



# 資料 2 - 1

食安基発 0818 第 2 号

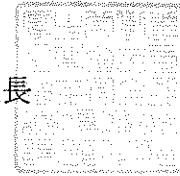
平成 23 年 8 月 18 日

内閣府

食品安全委員会事務局評価課長 殿

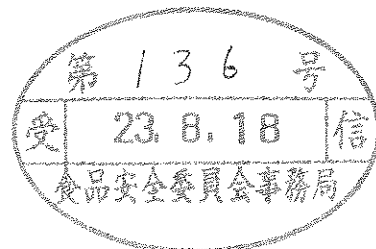
厚生労働省医薬食品局

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について

平成 22 年 8 月 4 日付け府食第 604 号により提出依頼のありました 3-エチルピリジンの食品健康影響評価に係る補足資料につきまして、別添のとおり提出いたします。



### 3-エチルピリジン補足資料提出依頼に関する調査報告書

厚生労働省

平成23年8月

## 目 次

### 3-エチルピリジン補足資料提出依頼に関する調査結果

I	指摘事項 1 について	1
II	指摘事項 2 について	1
III	指摘事項 3 について	2
IV	指摘事項 4 について	2

[参考資料] 食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について  
(府食第 604 号, 平成 22 年 8 月 4 日)

[補足文献 1] 【最終報告書】平成 22 年度 国際的に汎用されている添加物の指定に向けた調査研究 (3-エチルピリジン追加病理組織学的検査)、3-エチルピリジンの 90 日間反復投与試験で認められた肝臓病理組織変化に関する追加病理組織学的検査(2011) (株)ボゾリサーチセンター (厚生労働省委託試験)

[補足文献 2] 変異細胞巢の背景データ (2001-2005) (株)ボゾリサーチセンター(2011)

[補足文献 3] Ho, C.-H., Clark, B. R., Guerin, M. R., Barkenbus, B. D., Rao T. K. and Epler, J. L. (1981) Analytical and biological analyses of test materials from the synthetic fuel technologies. IV. Studies of chemical structure-mutagenic activity relationships of aromatic nitrogen compounds relevant to synfuels. *Mutation Research*, 85, 335-345.

### 3-エチルピリジン補足資料提出依頼に関する調査結果

平成 22 年 8 月 4 日内閣府食品安全委員会より提出依頼があった 3-エチルピリジンに関する照会事項（参考資料）について調査した結果を以下に報告する。

#### I 照会事項 1 について

##### 【照会事項 1】

90 日間反復投与毒性試験で認められたとされる小葉中心性肝細胞肥大に関して、0.22 mg/kg 体重/日 投与群雄 4 例、雌 2 例についての写真を提出するとともに、類縁物質による誘導が報告されていることから、対象群及び全ての投与群の肝臓の CYP2E1 免疫染色を行い、あらためて考察すること。

##### 【回答】

先に実施した「3-エチルピリジンの 90 日間反復強制経口投与毒性試験（試験番号；C-B210）」の病理組織学検査において、小葉中心性肝細胞肥大がみられた雄の 0.22mg/kg 以上及び 2.2mg/kg 以上の投与群の肝臓に CYP2E1 の免疫組織化学染色を行い、その陽性領域を小葉内の広がりをもとにスコア化して対照群と被験物質投与群を比較した結果、雌雄の 2.2mg/kg 以上の投与群で、対照群に比べて有意な高値が確認された。これは、被験物質投与によって CYP2E1 が誘導されたものと推測される。CYP2E1 陽性領域は小葉中心帯を主体としたものであり、「3-エチルピリジンの 90 日間反復強制経口投与毒性試験」でみられた小葉中心性肝細胞肥大との関連が示唆される（補足文献 1）。

#### II 照会事項 2 について

##### 【照会事項 2】

90 日間反復投与毒性試験で認められたとされる変異細胞巣に関して、担当試験施設において HE 染色により認められた変異細胞巣に係る背景データを提出するとともに、当該試験で認められたとされる変異細胞巣の GST-P 免疫染色を行い、あらためて考察すること。

##### 【回答】

先に実施した「3-エチルピリジンの 90 日間反復強制経口投与毒性試験（試験番号；C-B210）」に関連し、肝臓の変異細胞巣に関する試験機関の背景データ（補足文献 2）を取り寄せた。当該機関では 2001 年から 2005 年の 5 年間にラットを用いた 13 週の試験は、経口（混餌含む）、静注および皮下投与により計 61 件行われており、対照群のラット雌雄各 650 例中、変異細胞巣は雌にのみ 4 例確認されている。

上記の試験（試験番号；C-B210）において肝臓に変異細胞巣がみられた 2.2mg/kg 以上の各投与群の雌雄各 2 例（について GST-P の免疫組織化学染色を行い、その陽性肝細胞巣について形態計測を行った。対照群と被験物質投与群を比較した結果、GST-P

陽性細胞巣を有する動物の発生頻度、GST-P 陽性細胞巣の単位面積あたりの発生個数及び面積は、いずれも対照群と被験物質投与群間に有意な差は認められなかった。また変異細胞巣を有する例のうち、雄の 22 mg/kg 体重投与群の 1 例及び雌の 2.2 mg/kg 体重投与群の 2 例に GST-P 陽性細胞巣が認められた。雄の 1 例には GST-P 陽性細胞が最も多発(3 個)していたが、そのサイズは小さく、また雄の対照群にも GST-P 陽性細胞巣が 2 個認められた例があり、対照群との比較において GST-P 陽性細胞層の明らかな増数あるいは増大は認められなかった。また雌の 2 例の変異細胞巣は 1 例が好酸性型、もう 1 例が好塩基性型であったが、いずれも GST-P 陽性細胞巣は単発性に観察されたのみであった。

試験機関は、本試験条件下では、GST-P 陽性細胞巣を有する動物の発生頻度、GST-P 陽性細胞巣の単位面積あたりの発生個数及び面積は、いずれも対照群と被験物質投与群間に有意な差は認められず、用量との関連性も認められなかったと結論付けている(補足文献 1)。

### Ⅲ 照会事項 3 について

#### 【照会事項 3】

ガイドラインに規定された最高用量まで実施された 3-エチルピリジンについての微生物を用いた復帰突然変異試験成績があれば提出すること。

#### 【回答】

概要書に記載の各データベース等を用いて情報の検索を行った。現在のガイドラインに従った試験の報告を見出すことは出来なかったが、それに近い手順で行われたと推測されるものとして、以下の文献(補足文献 3)を追加文献として提出する。

Ho, C.-H., Clark, B. R., Guerin, M. R., Barkenbus, B. D., Rao T. K. and Epler, J. L. Analytical and biological analyses of test materials from the synthetic fuel technologies. IV. Studies of chemical structure-mutagenic activity relationships of aromatic nitrogen compounds relevant to synfuels. *Mutation Research*, **85**, 335-345. (1981)

文献によれば、当該試験はサルモネラ菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を用いて行っている。試験方法は Ames らの開発した方法に則り、代謝活性化系として S9mix を用い、まずは一般毒性を最高用量 5000 µg/plate まで検討した後に、毒性を示さず有効な用量範囲で少なくとも 2 回独立した試験を繰り返し復帰突然変異の誘発性を確認している。著者らは、この中で TA98 が最も感受性の高い strain であるとして TA98 の結果についてのみを報告しており、3-エチルピリジンに関しては陰性の結論であった。

なお、国際汎用香料の指定に関する食品健康影響評価については、2010 年に策定された評価指針の中でも引き続き「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法に

ついて（最終報告・再訂正版）（平成15年11月4日）」に従うとされている。国際汎用香料は JECFA で評価がなされ欧米で汎用されているものを対象に選択されていることから、その評価方法は JECFA で行われている方法（評価時点で入手可能なデータを用いて構造の類似する別の化合物のデータも活用しながら、香料としての現状の使用量における懸念の有無を確認する）をもとに定められている。JECFA では本品の評価時の遺伝毒性データとして Florin らの文献(提出文献 6)を採用していたことから、本品の食品健康影響評価に必要な資料を検討する際に、遺伝毒性については微生物を用いた復帰突然変異試験以外の試験を行うことが優先とされた。ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験とマウスを用いる小核試験を委託試験として行い、染色体異常試験で要請の結果が得られたものの、充分高用量まで試験された小核試験の結果が陰性であったため、復帰突然変異試験のデータの質にかかわらず、結論として、本物質には特段問題となる遺伝毒性は無いものと判断された。

#### IV 照会事項 4 について

##### 【照会事項 4】

上記 1～3 に関連し、評価に有益な資料があれば、併せて整理すること。

##### 【回答】

特になし。