



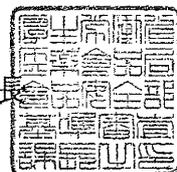
食安基発0824第2号

平成22年 8月24日

内閣府食品安全委員会事務局評価課長 殿

厚生労働省医薬食品局

食品安全部基準審査課長



食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について（報告）

高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る標記については、平成21年8月25日付け府食第812号及び平成21年9月4日付け府食第858号にて依頼され、平成21年9月17日付け食安基発0917第1号、平成21年12月1日付け食安基発1201第1号及び平成22年6月1日付け食安基発0601第1号にて、DAG油の製造に責任を有している企業からの報告について報告したところです。

今般、当該企業からグリシドール脂肪酸エステルを経口摂取した場合の体内動態試験の結果について別添のとおり報告がありましたので報告いたします。

なお、当該企業からの報告のうち、ラットを用いた血中移行性に関する試験の結果については、信頼性及び中立性の確保を図るため、国立医薬品食品衛生研究所の研究者を中心とした専門家による確認を実施し、妥当であるとの報告を受けている旨申し添えます。



平成 22 年 8 月 23 日

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長 殿

花王株式会社
代表取締役 社長執行役員
尾崎 元規

グリシドール脂肪酸エステルおよびグリシドールに関する補足資料の提出について

平素は格別のご高配を賜り厚く御礼申し上げます。

標記の件につきましては、基準審査課長殿より平成 21 年 9 月 8 日付け食安基発 0908 第 1 号を以って補足資料提出のご連絡をいただきました。優先して検討を進めてまいりました 3 項目のうち 2 項目につきましては、平成 21 年 11 月 30 日付けで、「グリシドール脂肪酸エステル及びグリシドールの毒性に関する情報収集」を、また平成 22 年 5 月 31 日付けで、「グリシドール脂肪酸エステルおよびグリシドールの遺伝毒性試験」について弊社よりご報告いたしました。その後の進捗について、以下のとおりご報告いたします。

1. グリシドール脂肪酸エステルを経口摂取した場合の体内動態試験

グリシドール脂肪酸エステルの体内動態試験に必要な血漿中のグリシドール脂肪酸エステルの分析につきましては、LC/MS 法による定量下限 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の高感度分析法を、またグリシドールの分析につきましては、GC/MS 法による定量下限 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の分析法を開発いたしました。

グリシドールの分析法につきましては、専門家の方々より、より高感度の分析法開発が必要とご指摘をいただき、その開発に努めてまいりましたが、グリシドールは低分子であり、揮発性が高く、不安定なことから、未だ十分な感度を持つ分析法の確立には至っておりません。

そこで、今回は高用量のグリシドール脂肪酸エステルをラットに投与した際の血中移行性に関する試験を GLP 基準に適合した試験受託機関にて実施いたしました。このたび、当該試験受託機関からこの試験結果に関する最終報告書を手に入れましたので提出いたします（概要は別紙 1）。なお本試験に関しましては、厚生労働省より依頼されました専門家の方々に信頼性及び中立性をご確認いただいております。

関連して、弊社では試験に用いる動物の種間差に関する自主研究を実施いたしました（別紙 1）。また種間差の解釈に有用と考えられる舌リパーゼに関する文献情報も収集いたしましたので、併せて提出いたします（別紙 2）。

2. 食用油脂中のグリシドール脂肪酸エステルの分析方法に関する情報

食用油脂中のグリシドール脂肪酸エステルの分析法につきましては、日本油化学会発行の専門誌（J. Oleo Science, 59:81-88, 2010）に掲載されましたことを平成 22 年 5 月 31 日に、ご報告いたしました。

その後、より汎用性があり、また固体脂も分析できる方法を開発し、その成果をまとめた論文を専門誌に投稿、受理されました（J. Am. Oil Chem. Soc. In press）。本論文の写しを提出いたします。

グリシドール脂肪酸エステルを経口摂取した場合の血中移行性に関する試験(概要)

GLP 基準に適合した試験受託機関にて、グリシドールリノール酸エステル(GEL)あるいはグリシドール(G)をラットに経口投与し、血中への移行性を検討した。

また、花王㈱による自主検討として、霊長類のカニクイザルを用いた血中移行性に関する試験も実施し、ラットと比較することにより種間差に関する知見を得た。以下にそれぞれを報告する。

1. ラットを用いた血中移行性の検討

ラット(Crl:CD(SD)系, 雄 7 週齢)に GEL あるいは G を経口投与し、投与後 5 分から 24 時間までの血漿中の GEL および G の濃度を測定した。GEL と G 濃度の測定には、それぞれ LC/MS 法と GC/MS 法を用いた。G の投与量は NTP によるラット発がん性試験の最高用量である 75mg/kg 体重、GEL はそれと等モルの 341 mg/kg 体重とした。GEL の投与用量は、エコナクッキングオイルを摂取したヒトの一日推定曝露量の約 4600 倍*に相当する。

表 1. 投与群の構成(ラット)

被験物質	投与量 (mg/kg)	ヒト曝露量* 比較(倍率)	投与液濃度 (mg/mL)	採血時点	動物数
GEL	341	×4571	68.2	投与後 5,15,30 分, 1, 2, 4, 8, 24 時間	3 匹/群 計 24 匹
G	75	(×4571)	15	投与後 5,15,30 分, 1, 2, 4, 8, 24 時間	3 匹/群 計 24 匹

GEL あるいは G を投与したラットの血漿中の GEL は、いずれの測定時点においても定量下限値(0.005 μ g/mL)未満であった。

一方、GEL あるいは G を投与したラットの血漿中の G 濃度は、いずれも投与後 30 分までに最高濃度に到達し、24 時間には定量下限値(0.2 μ g/mL)未満まで低下した。GEL あるいは G 投与群の最高 G 濃度は、それぞれ 26.0 μ g/mL と 33.6 μ g/mL であった。

表 2. ラットを用いた単回経口投与での血漿中グリシドール濃度測定結果概要

被験物質		GEL	G
投与量 (mg/kg)		341	75
血漿中 G 濃度 (μ g/mL)	投与後 5 分	6.74	19.8
	投与後 15 分	23.7	33.6
	投与後 30 分	26.0	24.7
	投与後 1 時間	14.8	9.00
	投与後 2 時間	6.60	2.42
	投与後 4 時間	1.14	0.786
	投与後 8 時間	0.809	0.465
	投与後 24 時間	BLOQ	BLOQ
最高血漿中 G 濃度(μ g/mL)		26.0	33.6

BLOQ: 定量下限(0.2 μ g/mL)未満

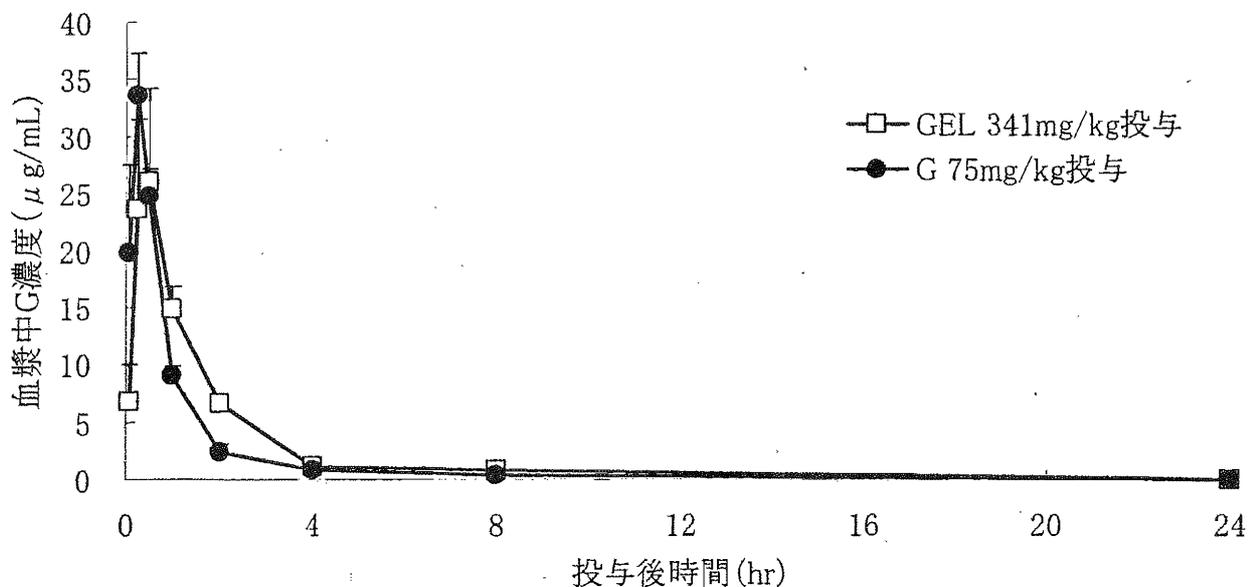


図 1. ラットを用いた単回経口投与での血漿中グリシドール濃度推移

以上のことから、本試験条件下において、雄性ラットでは経口投与された GEL は G に変換され、血漿中では G として存在されることが明らかとなった。

本試験は、厚生労働省により依頼された信頼性確認チームによる信頼性と中立性の確認を受けたものである。

*グリシドール脂肪酸エステルが $373 \mu\text{g/g}$ 濃度で混入している食用油(エコナクッキングオイル)を体重 50kg のヒトが 1 日 10g 摂取した場合の曝露量($373 \mu\text{g/g} \times 10\text{g} \div 50\text{kg} = 74.6 \mu\text{g/kg}$)をもとに算出。

2. ラットとカニクイザルを用いた血中移行性および種間差の検討(花王㈱による自主研究)

上記試験よりも低い用量での血中移行性、および試験に用いる動物の種間差の検討を目的として、ラット(Crl:CD(SD)系, 雄5週齢)とカニクイザル(Macaca fascicularis, 雄2~5歳, 投与時体重 3.5~5.5kg)を用いて、GEL あるいは G 投与後 15、30 分の血漿中 G 濃度を ATD-GC-MS 法*を用いて検討した。

表3 投与群の構成(ラットおよびサル)

種	被験物質	投与量 (mg/kg)	ヒト曝露量** 比較(倍率)	投与液濃度 (mg/mL)	採血時点	動物数***
ラット	GEL	0.0746	×1	0.0149	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		0.373	×5	0.0746	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		1.87	×25	0.373	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		9.33	×125	1.87	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
	G	0.0164	(×1)	0.00328	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		0.0820	(×5)	0.0164	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		0.410	(×25)	0.0820	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
		2.05	(×125)	0.410	投与後 15,30 分	6 匹 (1時点3匹)
サル	GEL	7.46	×100	1.49	投与後 15,30 分	2 匹
		22.4	×300	4.48	投与後 15,30 分	2 匹
	G	1.64	(×100)	0.328	投与後 15,30 分	2 匹
		4.92	(×300)	0.984	投与後 15,30 分	2 匹

ラットに 9.325mg/kg 体重(ヒト推定曝露量**の 125 倍)の GEL あるいは等モルの G を投与したところ、GEL 投与群の血漿中G濃度は投与後 15分で 0.34 μ g/mL、30分で 0.43 μ g/mL、G 投与群では投与後 15分で 0.49 μ g/mL、30分で 0.53 μ g/mL であった。

一方、カニクイザルに 7.46mg/kg 体重および 22.4mg/kg 体重 (ヒト推定曝露量**の 100 倍および 300 倍)の GEL あるいは等モルの G を投与したところ、G 投与群では、低用量投与において血漿中の G は定量下限(0.05 μ g/mL)以下であったが、高用量投与では投与後 15 分で 0.14 μ g/mL、30 分で 0.16 μ g/mL の G が検出された。これに対して GEL 投与群ではいずれの投与量とも血漿中の G は定量下限(0.05 μ g/mL)以下であった。

表 4 GEL または G 投与後のラットおよびサル血漿中 G 濃度

種	投与物質	投与量 (mg/kg)	ヒト曝露量 比較(倍率)**	血漿中 G 濃度 (ng/mL)**	
				15 分	30 分
ラット	GEL	0.0746	×1	BLOQ	BLOQ
		0.373	×5	BLOQ	BLOQ
		1.87	×25	50	90
		9.33	×125	340	430
	G	0.0164	(×1)	未測定	未測定
		0.0820	(×5)	未測定	未測定
		0.410	(×25)	110	50
		2.05	(×125)	490	530
サル	GEL	7.46	×100	BLOQ	BLOQ
		22.4	×300	BLOQ	BLOQ
	G	1.64	(×100)	BLOQ	BLOQ
		4.92	(×300)	140	160

BLOQ: 定量下限 (50 ng/mL) 未満

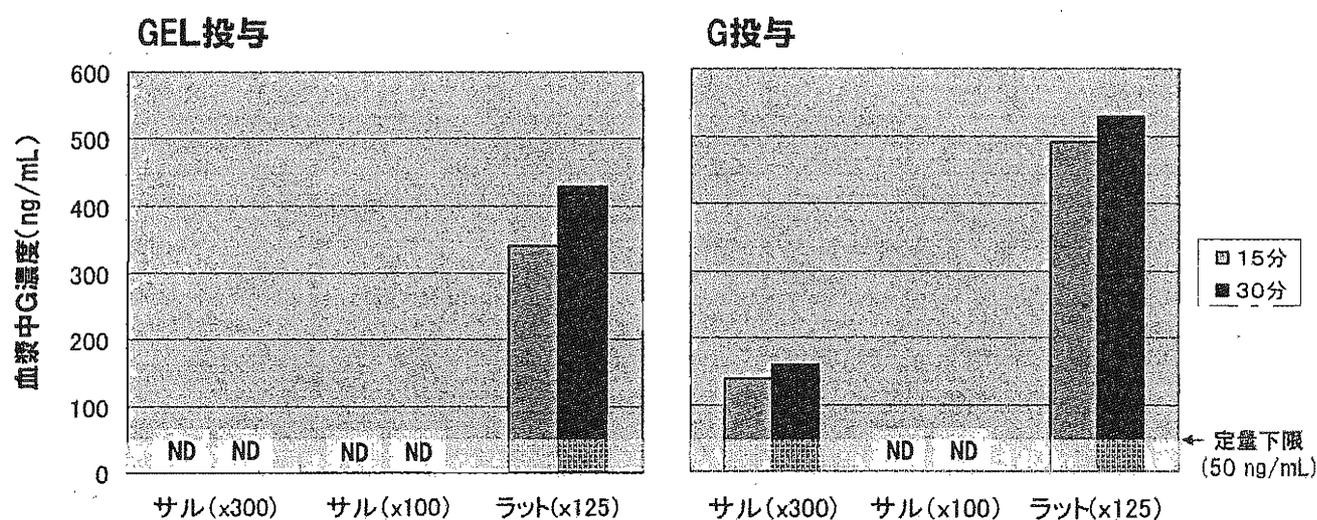


図 2. GEL または G 投与後のサルおよびラット血漿中 G 濃度

これらの結果からカニクイザルにおける血中移行性は、ラットのそれと異なる可能性が示唆された。

本試験は、花王(株)による自主研究であり、厚生労働省より依頼された信頼性確認チームによる信頼性と中立性の確認を受けたものではありません。

* 花王(株)で開発検討していた高感度分析方法の一つ。

** グリンドール脂肪酸エステルが 373 μg/g 濃度で混入している食用油(エコナ)を体重 50kg のヒトが一日 10g 摂取した場合の曝露量(373 μg/g x 10 g ÷ 50 kg = 74.6 μg/kg)をもとに算出。

*** ラットについては各時点 3 匹の血漿をプールしたサンプルを用いて G 濃度を測定した。一方、サルについては各群 1 例から投与後 15 分および 30 分のサンプルについて G 濃度を測定した。

油脂などの脂肪酸エステルは消化・分解にはリパーゼが重要な役割を果たすことから、グリシドール脂肪酸エステルの体内動態の種間差解釈に役立つと考えられる舌リパーゼに関する情報を収集しました。

ラット、マウス等のげっ歯類は、舌漿液腺から口腔内に舌リパーゼを分泌することが知られています。ウサギ、ブタ、ヒヒ、ヒトなどの動物種ではその酵素活性はほとんど認められず、げっ歯類では高いことが報告されています。さらに、舌リパーゼは、ラットの胃内環境に相当する pH2.5～6.0 の範囲では活性が維持されることが報告されています。

別紙 1 に示したラットとカニクイザルを用いた血中移行性に関する試験において、GEL を投与したラットに急速な血漿中 G 濃度の上昇が認められ、サルには認められなかったことについては、脂質消化に関与する舌リパーゼの寄与が影響した可能性があるかと推察しました。すなわち、ラットでは舌リパーゼが胃で活性を持ち、そのため、GEL は胃内への投与後速やかに脂肪酸が遊離して G に変換し、直ちに吸収されて、その結果、G を直接胃内に投与した場合と同じような投与初期の血漿中 G 濃度の急速な上昇が認められたものと考えられました。一方、サルにおいては、胃内での舌リパーゼの活性が低く、GEL から G に変換されにくかった結果として、血漿中に G は認められなかったものと考察しました。

- 1) Hamosh M. and Scow RO. Lingual lipase and its role in the digestion of dietary lipid. *J Clin Invest* 52: 88-95, 1973
- 2) DeNigris SJ, Hamosh M, Kasbekar DK, Lee TC, and Hamosh P. Lingual and gastric lipases: species differences in the origin of prepancreatic digestive lipases and in the localization of gastric lipase. *Biochim Biophys Acta* 959: 38-45, 1988
- 3) Hamosh M. Fat digestion in the stomach: Stability of lingual lipase in the Gastric environment. *Pediatric research*. vol 18. No3, 1984
- 4) Holmes RS, Cox LA, and VandeBerg JL. Comparative studies of mammalian acid lipases: Evidence for a new gene family in mouse and rat (*Lipo*). *Comp. Biochem. Physiol., D*, vol 5(3) 217-226, 2010

以上