2- DAG量 の測定	Lipids, 40(3), 281-286 (2005)	N. Osaki, et al.	Metabolites of Dietary Triacylglycerol and Diacylglycerol During the Digestion Process in Rats	ラット(Wister雄) 餌中DAG10%	10%DAG油配合食餌もしくは、10%TAG油(DAG油と同 脂肪酸組成)配合食餌を9日間自由摂取させた後絶食 させ、再び1時間自由摂取させ、胃内容物および小腸内 容物中の1(3),2-DAG量を測定した。	DAG投与とTAG投与間で胃及び小腸内容物中の1(3),2-DAG量に 差は認められなかった。	18
	社内報告書 (2004.2.27)		ラットを用いた血清中の1,2- DAG量の測定	ラット(Wister雄) 餌中DAG10%	10%DAG油配合食餌もしくは、10%TAG油(DAG油と同 脂肪酸組成)配合食餌を9日間自由摂取させた後絶食 させ、再び1時間自由摂取させ、血清中の1,2-DAG量を 測定した。	DAG投与とTAG投与間で血清中の1(3),2-DAG量に差は認められ なかった。	20
	社内報告書 (2004.12.02)		ラットを用いた消化管(盲腸 及び大腸)内容物中及び糞 便中の1,2-DAG量の測定	ラット(Wister雄) 餌中DAG10%	10%DAG油配合食餌もしくは、10%TAG油(DAG油と同 脂肪酸組成)配合食餌、を30日間自由摂取させ、盲腸 及び大腸内容物中、糞便中の1,2-DAG量を測定した。	DAG投与とTAG投与間で盲腸及び大腸内容物中、糞便中の 1(3),2-DAG量に差は認められなかった。	19
消化管 粘膜細 胞、およ びヒト大 腸由来 細胞を 用いたP KC活 性測定	社内報告書 (2004.12.07)		DAGoilの消化管粘膜組織 のプロテインキナーゼC活性 化への影響-同脂肪酸組成 TAGoilとの比較-	ラット(Wister雄) 餌中DAG5%、23% 培養細胞(Caco-2)	ラット: DAG油(5%、23%)配合食餌もしくはTAG油(5%、 23%、DAG油と同脂肪酸組成)配合食餌を30日間自 由摂取させ、消化管(食道、胃、小腸、盲腸、大腸)を摘 出後、各部位の粘膜を採取し、蛋白抽出、精製後にPK C活性を測定した。 Caco-2細胞: DAG油(50μg/ml)またはTAG油(50μg/ml)を、培養し たヒト大腸由来細胞に添加60分後に細胞を採取し、蛋 白抽出、精製後にPKC活性を測定した。	ラット消化管粘膜: DAG投与とTAG投与間で消化管粘膜のPKC活性に差は認められ なかった。 Caco-2細胞: DAG添加とTAG添加でCaco2細胞のPKC活性に差は認められな かった。	21
その他 動物を 用いた 試験	J. Oleo Sci., 51(9), 583-588 (2002)	M. Sugano, et al.	Dimethylbenz(a)anthracene -induced Mammary Tumorigenesis in Sprague- Dawley Rats Fed Saturated and Polyunsaturated Triacylglycerols and Diacylglycerols	ラット(SDメス) 90日 餌中DAG7%	7週令のSDラット(メス)にDMBAを10mg/ラット終口投与 し、7%DAG油配合食餌(ナタネ、またはパーム)もしくは、 7%TAG油配合食餌(同油)を90日間摂取させ、乳腺腫 瘍発生数と食餌摂取量、体重、脂肪細胞数を測定し た。	ジアシルグリセロールはトリアシルグリセロールと比べて、腫瘍誘発性に 差はなかった。また、前者には卵巣周囲組織の白色脂肪組織重量 の減少と血中TGの減少が確認された。	38

ジアシルグリセロール有効性試験(ヒト有効性:長期摂取/過剰摂取安全性) - 1

試験	雑誌名/ 報告方法/ (試験期間)	著者/ 試験実施 機関名	表題/ 実験名称/ [目的]	対象 n(DAG群/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法/項目	結果	引用 文献 資料 番号
単回 摂取	日本油化学会 誌, 46(3), 309- 314(1997)	渡邊浩幸 他	ヒトの脂質代謝に及ぼすジア シルグリセリンの影響 [DAG多量単回摂取時の影 響評価]	成人男性 17/17(クロスオーバ) 単回投与 44g	体重60kg当り脂質量44gのDAGまたはTAGをエマルジョン形 態で摂取させ、2時間毎に採血を行ない、血清脂質分析 を行った。	脂質エマルジョン摂取後の血清中性脂肪の上昇は、TAG投与と比較 してDAG投与で少なかった。また、血清βリポタンパク質濃度、血清 リン脂質濃度もDAG摂取で6時間目及び4,6時間目で有意に低値 を示した。一方、血清中遊離脂肪酸濃度、ケトン体濃度血糖値、 血清インスリン濃度に有意な差は認められなかった。	22
	J. Am. Coll. Nutr., 19(6),789- 796 (2000)	H.Taguchi, et al.	Double-blind controlled study on the effects of dietary diacylglycerol on postprandial serum and chylomicron triacylglycerol responses in healthy humans	成人男性 高摂取 群:17/17:44g 中摂取 群:10/10:20g 低摂取 群:13/13:10g (クロスオーバ)	10g, 20g, 40gの3段階の摂取量でDAGを摂取した 場合の食後の血清脂質変動を、脂肪酸組成を同じにし たTAGを対照として観察した。	TAG摂取と比べてDAG摂取で血清TGの上昇抑制が認められた。ま た、これは血清カイロミクロン中のTG量の差に起因することが明白と なった。	23
	Clin. Chim. Acta, 311(2), 109-117 (2001)	N. Tada, et al.	Dynamics of postprandial remnant-like lipoprotein particles in serum after loading of diacylglycerols	成人男性 6/6(クロスオーバ) 単回投与:30g/m2 (体表面積当たり)	体表面積当たり30gのDAGまたは脂肪酸組成を同じにし たTAGをエマルジョン形態で摂取した場合のレムナント様リポ タンパクの変動を、食後8時間まで観察した。	単回摂取後の血清レムナント様リポタンパクのレベルは、TAG投与と 比較してDAG投与で上昇しにくい。	24
長期 摂取 (一般)	Ann. Nutr. Metab., 45, 259- 264(2001)	H.Watanab e et al.	Fat-soluble vitamin status is not affected by diacylglycerol consumption. [DAG摂取による脂溶性ビタ ミン吸収性の影響評価]	成人男性 15/27(パラレル) 12週間 1日20g	マヨネーズまたは乳化液形態で、1日20gのDAG/TAGを1 2週間投与。血清中のビタミンA,E,Dの量を0.4.8.12週で測 定。	TAGをコントロールとして血清脂溶性ビタミン濃度の変動について評 価した結果、両脂質間での脂溶性ビタミン濃度の違いは認められ ず、DAGは脂溶性ビタミンの吸収に影響を与えなかった。	25
	Food Chem. Toxicol., 42(9), 1419-1429 (2004)	K. Yasunaga, et al.	健康人に対するDAG大量 摂取による安全性の確認 [DAG長期多量摂取時の安 全性評価]	成人男女 39/81(パラレル) 3ヶ月 1日30g:0.5g/kg体 重	DAGまたはTAGを1日0.5g/kg体重、12週間摂取。身体 計測、血液検査、食事日誌解析、問診を実施。	問診、血液検査、身体計測の結果、DAGの摂取による悪影響は 観察されず、試験担当医師より0.5g/kg体重のDAGの日常的な摂 取に問題はないとの見解を受けた。	26
	J. Nutr., 130(4), 792-797(2000)	T.Nagao et al.	Dietary diacylglycerol suppresses accumulation of body fat compared to triacylglycerol in men in a double-blind controlled trial. [DAG長期摂取による成人 男性への影響評価]	成人男性 19/38(パラレル) 4ヶ月 1日10g	1日の脂質総摂取量を約50gとし、内10gをDAGに置換え て4か月間連続摂取した時の体脂肪、血中脂質動態につ いてTAGと比較を行なった。	TAG群に比べDAG群で体重および腹部脂肪面積の低下が認めら れた。またCT値比による肝脂肪量はTAG群で変化しなかったのに対 し、DAG群で有意に低下した。血清脂質濃度(TG, Chol,遊離脂肪 酸)や血糖、インスリン、総ケトン体は両群で有意差がなかった(論文 中に記載していないが、DAGに起因する有害事象は認められなかつ た)。	27
	健康・栄養食品 研究, 4(3),89- 101 (2001)	武井章ら	ジアシルグリセロール含有マ ヨネーズのヒト脂質代謝および 体脂肪におよぼす影響	成人男性 単回試験:18/18 (クロスオーバ) 長期試験:23/43 (パラレル) 単回投与:10.5g 長期:4ヶ月: 10g/day	DAG含有マヨネーズ15g摂取後の血清脂質の変動を脂 肪酸組成を同じにしたTAG含有マヨネーズを対照として比 較測定を行った。さらに、同マヨネーズを16週間に渡り摂 取し、4週毎に身体測定、採血および腹部CT断層撮影 を行った。	単回摂取ではDAG含有マヨネーズ摂取後3時間目の血清TG増加 率とカイロミクロンTGの増加量はTAG含有マヨネーズより有意に低値 だった。長期摂取ではDAG含有マヨネーズ群の全脂肪面積・内臓脂 肪面積はTAG含有マヨネーズ群より有意に低下した。試験を通して DAG含有マヨネーズを摂取することに起因する異常な所見は認めら れなかった。	28

ジアシルグリセロール有効性試験(ヒト有効性:長期摂取/過剰摂取安全性)-2

試験	雑誌名/ 報告方法/ (試験期間)	著者/ 試験実施 機関名	表題/ 実験名称/ [目的]	対象 n(DAG群n/総n) 摂取期間 DAG/TAG摂取量	試験方法/項目	結果	引用 文献 資料 番号
長期 摂取 (一般)	Am. J. Clin. Nutr., 76(6), 1230-1236 (2002)	K. C. Maki, et al.	Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil	米国肥満男女 65/131 (パラレル)6ヶ月 総カロリー15%	1日の摂取カロリーを2100-3350kJ/d(500-800kcal)減ら した制限食事で、DAGを摂取カロリー15%(20-40g/日) の割合で6ヶ月間摂取したときの身体測定、採血及び CTとDEXAによる体脂肪量についてTAG摂取群と比較し た。	DAG摂取群はTAG摂取群に比べ体重及び体脂肪の低下が有意に 促進されることがわかった。本試験で発生した有害事象のほとんどは 試験油に起因するものではなく、両群間に有意差はなかった。安全 性の指標となる血液検査項目、血圧などもDAG群では異常はな かった。	29
	健康医学(日本 人間ドック学会 誌), 14(3), 258-262(1999)	桂木能久 ら	肥満や高脂血症に及ぼす食 餌性ジアシルグリセロールの 効果 [実使用場面におけるDAG 長期使用評価]	成人男女 109/109 (モナディック) 自由摂取	通常家庭で使用している食用油をDAG油(製品)に置換 え、普段の食生活で9ヶ月間使用。3ヶ月毎に身体計測 と血液検査を実施。	6ヶ月目からウエスト周囲長、3ヶ月目から皮下脂肪厚が初期値に比 べ有意に低下した。血清TG濃度は、初期値において高い値を示す 被験者で低下効果を示した。HDLコレステロールが6ヶ月目から有意に 上昇するとともに、LDLコレステロールは6ヶ月目から有意に低下した。肝 機能や安全指標となる項目には変動は認められなかった。	30
	健康医学, 19(1), 29-32, 2004	大月和宣 ら	ジアシルグリセロールを主成 分とする食用油の2年間の 長期摂取試験	成人男女 60/60 (モナディック) 自由摂取	通常家庭で使用している食用油をDAG油(製品)に置換 え、普段の食生活で24ヶ月間使用。0,3,6,9,12,18,24ヵ月 めに身体計測と血液検査を実施。3ヵ月毎に食事調査を 実施。	DAGを主成分とする食用油について、BMI>25または中性脂肪 >150mg/dLのいずれか1つ以上を満たし、試験を終了した60名(男 51・女9)を対象とする2年間の摂取試験結果をまとめた。BMI・ウエスト ・拡張期血圧・HbA1cが低下、HDLは上昇。また高リスク群(リスク 数3項目以上)で有意なリスク減少が認められた。安全性や調理性 についても一般のTAGと比較し臨床的に問題もなく利用できた。	31
長期 摂取 (特定)	小児科, 43(7), 928-933(2002)	松山健	小児肥満患者に対するジア シルグリセロールの有用性 [DAG摂取による小児肥満 患者への影響評価]	小児肥満患者 11/11(モナディック) 5ヵ月 自由摂取	小児肥満患者に対し、家庭で使用する食用油をDAG油 換える形で、5ヶ月間試験を行なった。試験開始時から 1ヶ月毎に身体計測と血液検査を行なうとともに、臍部CT を試験前、3、5ヶ月後および通常油に戻した後4ヶ月後 に撮影した。	体重、肥満度、BMIの改善はなかったが、臍部総脂肪面積(特に皮 下脂肪面積)が有意に減少し、血清TGの低減効果やHDLchoの増 加が認められた。さらに血清レプチンも低下し、脂質代謝の改善が 示唆された(論文中に記載していないが、DAGに起因する有害事象 は認められなかった)。4ヶ月後の予後調査において腹部脂肪面積 は、試験開始時の値に戻る傾向が認められた。	32
	Biochem. Biophys. Res. Commun., 302(4), 743-750 (2003)	Y. Yanagisaw a, et al.	若年成人女性に対する DAG摂取による体脂肪と血 中脂質への効果検証 [DAG長期摂取による若年 女性への影響評価]	若年成人女性 28/56(パラレル) 8週間 1日20g	1日の脂質総摂取量を約50gとし、内20gをDAGに置換え て8週間連続摂取した時の体脂肪、血中脂質動態を TAG摂取と比較検討すると共に、被験者の脂質代謝関 連遺伝子との関係も検討した。	DAG摂取による内臓脂肪や血中脂質の改善効果は、高脂血症を 発症しやすい遺伝子背景(FABP2やMTPの変異)のヒトに対してより 効果的である(論文中に記載していないが、DAGに起因する有害 事象は認められなかった)。	33
	J. Nutr., 131(12), 3204-3207 (2001)	K. Yamamoto , et al.	高脂血症を併発した糖尿病 患者に対するDAG摂取によ る血中脂質への効果検証 [DAG長期摂取による糖尿 病患者への影響評価]	2型糖尿病患者 8/16(パラレル) 3ヶ月 自由摂取	栄養指導下で1日10gの摂取を目標に、日常使用してい る食用油を継続使用する群(Cont群)と、その食用油を DAGにおきかえて使用する群(DAG群)の3ヶ月間の血液 検査の変化を比較した。	Cont群では、何れの検査項目においても有意な変動は認められな かったのに対し、DAG群では、血清TGとHbA1cに初期値からの有 意な低下を示し、血清TGにおいてはCont群との群間差が認められ た。	34
	日本臨床栄養 学会雑誌, 21(3,4), 35-38 (2000)	寺本民生 ら	ジアシルグリセロールの透析 患者高脂血症に及ぼす影 響	高脂血症透析患者 10/10(モナディック) 3ヶ月:自由摂取	高脂血症の透析患者に対し、家庭で使用する食用油を DAG油に3ヶ月間置き換えて試験を行なった。身体計 測、血液検査及び臍部CTを行ない、試験開始時もしくは 予後調査の値と比較した。	DAG油の平均摂取量は約9.8g/dであった。またエネルギーや脂質摂 取量が試験開始前と比較して増加したにもかかわらず、内臓脂肪 面積・VLDL・Lp(a)の減少とHDLの増加が認められた(論文中に記 載していないが、DAGに起因する有害事象は認められなかった)。2- 3ヶ月後の予後調査においてこれらの効果は、試験開始時の値に戻 る傾向が認められた。	35