

規格基準等調査報告書(JECFA モノグラフ)

目次

アルギン酸塩(アンモニウム、カリウム、カルシウム塩)

Alginic acid and its ammonium, calcium, potassium and sodium salts (WHO Food Additives Series 5)4

Alginic acid and its ammonium, calcium, potassium and sodium salts (WHO Food Additives Series 30)..... 14

カルミン

Cochineal, carmine and carminic acid (WHO Food Additives Series 12).....40

Carmines (formerly Cochineal, Carmine and Carminic acid) (WHO Food Additives Series 16).....46

Carmines (WHO Food Additives Series 17)56

COCHINEAL EXTRACT, CARMINE, AND CARMINIC ACID66

サッカリンカルシウム

Saccharin (WHO Food Additives Series 17)84

Saccharin, calcium, potassium & sodium salts (WHO Food Additives Series 19)···128

Saccharin and its salts (WHO Food Additives Series 32)164

ステアロイル乳酸ナトリウム

Stearoyl lactylate, calcium salt-stearoyl lactylate-sodium salt (FAO Nutrition Meetings Report Series 46a)218

Stearoyl lactic acid, calcium and sodium salts (WHO Food Additives Series 1)···226

Stearoyl lactic acid, calcium and sodium salts (WHO Food Additives Series 5)···238

ポリビニルピロリドン

Polyvinylpyrrolidone (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc).....248

Polyvinyl pyrrolidone (WHO Food Additives Series 5).....256

Polyvinylpyrrolidone (PVP) (WHO Food Additives Series 15).....264

Polyvinylpyrrolidone (PVPP), insoluble (WHO Food Additives Series 18).....286

ソルビン酸カルシウム

Sorbic acid (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc).....296

Sorbate, potassium (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc).....302

Sorbic acid and its calcium, potassium and sodium salts (WHO Food Additives Series 5).....310

β-apo-8'-カロテナール

Carotenal, beta-apo-8' (WHO Food Additives Series 6)	324
クエン酸三エチル	
Triethyl citrate (WHO Food Additives Series 14)	332
Triethyl citrate (WHO Food Additives Series 19)	338
ケイ酸塩(アルミニウムナトリウム、カルシウム、カルシウムアルミニウム、マグネシウム)	
Silicon dioxide and certain silicates (WHO Food Additives Series 5)	342
ヒドロキシプロピルセルロース	
Hydroxypropyl cellulose (FAO Nutrition Meetings Report Series 46a)	358
酢酸カルシウム	
Calcium acetate, chloride, gluconate and sulfate (WHO Food Additives Series 5) ..	364
カドミウム	
CADMIUM	368

Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Geneva, 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
 Geneva
 1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

ALGINIC ACID AND ITS AMMONIUM, CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM SALTS

Explanation

These substances have been evaluated for acceptable daily intake by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1, Ref. No. 7) in 1963.

Since the previous evaluation, additional data have become available and are summarized and discussed in the following monograph. The previously published monograph has been expanded and is reproduced in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Calcium balance experiments on six healthy adults taking 8 g of sodium alginate daily for seven days failed to show any interference with the absorption of calcium from a normal mixed diet (Millis & Reed, 1947).

In 14 out of 15 humans receiving 1.5 g sodium alginate the gastrointestinal of strontium was reduced by a factor of two. Calcium absorption was hardly affected (Harrison et al., 1966).

From the clinical experiments reported (Feldman et al., 1952; Gill & Duncan, 1952) it appears that alginic acid does not bind sodium

固結防止剤、抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、および増粘剤を含む食品添加物の毒性評価

WHO 食品添加物シリーズ No. 5

本出版物に含まれている評価は、1973 年 6 月 25 日～7 月 4 日にジュネーブにて開催された FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議¹によって起草されたものである。

世界保健機構

ジュネーブ

1974 年

アルギン酸塩、およびそのアンモニウム塩、カルシウム塩、カリウム塩、ならびにナトリウム塩

解説

1963 年に、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議は、これらの物質の許容 1 日摂取量についての評価を行った（付属文書 1 の参考文献 No. 7 を参照）。

前回の評価以降、追加データが得られ、要約され、以下のモノグラフの中で論じられた。過去に出版されたこのモノグラフを拡充して改訂し、以下に全文を示した。

生物学的データ

生化学的分野

6 名の健常な成人に対して、カルシウムの平衡実験を行い、8 g のアルギン酸ナトリウムを 7 日間にわたり毎日投与したところ、通常の混合食からのカルシウムの吸収に対し、干渉作用を示されなかった（Millis & Reed, 1947）。

15 名中の 14 名のヒトに対して、1.5 g のアルギン酸ナトリウムを投与したところ、胃腸のストロンチウム量が 2 桁の減少を示した。一方、カルシウムの吸収はほとんど影響を受けなかった（Harrison ら、1966）。

報告された臨床試験（Feldman ら、1952; Gill & Duncan, 1952）から、ヒトの体内ではアルギン酸は大量でもナトリウムと結合しないと思われる。

¹ FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議の第 17 報告書、Wld Hlth Org. Thechn. Rep. Ser. (WHO 技術報告シリーズ)、1974 年、No. 539 ; FAO 栄養会合報告シリーズ、1974 年、No. 53。

in man to any great extent.

C¹⁴-labelled alginates were fed as 10% of the diet to 10-week-old rats that had been starved for 24 hours; and the subsequent metabolism over a 17-hour period measured. 85-91% of the radioactivity was recovered in the faeces. Recoveries of administered ¹⁴C in urine (0.11-0.16%), respiratory CO₂ (0.21-0.42%), and plasma (0.002-0.007%), show that alginate absorption under these conditions of feeding is extremely small (Humphreys & Triffitt, 1968).

The absorption and retention of ¹⁷Ca and ⁸⁵Sr was compared for four human volunteers on a normal diet with and without supplement of sodium alginate. Alginate was given for seven days in amounts approximately chemically equivalent to the dietary calcium. Alginate decreased the retention of ⁸⁵Sr and ¹⁷Ca by about 70% and 77% respectively (Carr et al., 1968). In a limited trial with three human volunteers, the absorption of ²⁰³Pb was unchanged by alginate supplement (Harrison et al., 1969).

The absorption of orally administered riboflavin-5'-phosphate by healthy male subjects was increased significantly when the vitamin was administered in 50 ml of 2% alginate solution rather than water alone (Levy & Rao, 1972).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on carcinogenicity

Mouse

Infant albino mice (ICR/HA) strain were injected subcutaneously in the nape of the neck with suspensions of alginic acid (10 and 100 mg/ml) or solvent alone in volumes of 0.1, 0.1, 0.2 and 0.2 ml on days 1, 7, 14 and 21 respectively after birth, and maintained on normal diets for 49 to 53 weeks. The tumour frequency fell within control ranges (Epstein et al., 1970).

Acute toxicity

Compound	Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	References
Alginic acid	Rat	i.p.	1 600	Thienes et al., 1957
Sodium alginate	Mouse	i.v.	less than 200	Solandt, 1941
Sodium alginate	Rabbit	i.v.	approx. 100	Solandt, 1941
Sodium atginate	Cat	i.p.	approx. 250	Chenoweth, 1948
Sodium alginate	Rat	oral	> 5 000	Woodard Research Corp., 1972
Sodium alginate	Rat	i.v.	1 000	Sokov, 1970
Calcium alginate	Rat	i.p.	1 407	Sokov, 1970
Calcium alginate	Rat	i.v.	64	Sokov, 1970

Subcutaneous and intramuscular injections of 0.1 ml of a 1%

10 週齢のラットに、24 時間絶食させた後、飼料中 10%の ^{14}C -標識アルギン酸塩を投与し、その後の物質代謝を 17 時間にわたって計測した。その結果、糞中に 85～91%の放射活性が回収された。投与した ^{14}C の回収率は、尿中 (0.11～0.16%)、呼気の CO_2 中 (0.21～0.42%)、および、血漿中 (0.002～0.007%) であり、これらの食餌条件下では、アルギン酸塩の吸収が極めて微量であることが示された (Humphreys & Triffitt, 1968)。

4 名のボランティアに対して、アルギン酸ナトリウムを添加した普通食、および添加しない普通食を与えて、 ^{17}Ca および ^{85}Sr の吸収および残留を比較した。食事中的カルシウムにほぼ化学的同等な量のアルギニン酸塩を 7 日間にわたり与えた。アルギン酸塩により、 ^{85}Sr および ^{17}Ca の残留が、それぞれ 70%と 77%減少した。(Carr ら、1968)。3 名のボランティアに対する限定的試験では、アルギニン酸添加により、 ^{203}Pb の吸収は変化しなかった (Harrison ら、1969)。

健常な男性被験者に対して、リボフラビン-5'-リン酸を経口投与して、その吸収を調べると、このビタミンを水単独溶液ではなく 2%のアルギン酸塩を含む水溶液として 50 ml を投与すると、その吸収が有意に増加した (Levy & Rao, 1972)。

毒性試験

発癌性についての特別試験

マウス

乳児期のアルビノ・マウス (ICR/HA) 系に対して、生後の 1 日目、7 日目、14 日目、21 日目に、アルギン酸の懸濁液 (10 mg/ml および 100 mg/ml)、または溶媒のみをそれぞれ 0.1 ml、0.1 ml、0.2 ml、0.2 ml 頸部項部に皮下注射し、その後、普通の餌で 49～53 週間にわたり飼育した。腫瘍の発生頻度は対照群の範囲内であった (Epstein ら、1970)。

急性毒性

化合物	動物	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg bw)	文献
Alginic acid	Rat	i.p.	1 600	Thienes et al., 1957
Sodium alginate	Mouse	i.v.	less than 200	Solandt, 1941
Sodium alginate	Rabbit	i.v.	approx. 100	Solandt, 1941
Sodium atginate	Cat	i.p.	approx. 250	Chenoweth, 1948
Sodium alginate	Rat	oral	> 5 000	Woodard Research Corp., 1972
Sodium alginate	Rat	i.v.	1 000	Sokov, 1970
Calcium alginate	Rat	i.p.	1 407	Sokov, 1970
Calcium alginate	Rat	i.v.	64	Sokov, 1970

Subcutaneous and intramuscular injections of 0.1 ml of a 1% dispersion of alginic acid were not followed by any injurious reactions in mice or rats (Chenoweth, 1948).

dispersion of alginic acid were not followed by any injurious reactions in mice or rats (Chenoweth, 1948).

Short-term studies

Rat

Groups of six rats were fed sodium alginate for 10 weeks at levels of 5%, 10%, 20% and 30% in the diet. The mortality rate was high in the 20% and 30% groups during the first two weeks, apparently due to inanition. The weight gains of the 5% and 10% groups were slightly decreased (Nilson & Wagner, 1951).

Potassium alginate at a level of 5% in the feed acted as a laxative; calcium alginate 5% was without this effect (Thienes et al., 1957).

Groups of five rats were fed 5%, 10% and 20% of alginic acid in the diet for two months. Rats on the 20% diet showed a decreased rate of weight gain. Those on the lower levels were unaffected (Thienes et al., 1957).

Guinea-pig

Two groups of five adult male albino guinea-pigs were given 1% sodium alginate in their drinking water for 10 weeks. A further four groups of six animals were used for a seven-month study. No ill effects were observed and no colonic ulceration occurred (Watt & Marcus, 1972).

Dog

Groups each of six beagle dogs (equally divided by sex), were maintained on diets containing 0, 5 or 15% sodium alginate for one year. Weight gain, behaviour, appearance, periodic blood values, terminal urinalysis, blood urea nitrogen, blood glucose and serum alkaline phosphase were within normal limits. Gross autopsy and histopathologic examination of tissues revealed no compound-related effects (Woodard Research Corp., 1959).

Long-form studies

Rat

Two groups of 10 male albino rats were fed two different commercial preparations of sodium alginate at the 5% level over their life span (maximum 128 weeks). Data on longevity, maximum weight and food and water consumption indicate no adverse effect. Gross necropsy studies revealed no abnormalities. Histopathological examination was not carried out (Nilson & Wagner, 1951).

Groups each of 40 rats (equally divided by sex) were maintained on diets containing 0 or 5% sodium alginate for a period of two years. During this period approximately half the rats were bred once to produce an F_1 generation, which was subsequently bred to produce an F_2 generation. There were no significant differences in growth rate of test groups and controls, for both the parent group over the two-year period, as well as the progeny (F_1 and F_2). Reproduction was normal. Haematologic values of the Parent group, as well as that of the F_2 offsprings were normal. Gross and microscopic study of various tissues and organs of the parent groups at two years, and the F_1 and F_2 groups at the conclusion of the rapid growth period was normal (Morgan et al., undated).

マウスやラットに対して、1%アルギン酸懸濁溶液を 0.1 ml 皮下注射および筋肉内注射したところ、有害反応は見られなかった (Chenoweth, 1948)。

短期試験

ラット

ラット各群 6 匹に対して、アルギン酸ナトリウムを、それぞれ 5%、10%、20%、30%含む餌を 10 週間にわたり与えた。最初の 2 週間の死亡率が 20%と 30%の群で高かったが、これは明らかに飢餓衰弱によるものであった。5%群および 10%群では体重増加がわずかに低下した (Nilson & Wagner, 1951)。

飼料中に 5%レベルで添加されたアルギン酸カリウムは緩下薬として作用した。一方、5%のアルギン酸カルシウムには同様の作用はみられなかった (Thienes ら、1957)。

各群 5 匹のラットに対して、アルギン酸をそれぞれ 5%、10%、20%含む餌を、2 ヶ月間にわたり与えた。その結果、20%の餌を与えた群で、体重増加率の低下が認められた。これ以下の群には、影響が認められなかった (Thienes ら、1957)。

モルモット

成獣の雄アルビノ・モルモット 5 匹からなる 2 群に対して、アルギン酸ナトリウム 1%を含む水を 10 週間にわたって飲料水として投与した。さらに、6 匹からなる 4 群を同じく 7 ヶ月間の試験に用いた。その結果、病的影響は観察されず、また、結腸潰瘍も認められなかった (Watt & Marcus, 1972)。

イヌ

各群 6 匹 (雄雌各 3 匹) からなるビーグル犬に対して、アルギン酸ナトリウムをそれぞれ 0%、5%、15%含む餌を、1 年間にわたり与え飼育した。その結果、体重の増加、行動、外見、定期的な血液検査値、試験最後の尿検査、血中尿素窒素、血糖、血清中アルカリ・ホスファターゼは正常範囲内であった。また、剖検や病理組織学的検査からも、化合物に関連する影響はまったく示さなかった (Woodard Research Corp., 1959)。

長期試験

ラット

雄 10 匹のアルビノ・ラットからなる 2 群に対して、2 種類の異なった市販製剤の 5%のアルギン酸ナトリウムを含む餌を、一生を通して (最長 128 週間) 投与した。寿命、最大体重、摂餌量および摂水量にのデータでは、有害作用を示さなかった。剖検所見に異常はみられなかった。病理組織学検査は実施されなかった (Nilson & Wagner, 1951)。

各群 40 匹 (雌雄各 20 匹) のラットに、アルギン酸ナトリウムを 0%または 5%含む餌を 2 年間与え飼育した。この期間内に、およそ半数のラットが 1 回出産して F_1 世代が生まれ、次いで、その F_1 世代が F_2 世代を出産した。試験群と対照群との間には、親群 (2 年間) でも子孫群 (F_1 および F_2) でも、ともに成長率に顕著な違いは認められなかった。生殖能力も正常であった。親群の血液検査値は、 F_2 群と同様に正常であった。2 年を経過した時点で、親群での様々な組織および器官の肉眼的検査および顕微鏡的検査では、急成長期の終点に F_1 群および F_2 群に対して行った検

OBSERVATIONS IN MAN

Six healthy adults were given 8 g of sodium alginate daily for seven days without untoward effects (Millis & Reed, 1947).

Three patients whose clinical condition warranted sodium restriction were given oral doses of 15 g of alginic acid three times daily for seven days. A slightly increased faecal sodium and potassium excretion was noted, but no changes in plasma electrolyte concentration (Feldman et al., 1952).

Six patients with essential hypertension were given daily doses of 45 g of alginic acid containing 10% of potassium alginate for five to nine weeks and three patients in an oedematous state were given the same dosage for about a week. It was well tolerated and produced no gastrointestinal disturbance (Gill & Duncan, 1952).

Comments:

It seems reasonable to consider alginic acid and the four salts of alginic acid together. Additional data are available to show that the alginates per se are poorly absorbed.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 50 000 ppm (5%) in the diet equivalent to 2500 mg/kg bw.

Estimate of acceptable daily intake for man

0-25* mg/kg bw.

* Calculated on alginic acid.

REFERENCES

- Carr, T. E. F. et al. (1968) Int. J. Radial. Biol., 14, 225
- Chenoweth, M. B. (1948) Ann. Surg., 127, 1173
- Epstein, S. S. et al. (1970) Tox. & Appl. Pharm., 16, 321
- Feldman, H. S. et al. (1952) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 79, 439
- Gill, R. J. & Duncan, G. G. (1952) Amer. J. med. Sci., 224, 569
- Harrison, G. E. et al. (1969) Nature, 224, 1115
- Harrison, J., McNeill, K. G. & Janiga, A. (1966) Can. med. Ass. J., 95, 532
- Humphreys, E. R. & Triffitt, J. T. (1968) Nature, 219, 1172
- Levy, G. & Rao, K. (1972) J. Pharm. Sci., 61, 279
- Millis, J. & Reed, F. B. (1947) Biochem. J., 41, 273
- Morgan, C. F., Faber, J. E., jr & Dardin, V. J. (undated) Georgetown University Medical School, Washington, D. C., 113 pp (Unpublished report)

査と同様に正常であった (Morgan ら、日付なし)。

ヒトにおける観察

6名の健常な成人に対し、8gのアルギン酸ナトリウムを毎日7日間にわたり投与されたが、有害影響はなかった (Millis & Reed, 1947)。

ナトリウム制限を必要とする臨床状態である患者3名に対して、15gのアルギン酸を一日に3回の頻度で、7日間にわたり経口で投与した。糞便へのナトリウムおよびカリウムの排泄量がわずかに増えたが、血漿中の電解質濃度には何の変化も認められなかった (Feldman ら、1952)。

本態性高血圧の患者6名に対して、10%のアルギン酸カリウムを含む45gのアルギン酸を毎日、5～9週間にわたり投与し、また、浮腫の状態にある患者3名に対して、同量のアルギン酸を1週間ほど投与した。その結果、それらの投与に対して十分に耐えられ、また、胃腸障害の発生はなかった (Gill & Duncan, 1952)。

コメント

アルギン酸とアルギン酸の4種類の塩類と一緒に検討するのが妥当である。追加データから、アルギン酸塩類それ自体はほとんど吸収されないことが示された。

評価

毒性作用を引き起こさないレベル

ラット：飼料中 50,000 ppm (5%) = 2,500 mg/kg 体重量

ヒトにおける許容1日摂取量の積算

0～25* mg/kg 体重量

*アルギン酸塩として算出した。

参考文献

(左頁参照)

Nilson, H. W. & Wagner, J. A. (1951) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 76, 630

Solandt, O. M. (1941) Quart. J. exp. Physiol., 31, 25

Sokov, L. A. (1970) Radioaktivnye Izotopy Vo Vneshnei Srede i Organizine. Atomizdat, Moscow 247

Thienes, C. H. et al. (1957) Arch. int. Pharmacodyn., 111, 167

Watt, J. & Marcus, R. (1971) Proc. Nutr. Soc., 30, 81A

Woodard Research Corp. (1959) Unpublished report submitted to Kelco Co.

Woodard Research Corp. (1972) Unpublished report submitted to Kelco Co.

See Also:

Toxicological Abbreviations

Alginic acid and its ammonium, calcium, potassium and sodium salts (WHO Fo

(左頁参照)

ALGINIC ACID AND ITS AMMONIUM, CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM SALTS

First draft prepared by
 Dr G.J.A. Speijers and Mrs M.E. van Apeldoorn
 National Institute of Public Health and Environmental Protection
 Laboratory for Toxicology
 Bilthoven, The Netherlands

1. EXPLANATION

These substances were evaluated at the seventh and seventeenth meetings of the Committee (Annex 1, references 7 and 32). At the seventeenth meeting, an ADI of 0-50 mg/kg bw was established. Since these evaluations, additional data have become available and were reviewed by the Committee at its present meeting.

Alginate solutions of different viscosities are used as texture modifiers in a wide variety of food and industrial applications.

2. BIOLOGICAL DATA

2.1 Biochemical aspects

2.1.1 Absorption, distribution and excretion

¹⁴C-Labelled alginates were fed as 10% of the diet to 10-week-old rats that had been starved for 24 h; and the subsequent metabolism over a 17 h period was measured. Eighty-five to ninety-one % of the radioactivity was recovered in the faeces. Recoveries of administered ¹⁴C in urine (0.11-0.16%), respiratory CO₂ (0.21-0.42%), and plasma (0.002-0.007%), show that alginate absorption under these conditions of feeding is extremely small (Humphreys & Triffitt, 1968).

From the clinical experiments reported it appears that alginic acid does not bind sodium in man to any great extent (Feldman et al., 1952; Gill & Duncan, 1952).

The absorption of orally administered riboflavin-5'-phosphate by healthy male subjects was increased significantly when the vitamin was administered in 50 ml of 2% alginate solution rather than water alone (Levy & Rao, 1972).

2.2 Toxicological studies

2.2.1 Acute toxicity

Table 1. Acute toxicity of alginic acid and its salts

Compound	Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	References
Alginic acid	rat	i.p.	1600	Thienes et al., 1957

<755>

アルギン酸およびアルギン酸アンモニウム塩、カルシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩

G.J.A. Speijers 博士および M.E. van Apeldoorn 女史によって作成された最初の草案

オランダ国立公衆健康環境保護研究所

毒性研究室

オランダ、ビルトーベン

1. 解説

これらの物質は、本委員会の第7回および第17回の会合において評価された（付属文書1の参考文献7および32）。第17回会合では、ADI（許容1日摂取量）を、0～50 mg/kg 体重量と設定された。これらの評価がなされた後に、追加データが得られたため、今回の会合において委員会により再検討がなされた。

種々の粘度のアルギン酸塩溶液が、多様な食品および産業で感触調整剤として、幅広く用いられている。

2. 生物学的データ

2.1 生化学的分野

2.1.1 吸収、分布、および排泄

24 時間にわたり絶食させた 10 週齢のラットに対して、その餌の 10% 量の ^{14}C -標識アルギン酸塩を投与し、そして、その後の物質代謝を 17 時間にわたって計測した。その結果、糞中に 85～91% の放射活性が回収された。投与した ^{14}C の回収率は、尿中に 0.11～0.16%、呼気の CO_2 中に 0.21～0.42%、および、血漿中に 0.002～0.007% であることから、これらの食餌条件下では、アルギン酸塩の吸収が極めて微量であることが示された（Humphreys & Triffitt, 1968）。

報告されている臨床試験によれば、ヒトの体内では、アルギン酸の大部分がナトリウムと結合しないものと思われる（Feldman ら、1952; Gill & Duncan, 1952）。

リボフラビン-5'-リン酸を、健常な男性被験者に経口投与し、その吸収を調べてみると、このビタミンを、水単独溶液ではなく、2% のアルギン酸塩を含む水溶液として 50ml を投与すると、その吸収が著しく増加した（Levy & Rao, 1972）。

2.2 毒性試験

2.2.1 急性毒性

表 1. アルギン酸およびその塩の急性毒性

化合物	動物	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg bw)	文献
Alginate acid	rat	i.p.	1600	Thienes et al., 1957

Sodium alginate	mouse	i.v.	less than 200	Solandt, 1941
Sodium alginate	mouse	i.p.	LDLO 500	Arora et al., 1968
Sodium alginate	rat	oral	>5000	Woodward Research Corp. 1972
Sodium alginate	rat	i.v.	1000	Sokov, 1970
Sodium alginate	rabbit	i.v.	approx. 100	Solandt, 1941
Sodium alginate	cat	i.p.	approx. 250	Chenoweth, 1948
Calcium alginate	rat	i.v.	64	Sokov, 1970
Calcium alginate	rat	i.p.	1407	Sokov, 1970

Subcutaneous and intramuscular injections of 0.1 ml of a 1% dispersion of alginic acid were not followed by any injurious reactions in mice or rats (Chenoweth, 1948).

2.2.2 Short-term studies

2.2.2.1 Rats

Potassium alginate at a level of 5% in the feed acted as a laxative; calcium alginate 5% was without this effect (Thienes et al., 1957).

Groups of 4 male and 4 female Charles river CD rats were fed a control diet or a diet with 10% sodium alginate at the expense of starch for 12 days. Faecal lipids were increased 5 times in the alginate group. Total blood cholesterol was decreased but not significantly. Total faecal sterols were somewhat increased (Mokady, 1973).

When male Sprague-Dawley rats (5-7/group) received for 2 or 4 weeks a non-fibre diet in which 5% sucrose was substituted by 5% sodium alginate, pancreatic-bile secretion was elevated. When alginic acid or calcium alginate was fed, no effect on pancreatic and biliary secretion was observed (Ikegami et al., 1989).

Groups of ten 21-day old male Wistar rats received a diet with 10% casein or 10% soybean proteins with 0, 0.5, 1, 2 or 3% sodium alginate for 4 weeks. Sodium alginate had no effect on the protein efficiency ratio (Mouecoucou et al., 1990).

Groups of 5 rats were fed 5%, 10% or 20% of alginic acid in the diet for two months. Rats on the 20% diet showed a decreased food consumption and weight gain. Those on lower levels were unaffected (Thienes et al., 1957).

Groups of 6 rats were fed sodium alginate for 10 weeks at levels of 5%, 10%, 20% and 30% in the diet. The mortality rate was high in the 20% and 30% groups during the first two weeks,

Sodium alginate	mouse	i.v.		less than 200	Solandt, 1941
Sodium alginate	mouse	i.p.		LDLO 500	Arora et al., 1968
Sodium alginate	rat	oral		>5000	Woodward Research Corp. 1972
Sodium alginate	rat	i.v.		1000	Sokov, 1970
Sodium alginate	rabbit	i.v.		approx. 100	Solandt, 1941
Sodium alginate	cat	i.p.	approx. 250		Chenoweth, 1948
Calcium alginate	rat	i.v.	64		Sokov, 1970
Calcium alginate	rat	i.p.	1407		Sokov, 1970

マウスおよびラットに対して、0.1 ml の 1%アルギン酸懸濁液を皮下注射および筋肉内注射したところ、有害反応は見られなかった (Chenoweth, 1948)。

2.2.2 短期試験

2.2.2.1 ラット

飼料中に 5%レベルで添加されたアルギン酸カリウムは緩下薬として作用した。一方、5%レベルで添加されたアルギン酸カルシウムにはこの作用は見られなかった (Thienes ら、1957)。

雄 4 匹と雌 4 匹の Charles River CD 系ラット群に対して、対照餌、または、デンプンの代用としてアルギン酸ナトリウムを 10%加えた餌を 12 日間にわたり与えた。その結果、アルギン酸ナトリウム投与群では、糞中の脂質量が 5 倍にも増えた。総血中コレステロール量も減少したが、それは有意な減少ではなかった。総糞中ステロール量も若干増加した (Mokady, 1973)。

雄の Sprague-Dawley 系ラット (5~7 匹/群) に対して、5%のショ糖を 5%のアルギン酸ナトリウムで置換した、繊維をまったく含まない餌を 2 週間または 4 週間にわたって与えたところ、膵液+胆汁の分泌が増加した。アルギン酸またはアルギン酸カルシウムを与えた場合には、膵液+胆汁の分泌に対する影響は観察されなかった (Ikegami ら、1989)。

21 日齢の雄の Wistar 系ラット 10 匹からなる群に対して、10%のカゼインあるいは、0%、0.5%、1%、2%、3%のアルギン酸ナトリウムを添加した 10%の大豆蛋白質を含む餌を、4 週間にわたって与えた。その結果、アルギン酸ナトリウムは、蛋白質効率に対し、何ら影響を示さなかった (Mouecoucou ら、1990)。

ラット 5 匹からなる群に対して、アルギン酸をそれぞれ 5%、10%、20%含む餌を、2 ヶ月間にわたり与えた。その結果、20%群では、摂餌量ならびに体重増加量の低下が認められた。一方、それ以下の群では、影響が認められなかった (Thienes ら、1957)。

ラット 6 匹からなる群に対して、アルギン酸ナトリウムをそれぞれ 5%、10%、20%、30%含む餌を、10 週間にわたり与えた。20%と 30%の群で、最初の 2 週間における死亡率が高かったが、そ

apparently due to inanition. Ten per cent or 5% in the diet had no effect on longevity. The weight gain of the 10% group was slightly decreased. Five per cent had no effect on weight gain (Nilson & Wagner, 1951).

Groups of 10 male and 10 female Wistar rats (bw 46.0-47.3 g) received for 4 or 13 weeks 0, 0, 5, 15 or 45% low viscosity sodium alginate in their diet. Body weights were recorded weekly. Food consumption was determined at weeks 1-4 and weeks 12-13. During the first week faeces were collected. Appearance of faeces was judged at intervals during 90 days. After 4 weeks one control group and the 5 and 45% groups were discarded. At week 13 haematology (Hb, Ht, Er, Leu, Diff) in all rats was carried out. In week 14 all rats were killed, relative organ weights were determined, macroscopy and microscopy (approximately 25 tissues) in all rats were carried out.

In the first weeks rats on 45% sodium alginate showed abnormal hair loss resulting in practically complete baldness. Heavy diarrhoea was seen in the 45% group in the initial phase of the study. In the 15% group only slightly abnormal faeces were produced during the first weeks. In the 45% group considerable growth retardation was observed. At the 15% level growth was normal. In the final 2 weeks of the study the batch of sodium alginate had to be replaced by another sample. The feeding of the new material caused a sharp drop in body weight followed by a recovery which had not yet been completed at the end of week 12. Low food intake in the 15% group in the final week of the study is ascribed to the change of the test batch. The amount of faeces produced per 100 g of food consumed was considerably increased in rats fed sodium alginate. Haematology did not show abnormalities. A significantly increased weight of the caecum, both filled and empty, was seen in the 15% sodium alginate group. Macroscopy showed enlarged, distended, heavy caeca. Histopathology revealed thickened urothelium with papillomatous appearance in the urinary bladder of 6/10 male and 3/10 female rats on 15% sodium alginate. Small calcium deposits under the sometimes thickened urothelium of the renal pelvis and/or under the surface of the renal papilla were seen in 6/10 male and 2/10 female rats on 15% sodium alginate. These changes were not seen in the control group (Feron et al., 1967).

2.2.2.2 Guinea-pigs

Two groups of five adult male albino guinea-pigs were given 1% sodium alginate in their drinking water for 10 weeks. A further four groups of six animals were used for a seven-month study. No ill effects were observed and no colon ulceration occurred (Watt & Marcus, 1972).

2.2.2.3 Dogs

Groups of each six beagle dogs (equally divided by sex), were maintained on diets containing 0, 5 or 15% sodium alginate for one year. Weight gain, behaviour, appearance, periodic blood values, terminal urinalysis, blood urea nitrogen, blood glucose and serum alkaline phosphatase were within normal limits. Gross autopsy and histopathologic examination of tissues revealed no compound-related effects (Woodard Research Corp., 1959).

2.2.3 Long-term/carcinogenicity studies

2.2.3.1 Mice

Groups of 75 male and 75 female Swiss mice (age 6 weeks) received for 89 weeks a control diet or a diet containing sodium

れは、明らかに飢餓衰弱が原因であった。一方、5%または10%の群では、寿命への影響はまったく見られなかった。10%群では体重増加率がわずかに低下した。5%群では体重増加率への影響がまったく見られなかった (Nilson & Wagner, 1951)。

Wistar 系ラット (体重 46.0~47.3 g) 雄 10 匹と雌 10 匹の群に対して、低粘度のアルギン酸ナトリウムをそれぞれ 0%、0%、5%、15%、45%含む餌を、4 週間または 13 週間にわたり与えた。体重は毎週、記録した。餌の摂取量を 1~4 週目および 12~13 週目に測定した。最初の週に糞を採集した。糞の性状については 90 日間に、適宜判断した。4 週間後に、1つの対照群と、5%群および 45%群の実験を中止した。13 週目には、すべての個体の血液検査 (血色素量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、白血球分画) を実施した。14 週目には、すべてのラットを屠殺し、相対臓器重量を計測し、また、肉眼検査および組織学的検査 (およそ 25 の組織) を全個体にわたり実施した。

初めの数週間で、45%のアルギン酸ナトリウムを含む餌を与えられていたラットに、異常な脱毛が認められ、事実上の完全脱毛の状態になった。また、45%群では、試験の初期の段階で重度の下痢も見られた。15%群では、初めの数週間にわずかに異常な糞が認められたのみであった。45%群では、かなりの成長遅延が観察された。一方、15%群の成長は正常であった。試験の最後の 2 週間に、アルギン酸ナトリウムのバッチが他の試料に変更しなければならなくなった。この新しい材料を与えた結果、体重が急激に減少し、その減少は、12 週目の終わりでも回復しきらなかった。試験の最終週に、15 %群で餌の摂取量が少なかったのは、被験バッチが変更されたためとされている。飼料消費量 100 g あたりの糞量は、アルギン酸ナトリウムを与えられたラットでかなり増加していた。血液検査では、異常は見つからなかった。また、盲腸重量の有意な増加 (便が詰まっている場合と空の場合の両方) が、15%アルギン酸ナトリウム群にみられた。肉眼的には、増大かつ膨張して重くなった盲腸が認められた。病理組織学検査では、15%アルギン酸ナトリウム群の雄 10 匹中の 6 匹、および雌 10 匹中の 3 匹の膀胱で尿路上皮の乳頭状外観を示し肥厚していた。小さなカルシウム沈着が、腎盂の尿路上皮の下、時に肥厚した尿路上皮下ないしは、腎乳頭の表面下に認められ、雄では 10 匹中の 6 匹に、雌では 10 匹中の 2 匹に見られた。これらの変化は対照群には見られなかった (Feron ら、1967)。

2.2.2.2 モルモット

雄の成熟アルビノ・モルモット 5 匹で構成される 2 群に対して、飲料水として、1%アルギン酸ナトリウムを含む飲料水を 10 週間にわたって投与した。さらに、6 匹で構成される 4 群を同じく 7 ヶ月間の試験に供した。その結果、病的影響は観察されず、また、結腸潰瘍も認められなかった (Watt & Marcus, 1972)。

2.2.2.3 イヌ

ビーグル犬 6 匹 (雄雌各 3 匹) からなる群に対して、アルギン酸ナトリウムをそれぞれ 0%、5%、15%含む餌で、1 年間にわたり飼育した。その結果、体重増加、行動、外見、定期的な血液検査値、試験終了時の尿検査、血中尿素窒素、血糖、および血清中アルカリ・ホスファターゼは正常範囲内であった。また、各器官の剖検所見や病理組織学的検査から、化合物投与に関連する影響はまったく示されなかった (Woodard Research Corp., 1959)。

2.2.3 長期/発癌性試験

2.2.3.1 マウス

各群、雄 75 匹と雌 75 匹の Swiss 系マウス (6 週齢) に対して、対照飼料、またはアルギン酸ナ

alginate at a dose level gradually increasing to 25% (week 39). Sodium alginate was incorporated into the control diet at the

expense of equal amounts of the precooked control starch. The mice were observed daily for condition, behaviour and the appearance of faeces. Body weights were recorded at weeks 1, 2 and 4 and once every 4 weeks thereafter. Water intake was measured in at least 5 animals/sex/group in week 87. Haematology was performed in 10 animals/sex/group in weeks 40 and 78. Blood glucose and urea-nitrogen levels were determined in 10 animals/sex/group in weeks 78 and 86 after overnight fasting. Urinalysis was conducted in at least 5 males/group and 8 females/group in weeks 82 and 86, respectively. In week 87 half of the surviving male and female animals in the treated group were placed on control diet and 2-5 weeks later urinalysis was performed in 6-8 males. The pH of faeces was measured in 4-5 males/group in weeks 82 and 85. In week 80, 10 animals/sex/group and in weeks 89-92, all surviving animals were killed, organ weights were determined and macroscopy and microscopy were carried out.

In the male control group between weeks 39 and 65, and in the male alginate group during the last six months, high mortality occurred due to haemorrhagic myocarditis. This phenomenon is not uncommon in this strain of mouse. Mean body weights in the alginate group were decreased from week 8 onwards in males and from week 20 onwards in females. Alginate was nephrotoxic to mice as shown by extremely high water consumption (5-10 times control value), high urine production, urinary incontinence (8 males and 2 females), high pH and low specific gravity of the urine, increased level of blood urea nitrogen, increased kidney weights, distension of renal calyx and a high incidence of dilated distal tubules. Furthermore caecal and colonic enlargement and urinary changes were seen, but these changes appeared to be reversible and had completely or largely disappeared within 2-5 weeks after cessation of treatment in week 87. The incidence of intratubular calcinosis or of concretions in the pelvic space was not reduced during the recovery period. In mice no renal pelvic calcification accompanied by hyperplasia of the papillary and pelvic epithelium, as seen in rats fed 15% sodium alginate in their diet, was observed. Probably the high water consumption together with the high production of urine with a low specific gravity prevented formation and deposition of calcareous concretions in the pelvic space of the kidneys of the mice on 25% sodium alginate. Furthermore, in mice no hyperplasia of the epithelium of the urinary bladder, as was seen in rats on 15% sodium alginate, was observed. No indication for a carcinogenic activity of sodium alginate in mice was seen (Til *et al.*, 1986).

Infant albino mice (ICR/HA strain) were injected subcutaneously in the nape of the neck with suspensions of alginic acid (10 and 100 mg/ml) or solvent alone in volumes of 0.1, 0.1, 0.2, and 0.2 ml on days 1, 7, 14, and 21 respectively after birth (so total dose in the two test groups was 6 and 60 mg alginic acid, respectively), and

maintained on normal diets for 49 to 53 weeks. The initial number of mice was 170, 20 and 79, respectively, in the solvent control group, the 6 mg group and the 60 mg group. Tumour frequency fell within control ranges. At 21 days 16 out of 20 mice in the 6 mg group and 16 out of 79 mice in the 60 mg group were alive, whereas in the solvent control group 147 out of 170 animals were alive. At week 49, 10 out of 20 mice in the 6 mg group and only 11 out of 79 mice in the 60 mg group were alive, whereas in the solvent control group 118 out of 170 animals were alive. Due to the limited number of animals in the lowest dosage group, the low number of survivors in the highest dosage group and the short duration of the experiment, the

トリウムを含む餌を 89 週間与えた。なお、アルギン酸ナトリウムの投与量は、飼料中に 25% まで徐々に増加させた (39 週目まで)。このアルギン酸ナトリウムは、対照餌に含まれる加熱処理済みデンプンと置き換えて、その等量を添加した。マウスの一般状態、行動、および糞の様子を毎日、観察した。体重は 1、2、4 週目、その後は 4 週に 1 度記録した。摂水量は、87 週目に、少なくとも各群雌雄各 5 匹に対して測定を行った。血液検査は、40 週目および 78 週目に、各群雌雄各 10 匹に対して行った。血糖値および尿素窒素値は、各群雌雄各 10 匹に対して、78 週目および 86 週目に一晩絶食した後に測定した。尿検査は、少なくとも各群、雄 5 匹および雌 8 匹に対して、それぞれ、82 週目と 86 週目に実施した。87 週目には、処置群の雌雄の生存動物の半数につき、対照餌に変更し、2~5 週間後に、雄 6~8 匹につき尿検査を実施した。糞の pH 測定は、82 週目と 85 週目に、各群雄 4~5 匹に対して行った。80 週目には各群雌雄各 10 匹を、次いで 89~92 週目にはすべての生存動物を屠殺し、それらの器官重量を測定し、さらに肉眼的ならびに顕微鏡的に検査を行った。

対照群の雄では、39 週目~65 週目に、アルギン酸投与群の雄では後半の 6 ヶ月間に、出血性心筋炎による死亡が多発した。この現象はこの系統のマウスでは特に珍しいものではない。アルギン酸投与群では、雄では 8 週目から、雌では 20 週目から平均体重の低下がみられた。アルギン酸塩はマウスにおいて腎毒性を示し、極めて多量の飲水消費 (対照値の 5~10 倍)、多尿、尿失禁 (雄 8 匹および雌 2 匹)、尿の高 pH 値並びに低比重値、血中尿素窒素レベルの増加、腎臓重量の増加、腎盂の拡張、ならびに、遠位尿細管の拡張の高発生率が認められた。さらに、盲腸および結腸の拡張と、尿の変化がみられたが、これらの変化は可逆的であり、処置を 87 週目に休止した後は、その 2~5 週間以内に、完全に、または大部分が消失した。しかし、その回復期間に、尿細管内石灰沈着あるいは腎盂腔における結石の発生率は減少しなかった。マウスでは、ラットに飼料中 15% アルギン酸ナトリウム投与した時に見られた乳頭状腎盂上皮および腎盂上皮の過形成を伴う腎盂石灰沈着はみられなかった。おそらく水分消費量が多く、低比重の尿を多量に生成したことにより、25% アルギン酸ナトリウムを与えられたマウスの腎臓の腎盂腔へのカルシウムの凝集物の形成沈着が抑止されたと考えられる。さらに、マウスでは、ラットに 15% アルギン酸ナトリウムを与えた時にみられた膀胱上皮の過形成も認められなかった。マウスでは、アルギン酸ナトリウムによる発癌性の徴候は全く見られなかった (Til ら、1986)。

乳幼児期のアルビノ・マウス (ICR/HA 系) に対して、アルギン酸の懸濁液 (10 mg/ml および 100 mg/ml)、あるいは溶媒のみを、0.1 ml、0.1 ml、0.2 ml、0.2 ml 頸部襟首に、それぞれ、生後 1 日目、7 日目、14 日目、そして 21 日目に皮下注射し (したがって、2 つの試験群におけるアルギン酸の総投与量は、それぞれ 6 mg および 60 mg である)、その後、通常の飼料を 49~53 週間与え飼育した。試験開始時のマウスの数は、溶媒対照群、6 mg 群、および 60 mg 群で、それぞれ 170 匹、20 匹、および 79 匹であった。腫瘍の発生頻度は対照群の範囲内であった。21 日目には、6 mg 群で 20 匹中の 16 匹が、また、60 mg 群で 79 匹中の 16 匹が生存していたが、対照群では 170 匹中の 147 匹が生存していた。49 週目では、6 mg 群で 20 匹中 10 匹が、60 mg 群で 79 匹中 11 匹のみが生存し、対照群では 170 匹中 118 匹が生存していた。最低投与量群のマウス数が限られており、最高投与量群の生存個体が少なく、さらに、実験が短期間なために、アルギン酸の発癌性の可能性を評価するには、この試験は適していないと考えられる (Epstein ら、1970)。

study is considered to be inappropriate for evaluation of a possible carcinogenic effect of alginic acid (Epstein et al., 1970).

2.2.3.2 Rats

Two groups of 10 male albino rats were fed two different commercial preparations of sodium alginate at the 5% level over their lifespan (maximum 128 weeks). Data on longevity, maximum weight and food and water consumption indicate no adverse effect. Gross necropsy studies revealed no abnormalities. Histopathological examination was not carried out (Nilson & Wagner, 1951).

2.2.4 Reproduction studies

2.2.4.1 Rats

Groups of 40 rats (equally divided by sex) were maintained on diets containing 0 or 5% sodium alginate for a period of two years. During this period approximately half the rats were bred once to produce an F₁-generation, which was subsequently bred to produce an F₂-generation. There were no significant differences in growth rate of test groups and controls, for either the parent group over the two-year period or the progeny (F₁ and F₂). Reproductive performance was normal. Haematological values of the parent group, as well as those of the F₂ offspring, were normal. Gross and microscopic study of various tissues and organs of the parent groups at two years, and of the F₁ and F₂ groups at the conclusion of the rapid growth period, were normal (Morgan et al., undated).

2.2.5 Special studies on genotoxicity

Table 2. Results of genotoxicity assays on sodium alginate

Test system	Test object	Dose-levels used	Results	Reference
Ames test	Salmonella typhimurium	up to 10 mg/plate	negative ¹	Isidate al., 1
Chromosomal aberrations	Chinese hamster lung cells (CHL cells)	up to 10 mg/ml	negative ²	Isidate al., 1
Chromosomal aberrations	Chinese hamster ovary cells	1, 50, 100 µg/per ml	negative ²	Larrip: al., 1
Dominant lethal assay	ICr/Ha Swiss mice	i.p. 82, 200, 1000 mg/kg bw	negative ³	Epstein al., 1

¹ Assay with metabolic activation.

² Assay without metabolic activation.

³ Test compound alginic acid.

2.2.6 Special studies on immunotoxicity

2.2.6.1 Mice

Four mice received an injection with 100 µg of sodium alginate (derived from *Mycrocystis pyriforma*) 4 days before and at the day

2.2.3.2 ラット

雄 10 匹のアルビノ・ラットからなる 2 群に対して、2 種類の異なった市販製剤のアルギン酸ナトリウム 5% を含む餌を、一生を通して（最長 128 週間）与えた。寿命、最大重量、摂餌量および摂水量の消費量についての結果は、何の有害作用も示唆しなかった。剖検を通して異常は見られなかった。病理組織学検査は実施されなかった（Nilson & Wagner, 1951）。

2.2.4 生殖試験

2.2.4.1 ラット

ラット各群 40 匹（雌雄各 20 匹）に対して、アルギン酸ナトリウムを 0% または 5% 含む飼料を 2 年間与え飼育した。この期間内に、およそ半数のラットが 1 回出産して F₁ 世代が生まれ、次いで、その F₁ 世代が F₂ 世代を出産した。被験物質群と対照群との間に、親群（2 年間）でも子孫群（F₁ および F₂）でも、ともに有意な違いは認められなかった。生殖能も正常であった。親群の血液成分値は、F₂ 群と同様に正常であった。2 年経過した時点で親群に対して行った種々の組織および器官の肉眼的および顕微鏡的検査では、急成長期の終わりに F₁ 群および F₂ 群に対して行った検査と同様に正常であった（Morgan ら、日付なし）。

2.2.5 遺伝毒性についての特別試験

Table 2. アルギン酸ナトリウムの遺伝毒性試験結果

試験系	試験対象	用いた用量	結果	文献
エームス試験	Salmonella typhimurium	up to 10 mg/plate	陰性 ¹	Ishidate et al., 1984
染色体異常	Chinese hamster lung cells (CHL cells)	up to 10 mg/ml	陰性 ²	Ishidate et al., 1984
染色体異常	Chinese hamster ovary cells	1, 50, 100 µg/per ml	陰性 ²	Larripa et al., 1987
優性致死試験	ICr/Ha Swiss mice	i.p. 82, 200, 1000 mg/kg bw	陰性 ³	Epstein et al., 1972

¹ 代謝活性化を用いた検定

² 代謝活性化を用いない検定

³ 被験化合物アルギン酸

2.2.6 免疫毒性についての特別試験

2.2.6.1 マウス

4 匹のマウスに 100 µg のアルギン酸ナトリウム（*Mycrocystis pyriforma* 由来）を、ヒツジ赤血球を接種する 4 日前、および同日に注射した。接種後 7 日目にマウスの血液を採取し、血清から赤

of inoculation with sheep red blood cells. Mice were bled 7 days after inoculation and serum was assayed for antibodies against sheep red blood cells by haemagglutination. Sodium alginate caused a significant increase in haemagglutination titer. However when the test was repeated the result was negative (Mayer et al., 1987).

2.2.7 Special studies on tumour inhibition

2.2.7.1 Rats

Two groups of 10 male Spague-Dawley rats (age 5 weeks) received weekly for 12 weeks a s.c. injection with a solution of dimethylhydrazine (DMH) (dose 20 mg DMH/kg bw adjusted to pH 7 with sodium bicarbonate). One group received a basal diet while the second group received 1.5% sodium alginate (crude) in their diet

during the 12 weeks of DMH treatment. The experiment was terminated 8 weeks after the treatment period. Sodium alginate appeared to exert an inhibitory effect on the development of intestinal tumours resulting from DMH (Yamamoto & Maruyama, 1985).

2.2.8 Special investigations on the interference of alginate with minerals

Two groups of 12 male weanling Sprague-Dawley rats received a control diet or a diet with 10% Na-alginate, at the expense of corn starch, for 8 days. A marked increase in faecal dry matter was seen in the alginate group. Ca and Zn absorption were not affected by alginate. Absorption of Fe, Cr, and Co were significantly reduced in the alginate group (Harmut-Hoene & Schelenz, 1980).

2.2.8.1 Interference with Cd and Pb

In vitro

Equilibrium dialysis experiments were carried out in solutions containing varying concentrations of either Cd (as $\text{Cd}(\text{OH})_2$) in saline or Pb (as lead acetate) in water with or without the addition of 1 g alginic acid/100 ml. Equilibration lasted for a minimum of 24 h at room temperature. The extent of the binding by alginate increased as metal concentration increased. At concentrations of 10 and 50 μg Pb/L, 0.7 and 5 mg Pb, respectively, was bound per g alginic acid. At concentrations of 0.01, 0.1, 5 and 10 μg Cd/L 0.09, 0.4, 2.1 and 7.5 mg Cd, respectively, were bound to 1 g alginic acid (Rose & Quarterman, 1987).

Rats

A group of 6 male rats received for 4 weeks a diet supplemented with 200 mg Pb/kg (as lead acetate) together with 5 mg Cd/kg (as cadmium hydroxide). Furthermore, 40 g alginic acid/kg of diet was added. A control group of 10 male rats received the Pb/Cd supplemented diet without the addition of alginic acid. Deposition of Pb and Cd in liver, kidneys and femur was measured. A reduction of growth was seen in the alginic acid group. Alginic acid had no effect upon Cd deposition, but Pb content in femur and kidneys was doubled.

Five groups of 6 male rats received 0, 1, 5, 10 or 40 g alginic acid in their diet for 4 days. On the third day all rats received by stomach tube 0.2 ml saline containing 2 μg radioactive Pb. On day 4 the rats were killed and radioactivity in blood, duodenal mucosa, liver, kidney and gut-free carcass was measured. Pb retention was already increased at 1 g alginic acid/kg of diet (Rose & Quarterman,

血球凝集反応によりヒツジ赤血球に対する抗体を調べた。その結果、アルギン酸ナトリウムによって赤血球凝集力価が有意に増加していた。しかし、この検査を再度実施したところ、その結果は陰性であった (Mayer ら、1987)。

2.2.7 腫瘍抑制についての特別試験

2.2.7.1 ラット

Sprague-Dawley 系ラット (5 週齢の) の雄 10 匹からなる 2 群に対して、ジメチルヒドラジン (DMH) の溶液を週に 1 回皮下注射を行い (重炭酸水素ナトリウムを用いて pH 7 に調節した DMH を 20 mg/kg 体重量投与)、これを 12 週間にわたり続けた。DMH 投与期間に、一方の群に対しては基礎食を与え、もう一方の群には 1.5% アルギン酸ナトリウム (粗標品) を含む餌を投与した。実験は投与期間後の 8 週間で終了した。アルギン酸ナトリウムは、DMH により発生する腸の腫瘍に対し、抑制作用を示すと考えられた (Yamamoto & Maruyama, 1985)。

2.2.8 ミネラルに対するアルギン酸塩の干渉作用についての特別試験

離乳後の Sprague-Dawley 系ラットを用い、1 群雄 12 匹からなる 2 群に対して、対照餌または、他方にはコーンスターチの代用として 10% アルギン酸ナトリウムを含む餌を、8 日間与えた。その結果、アルギン酸ナトリウムの群では、糞の乾物分が著しく増加した。カルシウム (Ca) および亜鉛 (Zn) の吸収は、アルギン酸塩により影響を受けなかった。一方、鉄 (Fe)、クロム (Cr)、コバルト (Co) の吸収は、アルギン酸塩群で有意に減少した (Harmut-Hoene & Schelenz, 1980)。

2.2.8.1 カドミウム (Cd) および鉛 (Pb) との干渉作用

in vitro

平衡透析実験は、様々な濃度の Cd ($\text{Cd}(\text{OH})_2$ として) 生理食塩水溶液、または様々な濃度の Pb (酢酸鉛として) 水溶液のいずれかに対し、100 ml 当たり 1 g のアルギン酸の添加、不添加条件下で実施された。平衡実験は、室温で最低 24 時間にわたり持続した。アルギン酸塩による結合度は、金属濃度の増加とともに増加した。Pb の濃度が 1 L 当たりそれぞれ $10\mu\text{g}$ および $50\mu\text{g}$ のときに、アルギン酸 1 g あたりとの Pb の結合量は、それぞれ 0.7 mg および 5 mg であった。また、Cd の濃度が 1 L 当たりそれぞれ $0.01\mu\text{g}$ 、 $0.1\mu\text{g}$ 、 $5\mu\text{g}$ 、 $10\mu\text{g}$ のときに、アルギン酸 1 g あたりとの Cd の結合量は、それぞれ 0.09 mg、0.4 mg、2.1 mg、7.5 mg であった (Rose & Quarterman, 1987)。

ラット

ラットの雄 6 匹で構成される 1 群に対して、200 mg の Pb/kg 飼料 (酢酸鉛として) および 5 mg の Cd/kg 飼料 (水酸化カドミウムとして) を含む餌を、4 週間にわたり与えた。さらに、飼料 1 kg 当たり 40 g のアルギニン酸を餌に添加した。10 匹の雄ラットからなる 1 対照群に対しては、アルギニン酸を添加しない Pb ないしは Cd 添加飼料を与えた。そして、肝臓、腎臓、および、大腿部における Pb および Cd の蓄積を測定した。その結果、アルギニン酸群では成長率の低下が見られた。また、アルギニン酸は、Cd の蓄積に対しては、何ら影響を与えなかったが、Pb の蓄積は、大腿部および腎臓で 2 倍であった。

ラットの雄 6 匹で構成される 5 群に対して、アルギニン酸を 0 g、1 g、5 g、10 g、40 g 含む餌を、4 日間にわたり与えた。3 日目に、すべての動物に対して、 $2\mu\text{g}$ の放射性 Pb を含む 0.2 ml の

1987).

Humans

In a limited trial with 3 human volunteers, the absorption of ^{203}Pb was unchanged by alginate supplement (Harrison et al., 1969).

2.2.8.2 Interference with radium

Mice

Male mice (C57 Black, age 3 months) given a single i.p. injection with $^{226}\text{RaCl}_2$ and fed from day 3 thereafter with bread containing 10% sodium alginate (intake Na-alginate was 13 g/kg bw) showed a reduction of the ^{226}Ra content in the femur without decalcification. The amount of ^{226}Ra decorporated was independent of the dose of ^{226}Ra injected i.p. ^{226}Ra content of blood was doubled and ^{226}Ra content of faeces showed a 60% increase. Urinary level of ^{226}Ra was not changed significantly (Kestens et al., 1980).

Mice (BALB/c, age 3 months), given bread with 6% sodium alginate 2 h before oral administration (by gavage) of $^{226}\text{RaCl}_2$, revealed a more than 100 times reduction of Ra uptake (measured in whole body). In the same experiment ^{47}Ca uptake was only 1.2 times less than in controls (Vanderborgh et al., 1971).

2.2.8.3 Interference with strontium

Humans and animals

Several experiments in humans and animals which demonstrated a reduction of Sr uptake when Sr isotopes were administered very early before or together with alginate, in the majority of the cases via the oral route. In animals reductions of Sr intake of 1.2 to 10-fold were measured. The radioactive Sr isotopes were determined in carcass, skeleton, femur or whole body. In humans reductions in Sr uptake of 1.6 to 24-fold were reported. Radioactive Sr isotopes were measured in whole body or plasma (Vanderborgh et al. 1971).

Mice

Male C57 Black mice (which had been contaminated with ^{85}Sr 3 weeks previously) were fed a dough containing 5% sodium alginate showed an increased ^{85}Sr content of the blood (Vanderborgh et al., 1971). It was hypothesized that the increased ^{85}Sr content in blood was due to a shift in Sr-equilibria between intestinal lumen, blood and the skeleton (Van Barneveld et al., 1977).

Simultaneous i.p. and oral (via a diet with starch containing dough) treatment of male Black mice with sodium alginate which had been contaminated with ^{85}Sr 9 weeks previously, resulted in a 5-fold increase of the blood content of ^{85}Sr . ^{85}Sr content of liver, kidney and spleen is increased 4-6 times by this combined treatment. Urinary and faecal excretion of ^{85}Sr were increased 1.2 and 1.8 times, respectively. Treatment with dietary alginate only caused a 2.5-fold rise in blood ^{85}Sr content, 1.5-2 times

生理食塩水を胃管で投与した。4 日目に、動物を屠殺し、血液、十二指腸粘膜、肝臓、腎臓、そして内臓を除去したカーカスについて放射活性を測定した。その結果、Pb 蓄積が、飼料 1 kg 中にアルギン酸 1 g を含む餌ですでに増加していた (Rose & Quarterman, 1987)。

ヒト

3 名のボランティアに対する限定的試験では、アルギニン酸の補充により、 ^{203}Pb の吸収は変化しなかった。(Harrison ら、1969)。

2.2.8.2 ラジウムとの干渉作用

マウス

雄マウス (3 ヶ月齢の C57Black) に、 $^{226}\text{RaCl}_2$ を単回腹腔内注射し、その 3 日後以降に、10% のアルギン酸ナトリウムを含むパンを与えた結果 (アルギン酸ナトリウムの摂取量は 13 g/kg 体重量)、脱灰せずに大腿骨の ^{226}Ra 含有量の低下がみられた。 ^{226}Ra の減少量は、腹腔内注射した ^{226}Ra の投与量とは無関係であった。血中の ^{226}Ra 量は 2 倍になり、また糞中の ^{226}Ra 量も 60% 増加した。一方、 ^{226}Ra の尿中レベルには有意な変化は見られなかった (Kestens ら、1980)。

マウス (3 ヶ月齢の BALB/c 系) に対して、 $^{226}\text{RaCl}_2$ を強制経口投与する 2 時間前に、6% のアルギン酸ナトリウムを含むパンを与えた結果、Ra の摂取量が 100 倍以上減少した (全身を測定)。一方、同一の実験における ^{47}Ca の摂取量は、対照群に対してわずか 1.2 倍少ないだけであった (Vanderborght ら、1971)。

2.2.8.3 ストロンチウムにとの干渉作用

ヒトおよび動物

ヒトおよび動物におけるいくつかの実験があり、アルギン酸塩の投与に大幅に先立って、あるいは、投与と同時に、ストロンチウム (Sr) 同位元素を、多くは経口で投与すると、Sr の摂取量を抑制することが示されている。動物では、Sr の摂取量が 1.2~10 倍も減少することが示された。また、Sr の放射性同位元素が、カーカス、骨格、大腿骨、あるいは全身から測定された。ヒトでは、Sr 摂取量が 1.6~24 倍減少するとの報告がある。また、Sr の放射性同位元素が全身や血漿から測定された (Vanderborght ら、1971)。

マウス

雄の C57Black マウス (事前に 3 週間にわたり ^{85}Sr に汚染させる) に対して、5% のアルギン酸ナトリウムを含む練り粉末食を与えたところ、血中の ^{85}Sr 量が増加した (Vanderborght ら、1971)。血中 ^{85}Sr 量の増加は、腸管腔、血液、骨格間の Sr 平衡が変化したためであるとの仮説が立てられた (Van Barneveld ら、1977)。

事前に 9 週間 ^{85}Sr に汚染させた雄の Black マウスに対して、アルギン酸ナトリウムを、腹腔内と経口 (でんぷん入りの練り粉を含む餌を介して) で同時に投与したところ、血中の ^{85}Sr 量が 5 倍に増加した。肝臓、腎臓、および脾臓内の ^{85}Sr 量が、この併用法により 4~6 倍に増える。 ^{85}Sr の尿中および糞中への排泄は、それぞれ 1.2 倍と 1.8 倍に増加した。食餌によるアルギン酸塩の投与では、血中 ^{85}Sr 量が 2.5 倍に、また、肝臓内、脾臓内、および腎臓内の ^{85}Sr 量が 1.5~2 倍に増加し、糞中への ^{85}Sr 排泄量が 2.1 倍に増加し、尿中への排泄は幾分減少した。アルギン酸塩のみを腹腔内投与すると、血中の ^{85}Sr 量が 2.3 倍に、肝臓内、脾臓内、および腎臓内の ^{85}Sr 量がそれぞれ 2.3~3.6 倍に、また、尿中への ^{85}Sr 排泄量が 1.7 倍に増えたが、糞への排泄には変化をみ

increases of ^{85}Sr contents in liver, spleen and kidney, a 2.1 times rise in faecal excretion of ^{85}Sr and urinary excretion was somewhat lowered. I.p. treatment with alginate only resulted in a 2.3-fold increase in blood ^{85}Sr content, 2.3-3.6-fold increases of ^{85}Sr contents of liver, spleen and kidney and a 1.7-fold increase in urinary ^{85}Sr excretion, while faecal excretion was not changed. The biological half-life of Sr is about halved by the treatment with alginate via the diet together with i.p. alginate injection. Treatment with alginate via the diet only will speed decorporation of Sr from skeleton by about 40% (Vanderborgh et al., 1978).

2.2.8.4 Interference with calcium

Rats

Rats received diets supplemented with calcium and phosphate with and without 10% sodium alginate. No effect on the absorption and skeletal retention of calcium was observed (Slat et al., 1971).

Humans

Calcium balance experiments on six healthy adults taking 8 g of sodium alginate daily for seven days failed to show any interference with the absorption of calcium from a normal mixed diet (Millis & Reed, 1947).

In 14 out of 15 men receiving 1.5 g sodium alginate the gastrointestinal content of strontium was reduced by a factor of two while calcium absorption was hardly affected (Harrison et al., 1966).

The absorption and retention of ^{47}Ca and ^{85}Sr was compared for four human volunteers on a normal diet with and without sodium alginate supplement. Fifteen to twenty grams alginate/day was given for seven days. Alginate decreased the retention of ^{85}Sr and ^{47}Ca by about 70 and 7%, respectively. No changes in excretion pattern of Na, K, Mg or P were observed (Carr et al., 1968).

2.2.8.5 Interference with barium

Rats

Rats were fed diets with 10% alginate (3 different types). At day 3 or 4 on diet the animals received an oral, i.p. or s.c. dose of ^{133}Ba . The retention of barium in the carcass after oral administration was reduced 4 to 8 times with the different types of alginate. Four days after parenteral administration of radiolabelled barium, the barium content of the carcass was 5-12% lower than in controls accompanied by a small increase in faecal excretion of the marker (Sutton et al., 1972).

2.2.9 Observations in humans

Six healthy adults were given 8 g of sodium alginate daily for seven days without untoward effects (Millis & Reed, 1947).

Three patients whose clinical condition warranted sodium

なかった。アルギン酸塩の腹腔内投与と同時に、食餌を介してアルギン酸塩を摂取させると、Srの生物学的半減期がおよそ半分になる。食餌を介してのみ、アルギン酸塩を摂取させると、骨格からのSrの減少が40%ほど加速する（Vanderborgh ら、1978）。

2.2.8.4 カルシウムとの干渉作用

ラット

ラットに対して、カルシウムおよびリン酸塩を添加した餌に、10%アルギン酸ナトリウムを加えたもの、または加えない飼料を与えた。その結果、カルシウムの吸収や骨格の残留において何ら影響を認めなかった（Slat ら、1971）。

ヒト

6名の健常な成人に対して、毎日8gのアルギン酸ナトリウムを7日間にわたり投与するというカルシウム平衡の実験をしたところ、通常の混合食からのカルシウム吸収における干渉効果がまったく示されなかった（Millis & Reed, 1947）。

男性15名中の14名に対して、1.5gのアルギン酸ナトリウムを投与したところ、胃腸のストロンチウム量が2桁の減少を示したが、カルシウムの吸収にはほとんど影響を受けなかった（Harrison ら、1966）。

4名のボランティアに対して、アルギン酸ナトリウムを添加した普通食、およびアルギン酸ナトリウムを添加しない普通食を与えて、 ^{47}Ca および ^{85}Sr の吸収および残留を比較した。1日あたり15～20gのアルギニン¹を7日間にわたり与えたところ、アルギン酸塩が原因で、 ^{85}Sr および ^{47}Ca の残留が、それぞれ70%と7%減少した。

一方、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、マグネシウム（Mg）、および、リン（P）の排泄パターンには変化はみられなかった（Carr ら、1968）。

2.2.8.5 バリウム（Ba）に対する干渉作用

ラット

ラットに対して、10%のアルギン酸塩（3種類）を含む餌を与えた。3日目または4日目に、ラットに対して ^{133}Ba を、それぞれ経口、腹腔内、または、皮下に投与した。経口投与した後のカーカスにおけるバリウムの残留量は、アルギン酸塩の種類により、4～8倍の範囲で減少した。放射性標識をしたバリウムを非経口投与した後4日目に、カーカスのバリウム量は、対照群よりも5～12%低下しており、マーカの糞への排泄量も少し増加していた（Sutton ら、1972）。

2.2.9 ヒトにおける観察

6名の健常な成人に対して、毎日8gのアルギン酸ナトリウムを7日間にわたり投与したが、有害な影響がなかった（Millis & Reed, 1947）。

ナトリウム制限を必要とする臨床状態の患者3名に対して、15gのアルギン酸を一日3回の頻度で、7日間にわたり毎日経口投与したところ、糞便へのナトリウムおよびカリウムの排泄量が増えたが、血漿中の電解質濃度には何の変化も認められなかった（Feldman ら、1952）。

restriction were given oral doses of 15 g of alginic acid three times daily for seven days. A slightly increased faecal sodium and potassium excretion was noted, but no changes in plasma electrolyte concentration (Feldman et al., 1952).

Six patients with essential hypertension were given daily doses of 45 g of alginic acid containing 10% of potassium alginate for five to nine weeks and three patients in an oedematous state were given the same dosage for about a week. It was well tolerated and produced no gastrointestinal disturbance (Gill & Duncan, 1952).

Five healthy male volunteers received 175 mg sodium alginate/kg bw/day for 7 days, followed by 200 mg/kg bw for a further 16 days. The daily doses were consumed in three measured portions at intervals each day. The portions were prepared by adding the weighed aliquots of sodium alginate by rapid stirring to 220 ml cold distilled water. The hydrocolloid was then allowed to hydrate for 24 h to a thick, but fluid gel to which each volunteer added a predetermined amount of orange juice prior to consumption. The treatment period was preceded by a 7 day initial control period during which a daily amount of orange juice, equal to that to be taken later, was consumed. During the treatment period enquiries were made with respect to apparent allergic responses. At day 3 of the initial control period, on the last day of the 23 day treatment period and on the last day of the 7 day recovery period the following parameters were examined; fasting blood glucose, plasma insulin, breath hydrogen concentrations, haematological parameters (Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, Er, Leu, Diff, platelets) and biochemical parameters (Na, Cl, K, CO₂, urea, LDH, AST, bilirubin, alk.

phosphatase, phosphate, Ca, protein, albumin, creatinine, urate, lipids, cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides). Routine urinalysis was carried out during the initial control week and during the third week of treatment. Five day faecal collections were made during days 2-6 of the initial control period and during days 16-20 of the treatment period. Faecal transit time, wet weight, dry weight, water content, pH, occult blood, neutral sterols, fat, volatile fatty acids and bile acids in faeces were determined. No allergic reactions were reported nor observed. Sodium alginate acted as a bulking agent of moderate efficiency as indicated by a significant increase in faecal dry and wet weight and an increase in water content of faeces without a significant change in transit time. Faecal pH remained normal. Total faecal volatile acids increased in four volunteers but decreased in one. No changes in faecal total and individual neutral sterols or in total and individual bile acids were seen. Haematological, biochemical and urinalysis parameters did not show significant changes with the exception of some parameters of one volunteer who suffered from influenza (Anderson et al., 1991).

Two-hundred-and-eight workers who are exposed to dust from dried milled seaweed and pure alginate compounds in an alginate factory were examined for pulmonary hypersensitivity. Fifteen out of these 208 workers showed symptoms definitely related to dust exposure at work. Serological tests showed that 8 of the 15 workers

本態性高血圧の患者6名に対して、10%のアルギン酸カリウムを含む45gのアルギン酸を5～9週間にわたり毎日投与し、また、浮腫が認められる患者3名に対して、同量のアルギン酸を1週間ほど投与した。その結果、患者は、それらの投与に対して十分に耐えられ、また、胃腸障害は発生しなかった (Gill & Duncan, 1952)。

5名の健常な男性ボランティアに対して、1日当たり、175 mg/kg 体重量のアルギン酸ナトリウムを7日間にわたり投与し、引き続いて、200 mg/kg 体重量を、さらに16日間にわたり投与した。この一日量を、あらかじめ測定した3つのポーションに分けて、それぞれ間隔をおいて毎日摂取した。このポーションは、計量等分したアルギン酸ナトリウムを、220 ml の冷蒸留水中にすばやくかき混ぜながら加えて調合した。次いで、この親水性コロイド物質を24時間かけて水和させて、粘稠ではあるが、流動性のあるゲル状にして、各ボランティアが所定の量のオレンジジュースをそれに加えて摂取した。この試験期間の前に、7日間の初期コントロール期間を設けて、その期間中に、後で摂取される1日量と同じ量のオレンジジュースを摂取した。試験期間中、アレルギー反応がみられないかについて照会がなされた。初期コントロール期間の3日目、23日間の試験期間の最終日、ならびに、7日間の回復期間の最終日に、以下に示すパラメータに関する検査を実施した：空腹時血糖、血漿中インスリン、呼気中水素濃度、血液学的パラメータ（血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数）、生化学的パラメータ（ナトリウム、塩素、カリウム、二酸化炭素、尿素、乳酸脱水素酵素、アスパラギン酸アミノ基転移酵素、ビリルビン、アルカリ・ホスファターゼ、リン酸塩、カルシウム、蛋白質、アルブミン、クレアチニン、尿酸塩、脂質、コレステロール、高比重リポ蛋白質コレステロール、中性脂肪）。定期的な尿検査が初期コントロール週および試験中の3週間に実施された。初期コントロール期間内の2日目～6日目に、ならびに、試験期間内の16日目～20日目に、糞の採集を5日間にわたり実施した。また、糞の通過時間、湿重量、乾燥重量、水分量、pH、潜血、中性ステロール、脂肪、揮発性脂肪酸、および、胆汁酸が測定された。アレルギー反応は報告されず、また、観察されなかった。アルギン酸ナトリウムの中程度の効率を示す増量剤としての作用が、糞の通過時間に著しい変化なしに、糞の乾重量および湿重量の著しい増加や、糞中の水分量の増加により示された。糞中のpHは正常なままであった。糞中の総揮発性酸は、ボランティア4名では増加していたが1名では減少した。糞中の全体および個々の中性ステロール、あるいは、全体および個々の胆汁酸に変化はみられなかった。インフルエンザに罹患した1名の志願者のいくつかのパラメータを除けば、血液学的、生化学的、および尿検査のパラメータに著しい変化が示されなかった (Anderson ら、1991)。

ある海草工場の中で、乾燥粉末海藻からの粉塵と純アルギン酸塩化合物とに曝露している208名の作業員に対して、肺過敏症の検査を実施した。これら208名の作業員のうちの15名には、作業時の粉塵への曝露と明らかに相関する症状が認められた。血清検査から、これらの15名の中で明確な症状が認められる8名の作業員と、明確な症状のない1名の作業員の血清中に、抽出成分を沈殿させる抗体が検出された。

with definite symptoms and one worker without definite symptoms had precipitating antibodies to prepared extracts in their serum.

Chest X-rays of these 16 workers were normal. Twelve workers with either evidence of work related respiratory symptoms or precipitating antibodies in their serum or both (3 out of 12) were exposed to an atmosphere artificially contaminated with raw seaweed dust for a maximum of one hour. Measurements of pulmonary function were made before, immediately after, and 1, 3, 5 and 24 h after exposure. A significant reversible deterioration in pulmonary function was seen as shown by an acute and sometimes severe airway obstruction, followed by a delayed loss of lung volume with reduction in transfer factor (Henderson et al., 1984).

3. COMMENTS

Three limited long-term dietary studies, one in mice and two in rats, provided no indication of a carcinogenic effect of alginates. Neither an *in vitro* nor an *in vivo* genotoxicity study showed any genotoxic activity. No effects on the reproduction of rats were observed, but the experimental design of the study was limited. A long-term study in mice using only a single dose level of 25% sodium alginate in the diet showed a clear effect (soft stool, distended caecum, decreased growth and deposition of calcium in the pelvis of the kidney).

In a 90-day study in rats, 15% sodium alginate in the diet resulted in an enlarged, distended, heavy caecum, a papillomatous appearance in the urinary bladder and calcium deposits in the renal pelvis and/or renal papilla. A slight decrease in growth was seen in only one short-term experiment with rats at the 10% level, but the effects were not specific and were also seen with other poorly absorbed compounds. Recent studies have shown slight interference with the absorption of a number of minerals.

4. EVALUATION

The Committee recalled the similar effects of poorly absorbed compounds (modified celluloses, polyalcohols, gums, modified starches) reviewed in Section 2.2.3 of the report of the thirty-fifth meeting (Annex 1, reference 88); for such compounds an ADI "not specified" usually had been allocated. The Committee therefore allocated a group ADI "not specified" to alginic acid and its ammonium, calcium, potassium and sodium salts, but pointed out (as it had for other compounds causing this effect) that laxative effects might occur at a high level of intake.

Propyleneglycol alginate was evaluated at the Committee's seventeenth meeting (Annex 1, reference 32) when an ADI of 0-25 mg/kg bw was allocated. It was not re-evaluated at the present meeting.

5. REFERENCES

ANDERSON, D.M., BRYDON, W.G., EASTWOOD, M.A. & SEDGWICK, D.M. (1991) Dietary effects of sodium alginate in humans. *Food Add. Contam.*, 8: 237-248.

これら 16 名の作業員の胸部 X 線写真は正常であった。また、12 名は、作業に関係する呼吸器症状または血清中に沈殿性の抗体が、あるいは、この両方の症状（12 名中 3 名）がみられたが、彼らは最長 1 時間、生海草粉末に対して人工的に汚染されるような環境に曝露していた。肺機能の測定は、曝露前、直後、および 1 時間後、3 時間後、5 時間後、そして 24 時間後に行われた。急性かつ時には重度の気道閉塞により、肺機能に著しい可逆性の悪化が見られ、その後の伝達因子の減少を伴う肺容量の遅発性喪失がおきる（Henderson ら、1984）。

3. コメント

3 つの限定的な長期食餌試験（1 つはマウスでの、そして、2 つはラットでの試験）を通して、アルギン酸塩の発癌性作用は示されなかった。*in vitro* ならびに *in vivo* のいずれの遺伝毒性試験においても、遺伝毒性作用を示されなかった。ラットの生殖に対する影響も観察されなかったが、その試験の実験計画は限定されていた。マウスを用い、飼料中に 25% アルギン酸ナトリウムを含む餌を投与した群でのみの長期試験において、明白な影響が示された（軟便、拡張盲腸、成長率の低下、および腎盂へのカルシウム沈着）。

ラットを用いた 90 日間の試験では、飼料中 15% のアルギン酸ナトリウムを含む餌を与えると、盲腸が腫大し膨張して重量を増し、膀胱は乳頭腫様の外観となり、腎盂ないしは腎乳頭にカルシウムの沈着がみられた。ラットを用いた唯一つの短期実験では、成長のわずかに低下が 10% レベルでみられ、その作用は非特異的であり、その他の吸収率の低い化合物でも同じ作用が見られた。最近の研究から、多くのミネラルの吸収に対しわずかな干渉作用が示されている。

4. 評価

本委員会は、第 35 回会合の報告書（付属文書 1 の参考文献 88）の中の 2.2.3 項で評価された吸収の悪い化合物（加工セルロース、多価アルコール、増粘剤、加工デンプン）による類似の影響を再評価した。これらの化合物に対して、ADI は「特定されない」と、通常、分類されてきた。したがって、本委員会は、アルギン酸および、そのアンモニウム塩、カルシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩に対して、「特定されない」とする ADI のグループに分類した。しかし、本委員会は（同じ作用を示す他の化合物に対して行ったように）、高レベルの摂取により緩下作用が起こる可能性があることも併せて指摘した。

アルギン酸プロピレン・グリコールについては、委員会の第 17 回会合（付属文書 1 の参考文献 32）にて評価され、その際に、ADI が 0~25 mg/kg 体重量と設定された。今回の会合では再評価されなかった。

5. 参考文献

（左頁参照）

- ARORA, C.K., CHAUDHURY, S.K. & CHAUHAN, P.S. (1968) Sodium-alginate toxicity in mice. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 12: 129-130.
- CARR, T.E.F., HARRISON, G., HUMPHREYS, E. & SUTTON, A. (1968) Reduction in the absorption and retention of dietary strontium in man by alginate. *Int. J. Radiol. Biol.*, 14: 225.
- CHENOWETH, M.B. (1948) Toxicity of sodium alginate in rats. *Ann. Surg.*, 127: 1173.
- EPSTEIN, S.S., FUJII, K., ANDREA, J. & MANTEL, N. (1970) Carcinogenicity testing of selected food additives by parenteral. *Tox. Appl. Pharmacol.*, 16: 321-334.
- EPSTEIN, S.S., ARNOLD, E., ANDREA, J., BASS, W. & BISHOP, Y. (1972) Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Tox. Appl. Pharmacol.*, 23: 288-325.
- FELDMAN, H.S., URBACH, K., NAEGELE, C.F., REGAN, F.D. & DOERNER, A.A. (1952) Cation adsorption by alginic acid in humans. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 79: 439-441.
- FERON, V.J., TIL, H.P. & GROOT, A.P. DE (1967) Unpublished Report of the Central Institute for Nutrition and Food Research TNO, Zeist, The Netherlands to Kon. Scholten-Honig N.V. (Foxhol) and AVEBE-D.W.M. (Veendam). Report R2456. Sub-chronic toxicity test with a modified potato starch (propylene oxide) and an alginate in albino rats. July 1967.
- GILL, R.J. & DUNCAN, G.G. (1952) The clinical use of alginic acid as a cation exchanger. *Amer. J. Med. Sci.*, 224: 569-472.
- HARMUT-HOENE, A. & SCHELENZ, R. (1980) Effect of dietary fiber on mineral absorption in growing rats. *J. Nutr.*, 110: 1774-1784.
- HARRISON, G.E., MCNEILL, K.G. & JANICA, J. (1966) The effect of sodium alginate on the absorption of strontium and calcium in human subjects. *Can. Med. Ass. J.*, 3: 532-534.
- HARRISON G.E., CARR, T.E.F., SUTTON, A. & HUMPHREYS, E.R. (1969) Effect of alginate on the absorption of lead in man. *Nature*, 224: 1115-1116.
- HENDERSON, A.K., RANGER, A.F., LLOYD, J., MCSHARRY, C., MILLS, R.J. & MORAN, F. (1984) Pulmonary hypersensitivity in the alginate industry. *Scott Med. J.*, 29: 90-95.
- HUMPHREYS, E.R. & TRIFFITT, J.T. (1968) Absorption by the rat of alginate labelled with Carbon-14. *Nature*, 219: 1172.
- IKEGAMI, S., TSUCHIHASHI, F., HARADA, H., TSUCHIHASHI, N., NISHIDE, E. & INNAMI, S. (1989) Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. *J. Nutr.*, 120: 353-360.
- ISHIDATE, M., JR., SOFUNI, T., YOSHIKAWA, K., HAYASHI, M., NOHMI, T., SAWADA, M. & MATSUOKA, A. (1984) Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem. Toxicol.*, 22: 623-636.

(左頁参照)

- KESTENS, L., SCHOETERS, G., VAN PUYMBROECK, S. & VANDERBORGHT, O. (1980) Alginate treatment and decrease of ^{226}Ra retention in the mouse femur after an i.p. contamination with various radium doses. *Health. Phys.*, 39: 805-809.
- LARRIPA, I.B., MUDRY DE PARGAMENT, M., LABEL DE VINUESA, M. & MAYER, M.S. (1987) Biological activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: sodium alginate, fucoidan and laminaran. II. Genotoxicity. *Hydrobiologia*, 151/152: 491-496.
- LEVY, G. & RAO, K. (1972) Enhanced intestinal absorption of riboflavin from sodium alginate solution in man. *J. Pharm. Sci.*, 61: 279-280.
- MARTIN, G. (1986) Evaluation toxicologique et nutritionnelle des alginates. I. Définition, structure, fabrication, propriétés et applications. *Sciences et Aliments*, 6: 473-486.
- MAYER, A.M.S., KROTZ, L., BONFIL, R.D., BUSTUOBAD, O.D., GROISMAN, J.F., DE LEDERKREMER, R.M. & STIERLE, D.B. (1987) Biological activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: sodium alginate, fucoidan and laminaran. I. Antitumor, cytotoxicity and humoral immune response. *Hydrobiologia*, 151/152: 483-489.
- MILLIS, J. & REED, F.B. (1947) The effect of sodium alginate on the absorption of calcium. *Biochem. J.*, 41: 273-275.
- MOKADY, S. (1973) Effect of dietary pectin and algin on blood cholesterol level in growing rats fed a cholesterol-free diet. *Nutr. Metabol.*, 15: 290-294.
- MORGAN, C.F., FABER, J.E., Jr. & DARDIN, V.J. (undated) Unpublished report from Georgetown University Medical School, Washington, D.C.
- MOUECOUCOU, J., VILLAUME, C., BAU, H.M. BAU, NICOLAS, J.P & MEJEAN, L. (1990) Effets des alginates et des carraghenates de sodium associés aux protéines de soja sur le coefficient d'efficacité protéique (CEP). *Reprod. Nutr. Dev.*, 30, 541-547.
- NILSON, H.W. & WAGNER, J.A. (1951) Feeding tests with some algin products. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 76: 630-635.
- ROSE, H.E. & QUARTERMAN, J. (1987) Dietary fibers and heavy metal retention in the rat. *Environ. Res.*, 42: 166-175.
- SLAT, B., KOSTIAL, K. & HARRISON, G.E. (1971) Reduction in the absorption and retention of strontium in rats. *Health Phys.*, 21, 811-814.
- SOLANDT, O.M. (1941) Some observations upon sodium alginate. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 31: 25.
- SOKOV, L.A., (1970) Radioaktivnye Izotopy Vo Vneshnei Srede i Organizme. Atomizdat, Moscow 247.
- SUTTON, A., HUMPHREYS, E.R., SHEPHERD, H. & HOWELLS, G.R. (1972) Reduction in the retention of radioactive barium in rats following the addition of sodium alginate derivatives to the diet. *Int. J. Radiat. Biol.*, 22, 297-300.

(左頁参照)

THIENES, C.H., SKILLEN, R.G., MEREDITH, O.M., FAIRCHILD, M.D.,
McCANDLESS, R.S. & THIENES, R.P. (1957) The hemostatic laxative and
toxic effects of alginic acid preparations. Arch. int.
Pharmacodyn., 111: 167-181.

TIL, H.P., FERON, V.J. & IMMEL, H.R. (1986) Chronic (89-week)
feeding study with hydroxypropyl distarch phosphate, starch acetate,
lactose and sodium alginate in mice. Food Chem. Toxicol., 24:
825-834.

VAN BARNEVELD, A.A., VAN PUymbROECK, S. & VANDERBORGHT, O. (1977)
The action of sodium alginate in the food on a ⁸⁵Sr body-burden in
mice. Health Phys., 33: 533-537.

VANDERBORGHT, O., VAN PUymbROECK, S. & COLARD, J. (1971) Intestinal
absorption and body retention of 226-radium and 47-calcium in mice:
effect of sodium alginate, measured in vivo with a Ge(Li)
detector. Health Phys., 21, 181-196.

VANDERBORGHT, O.L.J., VAN PUymbROECK, S. & BABAKOVA, I. (1978)
Effect of combined alginate treatments on the distribution and
excretion of an old radiostrontium contamination. Health Phys. 35:
255-258.

WATT, J. & MARCUS, R. (1971) Effect of degraded and undegraded
alginates on the colon of guinea-pigs. Proc. Nutr. Soc., 30: 81A.

WOODARD RESEARCH CORP. (1959) Unpublished report submitted to Kelco
Co.

WOODARD RESEARCH CORP. (1972) Unpublished report submitted to Kelco
Co.

YAMAMOTO, I. & MARUYAMA, H. (1985) Effect of dietary seaweed
preparations on 1,2-dimethylhydrazine-induced intestinal
carcinogenesis in rats. Cancer Letters, 26: 241-251.

See Also:

Toxicological Abbreviations

Alginic acid and its ammonium, calcium, potassium and sodium salts (WHO Food Additives Series 5)

(左頁参照)

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY

WORLD HEALTH ORGANIZATION

SUMMARY OF TOXICOLOGICAL DATA OF CERTAIN FOOD ADDITIVES

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 12

The data contained in this document were examined by the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*
Geneva, 18-27 April 1977

Food and Agriculture Organization of the United Nations
World Health Organization

* Twenty-first Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
Additives, Geneva, 1977, WHO Technical Report Series No. 617

COCHINEAL, CARMINE AND CARMINIC ACID

Explanation

Cochineal is a red colouring matter consisting of the dried
bodies of the female insect Coccus cacti (Dactylopius coccus Costa,
Fam. Coccidae), containing eggs and larvae. The insect grows on
various species of the cactus, Nopalea (Fam. Cactacea), in the
Canary Islands and Central and South America. The colouring matter is
carminic acid. Carmine is the aluminium/calcium lake of carminic acid
(Meloan et al., 1971).

EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

No information available.

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on skin sensitization

Three subjects with lip lesions gave positive patch tests when

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY

WORLD HEALTH ORGANIZATION

SUMMARY OF TOXICOLOGICAL DATA OF CERTAIN FOOD ADDITIVES

WHO FOOD ADDITIVES SERIES No. 12

この書面にあるデータは食品添加物に関して FAO/WHO 両専門委員会によってジュネーブで 1977 年 4 月 18 日～27 日に考察された。

国際連合世界保健機関食品農業機関

* 1977 年ジュネーブでの食品添加物に関して FAO/WHO 両専門委員会の 21 番報告書、WHO Technical Report Series No. 617

コチニール、カルミンとカルミン酸

解説

コチニールは雌の臙脂虫（エンジムシ）(*Dactylopius coccus* Costa, Fam. Coccidae)の卵と幼虫に含む、虫を乾燥した物からできた紅色染料物質である。この虫はカナリー島や中央及び南アメリカにある各種の *Nopalea*(Fam. Cactacea)サボテンの中で育つ。染料物質はカルミン酸である。カルミンはカルミン酸のアルミニウム・カルシウム・レーキ顔料である。(Meloan 他、1971)

一日当りの許容摂取評価

生物学的データ

生化学的側面

情報資料無し。

毒性研究

皮膚感作に関する特別研究

3 人の唇病変を伴う被験者がカルミン（カルミン酸の Al/Ca 顔料）を含む紅色口紅軟膏で陽性パッチテストをした、しかし、無色素の口紅軟膏には陰性反応だった。この色素製品は以前この人々が使っていたので、アレルギー反応症状はカルミンが原因とされた。(Sarkany 他、1961)

tested with red lip salve containing carmine (the Al/Ca lake of carminic acid), but negative reactions to colourless lip salve. Since the coloured product had previously been used by each individual, the symptoms of allergic sensitivity were ascribed to carmine (Sarkany et al., 1961).

Special studies on mutagenicity

Carminic acid was negative in the Bacillus subtilis rec-assay for DNA-damaging ability (Kada et al., 1972). Carminic acid was not mutagenic for several strains of Salmonella typhimurium in the presence of liver microsomal preparations or enzymatic extracts of rat cecal micro-flora (Brown and Brown, 1976; Brown et al., 1977).

Teratogenicity studies

The embryotoxicity and teratogenicity of carmine has been studied in mice. Mice were killed on day 19 of gestation, after i.p. injections of lithium carmine or sodium carmine on day 8. Treated animals of both groups showed resorption rates (20%) higher than those of control groups (2%). The malformation rate was about 16% in the lithium carmine group and 2.5% after injection of sodium carmine. Only animals given sodium carmine showed an increase in the number of retarded fetuses (Schluter, 1970).

Groups of mice were injected once with 2.5% lithium carmine at a dose of 150 mg earmine/kg on day 6, 8, 10, 12 or 14 of pregnancy. A teratogenic effect was observed on the first three treatment days, with the maximal response on day 8 (Schluter, 1971a and b).

Acute toxicity

No information available.

Short-term studies

Mouse

Mice (number not stated) were given intraperitoneal injections of a 1 to 2% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid for a period of 60 days. The only abnormality observed was proliferation of spleen tissue (Harada, 1931).

Rat

Groups of 40 rats, equally divided by sex, received ammoniacal cochineal carmine in 0.4% aqueous gum tragacanth by intubation at dosage levels of 0, 2.5, 5.0 and 10.0 mg/kg five days per week for 13 weeks. Body weight was recorded bi-weekly. Blood counts were made three times. Gross and microscopic findings were not remarkable aside from a dose-related accumulation of colour in the tissues of the rats receiving the two higher dosage levels. No haematological effects were noted. At the two highest levels some decreased growth was apparent. Urine and faeces of the treated rats were coloured during the period of administration (Battelle, 1962).

Groups of 50 weanling rats equally divided by sex were fed carmine in the diet at levels of 0, 50, 250 and 500 mg/kg bw/day for 90 days. Blood counts, blood glucose, blood urea nitrogen and urinalyses were performed three times. No effects due to the carmine were reported in terms of growth, haematology and other clinical findings. Gross and microscopic pathology were not remarkable (FDRL, 1962).

突然変異誘発性に関する特別研究

カルミン酸は DNA 破壊能力の為の枯草菌 rec-assay では陰性だった。(Kada 他、1972) カルミン酸は肝臓ミクロソームの組織標本やラットの盲腸微小植物相から取った酵素抽出物の中に在るネズミチフス菌の数種の系統に対して突然変異誘発性は無かった。

催奇形性研究

カルミンの胎児毒物性と催奇形性はハツカネズミで研究されている。ハツカネズミはリチウム・カルミンの i.p. injections の後、妊娠期間 19 日目に死に、カルミン・ナトリウムの場合 8 日目で死んだ。取り扱ったラットとハツカネズミの両グループは対照グループ (2%) の動物よりも吸収比率が (20%) より高かった。奇形発生率はリチウム・カルミングループが 16% 位で、カルミン・ナトリウム注射の場合、2.5% だった。カルミン・ナトリウムを与えた動物だけが、発達の遅い胎児の数の増加を示した。(Schluter, 1970)

ハツカネズミのグループは妊娠 6、8、10、12 及び 14 日目に 150 mg earmine/kg の投与時に 2.5% のリチウム・カルミンを一度、注射された。催奇形結果は初めの 3 回の試験時に観察された。

急性毒性

資料不可

短期研究

ハツカネズミ

ハツカネズミ (数不明) はカルミン酸のリチウム塩の 1 から 2% 水溶液の腹腔内注射を 60 日間、受けた。脾臓の組織の増殖の異常だけが観察された。(Harada, 1931)

ネズミ

等しく性別に分けた 40 匹のネズミのグループは 13 週間、週 5 日、0、2.5、5.0 および 10.0 mg/kg の濃度の挿管投与で 0.4% のトラガカントゴム水内のアンモニア・コチニール・カルミンを取った。体重は 2 週間ごとに記録された。血漿計算は 3 回された。グロス試験と顕微鏡所見は 2 件のより高い投与濃度を受けたネズミの組織内に在る投与に関係した色の蓄積を別にして注目すべきものは無かった。血液学上の影響は記されなかった。2 件の最も高い濃度の時、数匹の減速成長が明らかであった。扱ったネズミの尿と糞便は投与の期間、色が付いた。(Battile 1962)

等しく性別に分けた離乳した 50 匹のネズミのグループは 90 日間の間、0、50、250 および 500 mg/kg bw (体重) /day (毎日) の濃度の食餌にカルミンを与えられた。血球計算、血糖値、血液尿素窒素及び尿分析は 3 回行われた。成長、血液上及び他の臨床発見の点でカルミンによる影響は報告されなかった。グロス試験と顕微鏡観察での病理には注目すべきものはなかった。(FDRL, 1962)

Rabbit

Five rabbits were given intravenous injections every five to seven days, of 3 to 10 ml of a 2 to 4% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid. The treatment was continued for periods varying from 130 to 529 days. No tumours were observed, but great proliferation of the tissue of the spleen was noted (Harada, 1931).

Long-term studies

Four groups of 30 mated female rats received daily 0, 200, 500 or 1000 mg/kg bw of carmine by gastric intubation as aqueous solution during pregnancy days 0 to 20. A group of 17 similar animals received a solution of chlorides to provide an intake of sodium, potassium and ammonium equal to that resulting from the highest dose level of carmine. No adverse effects were noted on body weight, pregnancy rate pre-implantation losses, the average number of live young litter weight or foetal weight. The group given the highest dose of carmine and the cations control had an increased number of implantation sites and of post-implantation losses. The latter was considered to be due to an inability to maintain the increased numbers of implantations rather than to an embryotoxic effect. No teratogenic effects were noted in the foetuses and the degree of ossification of those from the carmin treated rats tended to be more advanced than those from the control (Gaunt et al., 1976).

REFERENCES

Battelle Memorial Institute (1962) Unpublished report submitted to WHO

Brown, J.P. and Brown, R. J. (1976) Mutation Res., 40, 203

Brown, J.P., Roehm, G. W. & Brown, R. J. (1977) Environ. Mutagen Sec. 8th Ann. Meet., Abst., p. 33

Food and Drug Research Laboratories (1962) Unpublished report submitted to WHO

Gaunt, I. F., Clode, S. A. and Lloyd, A. G. (1976) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO - Studies of the teratogenicity and embryotoxicity of carmine in the rat. Report 162/1/76, July 1976

Harada, M. (1931) cited by Hartwell, J. L.: Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity, second edition, 1951, p. 118

Meloan, S. N., Valentine, L. S. and Puchtler, H. (1971) Histochemie, 27, 87

Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y. (1972) Mutation Res., 16, 165

Sarkany, R. H., Meara, R. H. and Everall, J. (1961) Trans. St. John's Hosp. Derm. Soc., 48, 39

Schluter, G. (1970) Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 131, 228

Schluter, G. (1971a) Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak., 270, 56

Schluter, G. (1971b) ibid, 270, 316

See Also:

Toxicological Abbreviations

うさぎ

5匹のうさぎはカルミン酸のリチウム塩の2から4%の水溶液を3から10ml、5日から7日毎に静脈注射された。試験は130日から529日の各期間続けられた。腫瘍は認められなかったが脾臓の組織の大きな増殖が注目される。

長期研究

30匹の交配した雌ネズミの4グループに0から20日の妊娠期間に一日に0、200、500、1000mg/kg bwのカルミンを水溶液胃挿管で入れた。17匹の同じメスのネズミのグループにはカルミンの最大投与濃度と同等のナトリウム、カリウム、アンモニアの摂取を与える為に塩化物溶液を入れた。体重、妊娠率、前着床不足、生きている若い一腹子達及び胎児体重の平均数に adverse effect は無かった。カルミンを最大投与したものとカチオン対照実験のグループに着床面と後着床減少の増加数があった。後者は着床数の増加を維持する為の不可能性より、むしろ胎児毒物影響による不可能性と考えられた。催奇形性は対照区のネズミよりも、より後生的傾向にあるカルミン実験したネズミの影響による化骨作用の程度と胎児には見られなかった

参考文献

左頁参照

CARMINES (FORMERLY COCHINEAL, CARMINE, AND CARMINIC ACID)

Explanation

Cochineal, carmines and carminic acid were evaluated for acceptable daily intake for man by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives in 1975 and 1977 (see Refs. 37 and 43 in the Annex).

Since the previous evaluations, additional data have become available and the previous monographs have been expanded.

Cochineal carmine is obtained from aqueous extracts of cochineal, which consists of the dried bodies of the female insect Dactylopius coccus costa. The colouring principle of carmines is the hydrated aluminium chelate of carminic acid, in which aluminium and carminic acid are thought to be present in the molar ratio 1:2 (Meloan et al., 1971).

In commercial products the colouring principle is present in association with ammonium, calcium, potassium or sodium cations, singly or in combination, and these cations may also be present in excess. Ammonium carmines exhibit solubility over a wide range of pH while calcium carmines are sparingly soluble at pH values below 7. Commercial products also contain proteinaceous material derived from the source insect, and may contain free carminate anion or small excesses of aluminium cations (Lloyd, 1980).

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

No information on metabolism is available.

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on mutagenicity

Carminic acid was negative in the Bacillus subtilis rec-assay for DNA-damaging ability (Kada et al., 1972).

Carminic acid was not mutagenic for several strains of Salmonella typhimurium in the presence of liver microsomal preparations or enzymatic extracts of rat caecal microflora (Brown & Brown, 1976; Brown et al., 1977).

Carminic acid did not produce reverse mutations in four strains (TA-1535, TA-1537, TA-98, TA-100) of Salmonella typhimurium when tested in presence and absence of liver microsomal (S9) fractions obtained from animals pretreated with phenobarbitone. There was no

evidence of gene conversions when carminic acid was tested similarly in vitro with Saccharomyces cerevisiae D strain, nor of forward mutations in vitro or in vivo in host mediated assays using Schizosaccharomyces pombe (Barale et al., 1978). Similar results have been obtained in studies using Salmonella typhimurium TA-1538 and Escherichia coli WP2 uvr A (Haveland-Smith & Combes, 1980).

Special studies on skin sensitization

<503>

カルミン類（以前の、コチニール、カルミン、およびカルミン酸）

解説

コチニール、カルミン、およびカルミン酸のヒトでの許容 1 日摂取量が、1975 年および 1977 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議において評価された（付属文書の中の参考文献 37 および 43 を参照）。

前回に評価を実施して以来、追加データが入手でき、前回のモノグラフは拡充されている。

コチニール・カルミンは、昆虫 Dactylopius coccus costa の雌の乾燥体から作られたコチニールの水性抽出物から得られる。カルミンの着色の原理は、カルミン酸のアルミニウム・キレートの水和物であり、その中で、アルミニウムとカルミン酸がモル比 1:2 の割合で存在すると考えられている（Meloan ら、1971）。

市販の製品においては、その着色の原理は、アンモニウム、カルシウム、カリウム、または、ナトリウム陽イオンとのそれぞれ単独の関連、あるいは、組み合わせの関連にあり、また、これらの陽イオンが過剰に存在することもある。カルミンのアンモニウム塩は、広範囲の pH で溶解性を示すが、一方、カルミンのカルシウム塩は、pH7 より低い pH 領域ではやや溶けにくい。市販の製品はまた、原料の昆虫に由来する蛋白質様物質を含んでおり、さらに、遊離カルミン酸塩・陰イオンや、あるいは、幾分過剰のアルミニウム陽イオンを含むこともある（Lloyd, 1980）。

生物学的データ

生化学的分野

代謝についての入手できる情報はない。

毒性試験

変異原性についての特別試験

カルミン酸は、DNA 損傷能を調べる枯草菌 Bacillus subtilis のレック・アッセイでは陰性であった（Kada ら、1972）。

カルミン酸は、肝ミクロソーム調整物、あるいはラット盲腸の腸内細菌叢の酵素抽出物の存在下で、ねずみチフス菌 Salmonella typhimurium のいくつかの株に対する変異性は認められなかった（Brown & Brown, 1976; Brown ら、1977）。

カルミン酸は、フェノバルビツールで前処理した動物の肝ミクロソーム分画（S9）の存在下および非存在下で、Salmonella typhimurium の 4 株（TA-1535, TA-1537, TA-98, TA-100）で、復帰突然変異を生じなかった。出芽酵母 Saccharomyces cerevisiae の D 株を用いて実施した同様の in vitro カルミン酸の試験では、遺伝子変換の証拠はなかった。分裂酵母 Schizosaccharomyces pombe を用いた宿主介在 in vivo および in vitro 試験でも、前進突然変異の証拠はなかった（Barale ら、1978）。同様の結果が、Salmonella typhimurium の TA-1538 株、および、大腸菌 Escherichia coli の WP2 uvr A 株からも得られている（Haveland-Smith & Combes, 1980）。

皮膚感作性に関する特別試験

口唇に病変を持つ 3 人の患者に対し、カルミン・カルシウム塩を含有する赤色の口唇用軟膏のパッチテストに対して陽性であったが、無色の口唇用軟膏に対しては陰性であった。

Three subjects with lip lesions gave positive patch tests when tested with red lip salve containing calcium carmine, but negative reactions to colourless lip salve.

Special studies on teratogenicity

The embryotoxicity and teratogenicity of carmine have been studied in mice. Mice were killed on day 19 of gestation, after i.p. injection of lithium carmine or sodium carmine on day 8. Treated animals of both groups showed resorption rates (20%) higher than those of control groups (2%). The malformation rate was about 16% in the lithium carmine group and 2.5% after injection of sodium carmine. Only animals given sodium carmine showed an increase in the number of retarded fetuses (Schluter, 1970).

Groups of mice were injected once with 2.5% lithium carmine at a dose of 150 mg/kg bw of carmine on days 6, 8, 10, 12 or 14 of pregnancy. A teratogenic effect was observed on the first three treatment days, with the maximum effect on day 8 (Schluter, 1971a,b).

Four groups of 30 mated female rats were given daily 0, 200, 500 or 1000 mg/kg bw of ammonium carmine by gastric intubation as aqueous solution during pregnancy days 0 to 20. A group of 17 similar animals received a solution of chlorides to provide an intake of sodium, potassium and ammonium ions equal to that resulting from the highest dose level of carmine. No adverse effects were noted on body weight, pregnancy rate, pre-implantation losses, the average number of live young litter weight or foetal weight. The group given the highest dose of carmine and the cations control had an increased number of implantation sites and of post-implantation losses. The latter was considered to be due to an inability to maintain the increased numbers of implantations rather than to an embryotoxic effect. No teratogenic effects were noted in the fetuses and the degree of ossification of those from the carmine treated rats tended to be more advanced than those from the control (Gaunt et al., 1976).

Special studies over three generations

Ammonia carmine was administered to Wistar rats over several generations at dietary concentrations designed to provide intakes of 0, 50, 150 or 500 mg/kg bw per day. Animals of both sexes were used in groups of 36 for treatment with carmine and groups of 60 for the control. After a suitable period of treatment, the original animals (generation FoA) were mated to provide generation F1a and then remated to produce generation F1b. Generation F1a animals provided animals for generation F2, which in turn provided the final F3 generation.

There were no effects on body weights, food and water intakes, fertility or organ weights in adults of generations FoA, F1a or F2 which could be attributed to treatment. Post mortem examinations and organ weight measurements of pups of generations F1b, F2 and F3 did not reveal any differences between control and treated groups which could be related to treatment. Histopathological examination of pups of generation F3 revealed no treatment related effects. Survival, growth and development of pups in treated groups were similar to those of the control group apart from a slight delay in tooth eruption in the 150 and 500 mg/kg bw groups of generations F1b and F2. No delay in tooth eruption was seen in any of the treated groups of generation F3.

In the teratological investigations, fetuses of all treated groups in the generation F3 were slightly more advanced in their degree of skeletal ossification compared to the control groups. Finally, post mortem examinations of the dams of generations FoA, F1a

催奇形性に関する特別試験

カルミンの胎児毒性および催奇形性は、マウスを用いて試験されている。妊娠 8 日目にカルミンのリチウム塩、あるいはナトリウム塩を、腹腔内注射した後に、妊娠 19 日目に屠殺した。これら処置動物の両群の吸収胚率は 20% であり、それは、対照群 (2%) よりも高かった。先天異常発生率は、カルミンのリチウム塩群は約 16% を示したが、ナトリウム塩注射群では 2.5% であった。発育遅延を示す胎児の数は、カルミン・ナトリウム塩投与群においてのみ増加を示した (Schluter, 1970)。

マウスの群に対して、2.5% のカルミン・リチウム塩をカルミンの 150 mg/kg 体重量で、妊娠 6、8、10、12、または 14 日目に単回注射した。最初から 3 つ目までの投与日において奇形発生作用が観察され、その最大効果は 8 日目であった (Schluter, 1971a, b)。

30 匹からなる交尾した雌ラット 4 群に対して、妊娠 0 日から 20 日までにわたり、1 日当たり 0、200、500、1,000 mg/kg 体重量のカルミン・アンモニウム塩を水溶液として、胃内挿管により投与した。別の 17 匹の群に対しては、ナトリウム、カリウム、またはアンモニウム塩化物水溶液を、ナトリウム、カリウム、またはアンモニウム・イオンの量が、カルミンの最高投与量レベルと同じレベルとなるように投与した。体重、妊娠率、着床前死亡、同腹の生存児の平均体重あるいは胎児体重の平均値に対し、有害な影響はみられなかった。最高量のカルミン投与群と陽イオンの対照群は、着床部位の数と着床後の死亡数に増加がみられた。着床後の死亡数は、胎児毒性というよりもむしろ、増加した着床数を保持する能力の欠如のためと考えられた。胎児に催奇形性はみられなかった。また、カルミン処置ラットの胎児の骨化の程度も、対照群よりも進んでいる傾向にあった (Gaunt ら、1976)。

三世代にわたる特別研究

ウィスター系ラットに数世代にわたって、1 日当たり 0、50、150、500 mg/kg 体重量の摂取になるように、カルミン・アンモニウム塩を混餌投与した。動物は雌雄各群に対し、カルミン投与群として 36 匹を、また、対照群として 60 匹を用いた。しかるべき投与期間の後に、初代のラット (F_{0A} 世代) を交配させて F_{1a} 世代のラットを作り、次いで、再交配により F_{1b} 世代のラットを作った。さらに、 F_{1a} 世代のラット同士の交配により F_2 世代を作り、次には最終世代 F_3 を作った。

F_{0A} 世代、 F_{1a} 世代、 F_2 世代の成熟個体において、体重、摂餌量と摂水量、受精率、および器官重量に、処置に関係するような影響を認めなかった。 F_{1b} 世代、 F_2 世代、 F_3 世代の児の剖検および器官重量測定の結果、対照群と投与群との間に、この投与と関連するような差異は認められなかった。 F_3 世代の児に対する病理組織学的検査では、処置に関連する影響は、みられなかった。投与群の児の、生存、成長、および発育は、 F_{1b} と F_2 世代にみられた 150 mg/kg 群と 500 mg/kg 群の処理群での歯牙萌出の少しの遅延を除いては、対照群と同様であった。この歯牙萌出の遅れは、 F_3 世代の投与群にはまったくみられなかった。

奇形発生研究では、 F_3 世代の全ての投与群の胎児において、対照群と比較して、骨格の骨化がわずかに進んでいた。終わりに、奇形発生研究に使用した F_{0A} 世代、 F_{1a} 世代、 F_2 世代の母ラットの剖検から、 F_{1a} 世代の 150 mg/kg 群にみられた黄体数と着床後の死亡数のわずかな増加を除いては、対照群と投与群との間に明らかな差異がみられなかった。みられた差異は処置とは関係のない変化と考えられた (Grant ら、1979)。

and F2 used in the teratology studies revealed no significant differences between control and treated animals except for slightly increased numbers of corpora lutea and post-implantation losses in the 150 mg/kg bw group of generation F1a. These were considered to be unrelated to treatment (Grant et al., 1979).

Acute toxicity

No information available.

Short-term studies

Mouse

Mice (number not stated) were given intraperitoneal injections of a 1 to 2% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid for a period of 60 days. The only abnormality observed was proliferation of spleen tissue (Harada, 1931).

Rat

Groups of 40 rats, equally divided by sex, received ammoniacal cochineal carmine in 0.4% aqueous agar by intubation at dosage levels of 0, 2.5, 5.0 and 10.0 g/kg bw five days per week for 13 weeks.

Body weight was recorded bi-weekly. Blood counts were made three times. Gross and microscopic findings were not remarkable aside from a dose-related accumulation of colour in the tissues of the rats receiving the two higher dosage levels. No haematological effects were noted. At the two highest levels some decreased growth was apparent. Urine and faeces of the treated rats were coloured during the period of administration (Battelle, 1962).

Groups of 50 weanling rats equally divided by sex were fed calcium carmine in the diet at levels of 0, 50, 250 and 500 mg/kg bw/day for 90 days. Blood counts, blood glucose, blood urea nitrogen and urinalyses were performed three times. No effects due to the carmine were reported in terms of growth, haematology and other clinical findings. Gross and microscopic pathology were not remarkable (FDRL, 1962).

Rabbit

Five rabbits were given intravenous injections every five to seven days, of 3 to 10 ml of a 2 to 4% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid. The treatment was continued for periods varying from 130 to 529 days. No tumours were observed, but great proliferation of the tissue of the spleen was noted (Harada, 1931).

Comments

Cochineal and colouring principles derived from it were considered in the twenty-first report of the Expert Committee but at that time the toxicological data available were considered to be insufficient for an evaluation and the establishment of an ADI. The present Committee understood that the main substances used were ammonium carmine for alcoholic beverages and calcium carmine for foods. Their use was limited because of the small amount of cochineal produced. Recent reproduction studies with ammonium carmine had found no toxicologically significant effects. The Committee was informed that a long-term study had also been completed, but the data had not yet been submitted. The Committee allocated a temporary ADI of 0-2.5 mg/kg bw for ammonium carmine, or equivalent amounts of the calcium, potassium, or sodium salts (the lithium salt is not

急性毒性

入手できる情報がない。

短期試験

マウス

マウス（数は述べられていない）に 60 日間、カルミン酸のリチウム塩の 1 から 2% の水溶液が腹腔内注射した。観察された異常は脾臓組織の増殖のみであった（Harada, 1931）。

ラット

雌雄各 40 匹のラットに対して、アンモニア性コチニール・カルミン入りの 0.4% 寒天水で 0、2.5、5.0、10.0 g/kg の投与量を、週に 5 日の頻度で 13 週間にわたり挿管法で強制経口投与した。

体重を 2 週間に 1 回記録し、また、血球数の測定を 3 回行った。肉眼検査および病理組織学的所見には特記すべき所見を認めなかったが、5.0 g と 10.0 g/kg 投与の両群の組織中に、用量依存的なカルミン色の蓄積があった。血液への影響は認められなかった。同じく 2 つの高用量群で、明らかに発育の低下を示した。処置ラットの尿および糞は、投与期間中、着色していた（Battelle, 1962）。

雌雄同数からなる 50 匹の離乳後のラット群に対して、カルミン・カルシウム塩を 1 日あたり 0、50、250、500 mg/kg 体重量で、90 日間にわたり混餌投与した。血球数、血糖値、血中尿素窒素、および尿検査を 3 回実施した。成長、血液および他の臨床所見においてカルミンに起因する影響は報告されなかった。肉眼検査および病理組織学的検査所見においても特記すべき所見はなかった（FDRL, 1962）。

ウサギ

5 匹のウサギに対して、カルミン酸リチウム塩の 2%～4% 水溶液の 3 ml～10 ml を、5 日間から 7 日間に 1 回の割合で、静脈内注射した。この処置を、130 日～529 日の種々の期間継続した。その結果、腫瘍は観察されなかったが、脾臓組織の大幅な増殖が認められた（Harada, 1931）。

コメント

コチニールおよびコチニールに由来する着色原理が、専門家会議の第 21 回報告のなかで検討されたが、その時点では、入手できた毒性データでは、ADI（許容 1 日摂取量）の評価および設定には、不十分と考えられた。今回の会議では、アルコール飲料に使用されているカルミンの主な物質がカルミン・アンモニウム塩であり、また、食品に使用されている主な物質はカルミン・カルシウム塩であることが理解された。生産されるコチニールが少量であるため、それらの使用は限定されていた。カルミン・アンモニウム塩を用いた最近の生殖試験では、毒性学的に有意な影響がないことが明らかにされた。当会議においては、長期試験も完了したとの報告を得ているが、そのデータは未だ提出されていない。当会議では、カルミン・アンモニウム塩に対して、暫定 ADI を 0-2.5 mg/kg 体重量とした。一方、カルシウム、カリウム、あるいはナトリウム塩については、その相当量とした（リチウム塩は食品添加物として認定されていない）。このことは、多世代試験において、体重 1 kg 当たり 500 mg のカルミン・アンモニウム塩が、影響を与えないレベル no-effect level であることを基にしている。当会議は、今後の会合での評価に、長期試験の結果の提出を求めた。

acceptable for food-additive use). This was based on a no-effect level of 500 mg of ammonium carmine per kg of body weight in a multigeneration study. The Committee requested the submission of the results of the long-term study for evaluation at a future meeting.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 500 mg/kg bw per day.

Estimate of temporary acceptable daily intake for man

0-2.5 mg/kg bw.

FURTHER WORK OR INFORMATION

Required by 1982.

Submission of the results of the long-term studies.

REFERENCES

Battelle Memorial Institute (1962) Unpublished report submitted to WHO

Barale, R. et al. (1978) In: Galli, C. L., Paoletti, R. & Vettorazzi, G., eds, Proceedings of the International Symposium on Chemical Toxicology of Food, Elsevier, North Holland Biomedical Press, pp. 349-357

Brown, J.P. & Brown, R. J. (1976) Mutation Res., 40, 203

Brown, J. P., Roehm, G. W. & Brown, R. J. (1977) Environ. Mutagen Soc. 8th Ann. Meet., Abst., p. 33

Food and Drug Research Laboratories (1962) Unpublished report submitted to WHO

Gaunt, I. F., Clode, S. A. & Lloyd, A. G. (1976) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO - Studies of teratogenicity and embryotoxicity of carmine in the rat. Report 162/1/76, July 1976

Grant, D., Conning, D. M. & Hawkins, R. I. (1979) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO - Multigeneration Toxicity studies in rats with carmine of cochineal. Report 230/1/79, December 1979

Harada, M. (1931) cited by Hartwell, J. L.: Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity, 2nd ed., 1951

Haveland-Smith, R. B. & Combes, R. D. (1980) Foods and Cosmetics Toxicology, 18, 215-221

Lloyd, A. G. (1980) Food Chemistry, 5, 91-107

Meloan, S. N., Valentine, L. S. & Puchtler, H. (1971) Histochemie, 27, 87

Kada, T., Tutikawa, K. & Sadaie, Y. (1972) Mutation Res., 16, 165

Sarkany, R. H., Meara, R. H. & Everall, J. (1961) Trans. St. John's Hosp. dermat. Soc. (Lond.), 48, 39

Schluter, G. (1970) Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 131, 228

評価

毒性学的影響を引き起こさないレベル

ラット：1 日当たり、500 mg/kg 体重量。

ヒト暫定許容 1 日摂取量

0 - 2.5 mg/kg 体重量

今後の研究あるいは情報

1982 年までの要求

長期試験の結果の提出

参考文献

左頁参照

Schluter, G. (1971a) Naunyn-Schmiedeberg's Archiv. Pharmac., 270,
56

Schluter, G. (1971b) Naunyn-Schmiedeberg's Archiv. Pharmac., 270,
316

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

CARMINES

Explanation

Cochineal, carmines and carminic acid were last evaluated for acceptable daily intake for man by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives in 1981 (see Annex I, Ref. 57).

Since the previous evaluation, additional data have become available and the previous monograph has been expanded.

Cochineal carmine is obtained from aqueous extracts of cochineal, which consists of the dried bodies of the female insect Dactylopius coccus Costa. The colouring principle of carmines is the hydrated aluminium chelate of carminic acid, in which aluminium and carminic acid are thought to be present in the molar ratio 1:2 (Meloan et al., 1971).

In commercial products the colouring principle is present in association with ammonium, calcium, potassium or sodium cations, singly or in combination, and these cations may also be present in excess. Ammonium carmines exhibit solubility over a wide range of pH while calcium carmines are sparingly soluble at pH values below 7. Commercial products also contain proteinaceous material derived from the source insect, and may contain free carminate anion or small excesses of aluminium cations (Lloyd, 1980).

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

No information on metabolism is available.

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on mutagenicity

Carminic acid was negative in the Bacillus subtilis rec-assay for DNA-damaging ability (Kada et al., 1972).

Carminic acid was not mutagenic for several strains of Salmonella typhimurium in the presence of liver microsomal preparations or enzymatic extracts of rat caecal microflora (Brown & Brown, 1976; Brown et al., 1977).

Carminic acid did not produce reverse mutations in 4 strains (TA 1535; TA 1537; TA 98; TA 100) of Salmonella typhimurium when tested in presence and absence of liver microsomal (S9) fractions obtained from animals pretreated with phenobarbitone. There was no evidence of gene conversions when carminic acid was tested similarly

in vitro with Saccharomyces cerevisiae D strain, nor of forward mutations in vitro or in vivo in host mediated assay using Schizosaccharomyces pombe (Barale et al., 1978). Similar results have been obtained in studies using Salmonella typhimurium TA 1538 and Escherichia coli WP2 uvr A (Haveland-Smith & Combes, 1980).

Special studies on skin sensitization

<527>

カルミン類

解説

コチニール、カルミン、およびカルミン酸は、1981年のFAO/WHO合同食品添加物専門家会議においてヒト許容1日摂取量が評価された（付属文書I、参考文献57を参照）。

前回に評価を実施して以来、追加データが入手され、前回のモノグラフが拡充されている。

コチニール・カルミンは、昆虫 Dactylopius coccus Costa の雌の乾燥体から作られたコチニールの水性抽出物から得られる。カルミンの着色の原理は、カルミン酸のアルミニウム・キレートの水和物であり、その中で、アルミニウムとカルミン酸がモル比1:2の割合で存在すると考えられている（Meloanら、1971）。

市販の製品においては、その着色の原理は、アンモニウム、カルシウム、カリウム、またはナトリウム・陽イオンとのそれぞれ単独に関連、または組み合わせられた関連にあり、これらの陽イオンが過剰に存在することもある。カルミンのアンモニウム塩は、広範囲のpHで溶解性を示すが、一方、カルミンのカルシウム塩は、pH7より低いpH領域ではやや溶けにくい。市販の製品はまた、原料の昆虫に由来する蛋白質様物質を含んでおり、さらに、遊離のカルミン酸塩・陰イオンや、あるいは、幾分過剰のアルミニウム・陽イオンを含むこともある（Lloyd, 1980）。

生物学的データ

生化学的分野

代謝についての入手できる情報はない。

毒性試験

変異原性についての特別試験

カルミン酸は、DNA損傷能を調べる枯草菌 Bacillus subtilis のレック・アッセイでは陰性であった（Kadaら、1972）。

カルミン酸は、肝ミクロソーム調整物、あるいはラット盲腸の腸内細菌叢の酵素抽出物の存在下で、ネズミチフス菌 Salmonella typhimurium のいくつかの株に対する変異性は認められなかった（Brown & Brown, 1976; Brownら、1977）。

カルミン酸は、フェノバルビツールで前処理した動物の肝ミクロソーム分画（S9）の存在下および非存在下で、Salmonella typhimurium の4株（TA-1535, TA-1537, TA-98, TA-100）で、復帰突然変異を生じなかった。出芽酵母 Saccharomyces cerevisiae のD株を用いて実施した同様のin vitroカルミン酸の試験では、遺伝子変換の証拠はなかった。分裂酵母 Schizosaccharomyces pombe を用いた宿主介在in vivoおよびin vitro試験でも、前進突然変異の証拠はなかった（Baraleら、1978）。同様の結果が、Salmonella typhimurium のTA-1538株、および、大腸菌 Escherichia coli のWP2 uvr A株からも得られている（Haveland-Smith & Combes, 1980）。

皮膚感作性に関する特別試験

口唇に病変を持つ3人の患者に対し、カルミン・カルシウム塩を含有する赤色の口唇用軟膏のパッチテストに対して陽性であったが、無色の口唇用軟膏に対しては陰性であった。着色された製

Three subjects with lip lesions gave positive patch tests when tested with red lip salve containing calcium carmine, but negative reactions to colourless lip salve. Since the coloured product had previously been used by each individual, the symptoms of allergic sensitivity were ascribed to carmine (Sarkany et al., 1961).

Special studies on teratogenicity

The embryotoxicity and teratogenicity of carmine have been studied in mice. Mice were killed on day 19 of gestation, after i.p. injection of lithium carmine or sodium carmine on day 8. Treated animals of both groups showed resorption rates (20%) higher than those of control groups (2%). The malformation rate was about 16% in the lithium carmine group and 2.5% after injection of sodium carmine. Only animals given sodium carmine showed an increase in the number of retarded fetuses (Schluter, 1970).

Groups of mice were injected once with 2.5% lithium carmine at a dose of 150 mg carmine/kg on days 6, 8, 10, 12 or 14 of pregnancy. A teratogenic effect was observed on the first 3 treatment days, with the maximum effect on day 8 (Schluter, 1971a,b).

Four groups of 30 mated female rats were given daily 0, 200, 500 or 1000 mg/kg bw of ammonium carmine by gastric intubation as aqueous solution during pregnancy days 0 to 20. A group of 17 similar animals received a solution of chlorides to provide an intake of sodium, potassium and ammonium ions equal to that resulting from the highest dose level of carmine. No adverse effects were noted on body weight, pregnancy rate, pre-implantation losses, the average number of live young litter weight or foetal weight. The group given the highest dose of carmine and the cations control had an increased number of implantation sites and of post-implantation losses. The latter was considered to be due to an inability to maintain the increased number of implantations rather than to an embryotoxic effect. No teratogenic effects were noted in the fetuses and the degree of ossification of those from the carmine-treated rats tended to be more advanced than those from the control (Gaunt et al., 1976).

Special studies over 3 generations

Ammonia carmine was administered to Wistar rats over several generations at dietary concentrations designed to provide intakes of 0, 50, 150 or 500 mg/kg bw per day. Animals of both sexes were used in groups of 36 for treatment with carmine and groups of 60 for the control. After a suitable period of treatment, the original animals (generation F_{0a}) were mated to provide generation F_{1a} and then remated to produce generation F_{1b} . Generation F_{1a} animals provided animals for generation F_2 , which in turn provided the final F_3 generation.

There were no effects on body weights, food and water intakes, fertility or organ weights in adults of generations F_{0a} , F_{1a} or F_2 which could be attributed to treatment. Post mortem examinations and organ weight measurements of pups of generations F_{1b} , F_2 and F_3 did not reveal any differences between control and treated groups which could be related to treatment. Histopathological examination of pups of generation F_3 revealed no treatment-related effects. Survival, growth and development of pups in treated groups were similar to those of the control group apart from a slight delay in tooth eruption in the 150 and 500 mg/kg groups of generations F_{1b} and F_2 . No delay in tooth eruption was seen in any of the treated groups of generation F_3 .

品は、それぞれの患者が以前から使ってきたものであり、アレルギー反応の症状が、カルミンに起因するものとされた (Sarkany ら、1961)。

催奇形性に関する特別試験

カルミンの胎児毒性および催奇形性は、マウスを用いて試験されている。妊娠 8 日目にカルミンのリチウム塩、あるいはナトリウム塩を、腹腔内注射した後に、妊娠 19 日目に屠殺した。これら処置動物の両群の吸収胚率は 20% であり、それは、対照群 (2%) よりも高かった。先天異常発生率は、カルミンのリチウム塩群は約 16% を示したが、ナトリウム塩注射後では 2.5% であった。発育遅延を示す胎児の数は、カルミン・ナトリウム塩投与群においてのみ増加を示した (Schluter, 1970)。

マウスの群に対して、2.5% のカルミン・リチウム塩をカルミンの 150 mg/kg 体重量で、妊娠 6、8、10、12、または 14 日目に単回注射した。初期 3 投与日において奇形発生作用が観察され、その最大効果は 8 日目であった (Schluter, 1971a, b)。

30 匹からなる交尾した雌ラット 4 群に対して、妊娠 0 日から 20 日までにわたり、1 日当たり 0、200、500、1,000 mg/kg 体重量のカルミン・アンモニウム塩を水溶液として、胃内挿管により投与した。別の同様な 17 匹の群に対しては、ナトリウム、カリウム、またはアンモニウム塩化物水溶液を、ナトリウム、カリウム、またはアンモニウム・イオンの量がカルミンの最高投与量レベルと同じレベルとなるように投与した。体重、妊娠率、着床前の死、同腹の生存児の平均体重、あるいは胎児体重の平均値に対し、有害な影響はみられなかった。最高量のカルミン投与群と陽イオンの対照群は、着床部位の数と着床後の死亡数に増加がみられた。着床後の死亡数は、胎児毒性というよりもむしろ、増加した着床数を保持する能力の欠如のためと考えられた。胎児に催奇形性はみられなかった。また、カルミン処置ラットの胎児の骨化の程度も、対照群よりも進んでいる傾向にあった (Gaunt ら、1976)。

三世代にわたる特別研究

ウィスター系ラットの数世代にわたって、1 日当たり 0、50、150、500 mg/kg 体重量の摂取になるように、カルミン・アンモニウム塩を混餌投与した。動物は雌雄各群に対し、カルミン投与群として 36 匹を、また、対照群として 60 匹を用いた。しかるべき投与期間の後に、初代のラット (F_{0a} 世代) を交配させて F_{1a} 世代のラットを作り、次いで、再交配により F_{1b} 世代のラットを作った。さらに、 F_{1a} 世代のラット同士の交配により F_2 世代を作り、次には最終世代 F_3 を作った。 F_{0a} 世代、 F_{1a} 世代、 F_2 世代の成熟個体において、体重、摂餌量と摂水量、受精率、および器官重量に、処置に関係するような影響を認めなかった。 F_{1b} 世代、 F_2 世代、 F_3 世代の児の剖検および器官重量測定の結果、対照群と投与群との間に、この投与と関連するような差異は認められなかった。 F_3 世代の児に対する病理組織学的検査では、処置に関連する影響は、みられなかった。投与群の児の、生存、成長、および発育は、 F_{1b} と F_2 世代にみられた 150 mg/kg 群と 500 mg/kg 群の処理群での歯牙萌出の軽度の遅延を除いては、対照群と同様であった。この歯牙萌出の遅れは、 F_3 世代の投与群にはまったくみられなかった。

催奇形性の研究では、 F_3 世代の全ての投与群の胎児において、対照群と比較して、骨格の骨化が、わずかに進んでいた。終わりに、奇形性研究に使用した F_{0a} 世代、 F_{1a} 世代、 F_2 世代の母ラットの剖検から、 F_{1a} 世代の 150 mg/kg 群にみられた黄体数と着床後の死亡数のわずかな増加を除いては、

In the teratological investigations, fetuses of all treated groups in the generation F_3 were slightly more advanced in their degree of skeletal ossification compared to the control groups. Finally, post mortem examinations of the dams of generations F_{0a} , F_{1a} and F_2 used in the teratology studies revealed no significant differences between control and treated animals, except for slightly increased numbers of corpora lutea and post-implantation losses in the 150 mg/kg group of generation F_{1a} . These were considered to be unrelated to treatment (Grant et al., 1979).

Acute toxicity

No information available.

Short-term studies

Mouse

Mice (number not stated) were given intraperitoneal injections of a 1 to 2% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid for a period of 60 days. The only abnormality observed was proliferation of spleen tissue (Harada, 1931).

Rat

Groups of 40 rats, equally divided by sex, received ammoniacal cochineal carmine in 0.4% aqueous agar by intubation at dosage levels of 0, 2.5, 5.0 and 10.0 g/kg 5 days per week for 13 weeks. Body weight was recorded bi-weekly. Blood counts were made 3 times. Gross and microscopic findings were not remarkable, aside from a dose-related accumulation of colour in the tissues of the rats receiving the 2 higher dosage levels. No haematological effects were noted. At the 2 highest levels some decreased growth was apparent. Urine and faeces of the treated rats were coloured during the period of administration (Battelle, 1962).

Groups of 50 weanling rats equally divided by sex were fed calcium carmine in the diet at levels of 0, 50, 250 and 500 mg/kg bw per day for 90 days. Blood counts, blood glucose, blood urea nitrogen and urinalyses were performed 3 times. No effects due to the carmine were reported in terms of growth, haematology and other clinical findings. Gross and microscopic pathology were not remarkable (FDRL, 1962).

Rabbit

Five rabbits were given intravenous injections every 5 to 7 days, of 3 to 10 ml of a 2 to 4% aqueous solution of the lithium salt of carminic acid. The treatment was continued for periods varying from 130 to 529 days. No tumours were observed, but great proliferation of the tissue of the spleen was noted (Harada, 1931).

Long-term studies

Rat

Carmine was mixed with the diet of groups of 66 male and 66 female rats to provide daily intakes of 50, 150 or 500 mg/kg bw per day for 8 weeks. A group of 114 male and 114 female rats fed the basic diet served as controls. The treatment continued whilst each female was mated with a male from the same group, during pregnancy and the rearing of the resulting offspring. Young from these litters were used

対照群と投与群との間に、明らかな差異がみられなかった。みられた差異は処置には関係のない変化と考えられた (Grant ら、1979)。

急性毒性

入手できる情報がない。

短期試験

マウス

マウス (数は述べられていない) に 60 日間、カルミン酸のリチウム塩の 1 から 2% の水溶液が腹腔内注射した。観察された異常は脾臓組織の増殖のみであった (Harada, 1931)。

ラット

雌雄各 40 匹のラットに対して、アンモニア・コチニール・カルミン入りの 0.4% 寒天水で 0、2.5、5.0、10.0 g/kg の投与量を、週に 5 日の頻度で 13 週間にわたり挿管法で強制経口投与した。体重を 2 週間に 1 回記録し、また、血球数の測定を 3 回行った。肉眼検査および病理組織学的所見には特記すべき所見を認めなかったが、5.0 g と 10.0 g/kg 投与の両群の組織中に、用量依存的なカルミン色の蓄積があった。血液学的影響は認められなかった。同じく 2 つの高用量群で、明らかに発育の低下を示した。処置ラットの尿および糞は、投与期間中、着色していた (Battelle, 1962)。雌雄同数からなる 50 匹の離乳後のラット群に対して、カルミン・カルシウム塩を 1 日当たり 0、50、250、500 mg/kg 体重量で、90 日間にわたり、混餌投与した。血球数、血糖値、血中尿素窒素、および尿検査を 3 回実施した。成長、血液学的および他の臨床所見においてカルミンに起因する影響は報告されなかった。肉眼検査および病理組織学的検査所見においても特記すべき所見はなかった (FDRL, 1962)。

ウサギ

5 匹のウサギに対して、カルミン酸リチウム塩の 2%~4% の水溶液の 3 ml~10 ml を、5 日間から 7 日間に 1 回の割合で、静脈内注射した。この処置を、130 日~529 日の種々の期間継続した。その結果、腫瘍は観察されなかったが、脾臓組織の大幅な増殖が認められた (Harada, 1931)。

長期試験

ラット

カルミンを飼料に混ぜて、66 匹の雄ラット群と 66 匹の雌ラット群に対して、1 日当り 50、150、500 mg/kg 体重の摂取量で、8 週間にわたって毎日与えた。114 匹の雄ラットと 114 匹の雌ラットからなる群に対しては、対照群として、基本的な食餌を与えた。この投与を、各雌ラットが同じグループの雄と交配し、妊娠し、さらに、産まれた児を育てる期間にわたって継続した。産まれた児ラットから、同じ用量を投与するための 54 匹の雄群と 54 匹の雌群を用意し、また、対照群としての 90 匹の雄と 90 匹の雌も用意した。各ラットに対するその投与を、親ラットに対する投与と同じく実施して、どれか 1 つのグループの生存率がおおよそ 20% に到達するまで、その投与を継続した。この結果、108 週目まで生存する雄と、109 週目まで生存する雌を得ることができた。1 日あたり 500 mg/kg 体重量までの摂取において、ラットの生存、成長、あるいは摂餌量と摂水量に有害影響をもたらさなかった。

若干のラットから、3、6、12、18 ヶ月に採取した血液試料と、全ての生存ラットから採取した血液試料は、投与と結びつくような何の変化も示さなかった。同様に、投与に関する変化は、3、6、

to provide groups of 54 males and 54 females given the same dose levels of carmine or 90 males and 90 females in a control group. The treatment for each animal was the same as that of its parents and continued until any one of the groups reached approximately 20% survival. This resulted in the surviving males being killed in week 108 and the females in week 109. Feeding diets to provide intakes of up to 500 mg/kg bw per day did not adversely affect the survival of the rats, their growth or intakes of food and water.

Samples of blood taken at 3, 6, 12 and 18 months from some of the animals and from all survivors showed no changes which could be associated with treatment. Similarly, no treatment-related changes were found in renal concentration tests and semi-quantitative analysis of urine at 3, 6, 9, 12 and 18 months or in serum chemistry and organ weights at the end of the study.

The incidence of tumours was not affected by treatment and most of the non-tumour pathology could not be associated with treatment. There were more females with mammary gland acinar hyperplasia and duct ectasia in all treated groups than in controls and more with mild changes of the stomach at the 2 higher doses. There was a small increase in the incidence of animals with vaginitis or lymph node oedema affecting the high dose females and distended hepatic sinusoids in the high dose males. None of these findings were considered to be due to treatment. It is concluded that carmine administered to rats in utero and to 20% survival is not carcinogenic and that the no-untoward-effect level is 500 mg/kg bw per day (Ford et al., 1981).

Comments

Several mutagenic studies using microorganisms both in vitro and in host-mediated assay provide no evidence for potential genotoxicity for carminic acid.

A teratogenicity study in which ammonium carmine was administered by gastric intubation to pregnant rats did not show the findings of earlier studies in which sodium or lithium carmines were injected i.p. in pregnant mice. There were no significant effects on reproduction, embryotoxicity, teratology or development when ammonium carmine was administered in the diet to rats over 3 generations. Furthermore, a long-term study in rats with ammonium carmine using animals exposed in utero indicated that this compound is not carcinogenic.

The results of a short-term study in rats fed ammonium carmine for 90 days at doses up to 10 g/kg failed to show toxic effects.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 500 mg/kg bw in the diet.

Estimate of acceptable daily intake for man

0-5 mg/kg bw.

The ADI includes ammonium carmine or the equivalent of calcium, potassium or sodium salts.

REFERENCES

Battelle Memorial Institute (1962) Unpublished report submitted to WHO

9、12、18 ヶ月に採取した尿の腎濃縮試験、および尿の半定量分析においてもみられず、また、試験の終点における血液生化学検査および器官重量においてもみられなかった。

腫瘍の発生率は、投与によって影響をうけなかったし、さらに、腫瘍ではない病変も、投与と結びつく可能性はなかった。乳腺の腺房細胞過形成および腺管拡張のある雌の数が、対照群に比較して、全投与群で多かった。また、胃の軽度の変化が 150 mg/kg 体重と 500 mg/kg 体重の投与群により多かった。高投与量の雌では、膣炎あるいはリンパ節浮腫、および、高投与量の雄では、拡張した肝類洞のラットの発生数に微増があった。これらの所見は、投与に起因するとは見なされなかった。ラットに対してカルミンを胎内で投与され、20%生存では、発がん性はなく、さらに、有害影響のない用量レベル no-untoward-effect level が 1 日当り 500 mg/kg 体重量であると結論している (Ford ら、1981)。

コメント

微生物を使った *in vitro* および宿主介在性の種々の変異原性試験では、いずれもカルミン酸の遺伝毒性の証拠はみられなかった。

妊娠ラットに対して、カルミン・アンモニウム塩を胃内挿管法により強制投与して、催奇形性について検討した結果、以前に報告されたような、妊娠マウスに対するカルミンのナトリウム塩、またはリチウム塩の腹腔内注射により見出された所見を確認することができなかった。ラットに対する 3 世代を超えて実施されたカルミン・アンモニウム塩の混餌投与によっても、生殖、胎児毒性、催奇形性、または発生に対する明確な影響が見出されなかった。これらに加えて、カルミン・アンモニウム塩に胎内暴露したラットの長期実験からも、本化合物には、発がん性がないことが示された。

ラットにカルミン・アンモニウム塩を 90 日間にわたり、10 g/kg までの投与量で混餌投与した短期試験の結果では、何ら毒性作用を示さなかった。

評価

毒性学的影響を引き起こさないレベル

ラット：餌中 500 mg/kg 体重量。

ヒト許容 1 日摂取量 (ADI) の積算

0 - 5 mg/kg 体重量

この ADI には、カルミン・アンモニウム塩のほか、カルシウム塩、カリウム塩、またはナトリウム塩の相当量が含まれる。

参考文献

左頁参照

- Barale, R. et al. (1978) Evaluation of potential mutagenic activity of carminic acid. In: Galli, C. L., Paoletti, R. & Vettorazzi, G., eds, Proceedings of the International Symposium on Chemical Toxicity of Food, Elsevier, North Holland Biomedical Press
- Brown, J. P. & Brown, R. J. (1976) Mutagenesis by 9,10-anthraquinone derivatives and related compounds in Salmonella typhimurium, Mutation Res., 40, 203-224
- Brown, J. P., Roehm, G. W. & Brown, R. J. (1977) Mutagenicity testing of certified food colours and related azo, xanthene and triphenylmethane dyes with Salmonella/microsome system, Environ. Mutagen Soc. 8th Ann. Meet., Abst. p. 33
- Food and Drug Research Laboratories (1962) Unpublished report submitted to WHO
- Ford, G. P. et al. (1981) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO. Long-term study in rats with carmine of the cochineal using animals exposed in utero, Report, 230/1/81
- Gaunt, I. F., Clode, S. A. & Lloyd, A. G. (1976) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO. Studies of teratogenicity and embryotoxicity of carmine in the rat, Report, 162/1/76, July 1976
- Grant, D., Conning, D. M. & Hawkins, R. I. (1979) Unpublished report from B.I.B.R.A., submitted to WHO. Multigeneration toxicity studies in rats with carmine of cochineal, Report, 230/1/79, December 1979
- Harada, M. (1931) cited by Hartwell, J. L.: Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity, 2nd ed., 1951, p. 118
- Haveland-Smith, R. B. & Combes, R. D. (1980) Screening of food dyes for genotoxic activity, Foods Cosmet, Toxicol., 18, 215-221
- Kada, T., Tutikawa, K. & Sadaie, Y. (1972) In vitro and host-mediated rec-assay procedures for screening chemical mutagens and phloxine, a mutagenic red dye detected, Mutation Res., 16, 165-174
- Lloyd, A. G. (1980) Extraction and chemistry of cochineal, Food Chem., 5, 91-107
- Meloan, S. N., Valentine, L. S. & Puchtler, H. (1971) Histochemie, 27, 87
- Sarkany, R. H., Meara, R. H. & Everall, J. (1961) Cheilitis due to carmine in lip salve, Trans. St. John's Hosp. dermat. Soc. (Lond.), 48, 30-40
- Schluter, G. (1970) Uber die embryotoxische Wirkung von Carmin bei der Maus (Embryotoxic action of carmine in mice), Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 131, 228-235
- Schluter, G. (1971a) Effects of lithium carmine and lithium carbonate on the pre-natal development of mice, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak., 270, 56-64
- Schluter, G. (1971b) Time-response relationship of embryotoxic effects of lithium carmine in mice, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak., 270, 316-318

左頁参照

WHO FOOD ADDITIVES SERIES 46: COCHINEAL EXTRACT, CARMINE, AND CARMINIC ACID

*First draft prepared by
Dr J. B. Greig
Food Standards Agency
London, United Kingdom*

Explanation

Biological data

Allergenicity in humans

Occupational exposure

Dermal exposure

Exposure via food and drink

Studies relevant to the determination of the prevalence of allergy to carmine of cochineal

Comments

Evaluation

References

1. EXPLANATION

Cochineal extract is obtained from the dried bodies of female *Dactylopius coccus* Costa insects (cochineal). The extract is used directly in food and is also processed further to carmines. Specifications exist for cochineal extract and carmines, both of which contain carminic acid as the colouring principle. The Committee evaluated cochineal extract at its eighteenth and twenty-first meetings but did not allocate an ADI (Annex 1, references 35 and 44). It evaluated carmines at its twenty-first, twenty-fifth, and twenty-sixth meetings (Annex 1, references 44, 56, and 59). At its twenty-sixth meeting, it allocated an ADI of 0–5 mg/kg bw for carmines, as ammonium carmine or the equivalent of calcium, potassium or sodium salts. It did not reconsider this ADI at its present meeting but responded to a request from the Codex Committee on Food Additives and Contaminants (Codex Alimentarius Commission, 2000) to consider the potential allergenicity of cochineal extract, carmine and carminic acid, collectively referred to in this report as ‘cochineal colours’.

At its fifty-third meeting (Annex 1, reference 143), the Expert Committee considered the report of an ad hoc Panel on Food Allergens that had been convened to consider issues relating to the allergenicity of foodstuffs. The Panel identified criteria for adding foodstuffs to the list of common allergenic foods developed by the Codex Committee on Food Labelling, if such additions were necessary. The Expert Committee, at its fifty-third meeting, concluded that these criteria form a

WHO FOOD ADDITIVES SERIES 46: COCHINEAL EXTRACT, CARMINE, AND CARMINIC ACID

First draft prepared by

Dr. J. B. Greig

Food Standards Agency

London, United Kingdom

説明

生物学的データ

人間のアレルギー発現性

職業上の曝露

皮膚曝露

食物と飲料からの曝露

コチニールのカルミンによるアレルギー罹患率決定に関連する研究

解説

評価

参考文献

1. 説明

コチニール抽出物は雌の *Dactylopius coccus* Costa 虫の乾燥した生体から得られる。(Cochineal) 抽出物は直接、食物に使われるし、更にカルミンにも加工される。コチニールとカルミンの仕様規格が在り、両方とも色素成分としてカルミン酸を含む。委員会は第18回と第21回会議でコチニール抽出物を評価したが、一日当たりの許容摂取量 (ADI) を割り当てなかった。(Annex 1, references 35, and 44) 委員会は第21回、第25回と第26回の会議でカルミンを評価した。

(Annex 1, references 44, 56, and 59) 第26回会議で委員会はカルミンアンモニウム、カルシウムやカリウムやナトリウムの塩類の当量として $0-5 \text{ mg/kg bw}$ のカルミンの ADI を割り当てた。委員会は今回の会議でこの ADI を考慮しなかったが、コチニール抽出物、カルミンとカルミン酸の潜在のアレルギー発現性を考慮する事を Codex 委員会—Codex Committee on Food Additives and Contaminants (Codex Alimentarius Commission, 2000)—の依頼に応え、この報告書に「コチニール色素」として一まとめにして言及した。

第53回会議(Annex 1, reference 143)にて、食料品のアレルギー発現性に関する問題を考慮する為に食物アレルゲンについて会合されていた特別パネル・ディスカッションの報告書を専門委員会は考慮した。仮に基準の追加の必要があればと、パネル・ディスカッションでは Codex committee on Food Labeling が割り出した通常アレルギー誘発食物のリストに食料品を加えた基準を明らかにした。第53回会議にて、専門委員会はこれらの基準が食物と食物加工品のアレルギー発現性を示す適切な主成分を構成すると結論付けた。要約では、通常アレルギー誘発性食物の Codex リストに食料品追加分として必要になった基準は：

suitable basis for addressing the allergenicity of food and food products. In summary, the criteria that are required for the addition of a foodstuff to the Codex list of common allergenic foods are:

- (i) the existence of a credible cause-and-effect relationship, based on a positive reaction to a double-blind placebo-controlled food challenge or unequivocal reports of a reaction with the typical features of a severe allergic or intolerance reaction;
- (ii) reports of systemic reactions following intake of the foodstuff; and,
- (iii) ideally, data on the prevalence of food allergies in children and adults in the general populations of several countries or, alternatively, data on the comparative prevalence of a specific food allergy in groups of patients in several countries.

2. BIOLOGICAL DATA

2.1 Special studies of allergenicity in humans

A review of the allergenic properties of food colours of natural origin was submitted for consideration to the Committee (Lucas et al., 2000).

2.1.1 Occupational exposure

Asthma due to occupational exposure to carmine has been described in two men, aged 36 and 54, one of whom extracted carmine from the insects; the other worked with carmine as a cosmetic colouring agent. The results of skin prick tests on both patients with carmine and common aeroallergens were negative, and radioallergosorbent tests did not identify specific antibodies to an extract of *Dactylopius coccus* in the serum from the cosmetics worker. The results of bronchial provocation testing of both patients with cochineal extract were positive. Oral challenge of the first patient with cochineal (1 ml diluted with 100 ml water) resulted in severe abdominal pain after 4 h and a 16% decrease in lung function (forced expiratory volume in 1 min, FEV1) after 11 h. The second patient was challenged with Campari (100 ml) and experienced early and late asthmatic reactions with decreases in FEV1 of 15% after 45 min and 18% at 4.5 h. The condition of both patients improved with avoidance of carmine, but exercise-induced asthma persisted (Burge et al., 1979).

A man aged 30 had used carmine in the preparation of chorizo for 3 months when he developed severe asthma necessitating hospitalization. The results of skin tests with aeroallergens were negative, but he had eosinophilia and an elevated serum immunoglobulin (Ig) E concentration. Challenge in a chamber resulted in severe bronchospasm and a 38% fall in peak expiratory flow rate 4 h after exposure. The asthma recurred when he resumed work and ceased when he stopped (Lenz et al., 1983).

One woman and two men aged 36-54 employed in the food industry and working with carmine of cochineal developed respiratory problems after periods of employment of between 2 months and 10 years. None had a prior history of atopy or respiratory disease. The woman presented with asthma, rhinitis, cough, and dyspnoea on exercise, and these symptoms were exacerbated when she handled carmine and improved when she was hospitalized. The results of skin tests to common aeroallergens were negative, as was that of a skin prick test to a solution of carmine. Although no carmine-specific IgE was found by radioallergosorbence, a dose-dependent liberation of histamine was found in the presence of carmine. One of the men presented with cough and asthmatic crises precipitated by handling carmine, which resolved during leave from the workplace. The result of a skin scratch test with carmine powder was positive, and exposure to carmine in a chamber resulted in a fall in the peak expiratory flow rate of 65% within 2 min, necessitating emergency treatment. The second man,

- (i) 二重盲式偽薬プラシーボ管理下の食物抗原投与反応が陽性反応であるか、極度なアレルギー誘発性の典型的様相を伴う反応の決定的な報告があるか、過敏反応かを基礎とした信頼できる因果関係の存在；
- (ii) 食物摂取に伴う体系的な反応の報告；そして、
- (iii) 理想的には、数カ国の一般集団の子供と成人のアレルギー罹患率のデータか、又は、数カ国の患者グループの特別な食物アレルギーの相対的罹患率のデータ。

2. 生物学的データ

2. 1 人間のアレルギー発現性の特別研究

自然原物の食物色素のアレルギー特性の再検討は委員会に考慮課題として提起されている。
(Lucas 他、2000)

2.1.1 職業上の曝露

虫からカルミンを抽出する男性と化粧品の色素剤としてカルミンを扱って働いていたもうひとりの男性の36歳と54歳のふたりの男性に職業上のカルミン曝露による喘息が述べられている。カルミンと通常空気アレルギーでの両患者の皮膚刺テストの結果は陰性であった、化粧品の労働者の血清中の放射アレルギー吸収剤テストでは *Dactylopius coccus* の抽出物に特別な抗体を認めなかった。コチニール抽出物の両者の気管支刺激テストの結果は陽性だった。コチニール(100 ml 水で1 ml 希釈)の最初の患者への経口抗原投与は4時間後に腹部激痛の結果になり、11時間後に肺機能(強制排気量毎分、FEV1)の16%減少の結果になった。次の患者はカンパリリキュール(100 ml)を抗原投与されて45分後に15%のFEV1の減少で喘息反応を初期に起こし、4.5時間後に18%のFEV1の減少で喘息反応をその後を起こした。両者の状態はカルミン投与の回避で良くなったが、運動誘導喘息がしつこく繰り返された。(Burge 他、1979)

30歳の男性は入院が必要なひどい喘息になった時にはその前に3ヶ月間チョリソソーセージに調合するカルミンを使用していた。空気アレルギー皮膚テストの結果は陰性だったが、好酸球増加症を起こし、血清の免疫グロブリンE (IgE) の濃度を上げた。肺気房にした抗原投与はひどい気管支痙攣(けいれん)を起こして曝露4時間後に、最高呼気流比率38%の減少を起こした。喘息は仕事を再開すると再び起き、仕事を止めると止んだ。(Lenz 他、1983)

食品産業で働き、コチニールのカルミンを扱って働いている36歳から54歳の間の女性ひとりと男性ふたりは2ヶ月から10年の雇用期間後に呼吸の問題症状を起こしていた。この人達誰もアトピーや呼吸器官の病気は持ってなかった。ひとりの女性は喘息、鼻炎と呼吸困難を運動中に起こした、そして、彼女がカルミンを扱った時にはこれらの症状が悪化した、入院すると改善した。カルミン液剤の皮膚刺テストの結果が陰性であった様に通常空気アレルギー皮膚テストの結果も陰性であった。放射アレルギー吸収剤にはカルミンの特異免疫グロブリンE (IgE) は見つからなかったが、ヒスタミンの投与依存遊離がカルミン存在中に見つかった。咳と喘息発症を起した男性のひとりカルミンを取り扱って突然悪化した、そして、この症状は職場の休暇期間に再回復をした。カルミン粉での皮膚刺テストの結果は陽性であった、そして、肺気房の中のカルミン曝露は2分以内に65%の最高呼気流比率の落下になった、そして緊急治療を必要とした。食品色素を扱う仕事を2ヶ月間だけしていた2番目の男性は入院を必要とする気管支痙攣の症状の発現を数々、体験した。カルミン粉での皮膚刺テストの結果は陽性であった、そして、肺気房の中のカルミン曝露は10分以内に43%の最高呼気流比率の落下になった(Tenabene 他、1987)

who had worked with food colours for only 2 months, had several episodes of bronchospasm necessitating hospitalization. The result of a skin scratch test with carmine powder was positive, and exposure to carmine in a chamber resulted in a fall in the peak expiratory flow rate of 43% within 10 min (Tenabene et al., 1987).

Subsequently, a sales manager in the same company at which two of the patients described above had worked experienced recurrent episodes of spasmodic cough, followed 2-4 h later by an influenza-like syndrome. The episodes occurred over a period of 2 years, only on those days when carmine was used. The result of skin prick testing with carmine powder was negative, and the results of tests for lung function and a chest radiograph were normal in the absence of exposure. No immediate reaction occurred on challenge with 25% carmine powder mixed with lactose, but after 2 h the patient experienced coughing and decreased lung function. He complained of nausea and vomiting 3 h after exposure, and these symptoms were maximal 4 h later. His body temperature rose to 39 °C, crackles (râles) were heard in the chest, and chest radiographs showed a slight basal interstitial infiltrate. Two serum precipitin bands against carmine were found by immunodiffusion. The authors suggested that carmine was strongly implicated as the cause of allergic alveolitis in this patient (Dietemann-Molard et al., 1991).

Workers involved in the production of carmine, annatto, and curcuma (turmeric) were investigated for allergy to the colours. The group included nine current workers (four men and five women aged 17-40) and one former worker (a man aged 23). The materials used in the study were a cochineal extract, carmine prepared from cochineal extract (containing 52% carminic acid), and commercially available carminic acid. The responses to a questionnaire revealed that two current employees at the factory had work-related symptoms of rhinitis and, in one case, of asthma. The former employee, who had been affected by carmine-induced asthma and rhinitis, had been symptom-free since leaving the workforce. The basal peak expiratory flow rates of all the workers were within normal limits, but the serial rates of the worker with asthma dropped significantly from baseline values with greater variability on the days he worked with carmine. This man showed bronchial hyperresponsiveness to methacholine, and the responses to bronchial provocation tests were positive (> 20% fall in FEV1) with both carmine and cochineal extract but not with carminic acid or annatto. Three control subjects with asthma did not react in bronchial provocation tests to the highest concentrations of cochineal extract or carmine. The results of skin prick tests with cochineal extract and carmine were positive in only the three subjects who had work-related symptoms. No reactions were observed in any of the employees in skin prick tests with curcuma, annatto, or common aeroallergens. Comparison groups comprising 15 unexposed atopic individuals and 15 unallergic patients did not react to cochineal or carmine. None of the employees was atopic, and only one had a family history of atopy. Although IgG antibodies specific to cochineal and carmine were found in all the employees surveyed, only the individual with current work-related asthma had specific IgE antibodies to cochineal and carmine; the result of a radioallergosorbent test of his serum to a carminic acid-human serum albumin conjugate was negative. Competitive radioallergosorbence with cochineal and carmine and with fractions of these substances separated on the basis of relative molecular mass led the authors to conclude that this patient was sensitized to an antigen or antigens with a relative molecular mass of 10-30 kDa (Quirce et al., 1993, 1994).

A non-smoking, non-atopic 18-year-old man who had worked for 1 year weighing batches of carmine in the cosmetics industry was assessed for occupational asthma. Alterations in lung function and increased airway responsiveness to histamine were recorded after challenge in a chamber with lactose powder containing 3% carmine. The patient was unaware of the nature of the challenge, as lactose powder coloured with amaranth was used in the control trial (Durham et al., 1987; Graneek et al., 1988).

A non-atopic man aged 35 who had worked for 4 years in a spice warehouse reported asthma and rhinoconjunctivitis when handling carmine at work, which had started 5-6 months before his first visit to the clinic. Two weeks before that visit he had developed a systemic reaction, with

次に上記に述べられたふたりの患者が働いていた同じ会社の販売管理者は痙攣性咳の回帰症状発現の体験があり、2-4時間後にインフルエンザの様な症状が起きた。この発現症状は2年間の期間以上、カルミンが使われた当時の日々だけに生じた。カルミン粉での皮膚刺テストの結果は陰性であった、そして、肺機能と胸部レントゲンのテストは曝露が無い時には正常だった。ラクトースで混合した25%カルミン粉の抗原投与では即時の反応を起さなかったが、患者は2時間後に咳をし、肺機能を減退させた。曝露3時間後、嘔吐し、悪心を訴えた、そして、これらの症状は4時間後、一番ひどかった。彼の体温は39℃に上がり、胸から握雪音（パチパチ音）が聞こえた、そして、胸部レントゲンは少量の間質性浸潤物を写した。カルミンに対して血清沈降素帯状組織が免疫拡散法で見つかった。この患者にアレルギー性肺炎の原因としてカルミンが非常に関係していると著者は提案した。(Dietemann-Molard 他、1991)

カルミン、アナットと薑黄（きょうおう）（ターメリック）の生産に携わる労働者が色素アレルギーに関して調査された。九人の現役労働者（17歳から40歳の男性4人と女性5人）と前労働者（23歳の男性）から、グループは成る。研究に使われた物質はコチニール抽出物、コチニール抽出物から作られたカルミン（52%カルミン酸を含む）と市販で買えるカルミン酸だった。工場のふたりの現役被雇用者は職業病の鼻炎症状があり、ひとりには喘息症状があった。カルミン誘発性の喘息と鼻炎を罹っていた前被雇用者は仕事から離れてからは症状が無くなっていた。全ての労働者の基本的最高呼気流比率は正常限度以内であったが、喘息の有った労働者がカルミンを扱って仕事をした日々に起きた大きな変動を伴った基準線値から、彼の逐次比率データはかなり下がった。この男性はメタコリンに気管支過敏応答を示した、そして、カルミンとコチニール抽出物両方とカルミン酸とアナットは含まない気管支刺激テストの応答は陽性（FEV1で>20%減少）であった。喘息の3人の対照被験者はコチニール抽出物とカルミンの最高濃度の気管支刺激テストに反応しなかった。コチニール抽出物とカルミンの皮膚刺テストの結果は職業病のある3人の被験者にだけ陽性だった。薑黄、アナット、通常空気アレルギーの皮膚刺テストで被雇用者の誰からも反応は観察されなかった。15人の非曝露アトピー症被験者と15人の非アレルギー症患者からなる比較グループはコチニールとカルミンに反応しなかった。被雇用者の誰もアトピー症でなく、ひとりだけがアトピーの家族病歴があった。コチニールとカルミンの免疫グロブリンG（IgG）の特異性は検査された全ての被雇用者に見られたけれども、現在、職業病喘息を有した被験者ひとりだけがコチニールとカルミンに特異免疫グロブリンE（IgE）を示した；カルミン酸-人血清アルブミン結合による彼の血清の放射性アレルギー吸収剤テストの結果は陰性だった。コチニールとカルミンの拮抗的放射性アレルギー吸収剤と分子量レベルで別れたこれらの物質の分屑（ぶんせつ）の拮抗的放射性アレルギー吸収剤はこの患者が抗原や10-30 kDaの分子量を有した抗原に敏感になっていると著者に結論付けさせた。(Quirce 他、1993, 1994)

化粧品産業でカルミンの積荷を測定する仕事を一年間していた非喫煙者で非アトピーの18歳の男性は職業病喘息と判断された。肺機能とヒスタミンによる気道拡大反応の変化は3%のカルミンを含むラクトース粉で肺気房に抗原投与した後に記録された。アマランス染料で色付けしたラクトース粉が対照試験に使われたので、患者は抗原投与の素質に気が付かなかった。(Durham 他、1987; Graneek 他、1988)

カルミンを扱う仕事を始めて5-6ヶ月後に、最初の病院訪問が始まっていたスパイス倉庫で4年間働いていた非アトピー症の35歳の男性はカルミンを扱う仕事をしている時、喘息と鼻結膜炎を認めた。彼はその病院訪問の前の2週間、カルミン染料（E120）を含む甘味を取った後に、鼻結膜炎と呼吸困難を伴う身体反応が起きていた。肺機能のテストはカルミン曝露後、最高流比率で減少>25%を示した。コチニール虫とカルミンの皮膚刺テストの結果は陽性であった、しかし、通常空気アレルギー、数種類のダニ、食物とスパイスに関するテストの結果は陰性であった。コチニール抽出物の特異空気アレルギーの結果は二つの結果（FEV1で20%と24%の減少）で陽性だった。カルミンの経

rhinoconjunctivitis and dyspnoea, after eating a sweet containing a carmine dye (E120). Tests of lung function showed decreases > 25% in peak flow rate after exposure to carmine. The results of skin prick tests with the cochineal insect and carmine were positive, but those of tests with common aeroallergens, several mites, foods, and spices were negative. The result of a specific bronchial challenge test with a cochineal extract was positive, with a dual pattern (20% and 24% falls in FEV1). An oral challenge with carmine gave a positive response. The patient's serum contained specific IgE for various high relative-molecular-mass proteins from the cochineal extract, as shown by immunoblotting (Acero et al., 1998).

2.1.2 Dermal exposure

Three women aged 32-59, who reported soreness of the lips with cracking and bleeding, were found to react when their coloured lip salve was used for skin patch tests. Two of the women also reacted to an oil-soluble carmine preparation (Sarkany et al., 1961).

A 19-year-old regular soldier who volunteered to simulate a casualty in a military exercise had an anaphylactic reaction during application of make-up containing carmine red to his trunk and was transferred to emergency facilities. On examination, he was found to be shocked and confused, he had tachycardia, and his blood pressure was unrecordable. He recovered, but no follow-up was possible (Park, 1981).

Patients allergic to carmine in food or drink have reported reactions to carmine-containing cosmetic products (Kägi et al., 1994; Kägi & Wüthrich, 1996; Baldwin et al., 1997; DiCello et al., 1999).

2.1.3 Exposure via food and drink

A 34-year-old atopic woman had a severe anaphylactic reaction 15 min after drinking Campari with orange juice. After initial sneezing, rhinitis, and conjunctivitis, pruritus, urticaria, Quincke's oedema, dyspnoea, bronchospasm, chills, nausea, vomiting, and diarrhoea developed, requiring emergency treatment. The results of skin prick tests with Campari, the carmine dye (E120) used in the manufacture of Campari, and a commercially available carmine preparation were positive, but those of tests with extracts of common food allergens, including those from foods that the woman had eaten just before the anaphylactic reaction, were negative. She had previously experienced reactions to various carmine-containing cosmetic products, and the results of skin prick tests to these substances were positive. Specific IgE to carmine was not detected at the time of the anaphylactic reaction but only after 1 year, during which time she had suffered minor allergic episodes caused by the presence of undeclared colours in foodstuffs (Kägi et al., 1994; Kägi & Wüthrich, 1996).

The same group subsequently reported this case and four others that had been referred to them over 2 years. All the new patients were female (aged 25-43) and had drunk Campari with orange or Campari Bitter before experiencing either acute urticaria and angioedema (two cases) or an anaphylactic reaction requiring emergency treatment (two cases). Two of the four new patients had a history of atopic disease. All had positive responses in skin prick tests with Campari or the carmine used in its manufacture, but only one patient reacted to a commercially available carmine preparation. The results of specific skin prick tests were positive for camomile and celeriac (two cases) or mugwort (one case). Class 1 or 2 reactions were found in a radioallergosorbent test to carmine; in only one case was a positive response found in a radioallergosorbent test to a carminic acid-human serum albumin conjugate (Wüthrich et al., 1997).

A woman aged 35 presented to an emergency service with generalized urticaria, angioedema, and asthma that had begun 2 h after she had eaten a yoghurt containing carmine dye. She had experienced similar episodes after eating various red-coloured foods. The amount of carmine in the yoghurt was estimated to have been 1.3 mg. The results of skin prick tests with the same brand of yoghurt and with carmine powder were positive, as was that of a test for the release of histamine

口抗原投与は陽性反応を示した。患者の血清にはコチニール抽出物から免疫ブロット検出をして色々な高分子量蛋白質の特異免疫グロブリン E (IgE) が有った。(Acero 他、1998)

2.1.2 皮膚曝露

ひび割れ、出血した唇の痛みを訴えた 32-59 歳の 3 人の女性は自分達が使っていた色付唇用軟膏が皮膚貼付テストに使われた時、反応が見つかった。ふたりの女性は油溶性のカルミンの調合剤にも反応した。(Sarkany 他、1961)

軍事訓練で災害シミュレーションに志願した 19 歳の正規軍兵士は彼の胴体に紅カルミンを含むメーキャップ塗布の期間中に過敏反応を有した、そして、救急施設に移送された。診断の結果、ショック症状と錯乱状態が見つけられ、頻脈を伴い、血圧は記録できなかった。彼は回復したが、追跡調査はできなかった。(Park 他、1981)

食物と飲料の中のカルミンにアレルギー症状を示す患者はカルミンを含む化粧品製品に反応を示すと報告されている。(Kägi 他、1994; Kägi & Wüthrich 1996; Baldwin 他、1997; DiCello 他、1999)

2.1.3 食物と飲料からの曝露

34 歳のアトピー症の女性はオレンジジュースに混ぜたカンパリリキュールを飲んで 15 分後、過敏反応を有した。初期のくしゃみ、鼻炎、結膜炎、痒み症、蕁麻疹、クインケ浮腫、呼吸困難、気管支痙攣、悪寒、吐き気、嘔吐と下痢を展開し、救急処置を必要とした。カンパリリキュールとカンパリリキュールに使われているカルミン染料 (E120) と市販のカルミン製剤の皮膚刺テストは陽性だった、しかし、通常食物アレルゲン抽出物と女性が過敏反応の少し前に食べていた食物も含め、皮膚刺テストの結果は陰性だった。彼女は以前にカルミンを含む色々な化粧品製品に反応を示す体験をしていた。食料品の中の未知成分の色素の存在が原因であった軽症アレルギー症状発現を彼女は一年間体験していた、そのほんの一年間後の過敏反応の時期にカルミンの特異免疫グロブリン E (IgE) は検出されなかった。(Kägi 他、1994; Kägi & Wüthrich 1996)

この同じグループはこのケースと 2 年以上この状態を治療していた他の 4 件のケースを続いて報告した。新しい患者の全ては女性 (25-43 歳) だった、そして、急性蕁麻疹と浮腫 (2 件) か救急治療 (2 件) を必要とする過敏反応のどちらかを体験する前にオレンジかカンパリビターを混ぜたカンパリリキュールを飲んでいて、4 人の新患者はアトピー症の病歴があった。全ての患者がカンパリかカルミンを使った製品の皮膚刺テストで陽性だった、しかし、ひとりだけしか市販のカルミン剤には反応しなかった。カミルレ葉草と根用セロリ (2 件) やヨモギ (1 件) の特別な皮膚刺テストの結果は陽性だった。カルミンの放射性アレルゲン吸収剤テストで 1 級か 2 級反応が見られた；カルミン酸-人血清アルブミン結合の放射性アレルゲン吸収剤テストで 1 件だけが陽性反応だった。(Wüthrich 他、1997)

カルミン染料を含むヨーグルトを食べてしまったから 2 時間後に始まった全身に広がる蕁麻疹、血管浮腫と喘息で 35 歳の女性は救急科に現れた。彼女は色々な紅色の食物を食べた後、同じ症状発現を体験していた。ヨーグルトの中のカルミンの量は 1.3 mg あったと推定される。0.1 mg/ml のカルミン濃度でヒスタミンの 18% 放出の最大値を伴い、白血球からのヒスタミン放出の皮膚刺テストが陽性であったと同様に、ヨーグルトと同じ銘柄品とカルミン粉の皮膚刺テストの結果は陽性だった。(Beaudouin 他、1995) 「forest fruit」を含むヨーグルトの中のコチニールのカルミンの内容に関してフランスの食品産業から得られた情報からカルミンの量は推定された。(Moneret-Vautrin, 2000)

from leukocytes, with a maximum of 18% release of histamine at a concentration of carmine of 0.1 mg/ml (Beaudouin et al., 1995). The amount of carmine was estimated from information provided by the French food industry on the content of carmine of cochineal in a yoghurt containing 'forest fruits' (Moneret-Vautrin, 2000).

A 27-year old woman with a history of allergic rhinitis and positive responses to skin prick tests with various aeroallergens experienced an anaphylactic reaction requiring emergency treatment after eating a popsicle (iced lollipop) containing carmine. There was immediate onset of nausea, and pruritus, urticaria, and hypotension with tachycardia developed within 3 h. She reported having had a pruritic, erythematous eruption after applying a cosmetic containing carmine directly to the skin, which did not occur if the cosmetic was applied over a foundation make-up. This reaction was not reproduced in the clinic. The results of skin prick tests with the popsicle and a carmine preparation used in the manufacture of the popsicle were positive in the patient and negative in her husband. Twenty additional control subjects gave negative reactions to skin prick tests with the carmine preparation. None of the other ingredients of the popsicle elicited positive reactions in either skin prick tests or open oral challenge of the patient. Passive sensitization (Prausnitz-Küstner test) with the husband as recipient was used to demonstrate the presence of carmine-specific IgE in the patient's serum. Reactions did not occur at sites on the husband's arm which had been injected with heat-treated serum but did occur at sites injected with untreated serum (Baldwin et al., 1997).

The same group reported the cases of two non-atopic women aged 27 and 42 who had experienced anaphylactic reactions requiring emergency treatment after ingestion of, respectively, a carmine-containing yoghurt and Campari. Both had experienced reactions to foodstuffs and carmine-containing cosmetics on previous occasions. Positive reactions in skin prick tests to a dilution of carmine and to a carmine filtrate containing materials of relative molecular mass < 3 kDa were reported in both women; the results of skin prick tests to common aeroallergens were negative. The patients refused a double-blind placebo-controlled food challenge. Forty-two control subjects, of whom 29 were considered to be atopic, did not react to a skin prick test with carmine, and 10 control subjects, who may have comprised a separate group, did not react to a skin prick test with the carmine filtrate (DiCello et al., 1999).

The results of studies on the proteins in carmine that reacted with antibodies in the sera of three female patients who had experienced allergic reactions to carmine-containing foods were reported in an abstract. Two of these cases may not have been reported previously. Minced *Dactylopius coccus* insects retained a red colour after dialysis; after sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, several bands of relative molecular mass 23–88 kDa were recognized by sera from individual patients. The binding was inhibited by carmine. Similarly, three bands from dialysed carmine lake were detected by the sera of two of the three patients. The authors suggested that insect-derived proteins, possibly complexed with carminic acid, are responsible for allergy to carmine (Chung et al., 2000).

A 28-year old woman noted a disorder of the larynx 1 h after drinking a Campari from an unspecified company. One hour later she had irritation and oedema of the eyelids, which was followed by generalized urticaria, severe stomach ache, and diarrhoea. Similar symptoms had occurred on three previous occasions after consumption of strawberry-flavoured milk or red-coloured cocktails. The results of skin prick tests to the strawberry milk, the Campari, and a cochineal extract were positive (Kume et al., 1997).

A 35-year-old man who had developed asthma and rhinoconjunctivitis after handling carmine at work (see above) reported an asthmatic episode after ingestion of a red-coloured sweet containing carmine. The result of a double-blind oral challenge with E 120 was positive (Acero et al., 1998).

2.1.4 Studies relevant to the determination of the prevalence of allergy to carmine of cochineal

色々な空気抗原での皮膚刺テストが陽性でアレルギー性鼻炎の病歴を持つ27歳の女性はカルミンを含むポップシクル（アイス・キャンデー）を食べた後、救急治療を必要とした過敏反応を体験した。吐き気、痒み症、蕁麻疹と3時間以内に起きた頻脈を伴った低血圧症がすぐに始まった。彼女は肌に直接カルミンを含む化粧品を付けた後、痒い紅斑発疹ができた事があると報告した、そして、この発疹はファウンデーションを付けたなら、できなかった。この反応は臨床で再現されなかった。ポップシクルとポップシクル製造に使われるカルミン製剤の皮膚刺テストの結果は患者には陽性で彼女の夫には陰性であった。カルミン製剤の皮膚刺テストは20人の追加した対照被験者では陰性反応だった。皮膚刺テストや患者への開経口抗原投与のいずれにも、ポップシクルの他の含有物は陽性反応を誘発しなかった。被験者として夫にした受動感作（Prausnitz-Küstner test）テストは患者の血清中のカルミンの特異免疫グロブリンE（IgE）の存在を立証する為に使われた。熱処理した血清を注射した夫の腕の局部には反応が生じなかったが、未処理の血清を注射した局部では反応が起きた。（Baldwin 他、1997）

それぞれ、カルミンを含んだヨーグルトとカンパリリキュールのお酒の摂取の後、救急治療を必要とした過敏反応を体験した27歳と42歳のふたりの非アトピー症の女性の症例を同じグループが報告した。前の結果で食品とカルミンを含む化粧品にふたりは反応を体験していた。カルミン希釈液と分子量<3 kDaの物質を含むカルミン濾過液の皮膚刺テストの反応はふたりの女性では陽性だった；通常空気アレルゲンの皮膚刺テストの結果は陰性だった。患者達は二重盲式偽薬（プラシーボ）食物抗原投与を拒否した。29人がアトピー症と考えられる42人の対照被験者はカルミンの皮膚刺テストに反応しなかった、そして、別のグループになっていたらしい10人の対照被験者はカルミン濾過液の皮膚刺テストに反応しなかった。（DiCello 他、1999）

カルミンを含む食物にアレルギー反応を体験していた3人の女性患者の血清の抗体に反応したカルミンの中の蛋白質に関する研究結果は抄録に報告された。これらの2件は以前には報告されていないかもしれない。切り刻んだエンジ虫（*Dactylopius coccus*）は血液透析後に紅色素を保持した；ドデシル硫酸塩-ポリアクリル・ゲル電気泳動の後、23-88 kDa 分子量のバンドが数個、各患者の血清中に認められた。カルミンによってバインディングは抑制された。同様に、3人の患者のふたりの血清で透析したカルミン・レーキ顔料の3個のバンドが検出された。多分、虫が原因でカルミン酸と錯体された蛋白質がカルミンのアレルギーの原因であろうと著者は提案した。（Chung 他、2000）

28歳の女性は不特定会社のカンパリリキュールを飲んで1時間後に喉頭の変調を示した。1時間後、彼女は喉の刺激と浮腫ができ、その後、全身に広がる蕁麻疹、ひどい胃痛と下痢を起した。イチゴ風味の牛乳や紅色のカクテルの摂取後、同様な症状が3件の前の場合に起きていた。イチゴミルク、カンパリとコチニール抽出物の皮膚刺テストの結果は陽性だった。（Kume 他、1997）

職場でカルミンを取り扱った後、喘息と鼻結膜炎になっていた35歳の男性（上記参照）はカルミンを含む紅色の甘味を食べた後、喘息症状発現を示した。E120（カルミン染料）の二重盲式経口抗原投与は陽性であった。（Acero 他、1998）

2.1.4 コチニールのカルミンによるアレルギー罹患率の決定に関連する研究

Six food colours (including carminic acid), sodium benzoate, aspirin, and penicillin were tested in vitro in an antigen stimulation test with lymphocytes from two groups of patients. The control group comprised 48 hospital patients with non-allergic clinical conditions; the test group included 36 patients with urticaria or chronic Quincke's oedema of unknown cause from a group of 61 patients presenting with these conditions. One of the lymphocyte preparations from 21 control patients and 7 of 34 preparations from the test group were stimulated by the addition of carminic acid. The results of skin tests with carminic acid were positive in 10 of 34 test patients, and five of these subjects also had positive reactions in the lymphocyte stimulation test. Four of the five subjects with positive responses in both the stimulation and skin tests who were challenged sublingually with carminic acid reacted with at least a simple pruritic reaction (Fernandes et al., 1977).

Twelve atopic and 12 non-atopic individuals, comprising four men and 20 women, with a diagnosis of irritable bowel syndrome of no demonstrable organic origin and with symptoms that had persisted for between 8 months and 13 years were asked to adhere to an allergen exclusion diet. After 3 weeks, other foods were reintroduced singly or in series. If the reintroduction resulted in exacerbation of symptoms, the foods were withheld for 1 or 2 weeks and then reintroduced. Provocation tests were conducted in individuals who reported exacerbation at the second reintroduction. Serum IgE concentrations were measured and skin prick tests were performed with common aeroallergens, six food additives, and 18 food antigens; no radioallergosorbent test was performed with food additives. Only one non-atopic patient responded to exclusion of carminic acid (and erythrosine) from the diet. The result of the skin prick test with carminic acid was negative, as was the challenge. One atopic individual had a positive reaction in a skin prick test with carminic acid (Petitpierre et al., 1985).

A register of cases of fatal anaphylaxis in the United Kingdom (Pumphrey, 2000a), which contains over 200 cases more than 50 of which are attributable to food allergy, contains none attributed to carmine or cochineal. However, the cause of the anaphylactic reaction has not been determined for some cases (Pumphrey, 2000b).

Carmine or cochineal is reported to have been used in medicinal products. A request to the United Kingdom's Medicines Control Agency for reports of adverse reactions to carmine received the following response: "At the time of writing, the Committee on Safety of Medicines/Medicines Control Agency have received no reports of suspected Adverse Drug Reactions associated with the colourant carmine." (Committee on Safety of Medicines, 2000).

A group of 903 patients with food allergy or intolerance have contributed to the database of the Cercle d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire in France. Of these, 5.5% had an intolerance to food additives, and of these eight cases corresponded to an intolerance to food colours. Only one case of the eight was attributable to carmine or cochineal (Moneret-Vautrin, 2000). Although this information is possibly indicative of a low incidence of allergy to carmine or cochineal, the Committee considered that it cannot be used to estimate the prevalence of this allergy.

3. COMMENTS

Adverse reactions to cochineal colours after occupational exposure, dermal contact, or consumption of coloured food and drinks have been the subject of case reports. The reported effects were the consequence of allergic reactions, and the involvement of an immunologically mediated mechanism has been demonstrated. The nature of the adverse reactions, e.g. urticaria, rhinitis, diarrhoea, and anaphylaxis, provides clear evidence that systemic reactions can follow exposure of a sensitized individual to cochineal colours. Some of the adverse reactions were severe and required emergency treatment. The weight of evidence suggests that proteins in the food colours are the allergenic species; however, the structures of the proteins and the role of protein-bound carminic acid in the allergic reaction are unknown. The Committee considered that the first two criteria for the addition of a foodstuff to the Codex list of allergenic foods were satisfied.

6種類の色素（カルミン酸を含む）、安息香酸ナトリウム、アスピリンとペニシリンが試験管内で2組の患者グループからのリンパ球で抗体刺激テストをされた。対照グループは非アレルギー症状状態の48人の病院患者からなる；試験グループは蕁麻疹か原因不明の慢性クウィンケ浮腫を持つか両方の症状を持つ61人の患者のグループからの36人の患者からなる。21人の患者からのリンパ球標本1個とテストグループからの34個の標本の内、7個のリンパ球標本は、カルミン酸の追加で刺激された。カルミン酸の皮膚テストの結果は34人のテスト患者の内、10人が陽性だった、そして、これらの被験者の内、5人はリンパ球刺激テストでも陽性反応を示した。カルミン酸を舌下に抗原投与されてリンパ球刺激と皮膚テストで陽性反応を持つ5人の被験者の内、4人は少なくとも単純な痒み症の反応を示した。(Fernandes 他、1977)

明らかに証明できない生まれつきの原因の刺激性便通症状の診断があり、8ヶ月から13年間しつこく繰り返していた症状を持つ4人の男性と20人の女性からなる12人のアトピー症の人と12人の非アトピー症の人々はアレルギー無しの食事を取る事に固執する様に求められた。再外来で症状悪化の結果になった時は、1週間か2週間、その食物を控えて、その後、外来した。刺激テストは2回目の外来で悪化を示した人々に行われた。血清免疫グロブリンE (IgE) 濃度が測られ、通常空気アレルギー、6種類の食品添加物と18種類の食物抗原で皮膚刺激テストが行われた；放射性アレルギー吸収剤テストは食品添加物では行われなかった。非アトピー症のひとりだけが食事からのカルミン酸（及びエリトリン食品染料）を含まない物に反応した。カルミン酸の皮膚刺激テストの結果は陰性だった、抗原投与も同様だった。アトピー症のひとりではカルミン酸の皮膚刺激テストで陽性反応を示した。(Petitpierre 他、1985)

食物アレルギーに帰因する50件の症例よりも多い200件以上有ったイギリス (Pumphrey 2000a) で起きた致死過敏症の症例の記録にはコチニールのカルミンに帰因す症例は無かった。然しながら、過敏反応の原因は数症例の場合、結論がでていないでいる。(Pumphrey 2000b)

コチニールのカルミンは医薬品に使われていると報告される。カルミンの有害反応の報告に関して United Kingdom's Medicines Control Agency への依頼文報告書は次の様に答えた；「これを書いている現時点において、The Committee on Safety of Medicines /Medicines Control Agency は着色料カルミンに関連する疑わしい有害医薬反応の報告は受けてないでいる。」(Committee on Safety of Medicines, 2000)

食物アレルギー症があるか耐性がある903人の患者からなるグループは Cercle d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire in France のデータベースに貢献している。この人々の内、5.5%が食品添加物に耐性を示し、そして、8件のケースで食物色素の耐性に相当した。8件の内、1件だけがコチニールのカルミンに帰因した。(Moneret-Vautrin, 2000) この情報はコチニールのカルミンによるアレルギー発生の数少ない事例を示し得るけれども、委員会はアレルギー罹患率を推定するのには使えないと考えた。

3. 解説

職業上の曝露、皮膚接触、有色食物や有色飲料の消費後のコチニール色素の有害反応が症例報告の主題になっている。報告された影響はアレルギー反応の結果であった、そして免疫学的に影響したメカニズムの連繋が証明されている。全身反応がコチニール色素に感作した人の曝露に続き得ると、曝露有害影響の素質、例えば、蕁麻疹、鼻炎、下痢と過敏症は明らかな証拠を与えている。いくつかの有害影響は致命的で救急治療を必要とした。食物色素の中の蛋白質がアレルギー種であると証拠の重要性が暗示している；然しながら、蛋白質構造とアレルギー反応に置ける蛋白質とカルミン酸結合の役割は不明である。アレルギー性食物の Codex リストに食料品を追加する為の最初の二つの基準は条件を満たしていると委員会は考えた。

The data on allergic reactions to food and drinks containing the cochineal colours are derived predominantly from case reports. Although tests on control groups of patients were reported, in general the studies were not designed so as to allow estimation of the incidence or prevalence of allergy to the cochineal colours in the general population. Additional data were available that suggested that sensitization to the cochineal colours is rare, but the data did not allow estimation of even comparative prevalence rates between countries, and the third criterion for the addition of a foodstuff to the Codex list of allergenic foods was not satisfied.

Cochineal colours are present in many foods and drinks. The quantity of the cochineal colours that provoked an adverse reaction in an individual was estimated in only one study. Because the occurrence and severity of an allergic reaction after ingestion of a specific amount of cochineal colours depends on the sensitivity of each atopic individual, the Committee concluded that estimates of the long-term intake of these colours in a population were irrelevant to its deliberations.

4. EVALUATION

The Committee concluded that cochineal extract, carmines, and, possibly, carminic acid in foods and beverages may initiate or provoke allergic reactions in some individuals. Because some of the adverse reactions are severe, it considered that appropriate information, for example noting the presence of the colour in foods and beverages, should be provided to alert individuals who are allergic to these compounds.

5. REFERENCES

Acero, S., Tabar, A.I., Alvarez, M.J., Garcia, B.E., Olaguibel, J.M. & Moneo, I. (1998) Occupational asthma and food allergy due to carmine. *Allergy*, **53**, 897–901.

Baldwin, J.L., Chou, A.H. & Solomon, W.R. (1997) Popsicle-induced anaphylaxis due to carmine dye allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **79**, 415–419.

Beaudouin, E., Kanny, G., Lambert, H., Fremont, S. & Moneret-Vautrin, D.A. (1995) Food anaphylaxis following ingestion of carmine. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **74**, 427–430.

Burge, P.S., O'Brien, I.M., Harries, M.G. & Pepys, J. (1979) Occupational asthma due to inhaled carmine. *Clin. Allergy*, **9**, 185–189.

Chung, K., Chou, A., Baker, J., Jr & Baldwin, J. (2000) Identification of carmine allergens among three carmine allergy patients [Abstract]. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **105**, S132.

Codex Alimentarius Commission. *Report of the Thirty-first Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, The Hague, 22–26 March 1999.* Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000 (unpublished FAO document ALINORM 99/12A; available from FAO or WHO).

Committee on Safety of Medicines (2000) Unpublished information submitted to WHO in letter dated 12/05/2000 from V. Newbould, ADROIT Pharmacovigilance Group, Medicines Control Agency, London, United Kingdom.

DiCello, M.C., Myc, A., Baker, J.R., Jr & Baldwin, J.L. (1999) Anaphylaxis after ingestion of carmine colored foods: Two case reports and a review of the literature. *Allergy Asthma Proc.*, **20**, 377–382.

Dietemann-Molard, A., Braun, J.J., Sohler, B. & Pauli, G. (1991) Extrinsic allergic alveolitis

コチニール色素を含む食物と飲料のアレルギー反応のデータは主に症状報告を元になっている。対照グループのテストが報告されたけれども、事例の推定や一般集団のコチニール色素のアレルギー症罹患率を認定する為にはこの研究は概括的に計画されなかった。コチニール色素の感作は稀と暗示する特別なデータはある、しかし、そのデータは各国ごとに比較する罹患率の推定すら認定しなかった、そして、アレルギー食物の Codex リストに食料品を追加する第三番目の基準が満たされていなかった。

コチニール色素は多くの食物と飲料に存在する。個人に有害反応を起したコチニール色素の量は1件の研究にしか推定されなかった。何故なら、コチニール色素の特定の量の食物摂取後のアレルギー反応の発現とひどさの程度は各アトピー症の個人の感度に因るので、委員会は集団によるこれらの色素の長期摂取の推定は委員会の討議に不適切と結論付けた。

4. 評価

食物と飲料の中のコチニール抽出物、カルミンとおそらくカルミン酸が幾人かの人々にアレルギー反応を開始したり、起したりするかもしれないと委員会は結論付けた。何故なら、有害反応の幾つかはひどかったので、これらの化合物がアレルギーである人々に警告する為に、適切な情報、例えば、食物や飲料に色素の存在を注記する事を提供すべきだと委員会は考えた。

5. 参考文献

左頁参照

secondary to carmine [Letter]. *Lancet*, **338**, 460.

Durham, S.R., Graneek, B.J., Hawkins, R. & Newman Taylor, A.J. (1987) The temporal relationship between increases in airway responsiveness to histamine and late asthmatic responses induced by occupational agents. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **79**, 398–406.

Fernandes, B., Figueiredo, E. & Girard, J.P. (1977) [Studies of several food additives as aetiological factors for chronic urticaria and angioedema]. *Rev. Fr. Allergol.*, **17**, 127–131.

Graneek, B.J., Durham, S.R. & Newman Taylor, A.J. (1988) Late asthmatic reactions and changes in histamine responsiveness provoked by occupational agents. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, **23**, 577–581.

Kägi, M.K. & Wüthrich, B. (1996) Anaphylaxis following ingestion of carmine [Letter]. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **76**, 296.

Kägi, M.K., Wüthrich, B. & Johansson, S.G.O. (1994). Campari-Orange anaphylaxis due to carmine allergy. *Lancet*, **344**, 60–61.

Kume, A., Fujimoto, M., Hino, N., Ueda, K. & Higashi, N. (1997) A case of Type I allergy due to cochineal extract [Abstract]. In: Program and Abstracts. The 22nd Annual Meeting of Japanese Society for Contact Dermatitis, 28–30 November 1997, Yokohama, Japan. Submitted to WHO by the National Food Colours Association, Basel, Switzerland.

Lenz, D., Pelletier, A., Pauli, G., Roegel, E., Aouizerate, E., Enjalbert, M., Bouvot, J.L. & Courty, G. (1983) [Occupational asthma due to cochineal carmine]. *Rev. Fr. Mal. Respir.*, **11**, 487–488.

Lloyd, A.G. (1980) Extraction and chemistry of cochineal. *Food Chem.*, **5**, 91–107.

Lucas, C.D., Taylor, S.L., Hallagan, J.B. & Gierke, T.L. (2000) The role of natural colour additives in food allergy. *Adv. Food Nutr. Res.*, in press. Submitted to WHO by the International Association of Color Manufacturers, Washington DC, USA.

Moneret-Vautrin, D.-A. (2000) Unpublished information submitted to WHO by Professor D.A. Moneret-Vautrin, Service d'Immunologie Clinique et d'Allergologie, Hôpital Central, Nancy, France.

Park, G.R. (1981) Anaphylactic shock resulting from casualty simulation. A case report. *J. R. Army Med. Corps*, **127**, 85–86.

Petitpierre, M., Gumowski, P. & Girard, J.-P. (1985) Irritable bowel syndrome and hypersensitivity to food. *Ann. Allergy*, **54**, 538–540.

Pumphrey, R.S.H. (2000a) Lessons for the management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin. Exp. Allergy*, **6**, in press.

Pumphrey, R.S.H. (2000b) Unpublished information submitted to WHO by Dr R.S.H Pumphrey, Northwest Immunology Service, St Mary's Hospital, Manchester, United Kingdom.

Quirce, S., Cuevas, M., Olaguibel, J.M. & Tabar, A.I. (1993) Clinical and immunologic studies of carmine-exposed workers [Abstract]. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **91**, 219.

Quirce, S., Cuevas, M., Olaguibel, J.M. & Tabar, A.I. (1994). Occupational asthma and immunologic responses induced by inhaled carmine among employees at a factory making natural

左頁参照

dyes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **93**, 44–52.

Sarkany, I., Meara, R.H. & Everall, J. (1961) Cheilitis due to carmine in lip salve. *Trans. St John's Hosp. Dermatol. Soc.*, **48**, 39–40.

Tenabene, A., Bessot, J.C., Lenz, D., Kofferschmitt-Kubler, M.C. & Pauli, G. (1987) [Occupational asthma due to cochineal carmine]. *Arch. Mal. Prof.*, **48**, 569–571.

Wüthrich, B., Kägi, M.K. & Stücker, W. (1997) Anaphylactic reactions to ingested carmine (E120). *Allergy*, **52**, 1133–1137.

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

SACCHARIN

Explanation

Saccharin was evaluated by the Joint Expert Committee on Food Additives in 1967, 1974, 1978 and 1980 (see Annex I, Refs. 14, 34, 48 and 54). In 1978, the Committee changed the ADI from 5 mg/kg to a temporary ADI of 2.5 mg/kg and withdrew the conditional ADI of 15 mg/kg for dietetic purposes only. The decision to reduce the ADI and to restrict the use of saccharin was based primarily on the results of animal studies which indicated that excessive and long-term ingestion of saccharin was potentially a carcinogenic hazard for humans. At the 1980 meeting the temporary ADI of 2.5 mg/kg was extended pending the completion of current investigations. Further studies have been received and evaluated and the previous monograph has been revised.

Saccharin may be produced in various ways, starting from toluene (Remsen & Fahlberg, 1879), phthalic anhydride or phthalic acid (Maumee, 1951) and o-chlorotoluene (Bungard, 1967). Accordingly, a series of different chemical impurities could find their way to the final product. The most widely used methods for the manufacture of saccharin are the Remsen-Fahlberg and the Maumee processes (Munro et al., 1974).

Although a universally applicable method for identification of impurities in saccharin regardless of its production method is not available, a recently published procedure (Stavric et al., 1976) for isolation and identification of organic solvent soluble impurities gives very satisfactory results for saccharin produced by the Remsen-Fahlberg method. The major impurity in saccharins produced by this procedure was identified as o-toluene-sulfonamide, one of the intermediate reaction products in the preparation of saccharin (Stavric et al., 1974b). Methods for isolation, identification and quantitation of water-soluble impurities have also been reported (Stavric et al., 1974a; Nelson, 1976).

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Saccharin and saccharin salts (sodium, ammonium, calcium) have been in use since the late nineteenth century, salt forms being more soluble but of the same sweetening power as the acid form.

Absorption

The absorption of ingested saccharin in animals and man occurs rapidly. With a pKa of 2.2, saccharin exists in acidic media predominantly in the unionized form, which is the more readily absorbed form in a number of animal species. Saccharin is more completely absorbed from the guinea-pig (pH 1.4) and rabbit (pH 1.9) stomach, than from the rat's stomach (gastric pH 4.2) (Ball, 1973; Minegishi et al., 1972). In vitro perfusion of rat stomach and small intestine with a solution of saccharin demonstrated considerable absorption from the stomach at pH 1.0 and slow absorption from the small intestine, i.e. less than 9% in 2 hours (Kojima et al., 1966). The gastrointestinal absorption of saccharin appears to be somewhat

545. Saccharin (WHO Food Additives Series 17)

サッカリン

解説

サッカリンは1967、1974、1977と1980年（参照 Annex I, Refs. 14, 34 and 54）に合同専門委員会によって評価された。1978年、委員会は5 mg/kg から暫定的 ADI 2.5 mg/kg に変更した、そして、食事目的のみの条件付 ADI、15mg/kg を取り消した。ADI を少なくする決定とサッカリン使用を規制する決定は長期の過大なサッカリン摂取は人間にとって潜在的発癌性の危険があると指摘した動物研究を主として基礎にした。1980年の会議で現在の調査の完成の途中で暫定的 ADI 2.5 mg/kg は計算された。更に進んだ研究が受け入れられ、評価されているし、前回の研究論文は改定されている。

サッカリンは色々な方法で生産され得る、トルエンから開始されたり、(Remsen & Fahlberg, 1879)、無水フタル酸やフタル酸(Maumee, 1951) とオルトクロルトルエン(Bungard, 1967)から開始されたりする。従って、異なる化合物不純物の系列が最終製品の途中で見つかる。一番広く使われているサッカリン製造方法は Remsen-Fahlberg 製法と Maumee 製法である。(Munro 他、1974)

どのサッカリン製造方法にも一般的に適用できるサッカリン不純物鑑定方法は無いけれども、Remsen-Fahlberg 製法で製造されたサッカリンに対して、有機体溶解液不純物の単離と鑑定に関する最近出版された方法(Stavric 他、1976)が非常に満足できる結果を出した。Remsen-Fahlberg 工程で生産されたサッカリンの主な不純物はサッカリン製剤の中間生成物であるオルトトルエンスルホンアミドと鑑定された。(Stavric 他、1974b)水溶性不純物の単離、鑑定と計量も報告されている。(Stavric 他、1974a; Nelson, 1976)

生物学的データ

生化学的側面

同じ甘味力の酸形態でなく溶解形態で19世紀末以来、サッカリンとサッカリン塩（ナトリウム、アンモニウム、カルシウム）は使用されている。

吸収

動物と人間に摂取されたサッカリンの吸収は急速に起こる。多くの動物種により容易に吸収される結合化合物形態で pK_a 2.2 を伴いサッカリンは主に酸媒質中に存在する。ネズミの胃（胃部 pH 4.2）からよりも、モルモット（pH 1.4）とウサギ（pH 1.9）の胃から、より完全に吸収される。(Ball, 1973; Minegishi 他、1972)サッカリン溶液でネズミの胃と小腸の試験管内局所灌流で pH 1.0 の胃からかなりの吸収と2時間で小腸から9%以内の遅い吸収を立証した。(Kojima 他、1966)サッカリンの胃腸内吸収はネズミよりも少し多くサルに現れた。(Pitkin 他、1971a) サルと多分ほとんどの人間では、ウサギとモルモットの胃酸度と吸収率が中間に位置する一方で、ネズミは異なる。(Ball, 1973)サッカリン吸収度が胃内容物酸度に影響

greater in monkeys than in rats (Pitkin et al., 1971a). In monkeys, and also most probably in man, both gastric acidity and degree of absorption are intermediate between those of the rabbit and guinea-pig on one side, and the rat on the other (Ball, 1973). This also means that the degree of absorption of saccharin could be dependent on food intake which affects the acidity of the gastric contents.

Distribution and excretion

Lethco & Wallace (1975) studied the distribution of radioactivity in organs and tissues of rats at various time intervals (1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours) following a single oral administration of (3-¹⁴C)saccharin (50 mg/kg). Traces of radioactivity were found in almost all organs 1 hour after dosing. Fat, brain and spleen contained only minute quantities of ¹⁴C. Kidney, urinary bladder and liver contained the highest amount of ¹⁴C, which peaked at 4 and 8 hours. In subsequent experiments, rinsing the bladders of the treated rats with 8, 0.5 ml portions of a 0.9% saline solution, they found that a significant portion of the ¹⁴C activity was retained by or bound to the bladder tissue (Lethco & Wallace, 1975).

In similar experiments, Matthews et al. (1973) found that a single oral dose (1 mg/kg bw) of ¹⁴C-saccharin (labelled in the carbonyl group) was rapidly absorbed from the gastrointestinal tract, with peak tissue radioactivity occurring within 15 minutes of dosing. With repeated dosing, within a single day or over a period of several days, there was an accumulation of saccharin in some tissues, particularly in the urinary bladder. The bladders of rats which received daily doses of saccharin contained 19 times as much saccharin as did the bladders of animals which received only a single dose. After the removal of saccharin from the diet, almost complete tissue clearance resulted in 3 days (Matthews et al., 1973).

Saccharin crosses the placenta of the rat (West, 1979; Ball et al., 1977) and monkeys (Pitkin et al., 1971a,b) to a limited extent. However, clearance from foetal tissues may be slower than from maternal tissues, particularly the urinary bladder (Ball et al., 1977; Pitkin et al., 1971a,b). Additionally, saccharin has also been found to be excreted in the milk of goats (Carlson et al., 1923) and rats (West, 1979).

Recently, Sweatman & Renwick (1980) studied the tissue distribution and pharmacokinetics of saccharin in a series of experiments. When saccharin was included in the diet of rats at a level of 5%, there was a marked diurnal variation in the concentration of saccharin in their plasma. Feeding male rats diets containing 1-10% saccharin for 22 days resulted in tissue concentrations of saccharin in the kidney and bladder which were greater than the concentration of saccharin in the plasma, while the concentrations of saccharin in the liver, lungs, spleen, adrenal, fat and muscle were less than in the plasma. When female rats were fed a diet containing 5% saccharin, the concentration of saccharin in the plasma and organs was greater than for the male rats fed the 5% diet, particularly the concentration in the kidney and urinary bladder. Additionally, the concentrations of saccharin in the plasma and tissues of the male rats fed the diets containing 7.5% or 10% saccharin had a higher than predicted concentration, based on a linear extrapolation from the lower dose levels. The authors attributed this to the animals' reduced ability to eliminate saccharin.

A single i.v. dose of [³H] saccharin was given to male and female anaesthetized rats at levels from 1 to 1000 mg/kg. The plasma clearance of the [³H] saccharin was found to be dose dependent with the high dosages resulting in a 60% decrease in clearance. When rats

した食物摂取に依存し得た事をこれは意味する。

分布と排出

(3- ^{14}C) サッカリン (50 mg/kg) の単一経口投与後、色々な時間間隔 (1、2、4、8、24、48と72時間) でネズミの器官と組織に放射能分布を Lethco と Wallace (1975) は研究した。放射能の痕跡はほとんど全ての器官に投与後一時間で見つけられた。脂肪組織、脳と脾臓がほんの少量の ^{14}C を含んだ。4時間目と8時間目に最高に上がり、腎臓、膀胱と肝臓が最高量の ^{14}C を含んだ。次の実験で、0.9%塩水の8、0.5 ml 配分の処理ネズミの膀胱を洗うと、実験で、 ^{14}C 活性の重要な配分は膀胱組織に保留されたり、結合されたりすると分かった。(Lethco & Wallace, 1975)

同様の実験で、(カルボニル基グループで標識付けした) ^{14}C -サッカリンの単一経口投与 (1 mg/kg bw) は投与の15分以内に起した最高組織放射能を伴う胃腸管から急速に吸収されたと Matthews 他、(1973) は分かった。一日か数日期間以内に投与を繰り返すと、数組織にサッカリンの蓄積があり、特に膀胱内にあった。単一投与しか受けない動物の膀胱が含んだサッカリン量の19倍を毎日サッカリン投与されたネズミの膀胱は含んだ。食餌からサッカリンを除去すると、ほとんど完全な組織清掃値に3日でなった。(Matthews 他、1973)

サッカリンはネズミの胎盤(West, 1979; Ball 他、1977)と交差する、そして、サル(Pitkin 他、1971a, b)と限られた程度まで交叉する。然しながら、胎児組織の清掃値は母体組織の清掃値よりも特に膀胱で遅くなるかもしれない。(Ball 他、1977; Pitkin 他、1971a, b)更に、サッカリンはヤギ(Carlson 他、1923)とネズミ(West, 1979)の乳汁内に排出される事も分かった。

最近、Sweatman & Renwick (1980)が数々の実験でサッカリンの組織分布と薬物動力を研究した。ネズミの5%度サッカリン食餌時、ネズミの血漿内サッカリン濃度に著しい日中に起こる変化があった。肝臓、肺、脾臓、副腎、脂肪組織と筋肉内のサッカリン濃度が血漿内よりも少なかった一方で、22日間、1-10%サッカリン食餌の雄ネズミは、血漿内のサッカリン濃度よりも高い腎臓内と膀胱内サッカリン組織濃度になった。サッカリン5%食餌の雌ネズミは血漿内と器官内サッカリン濃度が、同じ5%食餌の雄ネズミよりも特に腎臓内と膀胱内に多かった。更に、7.5%か10%サッカリン食餌の雄ネズミの血漿と組織中のサッカリン濃度は、より低投与濃度からの一次外挿を基礎とした予想濃度よりも高かった。著者はこれを動物のサッカリンを除去する還元力に計数した。

1から1000 mg/kg 濃度で麻酔を掛けられた雌雄のネズミに ^3H サッカリンの静脈単一投与が与えられた。 ^3H サッカリンの血漿清掃値は清掃値の60%減の結果になる高い投与を伴う投与依存であると分かった。50-200 mg/kg 濃度の ^3H サッカリンの静脈投与の前にプロベネシッドでネズミが前処理された時、血漿清掃値の70%減が観察された。(Sweatman & Renwick, 1980)血漿に1から80 mg/dl の ^3H サッカリン濃度範囲を使って、サッカリンが腎臓を通して排出されたメカニズムを試験する為に麻酔されてない雌雄のネズミを使った Bourgoignie

were pretreated with probenecid prior to the i.v. administration of [³H] saccharin at levels of 50-200 mg/kg, a 70% reduction in plasma clearance was observed (Sweatman & Renwick, 1980). These findings were similar to those of Bourgoignie et al. (1980) who used unanaesthetized male and female rats to examine the mechanism by which saccharin was excreted via the kidneys, using a range of [³H] saccharin concentrations from 1 to 80 mg/dl in plasma. The authors concluded that saccharin was excreted by a combination of filtration and tubular excretion without resorption. The latter appeared to be carrier mediated, since competitive inhibition was observed between saccharin and para-aminohippurate.

Side-effects

During its long history of use, saccharin has been accused of being responsible for a number of adverse effects both in human beings and laboratory animals. Saccharin has been implicated in the development of photosensitive skin eruptions in humans (Taub, 1972), and as a hypoglycaemic agent in animals (Thompson & Mayer, 1959). Low

dietary concentrations of saccharin have been shown to alter the concentration of serum lipid components in rats fed chemically-defined diets (Purdom et al., 1973).

No effect was noted on human nitrogen balance or protein utilization in man by doses up to 4 g of saccharin/day. Daily doses of 5 g of saccharin reduced albumin absorption and utilization by 0.94% (Neumann, 1926a,b). No abnormal effects on total urinary nitrogen excretion or uric acid output were noted by other investigators after giving saccharin orally (Folin & Herter, 1912). No deleterious effects on blood sugar, kidney function, vitamin utilization, blood coagulation or enzyme activity were detected in man (NAS-NRC, 1955).

Metabolism

It has long been assumed that saccharin undergoes very little metabolic conversion under normal dietary usage in animals and man (NRC, 1974).

Rat

Four male and 2 female Sprague-Dawley rats were dosed with ¹⁴C-saccharin (40 mg/kg) uniformly labelled in the benzene ring. More than 90% of the radioactivity was recovered in the urine collected for 96 hours after dosing. Only 1 radioactive spot was detected on the TLC of the whole urine, which was identified as saccharin (Byard & Golberg, 1973). Three to 4% of the dose was excreted in the 48-hour collection of faeces as unmetabolized saccharin. During the first 4-8-hour collection period, no more than 0.3% of an oral dose of ¹⁴C-saccharin was excreted in the bile as unchanged saccharin. Induction of mixed function oxidase activity in rat liver by treatment with phenobarbitone had no influence on saccharin metabolism (Byard & Golberg, 1973).

Kennedy et al. (1972), using albino rats treated with 10 or 20 µC of sodium saccharin labelled with ¹⁴C in the carbonyl group, obtained rapid excretion with total recovery from 90.21% to 100.57%. In 3 of the 4 rats the amount recovered in the urine ranged from 82.65% to 96.95%, while in 1 animal it was only 67.91%. However, in this animal a total of 31.34% of the radioactive material appeared in the faeces. Most of the radioactivity excreted was within 24 hours of ingestion. Expired air and tissues contributed very little to the total ¹⁴C recovery. The same authors demonstrated the presence of trace amounts of 2 hydrolytic products of saccharin (o-sulfamoylbenzoic acid and

他、(1980)の調査結果とこれらの調査結果は同じだった。サッカリンは再吸収無しの濾過と尿細管排泄の組み合わせによって排出されると著者は結論付けた。拮抗的抑制がサッカリンと *p*-馬尿酸間に観察されたので *p*-馬尿酸は媒介担体である様に見えた。

副作用

長期使用で、サッカリンは人間と実験用動物両方に数々の有害影響の原因になると非難されている。サッカリンは人間の感光性皮膚発疹(Taub, 1972)の発生と関係があり、動物(Thompson & Mayer, 1959)の低血糖薬剤として示唆されている。サッカリンの低食餌濃度は化学的に規定された食餌のネズミの血清脂質成分濃度を変えると見られている。(Purdom 他、1973)

人間にサッカリン 4 g/day までの投与では体内窒素バランスや蛋白質利用に影響は無いと示されている。サッカリン 5 g の一日投与量はアルブミンの吸収と利用を 0.94%まで下げた。(Neumann, 1926a, b)合計尿窒素排出や尿酸産出物の異常影響はサッカリン経口投与後に他の調査者によって示された。(Folin & Herter, 1912)血糖値、腎臓機能、ビタミン利用、血液凝固作用や酵素活性に有害な影響は人間に検出されなかった。(NAS-NRC, 1955)

代謝

サッカリンは動物と人間に通常食事使用の下でほとんど代謝変化を伴わないと長い間、想定されている。

ネズミ

4匹の雄、2匹の雌の Sprague-Dawley ネズミがベンゼン環で単一に標識付けした¹⁴C-サッカリンを投与された。投与後96時間の間に採取した尿内に放射能90%以上が回収された。サッカリンとして鑑定された全尿の薄層クロマトグラフィーでひとつの放射能スポットだけが検出された。(Byard & Golberg, 1973) 3-4%投与では代謝されなかったサッカリンが48時間収集便内に排出された。4-8時間収集期間に、¹⁴C-サッカリンの経口投与の0.3%以上は不変化サッカリンとして胆汁中に排出されなかった。ネズミのフェノバルビトン処理した肝臓内に複合機能酸化酵素活性の誘導はサッカリン代謝に影響が無かった。(Buard & Gilberg, 1973)

Kennedy 他、(1972)が、カルボニル基グループの¹⁴Cで標識付けしたサッカリンナトリウムの10か20μCで処理された白子ネズミを使って、90.21%から100.57%の合計回収率の急速な排出を得た。4匹の内、1匹が67.91%しかなかった一方で、4匹の内、3匹が、82.65%から96.95%の範囲の回収率だった。然しながら、この1匹に、放射能物質の合計31.34%が便内に現れた。排出されたほとんどの放射能が摂取の24時間以内であった。吐気と組織は合計¹⁴C回収率にほとんど全く関係なかった。同じ著者達が尿排出物内にサッカリンの2種類の加水分解産出物(オルト-スルファモイル安息香酸とアンモニウム・カルボキシベンゼン・スルホン酸塩)の痕跡量の存在を立証した。Minegishi 他、(1972)は³⁵S-サッカリンを与えたネズミの尿内に加水分解産出物の存在を少しも立証する事が出来なかった。尿は投与されたサッカリンの70%を含み、残りは便内にあった。³⁵S-サッカリン投与の前に4-5週間毎日繰り返され与えられたネズミの場合も同様な結果が見られた。(Minegishi 他、1972) ¹⁴Cカルボニル基で標識付けしたサッカリン投与の56-87%を尿内に、10-40%を便内

ammonium carboxybenzene sulfonate) in urinary extracts. Minegishi et al. (1972) failed to demonstrate the presence of any hydrolytic products in the urine of rats given ^{35}S -saccharin. Urine contained 70% of the administered saccharin and the remainder was in the faeces. Similar results were found for rats given repeated daily doses of saccharin for 4-5 weeks prior to ^{35}S -saccharin administration,

indicating the lack of an induction mechanism for saccharin metabolism (Minegishi et al., 1972). Lethco & Wallace (1975) obtained 56-87% of the administered ^{14}C -carbonyl labelled saccharin in urine and 10-40% in the faeces. Ninety-nine per cent. of the urinary ^{14}C was unchanged saccharin, while the remainder was identified as the metabolite o-sulfamoylbenzoic acid. Matthews et al. (1973) also failed to demonstrate the presence of any saccharin metabolites in the urine of rats given multiple low doses of ^{14}C -saccharin (1 mg/kg bw).

Mouse, hamster, rabbit, guinea-pig and dog

Metabolism and rates of saccharin elimination appear similar in these species. The fate of radioactive saccharin in the rabbit was studied by Ball (1973) and by Lethco & Wallace (1975). Lethco & Wallace (1975) made comparative studies of the metabolism of saccharin in dog, rabbit, guinea-pig and hamster. Similar comparative studies by Byard (1972) were done with mice, golden hamsters, guinea-pigs and dogs, while Minegishi et al. (1972) studied saccharin metabolism in guinea-pigs. These authors concluded that these species do not metabolize saccharin.

Ball et al. (1974) failed to detect any metabolites in the urine of female Wistar albino rabbits treated orally with a single dose of 20 mg/kg of ($3\text{-}^{14}\text{C}$) saccharin. Seventy-two per cent. of the ^{14}C was excreted in the urine in 24 hours and 15% in the faeces. In 48 hours, 96% of the radioactivity was recovered. Similarly no metabolites were found in urine of rats treated in the same way, which were kept up to 12 months on diets containing 1% or 5% sodium saccharin.

Monkey

Following a single oral dose of uniformly ring-labelled ^{14}C -saccharin (1 mg/kg and 10 mg/kg) to young female rhesus monkeys, 98% of the radioactivity was excreted in the urine within 96 hours. A very small amount of 2 hydrolytic products of saccharin (o-sulfamoylbenzoic acid and ammonium carboxybenzene sulfonate) were detected in urinary extracts (prepared by ethyl acetate extraction of acidified urines) (Pitkin et al., 1971a). Byard & Golberg (1973) found that ^{14}C -saccharin (40 mg/kg) was not metabolized in male rhesus monkeys. They also demonstrated that "artifactual metabolites" of saccharin were produced if the urine was extracted under acidic conditions. No induction of saccharin metabolism was found in groups of rhesus monkeys receiving sodium saccharin (0, 20, 100 and 500 mg/kg/day) for 79 months. Metabolic studies conducted using radioactive saccharin with these monkeys on several occasions during the test indicated rapid, almost exclusively urinary excretion of unmetabolized saccharin (McChesney et al., 1977).

Man

Orally administered saccharin appeared in the urine of man within a half hour of dosing and was completely eliminated unchanged in 16-18 hours (Staub & Staehelin, 1936), some 90% being excreted in the urine within 24 hours (Folin & Herter, 1912). Intravenous sodium saccharin in doses of 2.5 g has been used without adverse effects in sick and healthy people to determine circulation time (Fishberg et al., 1933). Studies conducted with human subjects (McChesney & Golberg, 1973)

に Lethco & Wallace (1975)は得た。尿の ^{14}C の99%が不変化サッカリンだった、一方、残りの1%は代謝産物オルトスルファモイル安息香酸だった。Matthews 他、(1973)も ^{14}C -サッカリン(1 mg/kg bw)の複合低投与のネズミの尿中にサッカリン代謝の存在を少しも立証する事は出来なかった。

ネズミ、ハムスター、ウサギ、モルモットと犬

代謝とサッカリンの排出率はこれらの動物に同じく現れる。ウサギの放射能サッカリンの最終結果が Ball (1973)と Lethco Wallace (1975)によって研究された。Lethco & Wallace (1975)は犬、ウサギ、モルモットとハムスターのサッカリン代謝の比較研究をした。Byard (1972)によって同様の比較研究がハツカネズミ、ゴールデンハムスター、モルモットと犬で成された、一方、Minegishi 他、(1972)はモルモットのサッカリン代謝を研究した。これらの著者達はこれらの種はサッカリンを代謝しないと結論付けた。

(3- ^{14}C) サッカリンの20 mg/kgの単一経口投与された雌の白子ウサギの尿中に代謝産物を少しも検出する事が Ball 他、(1974)は出来なかった。 ^{14}C の72%が24時間内に尿中に排出され、15%が便の中に排出された。48時間内に、放射能の96%が回収された。同様に、同じ方法で処理されたネズミの尿中に代謝産物は見つからなかった、そして、その方法とは1%か5%サッカリンナトリウム食餌を12ヶ月まで続けられたものだった。

サル

若い雌の赤毛サルに単一に標識付けした ^{14}C -サッカリンの単一経口投与後、96時間以内に尿中に放射能の98%が排出された。サッカリンの2種類の加水分解産物(オルトスルフォモイル安息香酸とアンモニウム・カルボキシベンゼン・スルホン酸塩)が尿抽出物(酸性化した尿の酢酸エーテル抽出で調合された)中に検出された。(Pitkin 他、1971a) ^{14}C -サッカリン(40 mg/kg)が雄の赤毛サルに代謝されなかったと Byard & Golberg (1973)は分かった。酸性条件の下で尿が抽出されたなら、サッカリンの「人工代謝産物」が産出されたと彼らは立証もした。79ヶ月間、サッカリンナトリウム(0、20、100と500 mg/kg/day)を摂った赤毛サルのグループにサッカリン代謝誘導は見つからなかった。無代謝サッカリンのほとんど限定的に急速な尿排出を示した試験期間に幾度も、これらのサルに放射能サッカリンを使って代謝研究は行われた。(McChesney 他、1977)

人間

経口投与サッカリンは人間の尿内に投与後30分以内に現れ、16-18時間で不変化物として完全に排出された。(Staub & Staehelin, 1936)、そして、90%は24時間以内に尿内に排出された。(Folin & Herter, 1912) 循環時間を決定する為に病気の人間と健康な人間に有害な影響の無い、サッカリンナトリウム2.5 g 静脈投与が使われた。(Fishberg 他、1933)サッカリン経口投与が尿内のサッカリンとして量的に回収され得なかったのも、サッカリン代謝の少しは人間に起こるかもしれないと人間被験者の研究(McChesney & Golberg, 1973)は示唆した。無鑑定の尿成分への尿サッカリン配分の還元回収率がバインディングによるものである為に少し人工的だったと ^{14}C -標識付けしたサッカリンを使った次に行われた、より限定的な研究が証明した。

suggested that some degree of saccharin metabolism may occur in man, since oral doses of saccharin could not be recovered quantitatively as saccharin in the urine. Subsequent, more definitive studies, using ^{14}C -labelled saccharin (Byard et al., 1974) demonstrated that the reduced recovery was an artifact thought to be due to the binding of a portion of the urinary saccharin to unidentified urinary constituents.

Four men received 500 mg of ^{14}C -saccharin (uniformly labelled in the benzene ring) and excreta was collected at intervals up to 96 hours post-dosing. More than 98% of the ^{14}C was recovered within 48 hours (92.3% in urine, 5.8% in faeces). An additional 0.3% was excreted in the 48-72-hour collection interval. None of the detected saccharin was found to have been metabolized. Consequently, it was concluded that man, like other species, does not metabolize saccharin (Byard et al., 1974).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on carcinogenicity: other than dietary exposure

Saccharin and croton oil together were tested for dermal co-carcinogenicity in mice. Although the treated group showed a greater incidence of skin papillomas compared with the control, the difference was not statistically significant (Salaman & Roe, 1956).

Paraffin wax pellets containing saccharin when implanted in the mouse bladder induce a significant incidence of bladder tumours and this was interpreted as demonstrating a co-carcinogenic effect (Allen et al., 1957).

Hicks et al. (1973, 1975) reported a rat model system for testing bladder carcinogens wherein each rat was subjected to a pre-test treatment consisting of a single instillation into the bladder of up to 2 mg of methyl-N-nitrosourea (MNU). The test treatment consisted of adding saccharin either to the diet or drinking-water at dosage levels up to 4 g/kg/day. This treatment produced a significantly higher incidence of bladder tumours with a dramatically reduced latent period in the MNU plus saccharin treated rats compared to the untreated control or animals receiving a single instillation of MNU or animals receiving saccharin in their diet or drinking-water without any MNU pretreatment. Although there does not appear to be any correlation

between the incidence of bladder tumours or bladder calculi (Hicks et al., 1975), considerably more research is needed to evaluate the biological significance of this model. Additionally, other laboratories have been unable to reproduce these results (Mohr et al., 1978; Green & Rippel, 1979; Green et al., 1980; Hooson et al., 1980). Some of the suggested experimental variables which may have affected the results include the quantity of MNU required to produce a subcarcinogenic or initiator dose (Hooson et al., 1980); the length and/or storage conditions for MNU; purity of MNU; or time lapse between preparation of the MNU solutions and the treatment of the animals (Mohr et al., 1978).

Subsequently, Cohen et al. (1978, 1979) developed a similar 2-stage cancer model wherein N[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT) served as the initiator, being administered in the diet to rats at a level of 0.2%. In their initial studies, FANFT was included in the diet for 6 weeks prior to feeding a saccharin (5%) containing diet or a control diet for 2 weeks prior to the saccharin (5%) diet. Both regimes resulted in a significant increase in the incidence of bladder tumours. In subsequent studies on the rat, the use of FANFT was decreased to 4 (Fukushima et al., 1981) and then 2 weeks (Cohen et al., 1982). The latter study employed various

4人の男性が ^{14}C -サッカリン（ベンゼン環に単一に標識付けされた）500mg投与を受けた、そして、投与後、96時間までの間隔で排出物が収集された。 ^{14}C の98%以上が48時間以内に回収された。（尿内に92.3%、便内に5.8%）0.3%がその後の48-72時間収集期間に排出された。検出されたサッカリンのどれも代謝されてないと分かった。結果として、人間、他の種も同様に、サッカリンを代謝しないと結論付けた。（Byard 他、1974）

毒物学的研究

発癌性の特別研究： 食餌曝露以外のもの

サッカリンとクロトン油と一緒にハツカネズミで皮膚発癌性として、試験された。対照区と比べて処理グループは皮膚乳頭腫のより多い発生を見せたけれども、その相違は統計的に重要でない。（Salaman & Roe, 1956）

ハツカネズミに移植されたサッカリンを含んだパラフィンワックス球粒は膀胱腫瘍のかんがりの発生を誘発した、そして、この事は補発癌性影響を証明していると解釈された。（Allen 他、1957）

メチル-N-ニトロソ尿素(MNU) 2mgまでの単一点滴を膀胱内に各ネズミがされる前試験処理で被験された膀胱発癌性物をテストするネズミのモデルシステムを Hicks 他、(1973, 1975)が報告した。4g/kg/dayまでの投与濃度で食餌か飲料水のどちらかにサッカリンを加える事からこの試験処理は成る。無処理対照区やMNUの単一点滴を受けた動物やMNU無しの食餌か飲料水内のサッカリンを摂った動物と比較してMNU plus サッカリン処理のネズミに劇的に短い潜伏期を伴う膀胱腫瘍のかんがり高い発生率をこの処理は引き起こした。膀胱腫瘍と膀胱結石(Hicks 他、1975)の発生率の間にどんな相互関係も無いように見えたけれども、このモデルの生物学的重要性を評価する為にかんがりのより多い研究が必要とされた。次に、他の実験室はこれらの結果を再度引き起こす事が出来ないでいる。（Mohr 他、1978; Green & Rippel, 1979; Green 他、1980; Hooson 他、1980）結果に影響していたかもしれないと示唆された実験の変化のいくつかは、補発癌性か起爆薬投与(Hooson 他、1980)に成るのに必要なMNUの量を含む、; MNUに関する期間の長さとか貯蔵条件; MNUの純度; MNU液剤合剤と動物処理の間の時間差。（Mohr 他、1978）

次に、0.2%濃度のネズミ食餌に投与されたN[4-(5-ニトロ-2-フリル)-2-チアゾイル] (FANFT)が起爆薬として使われた同様な2段階癌モデルをCohen 他、(1978, 1979)が明らかにした。彼らの最初の研究では、5%サッカリン食餌の前の6週間の食餌にと、5%サッカリン食餌の前に2週間の対照食餌にFANFTが含まれた。両方のモデルが膀胱腫瘍の発生のかんがりの増加結果となった。次のネズミの研究では、FANFT使用は4週間(Fukushima 他、1981)と2週間(Cohen 他、1982)に減らされた。FANFTとサッカリン食餌、潰瘍形成凍結、そして、シクロホスファミドの腹腔内注射をする色々な処理モデルを後者の研究は使用した。潰瘍形成凍結後とシクロホスファミド注射で膀胱粘膜増殖が増加された時、膀胱はサッカリンの促進影響に、より敏感だと見えると著者は分かった。

treatment regimes that included FANFT- and saccharin-containing diets, freeze ulceration, and the i.p. injection of cyclophosphamide. The authors found that when bladder mucosal proliferation was increased, following freeze ulceration and cyclophosphamide injection, the bladder appears to be more sensitive to the promoting effects of saccharin.

Using an experimental model similar to that of Cohen et al. (1979), Nakanishi et al. (1980) administered N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) in the drinking-water at a level of 0.001% for 4 weeks, either concurrently with or prior to feeding a diet containing 5% saccharin. In the co-administration study, saccharin enhanced the induction of urinary bladder hyperplasia (simple, papillary or nodular) and papillomas, while the sequential administration only enhanced the induction of papillary or nodular hyperplasia.

In vitro promotional assay systems using saccharin have also been reported. Mondal et al. (1978) reported that an initiating but non-transforming dose of 3-methylcholanthrene (3MC) was needed in a C3H/10T1/2 oncogenic transformation system before saccharin produced a significant number of transformed cells. Sivak & Tu (1980) initiated BALB/c3T3 cells with 3MC prior to the addition of saccharin, which was not found to be active as a direct transforming or promoting agent of Type III transformed foci.

Special studies on carcinogenicity: feeding studies

Mouse

Groups of 50 female Swiss mice (9-14 weeks of age) were fed one of the following diets for 18 months: control (2 groups); 10% sucrose; or 5% saccharin. Seven days prior to the start of the study, half of the mice received a single intragastric instillation of 0.2 ml polyethylene glycol while a similar group of mice received an equal amount of polyethylene glycol which contained 50 µg benzo(a) pyrene (BP), to ascertain whether the dietary treatments might be co-carcinogenic with BP. Neither body weight nor survival in any of the treatment groups was different from controls. The administration of BP clearly increased the incidence of neoplasms arising in the forestomach epithelium, but the other dietary treatments had no effect upon this type of neoplasm. Although no neoplasms of the urinary bladder were seen on careful macroscopic examination of all animals, the bladders were not examined microscopically (Roe et al., 1970).

Kroes et al. (1977) fed diets containing 0, 0.2 and 0.5% sodium saccharin during a 6-generation study in which 50 male and 50 female mice from the F₀, F_{3b} and F_{6a} generations remained on the test diets for 20 months. There were no significant treatment-related tumorigenic effects.

In a study performed in duplicate at the Bio-Research Consultants Inc., groups of 25 male and 25 female mice (8 weeks of age) were fed diets containing 0, 10 000 or 50 000 ppm (0, 1 or 5%) saccharin in the diet for 24 months. The incidence of bladder tumours in the various groups was as follows: male controls, 1 of 19; 1% saccharin (males), none of 14 in the first replicate and none of 15 in the second; 5% saccharin (males), 1 of 15 in the first replicate and 2 of 19 in the second. Similar groups of female mice were also tested and none of the female mice developed bladder tumours (Homburger, 1978).

Miyaji (1974) fed 50 male and 50 female mice (30 days of age) diets containing 0, 0.2, 1.0 or 5.0% saccharin for 21 months. No adverse treatment-related effects were reported.

Cohen 他、(1979)と同様な実験モデルを使って、N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(BBN)を4週間、0.001%濃度の飲料水で Nakanishi 他、(1980)が投与した。5% サッカリン食餌前段階と食餌中段階のどちらにも同時に、相互投与研究では、連続投与だけが乳頭性と結節性の増生の誘導を高める一方で、サッカリンは膀胱増生(単純な、乳頭性の、結節性の)と乳頭腫の誘導を高めた。

サッカリンを使った試験管内促進分析システムも報告されている。かなりの数の変化細胞をサッカリンが作る前に C3H/10T1/2 腫瘍形成変化システムに3-メチルコラントレン (3MC)の無一変化投与以外で開始する事が必要とされたと Mondal 他、(1978)は報告した。サッカリンの追加前に 3MC を伴った BALB/c3T3 細胞で Sivak & Tu (1980)が開始した、そして、そのサッカリンが病巣に変化した Type III に直接変化させるものとして働いているのか促進させるものとして働いているのかは分からなかった。

発癌性の特別研究： 食餌研究 ハツカネズミ

50匹の雌のスイスハツカネズミのグループ(9-14週間齢)が18ヶ月間、次の食餌の一種類を与えられた： 対照量(2グループ)；10%白糖；5%サッカリン。研究開始前の7日間、他の同様なハツカネズミのグループに食餌処理が BP と一緒なら補発癌性があるかどうかを確かめる為に50μg ベンゾ(ア)ピレン (BP)を含んだポリエチレングリコールの同量を摂った一方で、半分のハツカネズミが0.2ml ポリエチレングリコールの単一胃内点滴を受けた。体重も生存率も処理グループに対照区と相違は無かった。前胃上皮に生ずる新生物の発生率を BP 投与は明らかに増加させた、しかし、他の食餌処理はこのタイプの新生物に関して影響が無かった。全ての動物に注意深く肉眼で見て膀胱の新生物は無かったけれども、膀胱は顕微鏡で調べられなかった。(Roe 他、1970)

20ヶ月の試験食餌で残った6世代研究期間に0、0.2と0.5%サッカリンナトリウム食餌をF₀、F_{3b}とF_{6a}世代の雌雄50匹ずつのハツカネズミに Kroes 他、(1977)が与えた。処理に関係した腫瘍形成の重要な影響は無かった。

Bio-Research Consultants Inc.で全く同一に行われた研究では、雌雄25匹ずつのハツカネズミ(8週間齢)のグループが24週間、0、10 000か50 000ppm(0、1か5%)サッカリン食餌を与えられた。色々なグループの膀胱腫瘍発生率は次の様に成った： 雄対照区、19匹の内1匹； 1%サッカリン(雄)、最初の実験で14匹の内、0匹と二番目の実験で15匹の内、0匹； 5%サッカリン(雄)、最初の実験で15匹の内、1匹と二番目の実験で19匹の内、2匹。雌ハツカネズミの同じグループも試験され、どれも、膀胱腫瘍を発生させなかった。

Miyaji (1974)は21ヶ月間、雌雄50匹ずつのハツカネズミ(30日齢)に0、0.2、1.0か5.0%サッカリン食餌を与えた。処理に関係した有害な影響は報告されなかった。

Hamster

Groups of 30 male and 30 female hamsters, 8 weeks of age, received the following levels of saccharin in their drinking-water for the balance of their lifetime: 0, 0.156, 0.312, 0.625 or 1.25%. Average survival time was 50-60 weeks. The overall incidence of tumours in the control animals was 10.1% in 168 controls, while in the saccharin group consisting of 299 animals the incidence was 14.7%. The tumour types were similar in both groups and no urinary tract neoplasms were found in either group (Althoff et al., 1975).

Rat (1-generation feeding studies)

Fitzhugh et al. (1951) performed the first 2-year saccharin feeding study, where rats received a control diet (7 male and 9 female), or diets containing 1.0% (10 male and 10 female) or 5.0% saccharin (9 male and 9 female). Saccharin had no apparent effect upon mortality, haematology or organ weight (liver, kidney and spleen), but did result in a slight growth depression in the 5% group. The only significant pathological changes observed were in the 5% group where 7 animals (sex unspecified) had lymphosarcomas as well. The urinary bladder was not histologically examined.

In another study, groups of 20 male and 20 female rats were fed diets containing 0, 0.005, 0.05, 0.5 or 5.0% saccharin for 2 years. A similar group was also given 1 ml of a 1% aqueous solution of trypan blue s.c. every 2 weeks for 1 year as a positive control. In the 5% group and the trypan blue group, mortality was higher than in the controls. Mortality was lower than for the controls in the 0.005% group. Retardation of growth was observed in the males and females of the 5% group despite greater feed consumption.

One female and 4 male rats in the 5% saccharin group had bladder calculi and 1 male had kidney calculi. The female rat with calculi had an extensive transitional cell papilloma of the bladder, while another 5% female without calculi had hyperplasia and papillomatosis. No evidence of nematodes was found in any of these animals (Lessel, 1967).

Schmahl (1973) reported spontaneous tumours in rats which were fed diets containing either 0, 100 or 250 mg/kg of sodium saccharin (52 males and 52 females per group). The incidence of Trichosomoides crassicauda was 16% and was associated with a mild cystitis condition, but no bladder tumours were observed in the control or saccharin-treated groups.

Miyaji (1974) fed groups of 54 male rats, which were 40 days of age, diets containing 0, 0.2, 1.0 or 5% saccharin for 28 months. No significant tumorigenic effects were observed.

In a study conducted by Litton Bionetics, which was performed in duplicate, 26 male and 26 female rats were fed diets containing 0, 1 or 5% saccharin for 24 months (NRC, 1974). The following was reported: "The incidence of all tumors at 24 months in the untreated control groups was 45% and 60% for the males, 80% and 55% for the females in the two replicate experiments. It is important to note the extent of the variation, indicative of the great variability of the assay as well as the high tumor incidence in the controls."

However, "a single papilloma of the urinary bladder was found in a female of the high dose saccharin group in the second replicate; no other bladder tumor was found in the study".

ハムスター

雌雄30匹ずつのハムスターのグループが8週間齢で残存時間に飲料水に次のサッカリン濃度を摂った：0、0.156、0.312、0.625か1.25%。平均生存時間は50-60週間だった。299匹からなるサッカリングループでは、発生率が14.7%だった一方で、対照区の動物の全腫瘍発生率は168対照区で10.1%だった。腫瘍のタイプは両グループで同じだったし、泌尿器官系に新生物は見つけられなかった。

ネズミ（一世代食餌研究）

Fitzhugh 他、(1951)は最初の2年間サッカリン食餌研究を行った、その研究では、ネズミが対照食餌（7匹の雄と9匹の雌）、1%食餌（10匹の雄と10匹の雌）や5%食餌（9匹の雄と9匹の雌）を摂った。サッカリンは死亡率、血液病や器官重量（肝臓、腎臓と脾臓）に明らかな影響はなかった、しかし、5%投与グループにわずかな成長減退の結果を示した。7匹の動物（性不明）がリンパ肉腫も有した5%投与グループに、観察された重要な唯一の病理変化が存在した。膀胱は組織学的に調べられなかった。

もうひとつの研究で、雌雄20匹ずつのネズミが2年間、0、0.005、0.05、0.5か5.0%サッカリン食餌を与えられた。同様のグループもトリパンプルー水様液を静脈に1年間毎2週間でサッカリン有害肯定対照区として与えられた。5%グループとトリパンプルーグループで、死亡率が対照区よりも高かった。死亡率は0.005%グループの対照区より低かった。より多い食餌摂取にも拘らず、成長遅延が5%グループの雄と雌に観察された。

5%グループの1匹の雌と4匹の雄ネズミが結石を有した、そして、1匹の雄が腎臓結石を有した。結石を有さない他の5%雌が増生と乳頭腫症を有した一方で、結石を有した雌のネズミは拡張性の移行性細胞の乳頭腫をひとつ有した。これらの動物のどれにも、線虫はいなかった。(Lessel, 1967)

0、100か250mg/kg サッカリンナトリウム食餌のネズミの自然発生腫瘍を Schmahl (1973)は報告した（雌雄50匹ずつのグループ）。膀胱寄生虫 Trichosomoides crassicauda の発生率は16%だったし、その発生は軽い膀胱炎と関連していた、しかし、対照区にもサッカリン処理グループにも膀胱腫瘍は観察されなかった。

Miyaji (1974)は54匹の40日齢の雄ネズミのグループに28ヶ月間、0、0.2、1.0か5%サッカリン食餌を与えた。重要な腫瘍形成の影響は観察されなかった。

Litton Bionetics によって実施された全く同一に行われた研究では、雌雄26匹ずつのネズミが24ヶ月間、0、1か5%サッカリン食餌を与えられた(NRC, 1974)。次の内容が報告された：「24ヶ月間、無処理の対照グループの全腫瘍発生率は2回の実験で雄では45%と60%だった、雌では80%と55%だった。個体の変異の程度、分析の高い変動性の表示、同様に対照区の高い腫瘍発生率に注目する事は重要な事である。」

然しながら、「膀胱の唯一の乳頭腫が二回目の実験でサッカリン高投与グループの雌に見つかった； この研究では他の膀胱腫瘍は見つからなかった。」

Homburger (1978) fed groups of 25 male rats (8 weeks of age) diets containing 0, 10 000 or 50 000 ppm (0, 1 or 5%) saccharin for 24 months. The study was performed in duplicate. The incidence of bladder tumours in the various groups was as follows: controls, 1 of 16; 1% saccharin, 1 of 13 in the first replicate and 1 of 15 in the second; 5% saccharin, 1 of 12 in the first replicate and none of 14 in the second.

Groups of 54-56 male rats were fed either a control diet or a diet containing 2.5 g of sodium saccharin/kg/day for 28 months. Ten to 16 rats in each group were killed at 12 months. Haematological-blood-biochemistry and pathological examinations were performed on the rats when sacrificed. The internal organs of all rats dying during the study were examined macroscopically. A significant growth depression was observed in the treated group, but no differences in mortality were found. No bladder abnormalities were reported for either control or treated animals (Furuya et al., 1975).

Groups of 60 male and 60 female weanling rats were fed diets containing sodium saccharin produced by the Remsen-Fahlberg procedure to provide daily doses of 0, 90, 270, 810 or 2430 mg of saccharin/kg/day. The study ran for 26 months. Food consumption, body weight and clinical examinations were conducted weekly on all rats. The animals were free of the bladder parasite Trichosomoides crassicauda. One bladder tumour was found in a male control, 1 each in a male and female of the 90 mg/kg group and 2 male animals in the 810 mg/kg group. The tumours were all transitional cell papillomas. Three bladder calculi were observed grossly and 67 animals were found to have bladder calculi small enough to pass through the urethra. The presence of bladder calculi was not associated with the saccharin treatment or with the presence of bladder tumours. Saccharin administration was not accompanied by an increase in tumour incidence, although high doses were associated with reduced body weight in both sexes. No decrease in food consumption was observed. There was a decreased longevity in male rats. Diarrhoea was observed in the highest dose group, but was not accompanied by pathological evidence of enteritis. The haematological parameters measured were not affected by saccharin and saccharin had no effect upon the chemical composition of the urine (Munro et al., 1975).

Rat (2-generation studies)

Tisdell et al. (1974) fed 20 male and 20 female rats one of the following saccharin-containing diets for approximately 3 months prior to mating: 0, 0.05, 0.5 or 5.0%. The saccharin used in this study was produced by the Remsen-Fahlberg procedure. Following weaning, the F_0 generation was killed and the F_1 generation was weaned on to their parents' diet, which they consumed until the study was terminated 100 weeks later. Thus, the F_1 generation animals were exposed to saccharin and its impurities during gestation, throughout lactation

via the dam's milk and for the remainder of their lifetime via the diet. Transitional cell carcinomas of the urinary bladder were found exclusively in the males of the 5.0% group with an incidence rate of 7 animals. One male in the 0.5% group had an epithelial hyperplasia of the urinary bladder which the authors considered to be of a precancerous type. Although no bladder tumours were observed in the female rats, squamous cell carcinomas of the uterus were found in 1 animal in the 0.05% group and 2 animals in the 0.5% and 5.0% groups.

In a combination 3-generation chronic feeding study reported by Taylor & Friedman (1974) and Taylor et al. (1980), 10 males and 20 females were fed one of the following diets containing sodium saccharin produced by the Remsen-Fahlberg procedure: 0, 0.01, 0.1,

Homburger (1978)が25匹の雄ネズミ(8週間齢)に0、10 000か50 000 ppm(0、1か5%) サッカリン食餌を与えた。この研究は全く同一に行われた。色々なグループの膀胱腫瘍発生率は次の様であった： 対照区、16匹の内、1匹； 1%サッカリン、最初の実験で13匹の内、1匹と二回目の実験で15匹の内、1匹； 5%サッカリン、最初の実験で12匹の内、1匹と二回目の実験で14匹の内、0匹。

54-56匹の雄ネズミのグループが28ヶ月間、対照食餌か2.5gサッカリンナトリウム/kg/dayを与えられた。各グループの10匹から16匹のネズミが12ヶ月目に殺された。血液学的-血-生化学と病理学的試験はネズミが犠牲になった時にネズミに行われた。研究期間中に死んだ全てのネズミの内部器官が肉眼視で調べられた。処理グループに重要な成長減退が観察された、しかし、死亡率に相違は無かった。膀胱異常は対照区と処理動物のどちらにも報告されなかった。(Furuya 他、1975)

雌雄60匹ずつの離乳しているネズミのグループが Remsen-Fahlberg 工程で生産されたサッカリンナトリウムの食餌を一日当たり、0、90、270、810か2430mgサッカリン/kg/dayで与えられた。この研究は26ヶ月間、行われた。食物摂取、体重測定と臨床試験が全てのネズミに毎週、行われた。動物に膀胱寄生虫 *Trichosomoide crassicauda* は居なかった。雄の一対照区に1個の膀胱腫瘍が見つけられ、90mg/kg グループの雌雄に1個ずつと810mg/kg グループの2匹の雄動物に1個ずつ、雄の一対照区に膀胱腫瘍が見つけられた。腫瘍は全移行性細胞乳頭腫だった。3個の膀胱結石が肉眼視で観察されて、67匹に尿道を通過してしまうほど小さい膀胱結石が見つけられた。膀胱結石の存在はサッカリン処理と膀胱腫瘍の存在に関連は無かった。サッカリン高投与は雌雄両性に体重減退と関連したけれども、膀胱腫瘍の増加は伴わなかった。食物摂取の低下は観察されなかった。雄ネズミに寿命低下があった。下痢が最も高い投与グループに観察された、しかし、腸炎の病理的徴候は伴わなかった。測られた血液学的パラメーターはサッカリンに影響されないし、サッカリンは尿の化学成分に影響しなかった。(Munro 他、1975)

ネズミ (二世世代研究)

交配の前の約3ヶ月間、0、0.05、0.5か5.0%サッカリン食餌を雌雄20匹ずつのネズミに Tisdell 他、(1974)は与えた。この研究に使われたサッカリンは Remsen-Fahlberg 工程で生産された。離乳後、F₀世代が殺され、F₁世代は自分たちの親の食餌に慣らされた、そして、この研究が100週間後に終わるまでネズミ達はその親の食餌を摂った。従って、妊娠期間中と母畜の乳汁を通して授乳期間中に、食餌を通してその後の生存期間に、サッカリンとその不純物にF₁世代動物は曝露された。膀胱の移行性細胞癌腫は5.0%グループの雄に7匹の内、1匹の発生割合で限定的に現れた。0.5%グループの1匹の雄は著者が前癌型と考えた膀胱の上皮増生を有した。雌ネズミに膀胱腫瘍は観察されなかったけれども、0.05%グループの1匹にと0.5%と5.0%グループの2匹に子宮内のうろこ状の細胞癌腫が見つかった。

Taylor & Friedman (1974)と Taylor 他、(1980)によって報告された混合三世世代長期食餌研究では、10匹の雄と20匹の雌が Remsen-Fahlberg 工程で生産されたサッカリンナトリウムの0、0.01、0.1、1.0、5.0か7.5%食餌を与えられた。これらの動物は雄1匹に対して雌2匹の割合で3ヶ月間試験後、交配された。子畜は親の食餌に慣らされて、F₀世代は殺された。この研究は28ヶ月後、終えられた。この研究の生殖のデータは他の章で述べられている。処理グループの平均体重は一般的に対照区動物よりも少なかった； 対照区と比較して体重が15%ま

1.0, 5.0 or 7.5%. These animals were mated after 3 months on test on a 1 male to 2 female basis. The pups were weaned on to their parents' diet and the F₀ generation was killed. The study was terminated after 28 months. The reproductive data for this study are presented in another section. The average body weights of treated groups was generally less than that of the control animals; the lowest body weights were observed in the 7.5% group in which the body weight was depressed by 15% compared to the control, but survival was not affected by dietary treatment. The most significant pathological finding was the incidence of bladder tumours, with 1 tumour being found in a male control, 1 in a male on 5% sodium saccharin and a total of 9 fed the 7.5% sodium saccharin diet (7 males and 2 females). All the tumours were diagnosed as transitional cell carcinomas except for 1 tumour in a male in the 7.5% saccharin group which was diagnosed as a transitional cell papilloma.

Since the Tisdell et al. (1974) study and the study by Taylor & Friedman (1974) have used saccharin which contained levels of o-TS up to 4660 ppm (0.466%) (Stavric et al., 1973), it was suggested (NRC, 1974) that o-TS might be the chemical responsible for the bladder tumours observed in these 2-generation studies.

Arnold et al. (1977, 1980) fed groups of 50 male and 50 female rats one of the following diets for 141 weeks: control, 2.5 mg o-TS/kg/day, 25 mg o-TS/kg/day, 250 mg o-TS/kg/day with 1% NH₄Cl in the drinking-water or 5% sodium saccharin. The saccharin used in these experiments was produced by the Maumee procedure containing no detectable amounts of o-TS. After the F₀ animals had been on test for 3 months, they were mated on a 1:1 basis. The pups were weaned on to their parents' diet and both generations remained on their respective diets for their lifetime (30-32 months). The reproductive data are presented in another section. The animals were free of the bladder parasite Trichosomoides crassicauda. The only treatment-related effects, other than on lactation index and litter size, were a decreased growth rate in the 2 250 mg/kg o-TS groups and the saccharin group, and the incidence of bladder tumours.

This is the first study where F₀ male animals receiving sodium saccharin in their diet had a statistically higher incidence of bladder tumours than did the control groups (P < 0.05). The authors suggest this observation may be attributable to the length of time on test plus the fact that the animals were only 30 days old when the experiment was initiated.

Special epidemiological studies

Available reports of epidemiological studies do not provide clear evidence to support or refute an association between bladder cancer in males and the use of saccharin.

Evaluation of these studies on saccharin is difficult for many reasons. In some cases, only a very limited number of patients was studied. In others, a distinction between consumption of saccharin and cyclamates was not made, or smoking had a confounding effect.

In 2 recently published epidemiological studies in humans, the authors concluded that no association between saccharin consumption and the incidence of bladder cancer was present (Morrison & Buring, 1980; Wynder & Stillman, 1980).

Special studies on mutagenicity

A review on this subject was recently published (Kramers, 1975).

でに低下した、最も低い体重が7.5%グループに観察された、しかし、生存率は食餌処理と関係無かった。最も重要な病理学的調査結果は一雄対照区に見つかった1個の腫瘍と、5%サッカリンナトリウムの雄1匹に1個と7.5%サッカリンナトリウム食餌の合計9匹(7匹の雄と2匹の雌)に膀胱腫瘍の発生があった事だ。移行性細胞乳頭腫と診断された7.5%サッカリンググループの1匹の一個の腫瘍を除いて、全ての腫瘍は移行性の細胞癌腫と診断された。

Tisdell 他、(1974)の研究と Taylor & Friedman (1974)の研究は4660 ppm (0.466%)までの o-TS 濃度を含んだサッカリンを使っているの、o-TS がこれらの2世代研究に観察された膀胱腫瘍の原因である化学物質かも知れないと示唆(NRC, 1974)した。

Arnold 他、(1977, 1980)は雌雄50匹ずつのネズミに141週間、次の食餌を与えた： 対照量、飲料水にNH₄Clを2.5mg o-TS/kg/day、25mg o-TS/kg/day、250mg o-TS/kg/day か5%サッカリンナトリウム。これらの実験に使われたサッカリンはo-TSの検出量の無いMaumee工程で生産された。F₀動物が3ヶ月間、試験に使用されていた、動物達は1:1の割合で交配された。子畜は親の食餌に慣らされて、両世代がそれぞれの食餌で動物達の生存期間中(30-32週間)生きた。生殖のデータは他の章に述べられている。動物に膀胱寄生虫 Trichosomoide crassicaude は居なかった。授乳指標と一腹子畜数以外に唯一処理関係した影響は250mg/kg o-TS グループとサッカリンググループの減退成長率と膀胱腫瘍の発生だった。

これは、サッカリンナトリウム食餌を摂ったF₀雄動物が対照区グループ(P<0.05)よりも高い膀胱腫瘍発生率を有した最初の研究だった。この観察は試験の期間と実験が始められた時に、動物が30日齢だった事実によるものかもしれないと著者は示唆した。

疫学的特別研究

疫学的研究の入手可能な報告書は雄の膀胱癌とサッカリン使用の関連の認否に関する明らかな証拠を提供してない。

サッカリンのこれらの研究の評価は色々な意味で難しい。数ケースで、親の非常に限られた数だけが研究された。他のケースでは、サッカリンとシクラメートの摂取の区別はされなかった、又、喫煙は混乱させる影響を有した。

2件の最近出版された疫学的研究では、サッカリン摂取と膀胱癌発生率の間に関係が存在しないと著者は結論付けた。(Morrison & Buring, 1980; Wynder & Stillman, 1980)

突然変異誘発力の特別研究

この主題の総覧は最近、出版された。(Kramers, 1975) サッカリンの突然変異性の影響に関する

A predominant feature emerging from a review of the literature on saccharin's mutagenic effects is a lack of consistency in the results. As an explanation, it was suggested that the detected effects might be due to a contaminant(s), present in varying amounts in different samples of saccharin (Kramers, 1975).

This suggestion is supported by the findings of Stoltz et al. (1977) who reported mutagenic activity with the Ames Salmonella assay for some, but not all, samples of organic solvent extracts of various saccharin samples produced by the Maumee and Remsen-Fahlberg methods.

The US Technology Assessment panel (OTA, 1977) commissioned a battery of 12 short-term tests, of which 10 had been completed prior to the publication of the panel's report. The sister chromatid exchange studies conducted with human lymphocytes, the mouse lymphoma forward mutation test and the Chinese hamster ovary cell test for chromosome aberration all gave positive results, while negative tests included the Ames Salmonella test, mitotic recombination in yeast, unscheduled DNA synthesis, the Pol A test, *Drosophila* sex-linked recessive lethal test, *in vitro* transformation test and the induction of plasminogen activator. Subsequently, Mondal et al. (1978) reported that saccharin did not produce oncogenic transformation of mouse embryo fibroblasts (C3H/10T1/2) unless an initiating dose of 3-methylcholanthrene was used.

Batzinger et al. (1977) orally administered saccharins of differing degrees of purity to mice and then collected the urine to test for mutagenic activity in the Ames Salmonella test. By modifying the growth and selection medium, they were able to detect mutagenic activity for all but the most purified samples of saccharin.

When yeast was grown in a medium containing saccharin of different purities, Moore & Schmick (1979) found an inverse relationship between the incidence of mitotic crossing-over and the purity of the saccharin sample. The results of Saxholm et al. (1979) with the mouse embryo fibroblast test (C3H/10T1/2) and sister chromatid exchange, as well as those by Abe & Sasaki (1977) and Wolfe & Rodin (1978), are somewhat divergent, possibly due to use of saccharins with different purities or the use of different endpoints. Simmon et al. (1982) reported on the results of the two independent laboratories which attempted to confirm previous short-term positive studies when saccharin was introduced into the medium of the following tests: mouse lymphoma, human lymphocyte SCE, the CHO cytogenetic analyses as well as the standard and modified Salmonella test. As the findings from both laboratories were not always similar, the authors concluded that the differences observed were attributable in part to intrinsic test system variability generated at high concentrations of a relatively non-toxic material.

Various impurities found in Remsen-Fahlberg-produced saccharin have been tested in the following systems: ortho- and para-toluenesulfonamide were negative with *Drosophila* (Kramers, 1977) and in a modified Salmonella assay (Poncelet et al., 1979, 1980) but weakly mutagenic in the Ames Salmonella test and the Basc test in *Drosophila melanogaster* (Eckhardt et al., 1980), while ortho- and para-sulfamoylbenzoic acid were ineffective mutagens in the Ames Salmonella assay, the Basc test in *Drosophila melanogaster* and micronucleus test in mice (Eckhardt et al., 1980). Such impurities as o-sulfobenzoic acid, ammonium o-sulfobenzate, p-sulfobenzoic acid and p-sulfamoylbenzoic acid were also negative in a modified Salmonella assay (Poncelet et al., 1979, 1980).

Special studies on pharmacokinetics

論文の総覧から浮かび上がる主な特徴は結果における一貫性の欠如である。解説として、検出された影響がサッカリンの異なる種類の色々な量の汚染物質によるものかもしれないと示唆された。(Kramers, 1975)

Maumee と Remsen-Fahlberg 方式で生産された色々なサッカリンサンプルの有機体溶剤抽出物のサンプルの全てではなく、一部のサンプルに関して Ames サルモネラ菌分析で突然変異活動を報告した Stoltz 他、(1977)によってこの示唆は支持されている。

The US Technology Assessment panel (OTA, 1977)は一連の12件の短期間試験を依頼した、そして、10件の短期期間試験のパネル報告が出版の前に完成していた。Ames サルモネラ菌試験、イースト菌の有糸分裂結合、臨時のDNA合成、Pol A 試験、ショウジョウバエの劣性形質伴性致死試験、試験管内形質転換試験とプラスミノゲン賦活体の誘導をサッカリン影響否定試験として含めた一方で、人間のリンパ球や、突然変異性試験に使われるネズミのリンパ腫とチャイニーズハムスターの染色体異常型卵巣細胞試験でシスター染色分体交換研究が行われた。次に、3-メチルコラントレン投与開始が行われない限り、ネズミ胎児の繊維芽細胞 (C3H/10T1/2) の発癌形質転換をサッカリンは起さなかったと Mondal 他、(1978)が報告した。

ハツカネズミに色々な純度のサッカリンを経口投与して、その後、Ames サルモネラ菌試験で突然変異性活動の為の試験に尿を Batzinger 他、(1977)が収集した。成長と選択媒質を加減する事によって、純度の最も高いサッカリン以外の全てに関して突然変異性活動を彼らは検出する事が出来た。

異なる純度のサッカリンを含む媒質でイースト菌が増やされた時、有糸分裂の交差の発生とサッカリンサンプルの純度との間に反比例関係を Moore & Schmick (1979)が見つけた。ハツカネズミ胎児繊維芽細胞試験 (C3H/10T1/2) とシスター染色分体交換を伴う Saxholm 他、(1979)の結果と同様な Abe & Sasaki (1977)と Wolfe & Robin (1978)による結果は互いに少し異なったが、おそらく、この事は異なる純度のサッカリン使用か異なる終点使用によるものである。サッカリンが次の試験：ハツカネズミリンパ腫、人間のリンパ球 SCE、CHO 細胞遺伝学的分析、及び、標準試験とサルモネラ菌調節試験でサッカリンが導入された時、前回の短期サッカリン影響肯定研究を確認する為に試みられた二件の各実験室の結果を Simmon 他、(1982)は報告した。両実験室の発見が必ずしも同じでなかったように、観察された相違は比較的無一毒性物質の高濃度で生じた内因性試験システム変動性に部分的に起因すると著者は結論付けた。

Remsen-Fahlberg 製法のサッカリンに見つけられた色々な不純物は次のシステムで試験されている： オルトーとパラートルエンスルフォンアミドはショウジョウバエ(Kramers, 1977)とサルモネラ菌調節分析(Poncelet 他、1979, 1980)でサッカリン影響否定的だった、しかし、Ames サルモネラ菌試験と キイロショウジョウバエ(Eckhardt 他、1980)の Basc 試験で微かに突然変異性があった、一方、オルトーとパラースルファモイル安息香酸は Ames サルモネラ菌分析、キイロショウジョウバエ(Eckhardt 他、1980)の Basc 試験とハツカネズミの(Eckhardt 他、1980)小核試験で突然変異性の影響は無かった。

薬物動力学的特別研究

Following the oral administration of ^{14}C -saccharin to pregnant rats on the twenty-first day of gestation, Ball et al. (1977) found that 0.6% of the administered dose was detectable in the fetuses and radioactivity in their urinary bladder was 10 times higher than in other tissues 26 hours post-dosing.

The pharmacokinetic properties of saccharin in man have recently been reported. Colburn et al. (1981) had a man (who had not previously consumed saccharin on a routine basis) and a woman (who was a regular user of saccharin) ingest a single 100 mg dose of saccharin, following which blood and urine samples were obtained during the next 24 hours.

The authors calculated the half-life and apparent volume of distribution to be 1.2 and 6.6 hours, and 41.6 and 13.1 litres, respectively. While no measurable saccharin was detected in the plasma of either subject prior to the test, the female subject was found to be excreting 17.4 $\mu\text{g}/\text{hour}$ during the 12 hours prior to the start of the test. The female subject had chronically used saccharin up to 10 days prior to the test period. The authors proposed that a deep peripheral second compartment existed in the female subject due to her chronic use of saccharin. Sweatman et al. (1981) administered saccharin to 3 adult male subjects and periodically determined the concentration of saccharin during the next 400 minutes after oral (2 g) and i.v. (10 mg/kg) doses. The authors found that their i.v. data fitted a two-compartment open model with the half-life of the second phase being 70 minutes. Following oral ingestion, the decrease in plasma saccharin levels was more complex; however, if the same dose of saccharin was given after a meal, the peak plasma levels were lower and were delayed by 100-120 minutes versus the i.v. dosing situation. After 96 hours, 90% of the latter dose had been recovered in the urine and 8% in the faeces.

Special studies on reproduction

Mouse

Groups of 21 pregnant mice received 40-168 mg/kg bw per day of saccharin through the production of 3 successive litters without deleterious effect on growth, litter number and pups per litter when compared with controls fed sugar. No histological studies were performed (Lehmann, 1929).

A 6-generation study was carried out by Kroes et al. (1977) in which mice were fed diets containing 0, 0.2 or 0.5% sodium saccharin during the entire study. The criteria of reproductive performance were: fertility index; viability index (percentage survival at 5 days); lactation index (percentage survival at 21 days); body weight at 21 days; and number of infertile males. No consistent changes in any of these parameters over the 6 generations were observed. Although body weight at 21 days was suppressed in some groups of some generations, this response was not consistently observed in later generations at the same treatment level. Additionally, there was no evidence of any teratogenic effects.

Rat

One aspect of a long-term feeding study with saccharin performed at the Wisconsin Alumni Research Foundation (WARF) reported by Tisdell et al., 1974 involved the mating of rats from the same treatment groups, on a 1:1 basis, after they had received one of the following diets for 14 weeks: 0, 0.05, 0.5 or 5% saccharin, produced by the Remsen-Fahlberg procedure. The mothers continued to receive the test diets during mating, gestation and lactation.

妊娠期間 21 日目のネズミに ^{14}C -サッカリンの経口投与後、摂取投与の 0.6% が胎児に検出可能で、ネズミの膀胱内放射能は 26 時間投与後に他の組織にある放射能よりも 10 倍、高かったと Ball 他、(1977)は分かった。

人間におけるサッカリンの薬物動力学的特性が最近、報告されている。サッカリン投与後、24 時間の間に血液と尿サンプルが採られた後に、男性ひとり（通常、サッカリンを以前に摂取していないでいた）と女性ひとり（サッカリンの常用使用者だった）に単一 100 mg サッカリン投与を Colburn 他、(1981)は、させた。

著者達は半減期を計算し、1.2 と 6.6 時間になる分布の明らかな量を計算した、そして、それぞれ 41.6 リットルと 13.1 リットルだった。試験の前にどちらの被験者も血漿内に測定できるサッカリンは検出されなかった一方で、女性の被験者が試験の開始前 12 時間の間に 17.4 $\mu\text{g}/\text{hour}$ を排出している事が分かった。女性被験者は長期に亘って試験期間の前の 10 日まで、サッカリンを使用してしまっていた。サッカリンの長期使用によって、皮下の末梢的第二区画が、女性被験者に存在したと著者達は提案した。Sweatman 他、(1981)は 3 人の男性に投与し、サッカリンを経口 (2 g) と静脈 (10 mg/kg) 投与後、次の 400 分の間にサッカリン濃度を定期的に測定した。彼氏達の静脈のデータは第二段階の半減期が 70 分である二区画オープンモデルに適合した事が著者達に分かった。経口摂取後、血漿内サッカリン濃度の減少はより複雑だった； 然しながら、同じサッカリン投与が食後に与えられたならば、最高血漿濃度はより低くて、静脈投与の場合に対して 100-200 分間、遅れた。96 時間後、後者の男性の投与の 90% が尿内に回収され、便内に 8% が回収されていた。

繁殖特別研究

ハツカネズミ

成長や、砂糖を摂った対照区と比較した時の一腹子畜数と每一腹子畜に有害な影響は無く、3 連続一腹子畜の産出を通して、サッカリン 40-168 mg/kg bw per day を 21 匹の妊娠したハツカネズミのグループが摂った。組織学的研究は行われなかった。(Lehmann, 1929)

全研究期間の間にサッカリンナトリウム 0、0.2 か 0.5% 食餌のハツカネズミの六世代研究が Kroes 他、(1977)によって行われた。繁殖成果の判定基準は： 受精率指数； 生育性指数（5 日目の生存率）； 21 日目の体重； と不妊症の雄の数である。これらの六世代以上のどのパラメーターにも一貫した変化は観察されなかった。21 日目の体重が幾つかの世代の幾つかのグループで抑制されたけれども、この結果は同じ処理濃度の六世代以後には一貫して観察されなかった。更に、催奇形の影響を示す徴候は少しも無かった。

ネズミ

Tisdell 他、1974 によって報告された Wisconsin Alumni Research Foundation (WARF)で行われたサッカリンに関する長期食餌研究の一件の外観は Remsen-Fahlberg 工程で生産されたサッカリンの 0、0.05、0.5 か 5% 食餌をネズミが 14 週間、摂った後に、同じ処理グループからのネズミの 1:1 の交配を取り入れた。母畜は交配期間、妊娠期間と授乳期間中に試験食餌を摂った。

"Pregnant animals were isolated about 5 days before parturition and allowed to deliver and care for their young until the litters were weaned 21 days after birth. Survival of progeny was recorded through day 28."

"Data recorded for each litter included: identification of parents, number of pups born (total, alive and dead); number of survivors 4 and 21 days after birth; and weight of survivors through 28 days of age. The results showed no effect of saccharin on mating efficiency, survival of pups born alive, or weight gain of surviving offspring. All groups fed saccharin had smaller average litter sizes and reduced average percent live births, when compared to controls, but neither response appeared to be related to dose level."

"The differences were not statistically analyzed, but examination of data on individual animals shows that the lower average values are attributable to extremely poor performance of one or two animals in each group, not to a general reduction. The apparent effect is therefore probably within the customary experimental variability."

"Surviving and dead fetuses were examined for gross abnormalities; no evidence of teratogenicity was found" (NAS, 1974).

A 3-generation reproductive study (Taylor & Friedman, 1974; Taylor et al., 1980) was carried out in which rats were continuously fed diets containing 0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0 and 7.5% sodium saccharin produced by the Remsen-Fahlberg procedure. In the F_{1a} animals, the male offspring of dams receiving 5.0% or 7.5% saccharin weighed 12-20% less than controls and the females weighed 17-29% less than control animals, but both sexes were able to overcome some of these initial weight differences during a chronic feeding portion of the study. In the F_{2a} litters, the fertility and viability indices were unaffected by treatment, but average litter size was slightly decreased for dams receiving 5.0% or 7.5% sodium saccharin; the survival index, weaning index and body weights of these pups were below controls. In the F_{2b} litters, only body weight at weaning was lower than controls for these same two groups.

During a 2-generation lifetime feeding study by Arnold et al. (1977, 1980), 50 male and 50 female rats were fed one of the following diets (tap water ad libitum except where noted): control; 2.5 mg/kg ortho-toluene-sulfonamide (o-TS); 25 mg/kg o-TS; 250 mg/kg o-TS plus drinking-water containing 1% NH₄Cl; or 5% sodium saccharin produced by the Maumee procedure, which contained no detectable o-TS. o-TS is a major impurity in Remsen-Fahlberg-produced saccharin, and o-TS is a known inhibitor of the enzyme carbonic anhydrase (Miller et al., 1956). The animals were mated on a 1:1 basis after 3 months on test. The only treatment-related effect on reproduction was a significant depression in the lactation index in the 2.5 mg/kg o-TS group and a significant decrease in the litter size of the 250 mg/kg o-TS group.

There were no treatment-related effects upon fertility, gestation or viability indices or any effect upon the body weight of pups or the number of males in the litter.

Special studies on teratology

Teratogenic studies with mice (Tanaka, 1964; Lorke, 1969; Kroes et al., 1977), rats (Bough et al., 1967; Fritz & Hess, 1968; Lessel, 1970; Taylor & Friedman, 1974) and rabbits (Bough et al., 1967; Klotzsche, 1969; Lessel, 1970; Tanaka et al., 1973) have been negative to date.

「妊娠した母畜は分娩前に5日位、隔離され、その後、出産し、子畜が生後、21日目までの離乳するまで面倒を見る事が許された。子畜の生存率は28日目に記録された。」

「各子畜の記録されたデータは： 親の鑑定、生まれた子畜数（合計、正常出産と死産）； 生後、4日目と21日目の生存数； 28日齢生存時の体重を取り入れた。交配効率、正常出産子畜生存率や生存子畜体重に関してサッカリンの影響を結果は示さなかった。対照区と比較して、サッカリン食餌の全てのグループは平均一腹子畜数が少なく、正常出産平均誕生率を低下させた、しかし、どちらの結果も投与濃度に関係があるようには見えなかった。」

「相違は統計的に分析されなかった、しかし、低い平均値は各グループの1匹か2匹の動物でした非常に少ない作為に起因し、一般的な減数には起因しない事を個々の動物の試験データが示す。それ故、明らかな影響は、おそらく、通例実験の変動性以内である。」

「生きている胎児と死んだ胎児は肉眼視で異常を調べられた； 催奇形性の徴候は見つけられなかった。」(NAS, 1974)

Remsen-Fahlberg 工程で生産されたサッカリンナトリウム0、0.01、0.1、1.0、5.0と7.5%食餌をネズミが継続的に摂った三世代生殖研究(Taylor & Friedman, 1974; Taylor 他、1980)が行われた。F_{1a}動物では、5.0%か7.5%サッカリンを摂った母畜の雄子畜は対照区よりも12-20%少ない体重で、雌子畜は対照動物よりも17-29%少ない体重だった、しかし、この研究の長期食餌配分の期間に、両性ともこれらの初めの体重相違を幾らか回復する事が出来た。F_{2a}子畜では、受精率指数と生育性指数が処理に影響されなかった、しかし、5.0%か7.5%サッカリンナトリウムを摂った母畜には平均一腹子畜数が少し、減った； これらの子畜の生存率指数、離乳指数と体重は対照区より下位だった。F_{2b}子畜では、これらの同じ二つのグループで離乳時の体重だけが対照区より少なかった。

Arnold 他、(1977, 1980)による二世代生涯食餌研究中、雌雄50匹ずつのネズミが次の食餌（注意書きが無い限り以後、制約無しの水道水）を与えられた： 対照区； 2.5 mg/kg オルトートルエンスルホンアミド(o-Ts)； 25 mg/kg o-TS； 250 mg/kg o-Ts plus 1% NH₄Clを含む飲料水； か o-TS を含んだ Maumee 工程で生産された5%サッカリンナトリウム。o-TS は Remsen-Fahlberg で生産されたサッカリン中の主要な不純物である、そして、o-TS は脱水炭酸酵素阻害剤として知られている。動物は試験の3ヶ月後、1:1の割合で交配された。生殖に関する処理関連した唯一の影響は2.5 mg/kg o-TS グループの授乳指数のかなりの低下だった、そして、250 mg/kg o-TS グループの一腹子畜数のかなりの減少だった。

受精率指数、妊娠率指数、変動性指数や子畜の体重や一腹子畜の雄の数に關したどんな影響も無かった。

奇形学的特別研究

ハツカネズミ(Tanaka, 1964; Lorke, 1969; Kroes 他、1977)、ネズミ(Bough 他、1967; Fritz & Hess, 1968; Lessel, 1970; Taylor & Friedman, 1974)とウサギ(Bough 他、1967); Klotzsche, 1969; Lessel, 1970; Tanaka 他、1973)は現在のところ、サッカリン影響否定の立場でいる。

Lederer & Pottier-Arnould (1973)は妊娠期間中に0.3%サッカリンを妊娠ネズミに与えた。サッ

Lederer & Pottier-Arnould (1973) fed pregnant female rats diets containing 0.3% saccharin throughout gestation. The pups from saccharin-treated dams had a 37.9% incidence of lens anomalies versus 12.4% incidence for the control animals.

Acute toxicity

Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Reference
Mouse	Oral	17 500	Taylor et al., 1968
	i.p.	6 300	Taylor et al., 1968
		17 500	Tanaka, 1964
Hamster (8-day LD ₅₀ value)	Oral (F)	8 700	Althoff et al., 1975
	(M)	7 400	
Rat	Oral	14 200-17 000	Taylor et al., 1968
	i.p.	7 100	Taylor et al., 1968
Rabbit	Oral	5 000-8 000 (LD)	Folin & Herter, 1912
Dog	i.v.	2 500 (LD)	Becht, 1920

Short-term studies

Rat

Kennedy et al. (1976) fed groups of 10 male and female weanling rats one of the following diets for 13 weeks: (1) control; (2) 20 000 ppm (2%) sodium saccharin; (3) 20 000 ppm (2%) o-sulfamoylbenzoic acid (o-SABA); (4) 20 000 ppm (2%) ammonium o-carboxybenzene sulfonate (A-o-CBS); (5) 100 ppm (0.01%) sodium saccharin plus 450 ppm (0.045%) o-SABA and 450 ppm (0.045%) A-o-CBS; (6) 500 ppm (0.05%) sodium saccharin plus 2250 ppm (0.225%) o-SABA and

2250 ppm (0.225%) A-o-CBS; (7) 2000 ppm (0.2%) sodium saccharin plus 9000 ppm (0.9%) of o-SABA and 9000 ppm (0.9%) A-o-CBS. (A-o-CBS and o-SABA are hydrolytic products of saccharin.) Weight gain and feed consumption were determined on a weekly basis and behavioural changes were looked for. Haematological studies (RBC, total and differential WBC, Hgb and haematocrit), clinical blood chemistry (glucose, BUN, serum alkaline phosphatase and SGPT) and urinalysis (albumin, glucose, microscopic elements, pH and specific gravity) were conducted prior to starting the study, at the midpoint and upon termination. Every animal was autopsied and examined histologically. The liver, kidney, spleen and gonad weights were determined and organ/body weight ratios calculated. No consistent or significant changes in any parameter were observed.

Groups of 14 male and 14 female rats (75-100 g) received either a control diet or one containing 0.5% sodium saccharin for 38 days. The inclusion of saccharin in the diet depressed body weight gains and feed intake, but efficiency of feed utilization was similar to controls. Although diarrhoea was a common observation, no overt behavioural changes were apparent. Gross and microscopic inflammatory and hydropic changes in the liver and kidneys of the saccharin-treated group were reported, but the extent of these changes was not described (Taylor et al., 1968).

Groups of 25 rats (5 males and 20 females) were fed diets

カリン処理した母畜の子畜は水晶体奇形37.9%の発生率だった、それに対して、対照区は12.4%の発生率を有した。

急性毒性

動物	経路	LD ₅₀ (mg/kg bw)	参考文献
ネズミ	経口	17 500	Taylor 他、1968
	腹腔内	6 300	Taylor 他、1968
		17 500	Tanaka, 1964
ハムスター (8日 LD ₅₀ 値)	経口 (雌)	8 700	Althoff 他、1975
	(雄)	7 400	
ネズミ	経口	14 200-17 000	Taylor 他、196
		7 100	Taylor 他、1968
ウサギ	経口	5 000-8 000	Folin & Herter, 1912
犬	静脈内	2 500	Becht, 1920

短期研究

ネズミ

Kennedy 他、(1976)は雌雄の離乳した10匹のネズミに13週間、次の食餌を与えた： (1) 対照量； (2) 20 000 ppm (2%) サッカリンナトリウム； (3) 20 000 ppm (2%) オルトースルファモイル安息香酸(o-SABA)； (4) 20 000 ppm (2%) アンモニウム・オルト・カルボキシベンゼンスルホン酸塩(A-o-CBS)； (5) 100 ppm (0.01%) サッカリンナトリウム plus 450 ppm (0.045%) o-SABA and 450 ppm (0.045%) A-o-CBS； (6) 500 ppm (0.05%) サッカリンナトリウム plus 2250 ppm (0.225%) o-SABA and 2250 ppm (0.225%) A-o-CBS； (7) 2000 ppm (0.2%) サッカリンナトリウム plus o-SABA 9000 ppm (0.9%) と 9000 ppm (0.9%) A-o-CBS。(A-o-CBS と o-SABA はサッカリンの加水分解質産物である。) 体重増と食物摂取は一週間単位で測定され、行動変化が観察された。血液学的研究(赤血球数、合計白血球数と合計鑑別白血球百分率、ヘモグロビンとヘマクリット法)、臨床血液化学現象(ブドウ糖、血液尿素窒素、血清アルカリフォスファターゼとSGPT)と尿分析(アルブミン、ブドウ糖、顕微鏡視的要素、pH と比重)がこの研究を始める前と中間時と終了時に行われた。どの動物も検死され、組織学的に調べられた。肝臓、腎臓、脾臓と精巣の重量が測定され、器官/体重比率が計算された。どのパラメーターにも一貫した重要な変化は観察されなかった。

雌雄14匹ずつのネズミ(75-100g)のグループが38日間、対照食餌か0.5%サッカリンナトリウムを摂った。食餌のサッカリン含有は体重を減少させ、食餌摂取を低下させた、しかし、食餌利用効率は対照区と同じだった。下痢はよくある所見だったけれども、明白な行動変化は、明らかでなかった。肉眼視的にと顕微鏡視的に、サッカリン処理グループの肝臓や腎臓中に炎症性変化や水腫性変化が報告された、しかし、これらの変化の程度は述べられなかった。(Talor 他、1968)

25匹のグループ(5匹の雄と20匹の雌)が36週間、0、1.0か10%のサッカリン食餌を与えられた。ネズミの同様なグループが一生涯、0、0.1か1.0%のサッカリン食餌を

containing 0, 1.0 or 10% saccharin for 36 weeks. Similar groups of rats were fed diets containing 0, 0.1 or 1.0% saccharin for a lifetime. One female from each group in the second experiment was mated and 4 progeny from each litter were fed a diet containing the same amount of saccharin as their parents for a lifetime. Growth was retarded at the 10% level, but no adverse effects were seen at the lower levels upon histological examination of the major organs (Fantus & Hektoen, 1923).

In a 4-week feeding study, Anderson (1979) fed rats diets containing 0, 1, 3, 5 or 7.5% sodium saccharin and observed: (1) transient diarrhoea in the 5% and 7.5% group; (2) a dose-dependent decrease in urinary ammonia; and (3) a decreased faecal odour. These observations led the author to hypothesize that diets with high levels of sodium saccharin may lead to changes in the intestinal microflora. To test the hypothesis, Anderson & Kirkland (1980) fed rats diets containing 0 or 7.5% saccharin for 10 days. The saccharin diet produced an increased weight of the caecal tissues and contents; did not decrease the total number of anaerobic microbes, but did result in the inability to detect a specific anaerobic microbe; increased the number of aerobic microbes; and reduced the amount of ammonia produced from urea by Proteus vulgaris.

Dog

In addition to the rat study cited above, Kennedy et al. (1976) also fed the same 7 diets to groups of 3 male and 3 female beagle dogs for 16 weeks. In addition to the parameters indicated for the rats, the authors also determined SGOT and protein-bound iodine in this study. No significant treatment-related effects were observed.

One male and 1 female dog received 150 mg/day of saccharin in their food for 18 months without any adverse effects on weight, fertility or other bodily functions. Their pups developed normally (Bonjean, 1922).

When given doses of 175-350 mg/day for 100 days, dogs developed hyperaemia of the lungs, liver, myocardium and kidney, as well as cloudy swelling of renal glomeruli and convoluted tubules (de Nito, 1936).

Groups of 4 dogs (sex unspecified) received 6 daily doses of sodium saccharin (0.065 g/kg dissolved in water) for 11 months via intragastric intubation. The dogs were observed daily for survival, general physical condition, behaviour, food and water consumption, and character and frequency of excreta. The animals were weighed weekly. Laboratory tests included renal and hepatic function tests which were performed at 0, 1, 2, 4, 9 and 11 months on test. During the second half of the study, 1 dog receiving saccharin became anorexic and eventually died, but no abnormal organ pathology was observed. After 10 months of test, all saccharin-treated dogs developed soft, poorly-formed stools without frank diarrhoea. Body weight, haemoglobin, total leucocyte count, non-protein nitrogen and phenosulfonephthalein retention were within normal limits and total erythrocyte count, bilirubin and urinary analyses were also unaffected. Gross and histological appearance of viscera were normal in the test group (Taylor et al., 1968).

Monkey

McChesney et al. (1977) reported no pathological or any other significant changes in growth, haematology or clinical chemistry in groups of 3 rhesus monkeys of each sex receiving 0 (control) or 500 mg of saccharin/kg/day and in groups of 2 male and 2 female monkeys

与えられた。二回目の実験の各グループから1匹の雌が交配され、各一腹子畜からの4子畜は自分の親が生涯与えられたのと同じ量のサッカリン食餌を与えられた。成長が10%濃度で後退した、しかし、主な器官の組織学的試験で、より低い濃度では有害な影響は見られなかった。(Fantus & Hektoen, 1923)

4週間食餌研究では、Anderson (1979)が0、1、3、5か7.5%サッカリンナトリウム食餌を与えて、次の事を観察した：(1) 5%と7.5%グループで一時的下痢；(2) 尿アンモニアの投与依存による減少；と(3) 減少した便の臭気。サッカリンナトリウム高濃度食餌は腸の微小植物相内の変化を引き起こすかもしれないとこれらの観察が著者に仮説を立てさせた。仮説を試す為に、Adnerson & Kirkland (1980)は、10日間、0か7.5%サッカリン食餌をネズミに与えた。サッカリン食餌は盲腸組織と盲腸内の内容物の重量を増加させた；無機性微生物の合計数を減らさなかった；しかし、特別な無機性微生物を検出できない結果となった；無機性微生物を増やした；そして、尋常変形菌によって尿素から作られたアンモニアの量を減らした。

犬

上記のネズミ研究に追加して、Kennedy 他、(1976)も又、16週間、雌雄3匹ずつのビーグル犬のグループに同じ7種類の食餌を与えた。ネズミのパラメーターに追加して、著者達も又、この研究でSGOTと蛋白質結合したヨウ素を測定した。処理関係した重要な影響は観察されなかった。

体重、受精率や他の身体機能の有害な影響が少しもなく、雌雄1匹ずつの犬が18ヶ月間、150mg/dayのサッカリン食餌を摂った。(Bonjean, 1922)

100日間、175-350mg/day投与されると、肺、肝臓、心筋と腎臓の充血、同様に腎糸球体と曲細管の混濁腫脹を発生させた。

4匹の犬(性不明)のグループが11ヶ月間、胃挿管法でサッカリンナトリウム(水で溶かした0.065g/kg)を毎日6回、摂った。生存率、一般体調、行動、食物と水の摂取量と排泄回数と排泄物の特徴を毎日、犬は観察された。動物は毎週、体重測定された。11ヶ月間、0、1、2、4、9と11ヶ月目に行われた腎臓と肝臓の機能試験を実験室試験に取り入れた。この研究の第二半期の間、サッカリンを摂った1匹の犬は食欲不振になり、最終的に死んだ、しかし、異常器官病理は観察されなかった。試験の10ヶ月後、真性下痢を生じる事無しに軟便で不完全形状の便をサッカリン処理の全ての犬は発生させた。体重、ヘモグロビン、合計白血球数、非蛋白性窒素とフェノールスルホンフタレン停留は通常限度以内で、合計赤血球数、ビリルビンと尿分析も影響が無かった。肉眼で見た内臓組織の外見は試験グループで平常だった。(Taylor 他、1968)

サル

McChesney 他、(1977)は血液学的と臨床化学的に、重要な変化は少しも無かったと報告した、そして、0(対照量)か500mgサッカリン/kg/day摂取の雌雄の3匹の赤毛サルのグループと79ヶ月間、週に6回、20か100mgサッカリン/kg/dayを摂取した雌雄2匹ずつのサルのグループの血液学的又は、臨床化学的な変化を報告した。各実験グループの1匹と対照区の2匹の動物が実験終了前に死んだ。どの死亡も処理に起因しなかった。ほとんど限定的に急速な代謝しないサッカリンの尿排出を示した試験中、代謝研究が数件、行われた。

receiving 20 or 100 mg of saccharin/kg/day 6 days per week for 79 months. One animal in each experimental group and 2 control animals died before termination of the experiment. None of the deaths were attributable to the treatment. Metabolic studies conducted on several occasions during the test indicated a rapid, almost exclusively urinary excretion of unmetabolized saccharin.

OBSERVATIONS IN MAN

Doses of 1.5-3.0 g of saccharin/day in man caused a persistent sweet metallic taste (Carlson et al., 1923). Single doses of 5-10 g have been tolerated and even 100 g orally is said to have caused no harm. A few non-fatal cases of acute poisoning and allergic response have been reported (NAS-NRC, 1955).

During high-intake balance studies, 3 male volunteers received 0.3 g of sodium saccharin/day for a maximum of 4 months and 1-1.5 g of sodium saccharin/day for a maximum of 2 months. All of the administered saccharin was fully accounted for. Seven volunteers received 0.15-0.3 g of saccharin/day for 1.3 months without adverse effects except for an increased urine output (Folin & Herter, 1912). Doses of 90-180 mg of saccharin/day were well tolerated by children aged 10-12 years for 13 months (Jessen, 1890). Diabetic patients have received as much as 4.8 g daily for 5 months without adverse effect (Neumann, 1926a,b) and 0.4-0.5 g/day for 15-24 years without any adverse effects (National Academy of Sciences - National Research Council, 1955).

The principal adverse effects that have been reported from saccharin are as follows:

(1) Mild digestive disturbances were noted by Herter & Folin (1911) in volunteers ingesting doses of 1-1.5 g of saccharin/day. Loose stools were observed in clinical studies when subjects consumed cyclamates plus saccharin in doses of about 7 g/day (Berryman et al., 1968). At these dosages, the saccharin intake was about 0.7 g/day. Evidence from other studies indicates that cyclamate alone at intakes of 5-7 g/day may cause loose stools.

(2) Allergic responses, principally skin reactions of a phototoxic or photosensitivity type occur but appear to be of low incidence and, in some cases, may have been due to cyclamate being ingested at the same time (Fujita et al., 1965; Stritzler & Samuels, 1956; Kingsley, 1966; Boros, 1965; Meisel, 1952; Gordon, 1972; Taub, 1972). Some authors have suggested that there may be a cross-sensitivity to sulfonylureas and similar drugs known to cause phototoxic skin reactions. Contact dermatitis and photosensitivity or phototoxic reactions have not been noted in persons occupationally exposed to saccharin (NAS, 1974).

Comments

The present Committee reviewed further findings from epidemiological studies that did not reveal any evidence for a saccharin-associated increase in bladder tumours. Final assessment of the epidemiological aspect of saccharin consumption will be made following the review of a large-scale study, now in progress but

nearing completion. The Committee decided to extend the temporary ADI of 0-2.5 mg/kg for saccharin to 1984 and required the submission of the results of a long-term feeding study in rats and epidemiological studies.

EVALUATION

人間観察

人間の 1. 5-3. 0 g サッカリン/day 投与は持続性の甘い金属味の原因となった。5-10 g サッカリン投与は人間には耐えられている、そして、100 g 経口投与でさえ、危険性が無いと言われている。致死に至らない急性中毒とアレルギー反応のケースが報告されている。(NAS-NRC, 1955)

高摂取バランス研究中、最大、4ヶ月間、0. 3 g サッカリンナトリウムと最大、2ヶ月間、1-1. 5 g サッカリンナトリウムを3人の男性志願被験者が摂った。投与されたサッカリンの全てが完全に報告された。尿の排出量の増加以外、有害な影響無しに、7人の志願被験者が1. 3ヶ月間、0. 15-0. 3 g サッカリン/day を摂った。(Folin & Herter, 1912) 10-12歳の子供達は90-180 mg サッカリン/day 投与を良く耐えた。(Jessen, 1890) 有害な影響無しに、5ヶ月間、毎日、4. 8 g も摂って、有害な影響無しに、15-24年間、0. 4-0. 5 g/day を糖尿病患者は摂っている。(National Academy of Sciences - National Research Council, 1955)

報告されているサッカリンの主な有害な影響は下記の様である：

(1) 1-1. 5 g サッカリン/day 投与の志願被験者に穏やかな消化障害が Herter & Folin (1911)によって記録された。被験者が7 g 位/day シクラメート plus サッカリン投与を摂取した時、軟便が臨床研究で観察された。(Berryman 他、1968) これらの投与では、サッカリン摂取は0. 7 g 位/day であった。シクラメート5-7 g/day 摂取だけが軟便の原因であるかもしれないと他の研究の事実が示す。

(2) 主に感光性毒性か感光性型皮膚反応が起きたが、低い発生率である様に見える、そして、数件の場合で、アレルギー反応は同時に摂取されているシクラメートによっているものかもしれない。(Fujita 他、1965; Stritzler & Samuels, 1956; Kingsley, 1966; Boros, 1965; Meisel, 1952; Gordon, 1972; Taub, 1972) スルフォニル尿素や感光性毒性皮膚反応の原因であると知られているスルフォニル尿素に似た同様な薬品に交差感性があるかもしれないと幾人かの著者達が示唆している。接触皮膚炎と感光性や感光毒性の反応はサッカリン曝露した職業別に調べた人々には記録されていない。(NAS, 1974)

解説

サッカリンに関連した膀胱腫瘍の増加に関する事実を明らかにしなかった疫学的研究の更に進んだ調査結果を現委員会は再考した。現在、進行中でもうすぐ完成する大規模な研究の再検討後に、サッカリン摂取の疫学的外観の最終的評価は成されるであろう。暫定的 ADI 0-2. 5 mg/kg サッカリンを1984年まで延長する事を委員会は決定し、ネズミの長期食餌研究の結果と疫学的研究結果の提出を必要とした。

評価

Estimate of temporary acceptable daily intake for man

0-2.5 mg/kg bw.

FURTHER WORK OR INFORMATION

Required by 1984

- (1) Submission of the results of a long-term feeding study, currently in progress.
- (2) Submission of the results of the epidemiological study, currently in progress.

REFERENCES

- Abe, S. & Sasaki (1977) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals, J. natl. Cancer Inst., 58, 1645
- Allen, M. J. et al. (1957) Cancer of the urinary bladder induced in mice with metabolites of aromatic amines and tryptophan, Br. J. Cancer, 11, 212
- Althoff, J. et al. (1975) A chronic study of artificial sweeteners in Syrian golden hamsters, Cancer Lett., 1 21
- Anderson, R. L. (1979) Response of male rats to sodium saccharin ingestion: Urine composition and mineral balance, Fd. Cosmet. Toxicol., 17, 195
- Anderson, R. L. & Kirkland, J. J. (1980) The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora, Fd. Cosmet. Toxicol., 18, 353
- Arnold, D. L. et al. (1977) Long term toxicity study with orthotoluene-sulfonamide and saccharin, Toxicol. Appl. Pharmacol., 41, 164, abstract No. 78
- Arnold, D. L. et al. (1980) Long-term toxicity of orthotoluene-sulfonamide and sodium saccharin in the rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 52, 113
- Ball, L. M. (1973) The metabolism of saccharin and related compounds. Report 4, from the Department of Biochemistry, St Mary's Hospital Medical School, London, UK. Unpublished report submitted to WHO
- Ball, L. M., Renwick, A. G. & Williams, R. T. (1974) The fate of ¹⁴C saccharin in rats chronically fed on saccharin, Biochem. Soc. Trans., 2, 1084
- Ball, L. M., Renwick, A. G. & Williams, R. T. (1977) The fate of ¹⁴C saccharin in man, rat and rabbit and of 2-sulphamoyl ¹⁴C benzoic acid in the rat, Xenobiotica, 7, 189
- Batzinger, R. P., Ou, S. Y. L. & Bueding, E. (1977) Saccharin and other sweeteners: Mutagenic properties, Science, 198, 944
- Becht, F. C. (1920) Influence of saccharin on the catalases of the blood, J. Pharmacol. Exp. Therap., 16, 155
- Berryman, G. H. et al. (1968) A case for safety of cyclamate and cyclamate-saccharin combinations, Am. J. Clin. Nutr., 21, 673

人間の暫定的一日当たり摂取許容量推定値

0 - 2. 5 m g /kg bw

1984年までに必要とされる課題

- (1) 現在、進行中の長期食餌研究結果の提出
- (2) 現在、行われている疫学的研究結果の提出

参考文献

左頁参照

- Bonjean, E. (1922) Rev. Hyg., 44, 50, cited in Chemisch. Weekbl., 40, 26-32
- Boros, E. (1965) An experience with artificial sweeteners, J. Am. Med. Assoc., 194, 571
- Bough, R. G. et al. (1967) Unpublished report submitted by Boots Pure Drug Co. to WHO
- Bourgoignie, J. J., Hwang, K. H. & Bricker, N. S. (1980) Renal excretion of 2,3-dihydro-3-oxobenzisulfonazole (saccharin), Am. J. Physiol., 238(1), F10-5
- Bungard, G. (1967) Die SusStoffe Der Deut Apotheker, 19, 150
- Byard, J. L. (1972) Observations on the metabolism of saccharin, Toxicol. Appl. Pharmacol., 22, 291, abstract No. 46
- Byard, J. L. & Golberg, L. (1973) The metabolism of saccharin in laboratory animals, Fd. Cosmet. Toxicol., 11, 391
- Byard, J. L. et al. (1974) Excretion and metabolism of saccharin in man. II. Studies with ¹⁴C-labelled and unlabelled saccharin, Fd. Cosmet. Toxicol., 12, 170
- Carlson, A. J. et al. (1923) Studies on the physiological action of saccharin, J. Metabl. Res., 3, 451
- Cohen, S. M. et al. (1979) Promoting effect of saccharin and DL-tryptophan in urinary bladder carcinogenesis, Cancer Res., 39, 1207
- Cohen, S. M. et al. (1978) Co-carcinogenicity testing of saccharin and DL-tryptophan following oral initiation with N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide. In: Guggenheim, B., ed., Health and sugar substitutes, Proceedings of the ERGOB Conference on Sugar Substitutes, Geneva, 30 October - 1 November 1978, Basel, S. Karger, 70 pp.
- Cohen, S. M. et al. (1982) Effect of regenerative hyperplasia on the urinary bladder: Carcinogenicity of sodium saccharin and N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide, Cancer Res., 42, 65
- Colburn, W. A., Bekersky, I. & Blumenthal, H. P. (1981) A preliminary report on the pharmacokinetics of saccharin in man: single oral dose administration, J. Clin. Pharmacol., 21, 147
- de Nito, G. (1936) Sull'azione tossica della saccarina. Ricerche isto-patologiche, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 11, 934
- Eckhardt, K. et al. (1980) Mutagenicity study of Remsen-Fahlberg saccharin and contaminants, Toxicol. Lett., 7, 51
- Fantus, B. & Hektoen, L. (1923) Saccharin feeding of rats, J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed., 12, 318
- Fishberg, A. M., Hitzig, W. M. & King, F. H. (1933) Measurement of the circulation time with saccharin, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 30, 651
- Fitzhugh, O. G., Nelson, A. A. & Frawley, J. P. (1951) A comparison of the chronic toxicities of synthetic sweetening agents, J. Am. Pharm. Assoc., 40, 583

左頁参照

- Folin, O. & Herter, C. (1912) US Dept. Agric. Rep. No. 94
- Fritz, H. & Hess, R. (1968) Prenatal development in the rat following administration of cyclamate, saccharin and sucrose, Experientia, 24, 1140
- Fujita, H. et al. (1965) Five cases which showed diffuse erythema and edematous papules possibly caused by saccharin, Acta Derm. (Kyoto), 60, 303
- Fukushima, S. et al. (1981) Effect of L-tryptophan and sodium saccharin on urinary tract carcinogenesis initiated by N-4-(nitro-2-furyl)-2-thiazolyl formamide, Cancer Res., 41, 3100
- Furuya, T. et al. (1975) Long term toxicity study of sodium cyclamate and saccharin sodium in rats, Japanese J. of Pharmacol., 25 (Suppl.), 55 (abstract No. 60)
- Gordon, H. H. (1972) Allergic reaction to saccharin, Am. J. Obstet. Gynecol., 113, 1145
- Green, U. & Rippel, W. (1979) Bladder calculi in rats treated with nitrosomethylurea and fed artificial sweeteners, Exp. Path., 17, 561
- Green, U. et al. (1980) Syncarcinogenic action of saccharin or sodium cyclamate in the induction of bladder tumors in MNU-pretreated rats, Fd. Cosmet. Toxicol., 18, 575
- Herter, C. & Folin, O. (1911) Influence of saccharin on the nutrition and health of man. Report No. 94, US Department of Agriculture, Government Printing Office, Washington, D.C.
- Hicks, R. M., Wakefield, J. St J. & Chowaniec, J. (1973) Co-carcinogenic action of saccharin in the chemical induction of bladder cancer, Nature, 243, 347
- Hicks, R. M., Wakefield, J. St J. & Chowaniec, J. (1975) Evaluation of a new model to detect bladder carcinogens or co-carcinogens; results obtained with saccharin, cyclamate and cyclophosphamide, Chem. Biol. Interactions, 11, 225
- Homburger, F. (1978) Negative lifetime carcinogen studies in rats and mice fed 50 000 ppm saccharin. In: Galli, C. L., Paoletti, R. O. & Vettorazzi, G., eds, Chemical toxicology of food, Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press
- Hooson, J. et al. (1980) Orthotoluenesulphonamide and saccharin in the promotion of bladder cancer in the rat, Brit. J. Cancer, 42, 129
- Jessen, F. (1890) Zur Wirkung des Saccharin, Arch. F. Hyg., 10, 64
- Kennedy, G. L., Jr, Faucher, O. E. & Calandra, J. C. (1972) Metabolic fate of saccharin in the albino rat, Fd. Cosmet. Toxicol., 10, 143
- Kennedy, G. L., Jr, Faucher, O. E. & Calandra, J. C. (1976) Subacute toxicity studies with sodium saccharin and two hydrolytic derivatives, Toxicology, 6, 133
- Kingsley, H. J. (1966) Sensitivity to saccharin, Cent. Afr. J. Med.,

左頁参照

- Klotzsche, C. (1969) Zur Frage der teratogenen und embryotoxischen Wirkung von Cyclamat, Saccharin und Saccharose, Arzneimittel-Forsch., 19, 925
- Kojima, S. & Ichibagase, H. (1966) Synthetic sweetening agents. X. Thin-layer chromatography of sodium cyclamate, saccharin sodium and dulcin, Yakuzaigaku, 26, 115
- Kramers, P. G. N. (1975) The mutagenicity of saccharin, Mutation Research, 32, 81
- Kramers, P. G. N. (1977) Mutagenicity of saccharin in *Drosophila*: The possible role of contaminants, Mutation Research, 56, 163
- Kroes, R. et al. (1977) Long term toxicity and reproduction study (including a teratogenicity study) with cyclamate, saccharin, and cyclohexylamine, Toxicology, 8, 285
- Lederer, J. & Pottier-Arnould, A. M. (1973) Influence of saccharin on embryonal development in the pregnant rat, Le Diabète, 21, 13
- Lehmann, K. B. (1929) Fütterungsversuche mit und Ohne Saccharin an Mäusepaaren, Zugleich ein Beitrag zum Studium der Frage Minimaler Giftwirkung, Arch. F. Hyg., 101, 39
- Lessel, B. (1967) Unpublished report submitted by Boots Pure Drug Co. to WHO
- Lessel, B. (1970) Carcinogenic and teratogenic aspects of saccharin. SOS/70 Proceedings, 764 pp. In: Third International Congress, Food Science and Technology, Washington, D.C.
- Lethco, E. J. & Wallace, W. C. (1975) The metabolism of saccharin in animals, Toxicology, 3, 287
- Lorke, D. (1969) Untersuchungen von Cyclamat und Saccharin auf embryotoxische und teratogene Wirkung an der Maus, Arzneimittel-Forsch., 19, 920
- Matthews, H. B., Fields, M. & Fishbein, L. (1973) Saccharin: distribution and excretion of a limited dose in the rat, J. Agr. Food Chem., 21, 916
- Maumee (1951) Chem. Eng. News (1963), 41, 76 (December 9)
- McChesney, E. W. & Golberg, L. (1973) The excretion and metabolism of saccharin in man. I. Methods of investigation and preliminary results, Fd. Cosmet. Toxicol., 11, 403
- McChesney, E. W., Coulston, F. & Benitz, K. F. (1977) Six-year study of saccharin in rhesus monkeys, Toxicol. Appl. Pharmacol., 41, 164 (abstract No. 79)
- Meisel, E. H. (1952) A letter to the editor: Headache from saccharin, J. Amer. Med. Assoc., 148, 163
- Miller, W. H., Dessert, A. M. & Roblin, R. O., Jr (1956) Heterocyclic sulfonamides as carbonic anhydrase inhibitors, J. Amer. Chem. Soc., 72, 4893
- Minegishi, K. I., Asahina, M. & Yamaha, T. (1972) The metabolism of saccharin and the related compounds in rats and guinea pigs,

左頁参照

- Miyaji, T. (1974) Discussion about food additives: Saccharin, Nippon Riusho, 32, 839
- Mohr, U. et al. (1978) Syncarcinogenic action of saccharin and sodium cyclamate in the induction of bladder tumours in MNU-pretreated rats. In: Guggenheim, B., ed., Health and sugar substitutes, Proceedings of the ERGOB Conference on Sugar Substitutes, Geneva, 30 October - 1 November 1978, Basel, S. Karger, 64 pp.
- Mondal, S., Brankow, D. W. & Heidelberger, C. O. (1978) Enhancement of oncogenesis in C₃H/10T1/2 mouse embryo cell cultures by saccharin, Science, 201, 1141
- Moore, C. W. & Schmick, A. (1979) Genetic effects of impure and pure saccharin in yeast, Science, 205, 1007
- Morrison, A. S. & Buring, J. E. (1980) Artificial sweeteners and cancer of the lower urinary tract, New Engl. J. Med., 302, 537
- Munro, I. C., Stavric, B. & Lacombe, R. (1974) The current status of saccharin. In: Wimek, C. L. ed, Toxicology Annual 1974, New York, Dekker, p. 71
- Munro, I. C. et al. (1975) A carcinogenicity study of commercial saccharin in the rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 32, 513
- Nakanishi, K. et al. (1980) Effect of sodium saccharin and caffeine on the urinary bladder of rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutylnitrosamines), GANN, 71, 490
- National Academy of Sciences - National Research Council (1955) The safety of artificial sweeteners for use in food, Publication No. 386
- National Academy of Sciences - National Research Council (1974) Safety of saccharin in the human diet. Committee of Food Protection, NAS 1974, Washington, D.C.
- National Research Council (1974) Safety of saccharin and sodium saccharin in the human diet. Prepared for the Food and Drug Administration. PB-238 137
- Nelson, J. J. (1976) Quantitation of o- and p-sulfamoylbenzoic acids in commercial saccharin by high-performance liquid chromatography, JAOAC, 59, 243
- Neumann, R. O. (1926a) Wird die Ausnutzung des Nahrungseiweisses durch Saccharin beeinflusst? Archiv fur Hygiene Bakteriologie, 96, 265
- Neumann, R. O. (1926b) Bemerkungen zu der vorstehenden Erwiderung von W.A. Uglow auf meine Arbeit "Wird die Ausnutzung des Nahrungseiweisses durch Saccharin beeinflusst"? Archiv fur Hygiene Bakteriologie, 97, 275
- Office of Technology Assessment (1977) Cancer testing technology and saccharin, Washington, DC, US Govt. Print. Off., 149 pp.
- Pitkin, R. M. et al. (1971a) Saccharin metabolism in Macaca mulatta, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137, 803

左頁参照

- Pitkin, R. M. et al. (1971b) Placental transmission and fetal distribution of saccharin, Am. J. Obstet. Gynecol., 111, 280
- Poncelet, F., Mercier, M. & Lederer, J. (1980) Saccharin: Para forms of some impurities are not mutagenic in Salmonella typhimurium, Fd. Cosmet. Toxicol., 18, 453
- Poncelet, F. et al. (1979) Absence of mutagenic activity in Salmonella typhimurium of some impurities found in saccharin, Fd. Cosmet. Toxicol., 17, 229
- Purdum, M. E., Hyder, K. & Pybas, M. D. (1973) Effects of saccharin on rats fed chemically defined diets, J. Amer. Diet. Assoc., 63, 635
- Remsen, I. & Fahlberg, C. (1879-1880) On the oxidation of substitution products aromatic hydrocarbons. IV. On the oxidation of orthotoluenesulphamide, Amer. Chem. J., I, 426
- Roe, J. C., Levy, L. S. & Carter, R. L. (1970) Feeding studies on sodium cyclamate, saccharin and sucrose for carcinogenic and tumor-promoting activity, Fd. Cosmet. Toxicol., 8, 135
- Salaman, M. H. & Roe, F. J. C. (1956) Further tests for tumor initiating activity: N,N-di-(2-chloroethyl)-p-aminophenyl-butyric acid (CB 1348) as an initiator of skin tumor formation in the mouse, Brit. J. Cancer, 10, 363
- Saxholm, H. J. K. et al. (1979) Carcinogenesis testing of saccharin. No transformation or increased sister chromatid exchange observed in two mammalian cell systems, Europ. J. Cancer, 15, 509
- Schmahl, D. (1973) Fehlen einer kanzerogener. Wirkung von Cyclamat, Cyclohexylamin und Saccharin bei ratten, Arzneimittel-Forsch., 23, 1466
- Simmon, V. F. et al. (1982) A comparative investigation of the mutagenic and clastogenic effects of saccharin, ascorbic acid, pantothenic acid and ergocalciferol in several in vitro mammalian and microbial assay. Special report prepared by SRI International, Melo Park, CA, and Litton Bionetics Inc., Kensington, MD, and submitted to JEFCA
- Sivak, A. & Tu, A. S. (1980) Cell culture tumor promotion experiments with saccharin, phorbol myristate acetate and several common food materials, Cancer Letters, 10, 27
- Staub, H. & Staehelin, R. (1936) Saccharin. Med. Press Circ., 193, 419
- Stavric, B. et al. (1973) Unpublished report submitted to WHO
- Stavric, B., Lacombe, R., Munro, I. C., By, A. W., Klassen, R. & Ethier, J. (1974a) Studies on water soluble impurities in commercial saccharins. 167th Amer. Chem. Soc. National Meeting, Los Angeles, 31 March - 5 April 1974 (Abstract ANAL, 171)
- Stavric, B., Lacombe, R., Watson, J. R. & Munro, I. C. (1974b) Isolation, identification and quantitation of o-toluenesulphonamide, a major impurity in commercial saccharins, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 57, 678-681
- Stavric, B., Klassen, R. & By, A. W. (1976) Impurities in commercial saccharin. I. Impurities soluble in organic solvents, J. Assoc.

左頁参照

- Stoltz, D. R. et al. (1977) The mutagenicity of saccharin impurities. I. Detection of mutagenic activity, J. Environ. Pathol. Toxicol., 1, 139
- Stritzler, C. & Samuels, L. (1956) Urticaria caused by sensitivity to saccharin, Arch. Derm., 74, 433
- Sweatman, T. W. & Renwick, A. G. (1980) The tissue distribution and pharmacokinetics of saccharin in the rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 55, 18
- Sweatman, T. W., Renwick, A. G. & Burgers, C. D. (1981) The pharmacokinetics of saccharin in man, Xenobiotica, 11, 531
- Tanaka, R. (1964) LD₅₀ of saccharin or cyclamate for mice embryo in the 7th day of pregnancy (fetal median lethal dose: FLD₅₀), J. Iwate Med. Assoc., 16, 330-337
- Tanaka, S. et al. (1973) Studies on the teratogenicity of food additives. Effects of sodium saccharin on the development of rats and mice, J. Food Hyg. Soc. Japan, 14, 371-379
- Taub, S. J. (1972) Untoward reactions of saccharin, Eye, Ear, Nose and Throat Mon., 51, 405
- Taylor, J. D. et al. (1968) Toxicological studies with sodium cyclamate and saccharin, Fd. Cosmet. Toxicol., 6, 313
- Taylor, J. M. & Friedman, L. (1974) Combined chronic feeding and three-generation reproduction study of sodium saccharin in the rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 29, 154 (abstract No. 200)
- Taylor, J. M., Weinberger, M. A. & Friedman, L. (1980) Chronic toxicity and carcinogenicity to the urinary bladder of sodium saccharin in the in utero-exposed rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 54, 57
- Thompson, M. M. & Mayer, J. (1959) Hypoglycemic effects of saccharin in experimental animals, Am. J. Clin. Nutr., 7, 80
- Tisdell, M. O. et al. (1974) Long-term feeding of saccharin in rats. In: Inglett, G. E., ed., Sweetness, symposium, Westport, Conn., AVI Publishing Co., 145 pp.
- West, R. W. (1979) The exposure of fetal and suckling rats to saccharin from dosed maternal animals, Toxicol. Lett., 7, 409
- Wolfe, S. & Rodin, B. (1978) Saccharin-induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster and human cells, Science, 200, 543
- Wynder, E. L. & Stillman, S. D. (1980) Artificial sweetener use and bladder cancer: a case-control study, Science, 207, 1214

See Also:

Toxicological Abbreviations

Saccharin (FAO Nutrition Meetings Report Series 44a)

Saccharin (FAO Nutrition Meetings Report Series 48a)

Saccharin (JECFA Evaluation)

Saccharin (IARC Summary & Evaluation, Supplement 7, 1987)

Saccharin (IARC Summary & Evaluation, Volume 22, 1980)

左頁参照

SACCHARIN, CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM SALTS*

Explanation

Saccharin was evaluated by the Joint Expert Committee on Food Additives in 1967, 1974, 1977, 1980 and 1982 (Annex I, Refs. 14, 15, 35, 44, 53, 59, and 60). In 1977, the Committee changed the ADI from 5 mg/kg to a temporary ADI of 2.5 mg/kg and withdrew the conditional ADI of 15 mg/kg for dietetic purposes only. The decision to reduce the ADI and to restrict the use of saccharin was based primarily on the results of animals studies which indicated that excessive and long-term ingestion of saccharin was potentially a carcinogenic hazard for humans. At the 1980 and 1982 meetings, the temporary ADI of 2.5 mg/kg was extended pending the completion of current investigations, including a long-term feeding study in rats and epidemiological studies. Since the previous evaluation, additional data has become available and is summarized and discussed in the following monograph addendum.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Absorption

Previous studies have shown that the absorption of ingested saccharin in animals and man is rapid and this is confirmed by observations that the peak plasma concentration occurs soon after oral administration to rats (Matthews et al., 1973; Sweatman & Renwick, 1980) and to man (Colburn et al., 1981; Sweatman et al., 1981; Pantarotto et al., 1981a,b). The presence of food in the gut was associated with a reduced initial peak plasma concentration in animals (Matthews et al., 1973; Sweatman & Renwick 1980) and in man (Sweatman et al., 1981).

Distribution

Recent studies on the distribution of saccharin have given attention to the nature and amounts of radioactivity in the bladder tissue after administration of radiolabelled saccharin and on concentrations in this tissue during chronic intake.

* Monograph addendum

In a recent two-generation study (Sweatman & Renwick, 1982) using ³H-saccharin, it was shown that there was a slower decrease in the saccharin content of fetal tissues than of maternal tissue, and in particular, the concentration of saccharin in the fetal bladder wall decreased relatively slowly during a 48h period following a single oral dose to the dam. Despite this, the steady state concentration of saccharin in the liver and kidneys of fetuses from mothers fed a 5% saccharin diet were lower than the maternal values while the concentrations in the fetal bladder were similar or slightly higher. It was concluded that there was no evidence of excessive accumulation in the bladder wall or other tissues of male rats during in utero exposure or during lactation which could explain sex and generation

SACCHARIN, CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM SALTS*

解説

サッカリンは1967、1974、1977、1980と1982年 (Annex I, Refs. 14, 15, 35, 44, 53, 59, and 60) に合同専門委員会によって評価された。1977年、委員会は5 mg/kg から暫定的 ADI 2.5 mg/kg に変更した、そして、食事目的のみの条件付 ADI、15mg/kg を取り消した。ADI を少なくする判断とサッカリン使用を規制する判断は過大な長期のサッカリン摂取は人間にとって潜在的発癌性の危険があると指摘した動物研究を主として元にした。1980年と1982年の会議で、ネズミの長期食餌研究と疫学研究を含む現在の調査の完成の途中で暫定的 ADI 2.5 mg/kg は計算された。前回の評価以来、追加データは利用できるし、纏められ、下記の研究論文に考察されている。

生物学的データ

生化学的側面

吸収

動物と人間のサッカリン摂取の吸収は素早く、ネズミ (Matthews 他、1973; Sweatman & Renwick, 1980) と人間 (Colburn 他、1981; Sweatman 他、1981; Pantarotto 他、1981a,b) に経口投与後、すぐに最高血漿濃度が起こるという観察によって、この事は確認されている。動物(Matthews 他、1973; Sweatman & Renwick 1980)と人間(Sweatman 他、1981)の減少初期最高血漿濃度に消化器中の食物の存在は関連した。

分布

放射性同位元素識別したサッカリン投与後の膀胱組織中の現象と放射能量、又、長期摂取期間のこの組織内濃度について最近のサッカリン分布の研究が注目されている。

* 研究論文付録

³H-サッカリンを使った最近の二世帯研究 (Sweatman & Renwick, 1982) では、妊婦の組織よりも胎児の組織のサッカリン内容により時間のかかる減少があったと示した、そして、特に、母畜に微量経口投与後、胎児の膀胱壁のサッカリン濃度は比較的ゆっくり減少した事が見られた。この事にも拘わらず、胎児の膀胱の中の濃度が同じだったり、少し高かったりする間は、5%のサッカリン食餌を与えられた母畜の胎児の肝臓と腎臓の中の比較的安定したサッカリン濃度は母畜の値よりも低かった。子宮内曝露の期間や腫瘍形成反応の性別や世代の特異性を証明できた授乳期間に雄ネズミの膀胱壁や他の組織内に過度な蓄積の証拠は無かったと結論付けられた。

specificity of the tumorigenic response.

Excretion

The saturation of renal tubular secretion of saccharin in rats fed high dietary levels was previously demonstrated by comparison of plasma concentrations following intravenous infusion and chronic dietary intake (Sweatman & Renwick, 1980) and, more recently, Sims and Renwick (1983) found a marked decrease in renal clearance rates in rats with high plasma concentrations (200-300 $\mu\text{g/ml}$) of saccharin.

Effects on enzymes and other biochemical parameters

Sodium saccharin, at concentrations similar to those in urine of rats fed 1-5% sodium saccharin in their diet, markedly inhibited urease and the proteases pepsin, thermolysin and papain (Lok et al., 1982) and trypsin (Sims & Renwick, 1983a). Inhibition of proteolysis in vivo was the probable cause of the high levels of protein and tryptophan in the caeca of rats fed saccharin-containing diets (Sims & Renwick, 1983). In this latter study, the metabolism of tryptophan by the caecal bacteria was altered with increase degradation to indole and indolelactic acid.

Increased metabolism of protein to tryptophan and indole in the caecum occurred throughout a two-generation rat feeding study and the lactating dams showed increased excretion of indican (the main urinary metabolite of indole) via the milk; the pups also showed caecal enlargements, increased protein and tryptophan in the caecum and an increased excretion of indican immediately on weaning on to a saccharin-containing diet. These changes persisted throughout life as seen by subsequent analysis of urine from rats in the IRDC carcinogenicity study (see special studies on carcinogenicity) at 13, 18, 24, 28 m (Renwick, 1983).

In a study of 15 human volunteers (Renwick, 1983) administration of saccharin (1 g/d for 1 month) did not significantly increase the daily excretion of indican in urine compared with the pre- and post-administration control periods.

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on renal function

Renal slices from rats fed diets containing 5% or 7.5% saccharin showed a reduced accumulation of para-animohippurate (PAH) in vitro but feeding these diets did not result in a reduced renal clearance of PAH in vivo (Berndt et al., 1981).

The renal clearance of endogenous indican in saccharin treated rats showed a highly significant inverse relationship to the plasma concentration of saccharin (Sims & Renwick, 1983).

Special studies on urine volume and composition

Rats fed high dietary levels of saccharin showed an increase in fluid intake and in urine volume which was accompanied by a decrease in osmolality (Anderson, 1979; West & Jackson, 1981; Demers et al., 1981; Berndt et al., 1981). Dose related decreased osmolality and increased urine volume showed a strong correlation to the occurrence of bladder tumours in the IRDC carcinogenicity study (see special studies on carcinogenicity). These changes were primarily observed at dietary concentrations of 3% saccharin and above. The increased daily urinary volume was accompanied by both an increased volume per micturition and an increased frequency of micturition. Saccharin-fed

排出

高濃度の食餌を与えられたネズミのサッカリンの腎管分泌物の飽和状態は静脈内注入と長期食餌摂取 (Sweetman & Renwick, 1980) 後の血漿濃度の比較で以前に証明された、そして、つい最近、Sims と Renwick (1983) はサッカリンの高血漿濃度 ($200-300 \mu\text{g/ml}$) のネズミの腎清掃値の著しい減少を見つけ出した。

酵素の影響と他の生化学的パラメーター

1-5% サッカリンナトリウム食餌のネズミの尿内濃度と同じ濃度で、サッカリンナトリウムはウレアーゼとプロテアーゼペプシン、サーモリシン蛋白質分解酵素とパパイン (Lok 他, 1982) とトリプシン (Sims & Renwick, 1983a) を著しく抑制した。生体内の蛋白質分解抑制は蛋白質の高濃度と、サッカリン含有の食餌を与えられたネズミの盲腸内のトリプトファン高濃度が原因と考えられた。(Sims & Renwick, 1983) この後者の研究で、盲腸内細菌によるトリプトファン代謝はインドールとインドール乳酸分解の増加と伴に変わった。

盲腸内のトリプトファンとインドールの増加した蛋白質代謝は二世代のネズミ食餌研究の期間に起きた、そして、母畜に授乳すると乳汁を通して尿インジカン (インドールの主な尿代謝産物) の分泌の増加を見せた； 子畜も盲腸の拡大を示し、盲腸内の蛋白質とトリプトファンを増加させた、そして、離乳するとすぐに、サッカリン含有食餌にして尿インジカン分泌の増加を示した。これらの変化は13、18、24、28ヶ月間の IRDC 発癌性研究 (発癌性の特別研究参照) のネズミの尿分析で見られる様に一生涯、続いた。

15人の志願者による研究 (Renwick, 1983) では、サッカリン (1 g/d for 1 month) の投与は前期及び後期投与対照実験期間と比較して尿内の尿インジカンの一日当たりの分泌量をあまり増加させなかった。

毒性研究

腎機能の特別研究

5%か7.5% サッカリンの食餌を与えられたネズミの腎臓切片は試験管内でp-馬尿酸 (PAH) の減少蓄積を示した、しかし、これらの食餌は生体内では減少腎清掃値にはならなかった。(Berndt 他, 1981)

サッカリン処理のネズミの内因性尿インジカンの腎清掃値はサッカリンの血漿濃度に非常に重要な反比例関係を示した。(Sims & Renwick, 1983)

尿量と組成の特別研究

サッカリン高濃度食餌を与えられたネズミは流体摂取の増加を示し、オスモル濃度の減少に伴う尿量を増加させた。(Anderson, 1979; West & Jackson, 1981; Demers 他, 1981; Berndt 他, 1981) オスモル濃度減少と尿量増加に関連した投与は IRDC 発癌性研究 (発癌性特別研究参照) で膀胱腫瘍発生に深い相関関係を示した。これらの変化は主に3% サッカリンとそれ以上の濃度食餌に観察された。一日当たりの尿量増加は毎排尿量の増加と回数の増加を伴った。サッカリン食餌のネズミはより顕著な膀胱の最高拡大を見せた (Renwick & Sims, 1983)、そして、増加した膀胱拡大が特に日中の時間に上皮と内因性泌尿代謝産物との間の相互作用の可能性を増幅するのだろうと著者は結論付けた。

rats showed a greater maximal distension of the urinary bladder (Renwick & Sims, 1983) and these authors concluded that the increased bladder distension would increase the possibility of interaction between the epithelium and endogenous urinary metabolites, especially during hours of daylight.

Administration of saccharin at a dose of 1 g/d to human volunteers for 1 m did not affect urine volume when compared to pre- and post-treatment control periods (Roberts & Renwick, unpublished results).

The effects of sodium saccharin on mineral and water balance and a number of related parameters were studied over a 10-day period in seven month old rats (Schoeing & Anderson, 1983). The study included eight groups, each consisting of 10 males and 10 females. Rats in four of the groups were from the second generation, the parental generation having been exposed to dietary concentrations of 1.0, 3.0, 5.0, or 7.5% saccharin prior to and during gestation and lactation; the second generation weanlings received the corresponding diets. The treatment in two other groups was modified so that rats in one group were exposed only in utero (via dams fed diets containing 5% sodium saccharin) while exposure of the second group was started at birth (via lactation dams fed similar diets) and continued at a dietary saccharin concentration of 5%. The purpose of these modifications was to evaluate the role of in utero exposure on the study parameters. A

group of second generation rats fed diets containing 5% sodium hippurate was included to evaluate the specificity of sodium saccharin and/or the effect of sodium ion on the study parameter. A group of untreated animals served as controls. At dietary sodium saccharin concentrations >1%, increases in water consumption and urine volume were noted. At dietary concentrations >3.0% decreased urine osmolality, changes in water and mineral balance, increased mass of the caecum and bladder, and increases in bladder tissue mineral concentrations were observed; the latter effect was noted only in male rats. The evaluation of these parameters in rats with and without in utero exposure indicated that in utero exposure played little or no role in the occurrence or severity of these changes. Qualitatively similar, but quantitatively less severe changes were observed in rats fed sodium hippurate.

Special studies on caecal enlargement and stool hydration

In an attempt to determine why dietary sodium saccharin causes caecal enlargement and increased stool hydration, Anderson (1983) analyzed stools from rats fed diets containing 1, 3, 5, or 7.5% saccharin. Saccharin ingestion resulted in a small increase in stool ash but no change in lipid or non-saccharin nitrogen concentrations (mg/g dry stool). Saccharin treatment also resulted in a dose-dependent increase in the stool content of a carbohydrate soluble in 1M-NaOH. The author suggested that the source of the stool polysaccharide was either undigested dietary polysaccharide or a product of intestinal microbial synthesis and that the hygroscopic carbohydrate together with the high stool saccharin content caused caecal enlargement and increased stool hydration. In this context, Shibata et al., (1983) showed that a strain of Streptococcus obtained from the rat caecum produced an extra-cellular hygroscopic glucan when grown in the presence of sucrose.

Special studies on effects on the bladder epithelium

Sodium saccharin was fed to male F344 rats at dietary levels of 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 or 5% for 10 weeks. Food consumption and body weight gain were similar in all groups and no gross signs of toxicity

前処理と後処理対照期間を比べると志願被験者の1ヶ月間1 g/d のサッカリン投与の処理は尿量に影響しなかった。(Roberts & Renwick、未出版結果)

鉍物水分平衡のサッカリンナトリウムといくつかの関連パラメーターの影響が満7ヶ月のネズミで10日間以上研究された。(Shoeing & Anderson, 1983) この研究はそれぞれ雄10匹と雌10匹からなる8グループを使った。4グループのネズミは二世代目を使った、妊娠期間と授乳期間とその前に1.0、3.0、5.0か7.5%の濃度の食餌にその親世代は曝露されていた； 離乳している二世代目は同様の食餌を摂った。2番目のグループの曝露が誕生時（同じ食餌を与えられた授乳期の母畜を通して）に始められ、5%サッカリン食餌が続けられた一方で、1グループのネズミが生体内（5%サッカリンナトリウム食餌の母畜を通して）だけで曝露される様に他の2グループの処理は変更された。これらの変更の意図はこの研究パラメーターで生体内曝露の役割を評価する事だった。サッカリンナトリウムの特異性と/かこの研究パラメーターでナトリウムイオンの影響を評価する為に5%馬尿酸ナトリウム食餌を与えられた二世代目の1グループが使用された。未処理のネズミの1グループが対照区として使われた。>1%濃度サッカリンナトリウムの食餌で水摂取増加と尿量増加は注目された。>3.0%濃度食餌で尿オスモル濃度が減少した、水分鉍物平衡の変化が盲腸と膀胱の質量を増加させた、そして、膀胱組織鉍物濃度の増加が観察された； 後者の影響は雄ネズミのみに記録された。生体内曝露をしたかしないネズミのこれらのパラメーターの評価は生体内曝露がほとんどか全く発生率とこれらの変化のひどさに影響しないと示した。質的に同様だが、量的にはよりひどくはない変化は馬尿酸ナトリウム食餌のネズミに観察されなかった。

盲腸拡大と便水化の特別研究

何故、サッカリンナトリウム食餌が盲腸拡大と便水化増加の原因になるのかを決定する目的で、Anderson(1983)が1、3、5、や7.5%サッカリン食餌のネズミの便を分析した。サッカリン摂取は便灰分の少量増加を起し、リピド脂質や無-サッカリン窒素濃度 (mg/g 乾燥便) の変化を起さない結果となった。サッカリンナトリウム処理は炭水化物溶剤1 M-NaOH の便内物質の投与依存した増加の結果にもなった。便の多糖の原因は食餌の多糖が消化されないか腸内微生物合成の産物だと、又、高便サッカリン内容物質と一緒に吸湿性炭水化物が盲腸拡大を起し、便水化を増加させたと著者は示唆した。この内容で、ネズミの盲腸から採られた連鎖球菌の系統が細胞外の吸湿性のグルカンをストックスが現れた時、産出したと Shibata 他、(1983)が示した。

膀胱上皮影響の特別研究

サッカリンナトリウムがF344雄ネズミに0、0.1、0.5、1.0、2.5か5%の食餌濃度で10週間与えられた。食物摂取と体重増は全てのグループで同じだったし、毒性の明白な徴候はなかった。

were observed. Sodium saccharin induced a dose-dependent proliferation of the urinary bladder mucosa as assessed by autoradiography and scanning electron microscopy. All rats in all groups had cells with ropy microridges and uniform microvilli; sodium saccharin at dietary levels >1% increased the number and size of these foci. In addition, pleomorphic microvilli were observed at the two highest dose levels but not in controls (Murasaki & Cohen, 1981).

Strain and species differences in the response of the urinary bladder to sodium saccharin were observed by Fukushima et al. (1983a). Male ACI, Wistar, F344 and Sprague-Dawley rats were given a diet containing 5% sodium saccharin for 52 weeks. In ACI rats, sodium

saccharin induced not only preneoplastic lesions but also bladder tumours; in other strains it did not. The urinary bladder of ACI rats had the most marked lesions under scanning electron microscopy, with less marked changes in Wistar and F344 rats; Sprague-Dawley rats were resistant to these changes.

Male F344 rats, B6C3F₁ mice, Syrian hamsters and Hartley guinea pigs were given 5% sodium saccharin in the diet for 20 weeks. Animals from each group and respective controls were sacrificed at 0, 4, 8, 12, 6 and 20 weeks after commencement of feeding. The rats developed urinary bladder lesions as detected by light and electron microscopy and increased DNA synthesis of the urinary bladder epithelium was detected by autoradiography. Mice, hamsters and guinea pigs were resistant to sodium saccharin.

Male and female Sprague-Dawley rats eight weeks of age were given saccharin according to the standard IRDC protocol and the effects on endogenous mitotic activity in the bladder assessed by autoradiographic measurement of the thymidine labelling index (Tsing, 1983). In contrast to earlier reports (Fukushima & Cohen, 1980; Murasaki & Cohen, 1981) no treatment related effects on the thymidine labelling index were observed; the index was higher in male than female rats. The differences between the results of these different studies may have been due to genetic differences between the strains of rat used. Reitz et al. (1983) also reported no significant differences in the thymidine labelling index between controls and treated Fisher 344 rat pups exposed to 7.5% saccharin in the diet in utero and subsequently up to 35 days. The thymidine labelling index was determined 8 days and 35 days post partum.

The changes in membrane potential of the epithelium of the F344 rat bladder have been measured following treatment of the animals with BBN or saccharin (Iamida et al., 1983). Dietary concentrations of 0, 0.04, 0.2, 1 or 5% sodium saccharin were administered but only the highest dose level caused a significantly higher membrane potential than the control group.

Recently, El Gerzawi et al. (1982) obtained normal human bladder tissue and studies the effects of N-methyl-N-nitroso-urea (MNU) and saccharin on the histology of the epithelium in long-term explant cultures. In MNU-treated cultures, a dose-response was observed. Single doses of 1-100 µg MNU/ml induced a typical hyperplasia, however the changes reverted to a single or double cell layer as seen in controls. In contrast, after multiple doses of MNU the hyperplastic changes persisted. The doses of MNU in the presence of saccharin gave cellular changes similar to those seen with multiple doses of MNU alone although the nuclei appeared more pleomorphic and hyperchromatic. Continuous exposure of the explants to saccharin alone did not result in any changes from the controls.

Special studies on food consumption patterns

放射能写真と走査電子顕微鏡で観察するとサッカリンナトリウムは膀胱粘膜の投与依存による増殖を誘発した。全てのグループの全てのネズミが粘着性の微小隆起と単型微小絨毛を伴う細胞を有した； >1%濃度食餌でサッカリンナトリウムはこれらの病巣の総数と粘性を増加させた。その他に多形性絨毛は2件の最高投与濃度で観察された、しかし、対照区は観察されなかった。(Murasaki & Cohen, 1981)

膀胱のサッカリンナトリウム反応に関する系統と種の相違は Fukushima 他、(1983a)によって観察された。雄の ACI、Wistar, F344 と Sprague-Dawley ネズミ等が52週間の間、5%サッカリンナトリウム食餌を与えられた。ACI ネズミでは、サッカリンナトリウムが前発癌病変だけでなく、膀胱腫瘍も誘発した； 他の系統では誘発しなかった。ACI ネズミの膀胱は走査電子顕微鏡で最も著しい病変を有し、Wistar と F344 ではより少ない変化を伴い、Sprague-Dawley ネズミはこれらの変化に耐性があった。

雄の F344 ネズミ、B6C3F₁ハツカネズミ、Syrian ハムスターと Hartley モルモットが20週間、5%サッカリンナトリウム食餌を与えられた。各グループの動物とそれぞれの対照区は食餌開始後、0、4、8、12、6と20週間で止められた。ネズミは光学電子顕微鏡使用で検出された膀胱病変を発生させた、そして、膀胱上皮の増加 DNA 合成が放射能写真で検出された。ハツカネズミ、ハムスターとモルモットはサッカリンナトリウムに耐性があった。

生後8週間の雌雄の Sprague-Dawley ネズミが IRDC プロトコル基準によるサッカリンを与えられた、そして、膀胱内で内因性有糸分裂活動の影響がチミジン DNA 成分標示指数の放射性写真によって測定された。前の報告 (Fukushima & Cohen, 1980; Murasaki & Cohen, 1981) とは違って、チミジン標示指数の影響に関係した処理は観察されなかった； その指数は雌よりも雄のネズミの方が高かった。これらの異なる研究結果の相違は使用されたネズミの系統間の遺伝的相違によるものかもしれない。Reitz 他(1983)も35日まで続けて、生体内の食餌に7.5%サッカリン曝露処理の Fisher 344 ネズミの子畜と対照区間のチミジン標示指数に重要な相違を報告しなかった。チミジン標示指数は分娩後8日と35日に測定された。

F344 ネズミの膀胱上皮膜電位変化は BBN かサッカリン(Iamida 他、1983)処理の後に測定されている。食餌濃度0、0.04、0.2、1か5%サッカリンナトリウムが投与されたが、最高投与濃度だけが対照グループよりもかなり、より高い膜電位を起した。

最近、El Gerzawi 他、(1982)が正常な人の膀胱組織を使って N-methyl-N-nitroso-urea(MNU)と長期外移植片培養で上皮組織学上のサッカリンの影響を研究している。MNU処理の培養組織で、投与反応が観察された。1-100 μg MNU/ml の微量投与は典型的な細胞増殖を誘発した、然しながら、その変化は対照区に見られる様に一重か二重細胞層に戻った。対照的に、MNU の多量投与後、増殖変化はしつこく続いた。核がより多型形になり、より濃い色になったけれども、サッカリン含有の MNU 投与が MNU のみの多量投与で見られた変化と同様な細胞変化をした。サッカリンのみの継続的外移植片曝露は対照区のどの変化にも起こらなかった。

食物摂取パターンの特別研究

Utilizing a protocol recommended for two-generation bioassays, Reitz et al (1983) reported that when rats were given a diet containing 7.5% sodium saccharin through gestation and lactation, the very young animals received considerably more sodium saccharin on a mg/kg body weight per day basis than did adults consuming the same diet; the young animals suffered weight depression and early mortality when exposed to a dietary concentration which was well tolerated by adults. These authors concluded that failure to maintain the dose of the MTDS of 5000-6000 mg/kg body weight per day throughout a two-generation study would compromise its usefulness in the formulation of human risk estimates.

Three groups of 5 Rhesus monkeys were used in a study designed to determine the maximum amount of sodium saccharin which monkeys would voluntarily consume and/or tolerate (Westland & Helton, 1983); sodium saccharin was incorporated into the dry diet of one group and the drinking water of a second group with the third group serving as controls. An increasing dose regimen in which the concentration of sodium saccharin in the diet or drinking water was doubled every three days was employed. Concentrations between 0.125 and 8.0% were evaluated in the diet, and between 0.015 and 0.48% in the drinking water. Very little rejection of either diet or drinking water was observed but severe diarrhoea precluded further treatment when the concentration of sodium saccharin reached 8.0% (approximately 1600 mg/kg per day) in the diet and 0.48% (between 900 and 2400 mg/kg per day) in the drinking water. An increase in fluid intake occurred in monkeys in both treatment groups. In addition, an increase in urine volume and a decrease in urine osmolality were seen in monkeys given sodium saccharin in drinking water. No effects on body weight, food consumption or urine pH were observed in either group. All animals recovered rapidly after being returned to untreated diet or water.

Special studies on mutagenicity of impurities in saccharin

The known impurities in sodium saccharin produced by the Maumee (Sherwin-Williams) and the Remsen-Fahlberg processes have been tabulated, and saccharin produced by the former process was analysed to determine the concentration and identities of impurities (Riggin & Kinzer, 1983). Most of the contaminants were found to be derived from the polythene bags in which the saccharin was packed. N-methylsaccharin (0.15 ppm) and methyl anthranilate (0.05 ppm) were the predominant impurities. The major polar impurities in the Maumee product were identified as 5-, 6-, and 7-aminosaccharin which were present at a combined level of approximately 150 ppm (Radford et al., 1983); these polar metabolites occurred to only a minor extent in Remsen-Fahlberg saccharin (Wolf & Voigt, 1983).

Recently, an evaluation of the mutagenic activity of a mixture of the major polar impurities of Maumee saccharin and of 5- and 6-aminosaccharins was carried out using the Ames Salmonella assay; these compounds were found to be non-mutagenic with or without metabolic activation by S9-mix (Litton Bionetics, Inc., 1983,a,b,c). Similarly, Riggin et al. (1983) examined the mutagenic activity of solvent extracts of specific manufacturing lots of saccharin produced by the Sherwin-Williams process. All the individual components identified were found to be non-mutagenic in the Ames assay. A weak mutagenic activity was associated with chloroform extracts from one lot of saccharin representing less than 1.5 ppm of the sample but was not attributable to a single component. The possibility of artefact formation from solvent interaction with impurities could not be ruled out. The authors concluded that these impurities are of no toxicological significance in animal feeding studies.

二世代生物分析に推奨されたプロトコルを使って、ネズミが妊娠期間と授乳期間を通して7.5%サッカリンナトリウムを含む食餌を与えられた時、一日当たり mg/kg body の基準で非常に多いサッカリンナトリウムを動物の若い子畜は、同じ食餌を摂取して成熟した動物よりも摂り入れた；成熟した動物には十分耐性があった食事濃度に暴露すると若い動物は体重減少と早期死亡率を起したと Reitz 他、(1983)は報告した。二世代研究期間中の5000-6000 mg/kg body weight per dayのMTDSの投与維持が出来ない事は人間用危険推定値処方調剤を危うくするだろうとこの著者達は結論付けた。

サルが任意に摂取したり、しなかったりするサッカリンナトリウムの最大量を決定する為に計画された研究に5匹のRhesusサルの三つのグループが使われた(Westland & Helton, 1983); 第一グループの乾燥食餌中に、第二グループの飲料水中にサッカリンナトリウムは混合された、第三グループは対照区として取り扱った。食餌と飲料水のサッカリンナトリウム濃度が三日ごとに倍増される増加投与規定食餌法が使用された。0.125と8.0%の濃度が食餌で評価され、0.015と0.48%の濃度が飲料水で評価された。食餌も飲料水もほんの少しの拒食が観察されたが、サッカリンナトリウム濃度が食餌で8.0% (約1600 mg/kg per day)と飲料水で0.48%(between 900 and 2400 mg/kg per day)に達した時にはひどい下痢が更なる処理研究を妨げた。両方の処理グループのサルに液体摂取の増加が起きた。その上、尿量の増加と尿オスモル濃度の減少が飲料水にサッカリンナトリウムを与えられたサルに見られた。体重、食物摂取と尿pHの変化はどちらのグループにも観察されなかった。全ての動物が無処理の食餌と水に戻されると急速に回復した。

サッカリン内の不純物の突然変異の特別研究

Maumee (Sherwin-Williams)と Remsen-Fahlberg 工程で生産されるサッカリンナトリウム中の知られている不純物がデータに纏められている、そして、前工程で生産されたサッカリンは濃度と不純物の特性を決定する為に分析された。(Riggin & Kinzer, 1983) ほとんどの汚染物質はサッカリンが詰められたポリエチレン袋から出ていると分かった。N-メチルサッカリン(0.015 ppm)とメチルアントラニル酸塩(0.05 ppm)が有力な不純物だった。Maumee 製品の主なイオン化した不純物は約150 ppmの化合濃度に現れた5-、6-と7-アミノサッカリンとして確認された(Radford 他、1983); これらのイオン化した代謝産物は Remsen-Fahlberg サッカリンで小程度しか生じなかった。(Wolf & Voigt, 1983)

最近、Maumee サッカリンと5-と6-アミノサッカリンの主なイオン化した不純物の混合による突然変異活動の評価が Ames サルモネラ菌分析を使って行われた；これらの化合物はS9-mix による代謝活動を伴っても、伴わなくても、非突然変異性であると分かった。(Litton Bionetics, Inc., 1983, a, b, c) 同様に Riggin 他、(1983)が Sherwin-Williams 工程で生産されたサッカリンの特別な製造ロット溶剤抽出物の突然変異活動を試験した。全ての化合物が非突然変異性であると Ames 分析で分かった。かすかな突然変異活動は標本の1.55pm以下のサッカリンの一個のロットのクロロフォルム抽出物に関連していたが、微小成分に帰因するものでなかった。不純物の溶剤総合作用による人口化成の可能性は除外され得なかった。これらの不純物は動物の食餌研究で毒物学的重要性が無いと著者達は結論付けた。

Special studies mutagenicity of saccharin

Saccharin was classified as highly mutagenic in an *in vivo* mammalian spot test for detection of genetic alterations in mouse embryo pigment cells (Mahon & Dawson, 1982). Offspring heterozygous for several coat-colour genes were exposed *in utero* by administration of saccharin to the dams at intra-gastric doses of 0.075, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0, or 7.5 g/kg body weight on days 8, 9, or 10 of pregnancy. The presence of colour spots on the coat of the offspring was taken as indicative of expression of a recessive phenotype resulting from alteration or loss of a wild-type allele from a prospective pigment cell. The frequency of saccharin-treated mice (all dose levels) with colour spots was 3.6% compared to a control frequency of 0.9% ($P = 1 \times 10^{-6}$) but there was no significant variation in frequency due to dose over the wide dose range used. The lack of a proportional dose response was acknowledged to be unusual in this test.

In contrast, Fahrig (1982) categorized saccharin (Remsen-Fahlberg, containing 27 ppm OTS) as non-mutagenic in the mammalian spot test. In this study, saccharin (1 g/kg body weight) was administered by i.p. injection on day 10 of pregnancy. Only one spot of genetic relevance was found among 701 saccharin treated offspring and this did not differ from the spontaneous frequency. The effect of 1 g/OTS kg body weight given orally was also evaluated in three replicate tests, only one of which gave statistically significant positive results. A clear classification of OTS as mutagenic or non-mutagenic in this test was not possible.

The genotoxic potential of sodium saccharin and of 1-naphthalene sulphonic acid was evaluated in the rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay at concentrations ranging from 1×10^{-4} to 1×10^{-1} M. Both materials were toxic to hepatocyte cultures at 3.16×10^3 to 1×10^{-1} M. Decreasing concentrations of sodium saccharin or

1-naphthalene sulphonic acid resulted in decreased toxicity and the culture exposed to 1×10^{-3} to 1×10^{-4} M concentrations resembled negative controls. Neither compound elicited significant unscheduled DNA synthesis at any of the concentrations tested (Reitz & Medrala, 1983).

Special studies on carcinogenicity-promoting or co-carcinogenic effects

The promoting effects of sodium saccharin and of phenobarbital (PB) on all organs of rats were studied after initiation with N-mitrosomethylurea (NMU) (Tsuda et al., 1983). Three groups of 25 male F344 rats were given 20 mg NMU/kg body weight i.p. twice a week for 4 weeks, then given a diet containing 0.05% PB or 5% sodium saccharin for the next 32 weeks. The animals were then killed, a complete necropsy performed and sections of all tissues were stained (H&E) and examined microscopically. The results indicated that PB promoted the induction of neoplastic or preneoplastic changes in the thyroid and liver but that sodium saccharin acted exclusively as a promoter in the urinary bladder. There were significant increases in the incidence and number of PN-hyperplastic changes ($P < 0.01$) in the bladders of animals given NMU + sodium saccharin. No papillomas were observed in the bladders of any rats in this study.

The possibility of sodium saccharin acting as a co-carcinogen was studied by co-administration of sodium saccharin and N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)-formamide (FANFT) at dietary levels of 5% and 0.005% respectively to male Fisher rats for 2 years. The effects of L-tryptophan (2% of the diet) were also studied alone or co-administered with sodium saccharin. Five of the sixteen rats given

サッカリンの突然変異誘発性の特別研究

ハツカネズミの胎児色素細胞遺伝的変化検出の哺乳動物生体内斑点試験反応でサッカリンは高い突然変異性誘発性があると分類された。(Mahon & Dawson, 1982) 妊娠8、9、と10日で0.075、0.75、1.5、3.0、5.0か7.5 g/kg body weight で胃内投与の母畜へのサッカリン投与によって、数個の塗色遺伝子に対して異型接合の子畜が子宮内で曝露された。観察色素細胞の野生型対立遺伝子の喪失変化の結果として劣勢表現型の発現表示だと、子畜のcost上の色点の存在は解釈された。0.9% ($P = 1 \times 10^{-6}$) %の対照出現率と比較して、色点を伴うサッカリン処理(全ての投与濃度)のハツカネズミの出現率は3.6%だった、しかし、使用された広範囲投与以上の投与による出現率に重要な変化はなかった。比例的投与反応が無い事はこのテストで異常であると分かった。

対照的に、哺乳動物斑点試験反応で非突然変異性としてサッカリン(Remsenn-Fahlber, containing 27 ppm OTS)をFahrig(1982)は分類した。この研究で、妊娠10日目に腹腔内注射でサッカリン(1 g/kg body weight)が投与された。遺伝的関連性が有る一点だけが子畜に処理した701サッカリンの中で見つけられた、そして、この事は自然発生的出現率と異ならなかった。経口投与1 g/OTS kg body weightの影響は3件の反復テストでも評価された、そして、その1件だけが統計的に重要な実証結果だった。このテストで突然変異性の有無に関する明らかなOTS分類はできなかった。

1×10^{-4} から 1×10^{-1} Mの範囲の濃度でDNA合成分析を不定期にされたネズミの肝細胞でサッカリンと1-ナフタリンスルホン酸の遺伝毒性の可能性を評価した。 3.16×10^3 から 1×10^{-1} Mの肝細胞培養組織に両物質は毒性があった。サッカリンナトリウムと1-ナフタリンスルホン酸の減少濃度は減少毒性の結果になった、そして、 1×10^{-3} から 1×10^{-4} M濃度に曝露した培養組織は拒否対照区と似ていた。どの化合物も全ての試験濃度で重要な不定期DNA合成を誘発しなかった。(Reitz & Medrala, 1983)

発癌性促進と相互発癌影響の特別研究

ネズミの全ての器官にサッカリンナトリウムとフェノバルビタールの促進影響はN-mitosomethylurea(NMU)で反応開始後に研究された。(Tsuda 他、1983) 25匹の雄のF344ネズミの3グループは4週間、週に2回、20 mgNMU/kg body weight i.p.を受けた、その後、次の32週間、0.05% PBか5%サッカリンナトリウムを含む食餌を与えられた。その後、動物は殺され、完全検死が行われ、全ての組織の切片が染色され(H&E),そして、顕微鏡で調べられた。甲状腺と肝臓に新生物形成や前新生物形成変化の誘発をPBが促進する事と、サッカリンナトリウムが限定的に膀胱の促進物として作用しなかったと示した、NMU+ サッカリンナトリウムを与えられた動物の膀胱の中にPN-増殖発生率変化とのPN-増殖数変化($P < 0.01$)の増加がかなりあった。この研究でどのネズミの膀胱にも乳頭腫は観察されなかった。

2年間、雄のFisherネズミにサッカリンナトリウムの5%と0.005%のそれぞれの食餌濃度でN-(4-(5-ニトロ-2-フリル)-2-チアゾリル)-ホルムアミド(FANFT)の相互投与によって、相互発癌性物質として作用している可能性が研究された。L-トリプトファン(食餌の2%)の影響はL-トリプトファンだけかサッカリンナトリウムで相互投与されて研究されもした。FANFT、L-トリプトファンかサッカリンだけ、サッカリンナトリウム plus トリプトファンか対象食餌を与えられなかったどの動物も膀胱腫瘍を創り出さなかったにも拘らず、サッカリンナトリウム plus FANFTを与えられた16匹のネズミの内の5匹は腫瘍を発生させた。FANFTだ

sodium saccharin plus FANFT developed bladder tumours whereas none of the animals given FANFT, L-tryptophan or sodium saccharin alone, sodium saccharin plus tryptophan or control diets, developed bladder tumours. Two of the rats receiving only FANFT developed papillary and nodular hyperplasia. The results were stated to indicate that sodium saccharin had no-carcinogenic activity when given simultaneously with FANFT (Murasaki & Cohen, 1983a).

Rats were fed diets containing 0 or 5% sodium saccharin immediately, 2 weeks or 8 weeks after freeze ulceration of the urinary bladder and the effects studied by light and scanning electron microscopy and by measurement of the thymidine labelling index. Sodium saccharin prolonged the regenerative hyperplastic changes following ulceration and maintained an increased proliferative rate in the epithelium. Delaying saccharin administration for 8 weeks after ulceration still resulted in nodular and papillary lesions, surface abnormalities detected by scanning electron microscopy and an increased labelling index. These changes were thought to contribute to the eventual induction of bladder neoplasia in rats fed sodium saccharin following ulceration (Murasaki & Cohen, 1983b).

Recent studies by Nakanishi et al. (1982) were conducted to determine if a 4 week pre-treatment with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) or N-2fluorenylacetamide (2-FAA) followed by 5% saccharin or 0.05% phenobarbital (PB) in the diet for 32 weeks induced or enhanced liver and/or bladder tumours. Male F344 rats were pretreated with 0.02% 2-FAA or 0.01% BBN in the drinking water. The results indicated that, while 2-FAA and BBN have tumour-initiating effects in both the liver and urinary bladder, the promoting effects of saccharin and PB are organ-specific. Similar results were reported by Tsuda et al. (1983).

The effect of partial cystectomy on the occurrence of pre-neoplastic lesions, papillary or nodular hyperplasia (PN hyperplasia) of the bladder in male F344 rats was studied in an experiment in which bladder carcinogens and promoters were given to the rats after initiation with BBN. The bladder carcinogens tested were N-ethyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (EHBN) at a level of 0.01% in drinking water or FANFT at a dietary level of 0.2%. The promoters used were sodium saccharin (5%), sodium cyclamate (2.5%), or DL-tryptophan (2%) in the diet. Partial cystectomy significantly decreased the occurrence of PN hyperplasia in rats treated with EHBN and tended to inhibit that in rats given saccharin or tryptophan i.e., partial cystectomy inhibited rather than enhanced the induction of PN hyperplasia (Fukushima et al., 1982).

Fukushima et al. (1983b) studied the promoting effects of various chemicals on bladder carcinogenesis in 22 groups of 30 males F344 rats after initiation by BBN. The rats were initially given 0.01% BBN rats in the drinking water for 4 weeks and then the test compounds in the diet for 34 weeks. The test compounds used were: sodium saccharin (0.5 and 5%) sodium ascorbate (5%), calcium carbonate (5%), DL-tryptophan (5%) allopurinol (0.02%), acetazolamide (0.35%), quercetin (5%), sodium hippurate (5%) and vitamin D (0.002%). Each of these compounds was given to two groups of 30 rats. Effects were judged by measuring the formation of preneoplastic lesions - papillary or nodular hyperplasia (PN hyperplasia) of the urinary bladder. Administration of 5% but not 0.5% sodium saccharin in the diet significantly increased the incidence and extent of PN hyperplasia; sodium ascorbate, DL-tryptophan and allopurinol also increased the extent of PN hyperplasia but the other test compounds did not at the dietary concentration used. The results with sodium saccharin and DL-tryptophan were consistent with earlier findings and the results with sodium ascorbate and allopurinol suggest that these compounds

けを摂ったネズミの2匹は乳頭状で結節性の増殖を起した。FANFTと一緒に同時に与えられるとサッカリンナトリウムは発癌性が無いと結果は示した。(Murasaki & Cohen, 1984a)

膀胱潰瘍の発達を止めた後、すぐに、2週間か8週間、0か5%サッカリンナトリウムを含む食餌をネズミが与えられた、そして、走査電子顕微鏡とチアミジン標示指数の測定によって、その影響が研究された。サッカリンナトリウムは潰瘍後の再生増殖変化を伸ばし、上皮の増殖率の増加を維持した。潰瘍後、8週間のサッカリン遅延投与も結節性で乳頭状の病変、捜査電子顕微鏡で検出した表面異常と標示指数の増加を起した。これらの変化は潰瘍後のサッカリンナトリウム食餌のネズミの膀胱腫瘍を結果として誘発するのを助けると考えられらた。(Murasaki & Cohen, 1983b)

32週間の5%サッカリンか0.05%フェノバルビタル(PB)食餌に続けたN-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(BBN)かN-2フルオレニルアセトアミド(2-FAA)の4週間の前処理が肝臓と/か膀胱腫瘍を誘発させたかを決定する為にNakanishi 他、(1982)によって最近の研究が行われた。雄のF344ネズミが0.02%2-FAAか0.01%BBNの飲料水で前処理された。2-FAAとBBNが肝臓と膀胱両方に腫瘍創始影響がある一方で、サッカリンとPBの促進影響は器官特異性的であると結果は示した。同じ結果がTsuda 他、(1983)によって報告された。

雄のF344ネズミの膀胱の乳頭状増殖や結節性増殖、前増殖病変の発生で部分膀胱切除した影響がBBNで反応開始後、膀胱発癌性物質と発癌促進物をネズミに与えた実験で研究された。試験された膀胱発癌性物質は0.01%濃度のN-ethyl-N-(4-hydroxybutyl nitrosamine (EHBN)の飲料水か、0.2%濃度のFANFT食餌だった。使用された促進物はサッカリンナトリウム(5%)、シクラメートナトリウム(2.5%)、DL-トリプトファン(2%)の食餌だった。部分膀胱切除はEHBNで処理したネズミにPN増殖の発生をかなり減らした、そして、サッカリンかトリプトファンを与えられたネズミのPN増殖抑制の傾向があった、すなわち、部分膀胱切除がPN増殖の誘発を高めるよりも、むしろ、部分膀胱切除が抑制した。(Fukushima 他、1982)

Fukushima 他、(1983b)はBBNの反応開始後30匹の雄のF344ネズミの22グループで膀胱発癌現象の各種化学物質の促進影響を研究した。ネズミは最初、4週間、飲料水に0.01%BBNを与えられ、その後、34週間、試験化学物質を与えられた。使われた試験化学物質は；サッカリンナトリウム(0.5と5%)、アスコルビン酸ナトリウム(5%)、炭酸カルシウム(5%)、DL-トリプトファン(5%)、アロプリノール(0.02%)、アセタゾルアミド(0.35%)、クェセルチン(5%)、馬尿酸ナトリウム(5%)とビタミンD(0.002%)。これらの化学物質各種は30匹の2組のグループに与えられた。影響は増殖病変—乳頭状か結節性の増殖(PN増殖)—の形成測定で判断された。0.5%では無かったが5%サッカリンナトリウム食餌処理ではPN増殖の発生率と程度を増大させた；アスコルビン酸ナトリウム、DL-トリプトファンとアロプリノールもPN増殖を増大させたが、行われた食餌濃度で他の試験化学物質は増大させなかった。サッカリンナトリウムとDL-トリプトファンの結果は前回の調査結果と一致したし、アスコルビン酸ナトリウムとアロプリノールの結果はこれらの化合物がネズミの膀胱内で発癌現象促進活動があると示唆した。結晶尿症の程度と前増殖病変促進の間に相関関係は見つけられなかった。

have promoting activities in urinary bladder carcinogenesis in the rat. No correlation was found between the extent of crystalluria and promotion of pre-neoplastic lesions.

In a two-stage bladder carcinogenesis study, Ito et al. (1983a) evaluated the promoting effects of 16 test chemicals by their ability to induce PN hyperplasia in F344 rats. Male rats were given 0.01% BBN in drinking water for four weeks followed by one of the test compounds for 32-34 weeks. The dose response of saccharin was also studied in rats of both sexes at dietary concentrations of 0, 0.04, 0.2, 1.0 and 5% for 32 weeks after BBN treatment. Dose-response curves showed enhanced hyperplastic responses in both sexes given 0.2 to 5% saccharin. Ito et al. (1983a) also studied the organ specificities of phenobarbital or saccharin after initiation with BBN or 2AAF; the promoting effects were found to be organ specific. Similar findings were reported in other studies (Nakanishi et al., 1982; Tsuda et al., 1983).

A number of tumour promoters in the two-stage mouse-skin carcinogenesis system are known to be reversible inhibitors of nerve growth factor-induced neurite out-growth while their non-promoting structural congeners are not. A 50 mM concentration of Maumee sodium saccharin inhibited neurite out-growth; the inhibition was completely and rapidly abolished by washing out the saccharin. Saccharin also inhibited binding of ^{125}I -nerve growth factor in embryonic chick sensory ganglia cells in a concentration dependent manner (Ishii, 1982). It was postulated that alteration of cellular differentiation by tumour promoters may result from interactions with receptor systems that regulate cellular function.

Special studies on carcinogenicity

Rat

A two-generation carcinogenicity study has been performed with the primary objective of investigating the dose-response curve for urinary bladder tumours in male Charles River CD rats. The study was also designed to evaluate the role of in utero exposure, the specificity of sodium saccharin and the role of excess sodium in the occurrence of urinary bladder tumours.

First generation (F_0) parental animals were given diets containing 0, 1.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.25 and 7.5% sodium saccharin from approximately six weeks of age for approximately 4 1/2 months. During this time, the animals were mated (one male to two females) commencing with 110-114 days old and the females were allowed to nurse the offspring for 21 days. When the second generation (F_1) offspring were between 28 and 38 days old, second generation male rats were randomly selected from each treatment group for the chronic phase of the bioassay. At this point, all F_0 male and female rats, all F_1 female rats and F_1 males not selected for the carcinogenicity study were removed from the study. F_1 males selected for the chronic phase were maintained on the same diet which their parents received for a period of up to 30 months.

Two further treatment groups were also included to study the possible role in in utero exposure in the production of urinary bladder tumours. The F_0 animals in one group were fed sodium saccharin at a dietary concentration of 5% only during mating and gestation. After parturition, the dams were fed control diet and selected F_1 males were continued on the control diet for a period of 30 months. This group was designated "5% saccharin through gestation".

第二期膀胱発癌現象研究で、Ito 他、(1983a)が F344 ネズミの P N 増殖誘発能力によって 16 種類の試験化学物質の促進影響を評価した。32-34 週間の一種類の試験化学物質に続けて、4 週間、飲料水で 0.01% BBN が雄のネズミに与えられた。サッカリンの投与反応も BBN 処理後、32 週間、0.04、0.2、1.0 と 5% 濃度食餌で雌雄両方のネズミで研究された。投与反応曲線は 0.2-5% サッカリンを与えられた雌雄両方で誘発性 (Nakanishi 他、1982; Tsuda 他、1983) 増殖反応を見せた。Ito 他、(1983a)は BBN か 2AAF の反応開始後、フェノバルビタールかサッカリンの器官特異性の研究もした；この促進影響は器官特異性があると分かった。同様な調査結果が他の研究で報告された。(Nakanishi 他、1982; Tsuda 他、1983)

ネズミ皮膚の第二期発癌現象組織で数種の腫瘍促進物質は無促進構造コンジナーが存在しない間、神経成長要素-神経突起成長を誘発する-の可逆抑制物質が存在すると知られている。50 mM 濃度 Maumee サッカリンナトリウムは神経突起成長を抑制した；抑制はサッカリンを洗浄する事によって完全に素早く終えた。濃度依存方法で雛胎児の知覚神経節細胞の ^{125}I -神経成長要素のバインディングをサッカリンは抑制した。(Ishii 1982)腫瘍促進物質による細胞分化変化は細胞機能を調整する受容体組織の相互作用の結果かもしれないと仮定された。

発癌性の特別研究

雄の Charles River CD ネズミの膀胱腫瘍の投与反応曲線調査を第一目的にして、二世発癌性研究が行われている。生体内曝露の役割、サッカリンナトリウムの特異性と膀胱腫瘍発生における過剰ナトリウムの役割を評価する為にこの研究は計画された。

一代目 (F_0) 親の動物が約 4 1/2 ヶ月間、生後約 6 週間の齢で 0、1.0、3.0、4.0、5.0、6.25 と 7.5% サッカリンナトリウム食餌を与えられた。この期間に、110-114 日齢の動物は交配 (雌 2 匹に雄一匹) され、子畜に 21 日間、授乳を雌ネズミは認められた。二代目 (F_1) 子孫が 28 日齢と 38 日齢の時、二代目雄ネズミが生物検定の長期に亘る状態の各処理グループから無作為に選ばれた。この時点で、 F_0 雌雄ネズミと全ての F_1 雌ネズミと発癌性研究に選ばれなかった全ての F_1 雄ネズミはこの研究から除外された。長期状態に選ばれた F_1 雄はその親が 30 ヶ月までの間、与えられた食餌と同じ物を与えられ続けた。

更に 2 組の処理グループが膀胱腫瘍の子宮内曝露で起こりうる役割を研究する為に使われた。一グループの F_0 動物は交配時と妊娠期間だけ 5% サッカリンナトリウムの食餌を与えられた。分娩後、母畜は対照食餌を与えられ、選ばれた F_1 雄が 30 ヶ月間、その対照食餌を与えられ続けた。このグループは「妊娠期間中 5% サッカリン」と指定された。1% サッカリンナトリウム食餌で始め、授乳期間に 5% に増加したサッカリンナトリウムを母畜が与えられた後の分娩時まで、二番目のグループで、 F_0 動物が対照食餌を与えられ続けた。これらの親から選ばれた F_1 雄は 30 ヶ月間、5% サッカリンナトリウムの食餌を与えられた。このグループは「妊娠期間後 5% サッカリン」と指定された。

In the second group, F_0 animals were maintained on control diet until parturition after which the dams were placed on a sodium saccharin test diet beginning at 1% and increasing to 5% during lactation. Selected F_1 males from these parents were fed sodium saccharin at a dietary concentration of 5% for 30 months. This group was designated "5% saccharin following gestation".

A third treatment group was included to study the effect of excess sodium and to determine the specificity of high doses of saccharin to the occurrence of bladder tumours. Animals in this group were fed a diet containing 5% (reducing to 3%) sodium hippurate through two generations. This compound was selected because of its similarity to saccharin in physical, chemical and pharmacokinetic properties, e.g. both are sodium salts of organic acids of almost identical molecular weight and are filtered and actively secreted into urine by the kidney.

Selected F_1 males from each of the groups were allocated to the second generation long-term study using the following unbalanced design:

F_1 treatment group	Number of F_1 males
untreated control	350
1.0% sodium saccharin	700
3.0% sodium saccharin	500
4.0% sodium saccharin	200
5.0% sodium saccharin	125
6.25% sodium saccharin	125
7.5% sodium saccharin	125
5.0% sodium saccharin through gestation	125
5.0% sodium saccharin following gestation	125
5.0/3.0% sodium hippurate	125

The F_1 animals were observed twice daily for signs of toxicity, behavioural changes and survival. Individual body weights and food consumption were measured weekly during the first 13 weeks and once every two weeks thereafter. Urinalyses were conducted on 30 rats/group on days 6, 30, 64, 92 and months 6, 13, 18, 24 and 29. The urinalysis included urinary pH, microscopic examination, bilirubin, protein, glucose, ketones, urobilinogen, nitrite and occult blood. Osmolality was also measured on fresh urine samples on day 6, 30 and

64, and on 24 h urine samples at each examination except day 6. Individual 48 h water consumption was measured on the same 30 animals per group for the first 13 weeks and approximately every two weeks thereafter.

During the F_1 phase, complete post-mortem examinations were performed on all animals which died during the course of the study or were sacrificed in extremis and on all terminally sacrificed animals. A complete range of tissues was fixed for possible subsequent examination and the urinary bladder, kidney, urethra and ureters of all animals were examined histologically. Gross lesions and masses, from all tissues, observed at autopsy were also examined microscopically. Examinations of the fixed urinary bladder and subsequent microscopic examinations of tissues were conducted in a blind manner.

Results of the F_0 generation and litters

The feeding of sodium saccharin at dietary concentrations up to

三番目の処理グループは過剰ナトリウムの影響を研究する為と膀胱腫瘍の発生率のサッカリンの高投与特異性を決定する為に使われた。このグループの動物は5%馬尿酸ナトリウム（3%に還元する）食餌を2世代を通して与えられた。この化合物は物理的、化学的、薬物動力学的に同一性がある為、選ばれた、例えば、両方ともほとんど同じ分子量の有機酸のナトリウム塩であり、腎臓から活発に濾過され、分泌される。

各グループから選ばれたF₁雄は下記の不均衡な組み合わせを使う2世代長期研究に割り当てられた。

F ₁ 処理グループ	F ₁ 雄数
未処理対照	350
1. 0%サッカリンナトリウム	700
3. 0%サッカリンナトリウム	500
4. 0%サッカリンナトリウム	200
5. 0%サッカリンナトリウム	125
6. 25%サッカリンナトリウム	125
7. 5%サッカリンナトリウム	125
妊娠期間中5. 0%サッカリンナトリウム	125
妊娠期間後5. 0%サッカリンナトリウム	125
5. 0/3. 0%馬尿酸ナトリウム	125

F₁動物は週2回、毒性、行動変化と生存率の様子を観察された。各体重と食物摂取は毎週、最初の13週間とその後は2週毎に、測定された。尿検査は30匹/グループに6、30、64、92日目と6、13、18、24と29ヶ月目に行われた。尿検査の内容は尿pH、顕微鏡検査、ビリルビン、蛋白質、ブドウ糖、ケトン、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩と潜出血検査を含んだ。オスモル濃度も、新鮮尿標本で6、30と64日目に測定され、6日目を除いて、24時間標本の各検査で測定された。各個体の48時間水摂取量は最初の13週間とその後は約2週間毎にその同じ30匹動物のグループで測定された。

F₁段階の期間中、研究機関中に死んだものや、極限状態で犠牲になったものや、末期に犠牲になった動物で完全検死検査が行われた。組織の全部類がその後の可能な検査に用意され、全ての動物の膀胱、腎臓、尿道と尿管が組織学的に検査された。検死で観測された全ての組織の肉眼的病変と塊体が顕微鏡で検査されもした。用意された膀胱の顕微鏡検査と組織のその後の顕微鏡検査が盲目式で行われた。

F₀世代と一腹子の結果

一繁殖周期を通して、後離乳段階の子畜の雌雄F₀ネズミへのサッカリン7.5%までの食餌は

7.5% to male and female F_0 rats from the post-weanling stage through a single reproductive cycle had no effects on behaviour or survival. However, at dietary concentrations $<3.0\%$ statistically significant ($P>0.05$) body weight depressions were noted. The difference from the untreated control group was as high as 11% in the 7.5% sodium saccharin treatment group. The depressions in body weight were not due to a decrease in food consumption or nutrient intake since the treated rats compensated for the non-nutritive ingredient added to their diet by consuming more total diet (g/rat/d) than untreated controls. At dietary concentrations of sodium saccharin $<3\%$ there were significant ($P>0.05$) reductions in the mean number of pups per litter. There was a statistically significant increase in water intake and urine volumes at dietary levels $<1\%$; a decrease in urinary pH and visible increase in the moisture content of faeces were observed at dietary concentrations $<3\%$.

No effects on survival or behaviour were observed through the first 28 to 38 days of life in the offspring receiving dietary concentrations of sodium saccharin up to 7.5% and the mean body weights at birth were also comparable to control animals. However, statistically significant ($P>0.05$) body weight depressions were noted in all sodium saccharin groups later during the lactation period and in males at 28 days of age. The difference was noted only at days 21 and 28 in the 1.0% sodium saccharin group and was small (approximately 2%); by comparison, the average body weight depressions in the 3.0% through 7.5% sodium saccharin groups were between 8% and 24% at day 21, and between 9% and 31% at day 28. The weanling rats (28-38 day old) from the 5% and 7.5% sodium saccharin groups were found to be anaemic.

The feeding of 5.0% sodium saccharin only during mating and gestation caused statistically significant depressions ($P<0.05$) in both food consumption and body weight of the F_0 animals during the treatment period. A statistically significant ($P<0.05$) decrease in the mean number of pups born per litter was also observed which was comparable to the decrease noted in the dose-response group in which parental animals were fed 5.0% sodium saccharin continuously from the weaning stage. No changes were observed in the offspring during the first 28 to 38 days of life.

The feeding of sodium saccharin to lactating female rats on an increasing dosage schedule of 1%, 3% and 5% during weeks 1, 2 and 3 post-parturition respectively had no observable effect until the dietary concentration of sodium saccharin was increased to 3%. After this time, the offspring showed statistically significant ($P<0.05$) body weight depressions on days 14 and 21; the males also had lower body weights than controls at day 28. The observed body weight depressions were slightly less than in the dose-response group from parents fed 5.0% sodium saccharin continuously but by day 28 the body weights of the male rats in these two groups were similar.

The feeding of 5.0% sodium hippurate to F_0 animals from weaning through a single reproductive cycle caused statistically significant ($P<0.05$) body weight depressions averaging up to 10% and 14% in male and female rats, respectively. In females, the average depression was only 4% until the beginning of gestation. Unlike the sodium saccharin treated animals, F_0 rats fed sodium hippurate consumed less diet than controls. The feeding of sodium hippurate caused a statistically significant ($P<0.05$) decrease in the mean number of pups per litter at birth and aggressive behaviour and mortality in the lactating dams. Teratogenic effects (microphthalmia, domed heads and hydrocephaly) and statistically significant ($P<0.05$) depressions in body weight were noted in the offspring. The body weight depressions were as high as

行動や生存率に影響がなかった。然しながら、 $< 3.0\%$ 食餌で、統計上重要な ($P > 0.05$) 体重低下が記録された。無処理対照グループとの相違は 7.5% サッカリンナトリウム処理グループと同じく 11% の高い値だった。無処理対照区よりも多い合計食餌 (g/rat/d) を摂取する事によって、処理ネズミの食餌に追加された無栄養分を処理ネズミは補ったのであるから、体重低下は食物摂取や栄養分摂取の減少によるものでなかった。 $< 3\%$ サッカリンナトリウム食餌で一腹子の平均数で重要な減数 ($P < 0.05$) があった。水摂取と尿量の統計上重要な増加が $< 1\%$ 食餌濃度であった；尿 pH の減少と便水分含有量の増加が $< 3\%$ 濃度食餌で観察された。

7.5% までのサッカリンナトリウム食餌を摂った子畜で最初の 28 日から 38 日間を通して、生存率や行動変化の影響は観察されなかった、そして、誕生時の平均体重も対照区の動物と同様だった。然しながら、統計上、重要な ($P > 0.05$) 体重低下が授乳期間後と 28 日齢の雄で全てのサッカリンナトリウムグループに記録された。 1.0% サッカリンナトリウムグループで 21 日と 28 日目にだけ、相違は記録され、値は小さかった (約 2%)；比べると、 $3\% - 7.5\%$ サッカリンナトリウムグループの平均体重低下は 21 日目に $8\% - 24\%$ で、28 日目で $9\% - 31\%$ の間の値だった。 5% と 7.5% サッカリンナトリウムグループの離乳したネズミ (28 - 38 日齢) は貧血症だと分かった。交配期と妊娠期間だけの 5.0% サッカリンナトリウム食餌は処理期間中の F_0 動物の食物摂取と体重両方に統計上重要 ($P < 0.05$) な低下原因となった。每一腹子の平均誕生数の統計上重要 ($P < 0.05$) な低下も親が離乳段階から続けて 5.0% サッカリンナトリウム食餌を与えられた投与反応グループに記録された低下と同様の低下だったと観察された。最初の 28 日 - 38 日生存期間中、子畜に変化は観察されなかった。

1、2 と 3 週分娩後期間に 1% 、 3% と 5% の投与予定を増やした授乳する雌ネズミのサッカリンナトリウム食餌はサッカリンナトリウム食餌濃度が 3% に増やされるまで、観察し得る影響はなかった。この期間後、子畜は統計上重要 ($P < 0.05$) な体重低下を 14 日目と 21 日目に見せた；雄も 28 日目に対照区より低い体重を有した。観察された体重低下は 5% サッカリンナトリウムを与えられた親の投与反応グループよりも、ほんの少し、低かった、しかし、28 日目までには、これらの 2 グループの雄ネズミの体重は同じになった。

一繁殖周期を通して離乳した F_0 動物の 5.0% 馬尿酸ナトリウムの食餌は、統計上重要 ($P < 0.05$) な雌雄ネズミそれぞれ平均 10% と 14% までの体重低下の原因となった。雌では、妊娠期間開始まで平均低下は 4% だけだった。サッカリンナトリウム処理した動物とは違って、馬尿酸ナトリウムを与えられた F_0 ネズミは対照区より少ない食餌を摂取した。誕生時に每一腹子の平均数の統計上重要 ($P < 0.05$) な減少と積極的行動と授乳母畜の死亡率は馬尿酸ナトリウム食餌が原因だった。催奇形 (小眼球症、半球頭と水頭症) 影響と統計上重要 ($P < 0.05$) な体重低下は子畜に表れた。体重低下は 28 日齢の雄で 38% の高い値だった。水摂取と尿量の増加が F_0 ネズミに観察されたが、その変化は 5% サッカリンナトリウムグループに相当した増加よりも少なかった。便水分含有率ではほとんど全く変化は観察されなかった。

38% in 28 day-old males. Increased water intake and urine volume were observed in the F_0 rats but the changes were less than in the corresponding 5% sodium saccharin group. Little or no visible changes in the faecal moisture content were observed.

Results in the F_1 generation

There were a statistically significant trend for increased survival in the sodium saccharin treatment groups, being most evident at the 5.0% and 7.5% treatment levels. The survival rates after 123 weeks of treatment were as shown:

Treatment group	Survival rate (%)
Control	23
1.0% sodium saccharin	24.5
3.0% sodium saccharin	23
4.0% sodium saccharin	19
5.0% sodium saccharin	37
6.25% sodium saccharin	26
7.5% sodium saccharin	34
5.0% sodium saccharin through gestation	20
5.0% sodium saccharin following gestation	36
3.0% sodium hippurate	30

No changes in behaviour or appearance were observed in the study.

A clear dose-response was observed for physiological effects at treatment levels of 3.0% sodium saccharin or above. Changes such as relative depressions in body weight, food consumption and water consumption were seen but there was no direct statistically correlation with the occurrence of bladder tumours. The 1.0% dietary concentration was considered a no-effect level for these changes.

Urinanalysis revealed a dose-dependent increase in the mean 24 h urine volume and decrease in osmolality. These changes were primarily observed at dietary concentrations of sodium saccharin of >3.0% and showed a strong statistical correlation to the occurrence of bladder tumours. During the first 92 days, the urinary pH was significantly depressed for all groups in the dose-response portion of the bioassay in which sodium saccharin was fed at dietary concentrations >4%; significantly lower urinary pH values were also recorded in the 3% sodium saccharin group at the 64 and 92 day time intervals. No dose-related lowering of pH was evident later in the study (6-29 m) except for the 4% and 7.5% sodium saccharin groups at the 13 m time interval. At no stage in the study was the pH of the 1% sodium saccharin group significantly lower than control values. The urine pH values in the 5.0% sodium saccharin through gestation group were comparable to control values but significant depressions were noted in the 5% sodium saccharin following gestation group at the 6-, 30-, 64- and 92-day time intervals, and a statistically significant depression was also observed at 24 m for the 3% sodium hippurate group. No treatment-related changes were seen in the analyses for urinary urobilinogen, protein, glucose, ketones, bilirubin, occult blood and nitrite. Analysis of the urine for calcium ion was performed at the 24 m interval and no treatment-related effects on calcium ion concentration were observed; however, due to the increased urine volume, there was a treatment-related increase in total calcium ion excreted (mg/24 h) in the groups receiving >3.0% sodium saccharin. Examination of the urine for microcrystals showed that at 13, 18, and 24 m, the control group had significantly higher crystal scores than the 7.5% sodium saccharin group, and crystalluria did not appear to be involved in bladder tumour formation.

F₁世代の結果

・ サッカリンナトリウム処理グループで生存率を増やす統計上重要な傾向があった、そして、その傾向は5.0%と7.5%処理濃度で最も顕著だった。123週処理後の生存率は下記に見られる如くだった。

処理グループ	生存率 (%)
対照区	23
1. 0%サッカリンナトリウム	24.5
3. 0%サッカリンナトリウム	23
4. 0%サッカリンナトリウム	19
5. 0%サッカリンナトリウム	37
6. 25%サッカリンナトリウム	26
7. 5%サッカリンナトリウム	34
妊娠期間中5. 0%サッカリンナトリウム	20
妊娠期間後5. 0%サッカリンナトリウム	36
3. 0%馬尿酸ナトリウム	30

行動や外観の変化はこの研究で観察されなかった。

3. 0%サッカリンナトリウムかそれ以上の濃度処理で生理学的な影響に関して顕著な投与反応が観察された。体重、食物摂取と水摂取の相対的低下が見られたが、膀胱腫瘍発生率の直接的統計上の相関関係はなかった。1. 0%食餌濃度はこれらの変化に関して無影響濃度と考えられた。

平均24時間尿量とオスモル濃度減少の投与依存による増加を尿検査が明らかにした。>3%サッカリンナトリウムの食餌濃度で主にこれらの変化が観察された、そして、これらの変化は膀胱腫瘍発生率に高い統計上の相関関係を見せた。最初の92日間に、>4%サッカリンナトリウム食餌濃度を与えられた生物検定投与反応部分に全てのグループで尿pHがかなり減少した；64日目と92日目の間の期間に3%サッカリンナトリウムグループでかなり、より低い尿pH値も記録された。13ヶ月間の期間に4%と7.5%サッカリンナトリウムグループを除いて、(6-29ヶ月)の研究で投与依存によるpHのより下がる低下値は、顕れなかった。対照区よりもかなり低い1%サッカリンナトリウムのpH値はこの研究の段階にはなかった。妊娠期間中5%サッカリンナトリウムのグループの尿pH値は対照値に相当したが、6日、30日、64日と92日期間で妊娠期間後5%サッカリンナトリウムグループにかなりの低下が表れた、そして、統計上重要な低下は3%馬尿酸ナトリウムグループの24ヶ月目にも観察された。尿、ウロビリノーゲン、蛋白質、ブドウ糖、ケトン、ビリルビン、潜出血と亜硝酸塩の分析では処理に関係した変化は見られなかった。カルシウムイオンに関する尿分析は24ヶ月間隔で行われて、カルシウムイオン濃度の処理に関係した影響は観察されなかった；然しながら、増えた尿量により、>3%サッカリンナトリウムを摂ったグループで排出(mg/24h)された合計カルシウムイオン処理に関係した増加があった。微結晶に関する尿試験は13、18と24ヶ月目に7.5%サッカリンナトリウムグループよりもかなり高い結晶値を対照グループが示した、そして、結晶尿は膀胱腫瘍形成に関係がある様には見えなかった。

検死で、3%かそれ以上のサッカリンナトリウム濃度食餌の絶対膀胱重量と相対膀胱重量にか

At autopsy, there was a significant increase in absolute and relative bladder weights at sodium saccharin dietary concentrations of 3% or above. No urinary bladder weight changes were noted in animals exposed to sodium saccharin only in utero nor in animals fed sodium hippurate.

Histopathological examination revealed a treatment- and dose-related mineralization of the renal pelvis but no treatment-related of the ureter or urethra were observed.

A clear dose response for bladder tumours was observed. The slope of the dose-response curve was steep indicating that the incidence of bladder tumours declined rapidly with decrease in dose. The incidence of bladder tumours observed in the various treatment groups was as follows:

Treatment group	Incidence of primary bladder tumours %		
	Benign	Malignant	Total
Control	0.0	0.0	0.0*
1.0% sodium saccharin	0.6	0.2	0.8
3.0% sodium saccharin	0.8	0.8	1.6
4.0% sodium saccharin	2.1	4.2	6.3
5.0% sodium saccharin	3.3	9.2	12.5
6.25% sodium saccharin	10.0	6.7	16.7
7.5% sodium saccharin	15.3	16.1	31.4

* Tumour incidence in 863 control male rats of the same used in this study from 10 recent in utero lifetime studies conducted at IRDC ranged between 0.0-2.5% for papillomas and 0.0-0.8% for carcinomas. The mean incidence for total urinary bladder tumours was 0.8%.

In this study, the lowest dosage level of 1.0% was considered a no-effect level for bladder tumours based upon pairwise statistical analyses with the concurrent untreated control group and a comparison with background bladder tumour incidence for this strain of rat at the IRDC laboratory utilizing an in utero lifetime design. At the 3.0% sodium saccharin treatment level, the incidence of benign bladder tumours alone or of malignant bladder tumours alone was not significantly increased, but the combined incidence was significantly higher than in concurrent controls. The incidence of benign and/or malignant bladder tumours was significantly increased at dosage levels of 4% or greater. No increase in the incidence of hyperplasia or other treatment-related effects were observed in the ureter, urethra or kidney.

The animals exposed to saccharin only in utero were comparable to controls but the animals whose exposures began at birth (5% sodium saccharin following gestation) had an incidence of urinary bladder

tumours similar to that of animals fed diets containing 5% sodium saccharin whose exposure included the in utero period. Therefore it appeared that in utero exposure was not essential to the development of urinary bladder tumours in sodium saccharin treated rats. No bladder tumours were seen in the group fed sodium hippurate although the incidence of kidney mineralization was similar to that in the 3.0% sodium saccharin group.

No other treatment-related toxic or neoplastic lesions were observed in either the genito-urinary tissues or in the various

なりの増加があった。子宮内だけにサッカリンナトリウム曝露動物に膀胱重量の変化があり、馬尿酸ナトリウムを与えられた動物には膀胱重量の変化はなかった。

処理に関係し、投与関連した腎盂の鉍化作用を組織病理試験が明らかにしたが、尿管や尿道の処理関連には観察されなかった。

膀胱腫瘍の顕著な投与反応が観察された。投与反応曲線の傾きは膀胱腫瘍発生率が投与減量と伴に急に低下した事を示す急勾配だった。色々な処理グループで観察された膀胱腫瘍発生率は下記の様になった：

処理グループ	膀胱腫瘍発生率%		
	良性	悪性	合計
対照区	0.0	0.0	0.0*
1. 0%サッカリンナトリウム	0.6	0.2	0.8
3. 0%サッカリンナトリウム	0.8	0.8	1.6
4. 0%サッカリンナトリウム	2.1	4.2	6.3
5. 0%サッカリンナトリウム	3.3	9.2	12.5
6. 25%サッカリンナトリウム	10.0	6.7	16.7
7. 5%サッカリンナトリウム	15.3	16.1	31.4

* この研究でも同じ数のネズミを使ったが、IRDCで行われた10件の最近の子宮内寿命研究に使われた863匹の対照雄ネズミの腫瘍発生率は0.0-2.5%乳頭腫と0.0-0.8%癌腫の間の範囲だった。合計膀胱腫瘍の平均発生率は0.8%だった。

この研究で、同時に調べている無処理の対照グループに関する統計分析と子宮内寿命デザインを使ったIRDC研究所のネズミの系統に関する膀胱腫瘍背景発生率に関する統計分析の二種類の統計分析を基礎にして、膀胱腫瘍に関して、1%の最低投与濃度は無影響濃度と考えられた。3.0%サッカリンナトリウム処理濃度で、良性腫瘍のみや悪性腫瘍のみの発生率はあまり増えなかったが、ふたつ合わせた発生率はかなり同時に調べている対照区よりもかなり高かった。4%かそれ以上の投与濃度で良性と/か悪性膀胱腫瘍の発生率はかなり増えた。増殖や他の処理関連の影響は尿管や尿道や腎臓では観察されなかった。

子宮内だけでサッカリン曝露した動物は対照区に同等だったが、誕生時（妊娠期間後5%サッカリンナトリウム）に曝露を始められた動物は子宮内期間を含む5%サッカリンナトリウム食餌を与えられた動物の発生率と同じ膀胱腫瘍発生率だった。それ故、子宮内曝露はサッカリンナトリウム処理ネズミの膀胱腫瘍発生に重要でないと思われる。馬尿酸ナトリウム食餌グループに膀胱腫瘍は見られなかったが、腎臓鉍化作用発生率は3%サッカリンナトリウムの発生率と同じだった。

他の処理関係の毒性産生病変や異常組織発生病変は尿生殖器組織や肉眼的病変の事象だけで試験した各種組織のどちらにも観察されなかった。

tissues examined only in the event of a macroscopic lesion.

Statistical considerations

A detailed statistical analysis of the data from the IRDC dose-response carcinogenicity study was carried out by Carlborg (1983). The data were examined using four types of mathematical model for carcinogenic dose/response viz:

the threshold level (no-effect-level) model,
the one-bit model,
the Weibull model, and
the polynomial (multi-stage) model.

Three versions of the polynomial model were considered; the first with a cubed power of the dose as the lowest term, the second with a squared power of the dose as the lowest term and the third with a linear power of the dose as the lowest term.

A dose of 0.01% sodium saccharin in the diet was chosen as the level at which low-risk assessments were made.

The data overwhelmingly rejected the one-hit model; all the other models fitted the data in the statistical sense. The threshold level method yielded 1.0% as a lower bound on the threshold $\hat{A}$. The linearized polynomial model yielded a best estimate of 5.9×10^{-5} for the excess risk at a saccharin dose of 0.01% of the diet with an upper confidence limit of 9.1×10^{-5} . The Weibull model yielded a best estimate of 2.5×10^{-10} for the excess risk at a saccharin dose of 0.01% with an upper confidence limit of 1.2×10^{-8} .

The author concluded that, even under the conservative assumption of low-dose linearity, the results from the IRDC study have reduced the estimated risk by roughly one order of magnitude relative to the estimates based on previous experiments; a risk assessment based on the observable dose-response pattern showed that saccharin is virtually safe at an exposure of societal concern. Some of the measurable characteristics of the urine of the rat taken very early in life appeared to be predictive of tumourigenicity.

Long-term studies

Monkey

In addition to the long-term rat study described above, Adamson & Sieber (1983) administered saccharin (25 mg/kg bw) orally to two groups of 10 monkeys each on 5 days/week. One group received saccharin for an average of 122 months and the second group for 36 months. Since the inception of the study, none of the animals have died and there is no evidence of toxicity or tumours in any of the animals.

OBSERVATIONS IN MAN

Epidemiological studies

Morgan (1983) has reviewed the epidemiological studies carried out in relation to ingestion of saccharin by man, including new studies and re-analyses not previously available to JECFA (Walker et al., 1982; Hoover & Hartge, 1982; Jensen & Kamby, 1982; Morrison et al., 1982; Najem et al., 1982). In an attempt to summarize the studies done to date, a statistical power analysis of previous case-control studies was carried out. Based on this analysis, it was calculated that, if the true relative risk of bladder cancer as a result of using artificial sweeteners were 1.13 or larger, there was a 95% probability

統計的考察

発癌性の IRDC 投与反応研究のデータからの詳細統計分析が Carborg(1983)によって行われた。データは発癌性投与/反応に関して4種類のモデルを使って試験された、すなわち：

最低基準濃度（無影響濃度）モデル

One-hitモデル

ワイブルモデル、と

多項式（段階的）モデル

多項式モデルの三つの変度を考えた；一番目に最小項として投与の3乗、二番目に最小項として投与の2乗と三番目に最小項として投与の1乗。

0.01%サッカリンナトリウム食餌投与は低危険度査定である濃度として選ばれた。

データは圧倒的にOne-hitモデルに適合しなかった；他の全てのモデルは統計上のデータに適合した。最低基準濃度方式は最低基準Aのより低い限界として1.0%を出した。 9.1×10^{-5} 上位信頼限界の0.01%サッカリン食餌で過剰危険度として 5.9×10^{-5} の最良推定値を出した。ワイブルモデルは 1.2×10^{-8} の上位信頼限界の0.01%サッカリン投与で過剰危険度値として 2.5×10^{-10} の最良推定値を出した。

低投与一次曲線性という控えめな仮定の下ですら、前回の実験を基礎とした推定値に比例した概算一次度曲線の推定危険度をIRDC研究結果は限定している；観察し得る投与反応パターンを基礎とした危険度査定は社会生活を営む上での曝露ではサッカリンが実質的に安全であると示したと著者は結論付けた。一生の非常に早い時期に摂られたネズミの尿の測定し得る特徴のいくつかは腫瘍形成性を予言すると思われた。

長期研究

サル

上記の長期ネズミ研究に加えて、Adamson & Sieber (1983)は10匹のサルの2組のグループ各々に週5日、経口でサッカリン（25 mg/kg bw）を投与した。第1グループは平均122ヶ月間でサッカリンを摂り、第2グループは36ヶ月間で摂った。研究の最初から、動物は死なず、毒性や動物のどれからも腫瘍は顕れなかった。

人間観察

Morgan(1983)は新しい研究とJECFAでは以前不可能だった再分析を含む人間のサッカリン摂取の関係を調べた疫学的研究を明らかにしている(Walkeer 他、1982; Morrison 他、1982; Najem 他、1982)。現在までに行われた研究を要約する試みとして、以前の症例対照研究の統計累乗分析が行われた。この分析を基礎として、人口甘味料を使った結果として膀胱癌の正確な相対的危険度が1.13かそれ以上だったとしたら、研究が明らかにした95%の確率があったと計算された、全体として、研究は統計上重要なその様な相対的危険度を検出していたのであろう。

サッカリンが人間には強度の発癌物質でもなく、中程度の発癌性物質ですらないと結果は証明した、そして、全ての研究から纏められた相対的危険度の均一性を示す注目すべき近似値は印象的だと著者は結論付けた。

that the studies reviewed, in toto would have detected such a risk as statistically significant.

The results reviewed demonstrated that saccharin is not a strong or even a moderate carcinogen for man and the author concluded that the remarkable approximation to unity of the summary relative risk from all studies was impressive.

Comments

New information presented to the Committee included biochemical, pharmacokinetic, mutagenicity, and epidemiological data; the results of special studies on urine volume and composition and the effect of saccharin on the bladder epithelium; the results of studies on saccharin as a promoter or co-carcinogen; and the results of a carcinogenicity study in rats designed to investigate the dose-response relationship in the development of bladder tumours and the outcome of in utero exposure.

In the Committee's opinion the available evidence indicated that saccharin is not mutagenic. An in utero phase of exposure is not essential for a carcinogenic response to saccharin in the bladder of the male rat. There was a definite carcinogenic effect at levels of dietary inclusion of 3% and above in the long-term study with in utero exposure. There was also a carcinogenic effect at a level of 5%, the only level tested, in the 1-generation study with exposure

from birth, which included pups suckled by dames receiving saccharin in their diets. The Committee considered that a 1% dietary inclusion level could be taken as a no-effect level. Further data on the bladder histopathology in the carcinogenicity study mentioned above were received too late to be reviewed by the Committee. Within the statistical limitations of the studies, the epidemiological data do not show any evidence that saccharin is a bladder carcinogen.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 1% (10.000 ppm) in the diet, equivalent to 500 mg/kg bw.

Estimate of temporary acceptable daily intake for man

0-2.5 mg/kg bw.

FURTHER WORK OR INFORMATION

(Information to be submitted when it becomes available.)

1. Data on the bladder histopathology.
2. Information to elucidate the mechanism by which the compounds produce bladder tumours, including the possible significance of exposure through lactation, the influence of gastrointestinal tract microorganisms, the effect of osmolar changes in the urine, and species specificity in the development of urothelial changes.

REFERENCES

- ADAMSON, R.H. & SIEBER, S.M. (1983) Chemical carcinogenesis studies in non-human primates. In: Organ and Species Specificity in Chemical Carcinogenesis. R. Langenbach et al., eds. p. 129, New York: Plenum.
- ANDERSON, R.L. (1979) Response of male rats to sodium saccharin

解説

委員会に提供された新情報は生化学的、薬物動力的、突然変異誘発力と疫学的なデータを含んだ；尿量とその組成の特別研究と膀胱上皮のサッカリン影響の結果；サッカリンの促進物質として又、相互発癌性物質としての研究；そして、膀胱腫瘍発生と子宮内暴露の結果の発生反応関係を調査する為に計画されたネズミの発癌性の結果。

委員会意見では利用可能な証拠からサッカリンは突然変異誘発性がないと指摘した。子宮内暴露は雄ネズミの膀胱内のサッカリンの発癌性反応に絶対的なものでない。子宮内暴露の長期研究で3%とそれ以上の食餌濃度の明確な発癌誘発性影響があった。サッカリン食餌を摂った母畜から授乳された子畜も含めて、誕生時からの暴露の一世代研究では、5%濃度だけがテストされたのだが、この5%濃度で発癌誘発性影響もあった。委員会は1%食餌含有濃度は無影響濃度と解釈できると考えた。上記に述べた発癌誘発性研究の膀胱組織病理学の更なるデータは受理されたが委員会によって明らかにされるには遅すぎた。研究の統計上の限界範囲内で、疫学的データはサッカリンが膀胱発癌物質だというどの様な証拠も示さなかった。

評価

無毒性影響の原因となる濃度

ネズミ： 1% (10,000 ppm) 食餌、500 mg/kg bw に相当。

人間の暫定的一日許容摂取量の推定

0 - 2.5 mg/kg bw.

更なる研究と情報

(入手可能になった時、提出される情報)

1. 膀胱組織病理のデータ
2. 授乳期中暴露の起こりうる有意性、胃腸管内微生物の影響、尿内オスモル濃度変化の影響と尿路上皮変化の発生に関する系統の特異性を含んで、化合物が膀胱腫瘍を生じるメカニズムを解明する情報

参考文献

左頁参照

ingestion: urine composition and mineral balance. Fd. Cosmet. Toxicol., 17; 195.

ANDERSON, R.L. (1983) Effect of saccharin ingestion on stool composition in relation to caecal enlargement and increased stool hydration. Fd. Chem. Toxicol., 21: 255.

BERNDT, W.O., REDDY, R.V., & HAYES, A.W. (1981) Evaluation of renal function in saccharin treated rats. Toxicology, 21: 305.

CARLBORG, F.W. (1983) Statistical considerations in the design of the IRDC experiment with saccharin. Unpublished report presented at the Scientific Review Conference, Duke University Medical Center, 4th-6th May, 1983.

COLBURN, W.A., BEKERSKY, I., & BLUMENTHAL, H.P. (1981) A preliminary report on the pharmacokinetics of saccharin in man: single oral administration. J. Clin. Pharmacol. 21: 147.

DEMERS, D.M., FUKUSHIMA, S., & COHEN, S.M. (1981) Effect of sodium saccharin and L-tryptophan on rat urine during bladder carcinogenesis. Cancer Res., 41: 108.

EL-GERZAWI, S., HEATFIELD, B.M., & TRUMP, B.F. (1982) N-methyl-N-nitrosourea and saccharin: effects on epithelium of normal human urinary bladder in vitro. J. Natl. Cancer Inst., 69: 577.

FAHRIG, R. (1982) Effects in the mammalian spot test: cyclamate versus saccharin. Mutation Res., 103: 43.

FUKUSHIMA, S. & COHEN, S.M. (1980) Saccharin-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. Cancer Res., 40: 734.

FUKUSHIMA, S., HIROSE, M., OKUDA, M., NAKANOWATARI, J., HATANO, A., & ITO, N. (1982) Effect of partial cystectomy on the induction of pre-neoplastic lesions in rat bladder initiated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine followed by bladder carcinogens and promoters. Urol. Res., 10: 115.

FUKUSHIMA, S., ARAI, M., NAKANOWATARI, J., HIBINO, T., OKUDA, M., & ITO, N. (1983a) Differences in susceptibility to sodium saccharin among various strains of rats and other animal species. Gann, 74: 8.

FUKUSHIMA, S., HAGIWARA, A., OGISO, T., SHIBATA, M., & ITO, N. (1983b) Promoting effects of various chemicals in rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-nitroso-n-butyl-(4-hydroxybutyl) amine. Fd. Chem. Toxicol., 21: 59.

HOOVER, R.1N. & HARTGE, P. (1982) Non-nutritive sweeteners and bladder cancer. Am. J. Publ. Hlth., 72; 382.

IMAIDA, K., OSHIMA, M., FUKUSHIMA, S., ITO, N., & HOTTA, K. (1983) Membrane potentials of urinary bladder epithelium in F344 rats treated with N-butyl-n-(4-hydroxybutyl) nitrosamine or sodium saccharin. Carcinogenesis, 4: 659.

IRDC (1983) Evaluation of the dose response and in utero exposure of saccharin in the rat. Unpublished report of the International Research & Development Corporation, Mattawan, MI.

ISHII, D.N. (1982) Inhibition of iodinated nerve growth factor binding by the suspected tumour promoters, saccharin and cyclamate. J. Natl. Cancer Inst., 68: 299.

左頁参照

ITO, N., FUKUSHIMA, S., SHIRAI, T., & NAKANISHI, K. (1983a) Effects of promoters on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in the rat. Environ. Hlth. Pers., 50: 61.

JENSEN, O.M. (1983) Artificial sweeteners and bladder cancer: epidemiological evidence. Unpublished paper presented at the Third European Toxicology Forum, Geneva, Switzerland. October 18-22, 1983.

LITTON BIONETICS INC. (1983a) Mutagenicity evaluation of FDC 12 in the Ames Salmonella/Microsome plate test. Unpublished Report submitted to FDC Consultants Inc.

LITTON BIONETICS INC. (1983b) Mutagenicity evaluation of FDC 14 in the Ames Salmonella/Microsome plate test. Unpublished Report submitted to FDC Consultants Inc.

LITTON BIONETICS INC. (1983c) Mutagenicity evaluation of Lot No.2517 in the Ames Salmonella/Microsome plate test. Unpublished Report submitted to FDC Consultants Inc.

LOK, E., IVERSON, F., & CLAYSON, D.B. (1982) The inhibition of urease and proteases by sodium saccharin. Cancer Letts., 16: 163.

MAHON, G.A.T., & DAWSON, G.W.P. (1982) Saccharin and the induction of presumed somatic mutations in the mouse. Mutation Res., 103: 49.

MATTHEWS, H.B., FIELDS, M., & FISHBEIN, L. (1973) Saccharin: distribution and excretion of a limited dose in the rat. J. Agr. Fd. Chem., 21: 916.

MORGAN, R.W. (1983) A review of epidemiologic studies of artificial sweeteners and bladder cancer. Unpublished Report presented at the Scientific Review Conference, Duke University Medical Center, 4th-6th May, 1983.

MORRISON, A.S., VERHOEK, W.G., LECK, I., AOKI, K., OHNO, Y., & OBATA, K. (1982) Artificial sweeteners and bladder cancer in Manchester, U.K., and Nagoya, Japan. Br. J. Cancer, 45: 332.

MURASAKI, G. & COHEN, S.M. (1981) Effect of dose of sodium saccharin on the induction of rat urinary bladder proliferation. Cancer Res., 41: 942.

MURASAKI, G. & COHEN, S.M. (1983a) Co-carcinogenicity of sodium saccharin and N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) formamide for the urinary bladder. Carcinogenesis, 4: 97.

MURASAKI, G. & COHEN, S.M. (1983b) Effect of sodium saccharin on urinary bladder epithelial regenerative hyperplasia following freeze ulceration. Cancer Res., 43: 182.

NAJEM, G.R., LOURIA, D.B., SEEBODE, J.J., THIND, I.S., PRUSAKOWSKI, J.M., AMBROSE, R.B., & FERNICOLA, A.R. (1982) Life-time occupation, smoking, caffeine, saccharine, hair dyes and bladder carcinogenesis. Int. J. Epid., 22: 212.

NAKANISHI, K., FUKUSHIMA, S., HAGIWARA, A., TAMANO, S., & ITO, N. (1982) Organ specific promoting effects of phenobarbital sodium and sodium saccharin in the induction of liver and urinary bladder tumors in male F344 rats. J. Natl. Cancer Inst., 68: 497.

PANTAROTTO, C., SALMONA, M., & GARATTINI, S. (1981a) Plasma kinetics and urinary elimination of saccharin in man. Toxicol. Lett.,

左頁参照

PANTAROTTO, C., SALMONA, M., FANELLI, R., BIACHI, M., & SZCZAWINSKA, K. (1981b) ' GLC-mass fragmentographic determination of saccharin in biological fluids. J. Pharmaceut. Sci., 70: 871.

RADFORD, T., COOK, J.M., DAL SIS, D.E., WOLF, E., & VOIGT, M. (1983) Identification and quantitation of aminosaccharins in sodium saccharin produced by the Maumee process. Fd. Chem. Toxicol., in press.

REITZ, R.H., FOX, T.R., QUAST, J.F., EMERSON, J., LEWKOWSKI, J., & STANLEY, J. (1983) Food consumption patterns and effects of saccharin upon urinary bladder tissue in very young rats. Unpublished report, Dow Chemical, U.S.A.

REITZ, R.H. & MENDRALA, A.L. (1983) Evaluation of sodium saccharin and 1-naphthalene sulfonic acid in the rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay. Unpublished report, Dow Chemical, U.S.A.

RENWICK, A.G. & SIMS, J. (1983) Distension of the urinary bladder in rats fed saccharin containing diet. Cancer Letts., 18: 63.

RIGGIN, R.M. & KINZER, G.W. (1983) Characterization of impurities in commercial lots of sodium saccharin produced by the Sherwin-Williams process 1. Chemistry. Fd. Chem. Toxicol., 21: 1.

SCHOENIG, G.P. & ANDERSON, R.L. (1983) The effect of high dietary levels of sodium saccharin on selected physiological parameters in rats. Unpublished report.

SHIBATA, S., GOLDSTEIN, I.J., & KIRKLAND, J.J. (1983) Structure of a water-insoluble D-glucan isolated from a Streptococcal organism. Carbohydrate res., 120: 77.

SIMS, J. & RENWICK, A.G. (1983a) Unpublished observations cited by Renwick, A.G. (1983) Saccharin and tryptophan metabolism. Paper presented at the Expert Review Panel Meeting, Duke University, 4th-6th May, 1983.

SWEATMAN, T.W. & RENWICK, A.G. (1980) The tissue distribution and pharmacokinetics of saccharin in the rat. Toxicol. appl. Pharmacol., 55: 18.

SWEATMAN, T.W., RENWICK, A.G., & BURGERS, C.D. (1981) The pharmacokinetics of saccharin in man. Xenobiotica, 11: 531.

SWEATMAN, T.W. & RENWICK, A.G. (1982) Tissue levels of saccharin in the rat during two-generation feeding studies. Toxicol. appl. Pharmacol., 62: 465.

TSING, M.T. (1983) Final report on the preliminary autoradiographic evaluation of the urinary bladder from saccharin treated rats. Unpublished report.

TSUDA, H., FUKUSHIMA, S., IMAIDA, K., KURATA, Y., & ITO, N. (1983) Organ-specific promoting effect of Phenobarbital and Saccharin in induction of thyroid, liver and urinary bladder tumours in rats after initiation with N-nitrosomethylurea. Cancer Res., 43: 3292.

WEST, R.W. & JACKSON, D.C. (1981) Saccharin effects on the urinary physiology and urothelium of the rat when administered in diet or drinking water. Toxicol. Lett., 7: 409.

WALKER, A.M., DREYER, N.A., FRIEDLANDER, E., Loughlin, J., ROTHMAN,

左頁参照

K.J., & KOHN, H.I. (1982) An independent analysis of the National Cancer Institute Study on non-nutritive sweeteners and bladder cancer. Am. J. Pub. Hlth., 72: 376.

WESTLAND, J.A. & HELTON, E.D. (1983) Evaluation of sodium saccharin administered in dry and liquid diets in Rhesus monkeys. Unpublished report of the Primate Research Institute, New Mexico State University.

WOLF, E. & VOIGT, M. (1983) Determination of polar impurities in saccharin and saccharin sodium by HPLC. Fresenius Z. Anal. Chem., 315: 135.

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

SACCHARIN AND ITS SALTS

First draft prepared by
 Ms E. Vavasour
 Toxicological Evaluation Division
 Bureau of Chemical Safety, Food Directorate
 Health and Welfare Canada
 Ottawa, Ontario, Canada

1 EXPLANATION

Saccharin was evaluated by the Committee at its eleventh, eighteenth, twenty-first, twenty-fourth, twenty-sixth and twenty-eighth meetings (Annex 1, references 14, 35, 44, 53, 59, and 66). At the twenty-first meeting, the Committee changed the previously unconditional ADI of 5 mg/kg bw to a temporary ADI of 0-2.5 mg/kg bw and withdrew the conditional ADI of 0-15 mg/kg bw for dietetic purposes only. This decision was based primarily on results of animal studies which indicated that excessive and long-term ingestion of saccharin might represent a carcinogenic hazard. At the twenty-fourth and twenty-sixth meetings, the temporary ADI of 0-2.5 mg/kg bw was extended pending the completion of ongoing investigations, including a long-term feeding study in rats and a large-scale epidemiological study. At the twenty-eighth meeting, the results of a 2-generation feeding study in rats and epidemiological data were reviewed and the temporary ADI was again extended, pending the evaluation of further data on bladder histopathology from the 2-generation study and information to elucidate the mechanism by which the compound produced bladder tumours. These data, along with recent epidemiological studies, were reviewed at the present meeting, and are summarized in this monograph addendum.

2 BIOLOGICAL DATA

2.1 Biochemical aspects

2.1.1 Absorption, distribution, and excretion

The disposition of saccharin has been discussed in the previous monograph and monograph addendum. In addition, a good review of these aspects of saccharin is presented in Renwick (1985). The main features of saccharin disposition are presented here.

The disposition of saccharin is influenced by its acidic properties. With a pK_a of 2.2, saccharin exists predominantly in the un-ionized form in acidic media from which it is more readily absorbed. It is nearly completely ionized at physiological pH (in body fluids). Saccharin is more completely absorbed from the stomachs of species with low pH (guinea pig - pH 1.4; rabbit - pH 1.9) than from those with a higher pH (rat - pH 4.2) (Ball 1973; Minegishi et al. 1972). In the higher pH of the intestines, it is slowly absorbed, and rapidly eliminated in the urine. Following administration of a single oral dose of saccharin in rats and humans, peak plasma levels of saccharin were rapidly achieved (Sweatman and Renwick 1980; Sweatman et al. 1981). However, clearance of saccharin from the plasma was prolonged. Intravenous administration results in rapid elimination of saccharin in the rat

SACCHARIN AND ITS SALTS

First draft prepared by

Ms. E. Vavasour

Toxicological Evaluation division

Bureau of Chemical Safety, Food Directorate

Health and Welfare Canada

Ottawa, Ontario, Canada

1. 解説

サッカリンは第11、18、21、24、26と28回会議で評価された。(Annex 1, references 14, 35, 44, 53, 59, and 66) 第21回会議で、以前の無条件 ADI 5 mg/kg bw を暫定的 ADI 0-2.5 mg/kg に変更し、食事目的のみの 0-15 mg/kg ADI を委員会は取り消した。この決定は主に過大な長期のサッカリン摂取は発癌性危険があるかもしれないと指摘された動物研究結果を基礎にした。第24回と第26回会議で、ネズミの長期食餌研究と大規模な疫学的研究を取り入れた現在行われている調査の完成途中で、暫定的 ADI 0-2.5 mg/kg が計算された。第28回会議で、ネズミの2世代食餌研究結果と疫学的データが再考されて、化合物が膀胱腫瘍を生じさせたメカニズムを解明する為に、2世代研究の膀胱組織病理に関する更に進んだデータ評価の途中で暫定的 ADI が再び計算された。これらのデータは最近の疫学的研究に沿って、現会議で再考された、そして、この研究論文付録に要約されている。

2. 生物学的データ

2.1 生化学的側面

2.1.1 吸収、分布と排出

サッカリンの素質は前研究論文と研究論文付録に述べられている。更に、サッカリンのこれらの側面に関した良い総覧が Renwick (1985) に載っている。サッカリン素質の主な特色がここに載っている。

サッカリンの素質はその酸性特性によって影響される。pK_a 2.2 を伴い、サッカリンが、より容易に吸収される酸性媒質の脱イオン化形態で主にサッカリンは存在する。サッカリンは生理学的 pH (体内液) でほとんど完全にイオン化される。より高い pH の動物 (ネズミ pH 4.2) よりも、より低い pH (モルモット pH 1.4 ; ウサギ pH 1.9) の種の胃に、より完全に吸収される。(Ball 1973; Minegishi 他、1972) 腸内のより高い pH でサッカリンはゆっくり吸収され、尿内に急速に排出される。ネズミと人間にサッカリン単一経口投与摂取後、サッカリン血漿最高濃度は急速に達した。(Sweatman and Renwick 1980; Sweatman 他、1981) 然しながら、血漿内サッカリン清掃は時間が掛かった。静脈

投与はネズミと人間のサッカリンの急速な排出の結果になる。結果として、経口投与後の時間の掛かる血漿清掃値は腸のゆっくりで不完全な吸収に起因した。胃内食物の存在が動物(Matthews

and human. Consequently, prolonged plasma clearance following oral administration was attributed to slow and incomplete absorption from the intestines. The presence of food in the gut was associated with a reduced initial peak plasma concentration in animals (Matthews *et al.* 1973; Sweatman and Renwick 1980) and in man (Sweatman *et al.* 1981).

The extent of faecal excretion has been used as an indicator of unabsorbed saccharin following an oral dose. On the basis of results from studies of i.v. administration, only a very small percentage of absorbed saccharin appears in the faeces. Measurement of the extent of faecal excretion of orally administered saccharin indicated that gastrointestinal absorption was incomplete and variable in the rat, with the percentage of the administered dose recovered in the faeces ranging from 3-39% (Renwick 1985). For the most part, higher doses were associated with higher faecal concentrations of saccharin. In humans, 1-8% was recovered in the faeces following doses of 2 g/person (Sweatman *et al.* 1981).

Urinary excretion has also been used as a measure of gastrointestinal absorption since it is the main route of excretion for absorbed saccharin and since saccharin does not undergo detectable biotransformation. In rat feeding studies in which saccharin and its salts were incorporated into commercial rat chow at levels of 5 or 7.5%, approximately equal amounts of ingested saccharin were excreted in the urine and faeces (Anderson *et al.*

1987b; Fisher *et al.* 1989). By contrast, the administration of the same level of sodium saccharin in a semi-purified diet (AIN-76A) resulted in the urinary excretion of 10-20 times more saccharin compared with the faeces, indicating that absorption from the GI tract had been more extensive (Fisher *et al.* 1989).

The gastrointestinal absorption of orally-administered saccharin in man was 85% based on urinary excretion and area under plasma concentration-time curves (Sweatman *et al.* 1981). Almost 80% of the daily dose was recovered in the urine of human volunteers receiving 1 g of saccharin (as the sodium salt)/day for 4 weeks (Roberts and Renwick 1985).

Saccharin was found to bind reversibly to plasma proteins (Renwick 1985). The extent of binding showed a wide range: 3%, 24-35% and 69-86% in the rat and 70-80% in man. Following a single oral dose to adult rats, saccharin was found to be distributed to most organs with the highest concentrations in the organs of elimination (kidney and bladder) followed by the plasma (Matthews *et al.* 1973; Lethco and Wallace 1975; Ball *et al.* 1977; Sweatman and Renwick 1980). The steady-state concentrations of saccharin in adult male rats fed 1-10% saccharin in the diet were consistent with the observations from these single-dose studies. There is no evidence of bioaccumulation of saccharin in any tissue. Placental transfer of saccharin to the fetus has been observed in rats (Ball *et al.* 1977), monkeys (Pitkin *et al.* 1971) and humans (Cohen-Addad *et al.* 1986).

As indicated above, the urine is the principal route of elimination for saccharin after both oral and parenteral dosing. Renal tubular secretion is the major mechanism of elimination in both rats and humans as indicated by the reduction in plasma clearance of saccharin when administered with probenecid, an inhibitor of the renal tubular secretion of anions. Glomerular filtration is not considered to be as important a mechanism due to the high degree of plasma protein binding of saccharin. Renal tubular secretion is a saturable process and plasma concentrations

他、1973; Sweatman and Renwick 1980)と人間(Sweatman 他、1981)の最初の最高血漿濃度減少に関連した。

経口投与後の無吸収サッカリンの指標として便排出の量が使われている。静脈投与研究の結果を基礎にすると、サッカリン吸収の非常に少ないパーセントだけが便中に現れる。胃腸内吸収は摂取投与の3-39%の範囲で回収されて、胃腸内吸収はネズミに不完全で色々だったとサッカリン経口投与の便排出量測定が示した。(Renwick 1985) ほとんどの場合に、より高い投与はより高い便中サッカリン濃度に関連した。人間では、2 g/person 投与後、便中に1-8%が回収された。(Sweatman 他、1981)

尿排出は吸収されたサッカリンの主な排出手段であるし、サッカリンが生体内変化から検出できないので尿排出は胃腸内吸収算定基準として使われてもいる。サッカリンとその塩化物がネズミの市販用食物に5か7.5%濃度で混合されたネズミの食餌研究では、摂取されたサッカリンのおおよそ等しい量が尿中と便中に排出された。(Anderson 他、1987b; Fisher 他、1989) 対照して見ると、胃腸管の吸収がより多量であった事を示して、半精製食餌(AIN-76A)でサッカリンナトリウム同等濃度投与は便と比較して10-20倍の量のサッカリンが尿排出中にある結果になった。(Roberts and Renwick 1985)

サッカリンは血漿蛋白質と可逆結合すると分かった。(Renwick 1985) 結合度は広い範囲を示した: ネズミで3%、24-35%と69-86%及び、人間で70-80%。成熟したネズミの単一経口投与後、血漿から生じる排出の器官(腎臓と膀胱)の最高濃度でほとんどの器官にサッカリンが分散されると分かった。(Matthews 他、1973; Letcho and Wallace 1975; Ball 他、1977; Sweatman and Renwick 1980) 成熟した雄ネズミの1-10%サッカリン食餌の定常状態サッカリン濃度はこれらの単一投与研究の観察と一致した。組織には少しも生体内蓄積の徴候はなかった。胎児へのサッカリン胎盤転移がネズミ(Ball 他、1977)、サル(Pitkin 他、1971)と人間(Cohen-Addad 他、1986)で観察されている。

上記に示されている様に、尿は経口投与と腸管外投与後のサッカリンの主な排出手段である。腎尿細管陰イオン分泌の阻害剤であるプロベネシッドを投与された時、サッカリンの血漿清掃値の減数によって示される様に腎尿細管分泌はネズミと人間の排出の主なメカニズムである。腎糸球体濾過はサッカリンの血漿蛋白質高度結合のメカニズムと同様に重要であるとは考えられてない。腎尿細管分泌は飽和可能な作用である、そして、200 μ g/ml以上のサッカリン血漿濃度はネズミの飽和度と関連している。(Sweatman and Renwick 1980) 5%濃度以上のサッカリン食餌は腎内清掃値減少によって血漿と組織中のサッカリン蓄積を伴う結果となった。然しながら、最高血漿濃度40 μ g/mlになった人間の2 g 経口投与後、腎清掃値は検出されなかった。(Sweatman 他、1981)

of saccharin greater than 200 µg/ml have been associated with saturation in the rat (Sweatman and Renwick 1980). Dietary levels of saccharin exceeding 5% resulted in accumulation of saccharin in the plasma and tissues due to decreased renal clearance. However, decreased renal clearance was not detected following administration of an oral dose of 2 g in humans which produced a peak plasma concentration of 40 µg/ml (Sweatman et al. 1981).

2.1.2 Biotransformation

The consensus of the most recently conducted research in a number of experimental species or humans is that saccharin is not metabolized (Renwick 1985). In addition, radiolabelled saccharin did not bind to the DNA of the liver or bladder of rats *in vivo*

(Lutz and Schlatter 1977), indicating that saccharin was not metabolized to an electrophilic compound.

2.1.3 Effects on enzymes and other biochemical parameters

The high concentrations of sodium saccharin in the lumen of the gastrointestinal tract due to dietary administration of sodium saccharin resulted in the decreased activity of a number of digestive enzymes of the pancreas and intestines. Saccharin is an inhibitor of urease and proteases *in vitro* (Lok et al. 1982) and feeding saccharin in the diet causes accumulation of protein and tryptophan and its metabolites in the caecum (Sims and Renwick 1985).

Saccharin also led to the inhibition of carbohydrate digestion which resulted in the faecal elimination of polysaccharides. The *in vitro* activities of amylase, sucrase and isomaltase were inhibited by the presence of saccharin (Renwick 1989).

Feeding male rats a diet containing 5% sodium saccharin for 14 days did not result in induction of hepatic cytochrome P-450 (Hasegawa et al. 1984).

The administration of 7.5% sodium saccharin to rats in both 1- and 2-generation feeding studies had no effect on hepatic concentrations of cytochrome P-450, cytochrome b5, cytochrome P-450 reductase, arylhydrocarbon hydroxylase activity or glutathione content per mg protein. Hepatic dimethylnitrosamine-N-demethylase activity was increased in both neonatal and adult male and female rats fed a high dietary concentration of sodium saccharin (Heaton and Renwick 1991a).

Sulfate conjugation of phenol *in vivo* was reduced in both male and female rats fed a 7.5% sodium saccharin diet in a 2-generation protocol. The maximum effect was detected in neonatal animals at 5 weeks of age. Dietary supplementation with cysteine restored sulfate conjugation, indicating that the effect was caused by poor availability of sulfur-containing amino acids rather than inhibition of the sulfotransferase enzyme (Heaton and Renwick 1991b).

2.2 Toxicological Studies

2.2.1 Long-term toxicity/carcinogenicity studies

There have been no additional 2-generation carcinogenicity studies on saccharin since the IRDC study which was available as unpublished data at the twenty-eighth meeting in 1984. The data for this study have been published (Schoenig et al. 1985). The tumour

2. 1. 2 生体内変化

幾つかの種と人間実験で最近行われた調査の大多数の意見として、サッカリンは代謝しないという事である。加えて、サッカリンが求電子性の化合物に代謝されなかった事が示す様に、同位元素標識付けしたサッカリンが試験管内実験でネズミの肝臓と膀胱の DNA に結合しなかった。(Lutz and Schlatter 1977)

2. 1. 3 酵素と他の生化学パラメーターの影響

サッカリンナトリウム食餌による胃腸管腔中のサッカリンナトリウム高濃度は脾臓と腸中の幾つかの消化酵素の活性を減少させる結果となった。サッカリンは試験管内実験(Lok 他、1982)でウレアーゼとプロテアーゼの阻害剤である、そして、サッカリン食餌は蛋白質とトリプトファンと盲腸内のサッカリンの代謝産物の蓄積原因になる。(Sims and Renwick 1985)

多糖類の便排出を起す炭水化物消化をサッカリンも抑制誘導する。試験管内実験のアミラーゼ、スクラーゼとイソマルターゼはサッカリンの存在によって阻害された。(Renwick 1989)

14日間、5%サッカリンナトリウム食餌の雄ネズミは肝臓チトクロームの誘導を起さなかった。(Hasegawa 他、1984)

1世代と2世代食餌研究のネズミの7. 5%サッカリンナトリウム投与ではチトクローム P-450、チトクローム b5、チトクローム P-450還元酵素、アリル炭化水素水酸化酵素活性や毎mg蛋白質グルタチオン内容物の肝臓濃度に影響が無かった。肝臓ジメチルニトロソアミン-N-ジメチラーゼ活性はサッカリンナトリウム食餌高濃度を与えられた新生児と成熟した雌雄のネズミで増加した。(Heaton and Renwick 1991a)

2世代プロトコルで行われた雌雄のネズミの7. 5%サッカリンナトリウム食餌による生体内実験でしたフェノールの硫酸塩抱合は減少した。最高度影響は5週間齢の新生児動物に検出された。システインを含む食物補充が硫酸塩抱合を回復させた、そして、この影響はスルフトランスフェラーゼ酵素の阻害による原因よりも、むしろ、硫黄含有のアミノ酸の不十分な利用が原因であると示した。(Heaton and Renwick 1991b)

2. 2 毒物学的研究

2. 2. 1 長期毒性/発癌性研究

1984年の第28回会議時に未出版データとして入手可能だった IRDC 研究以来、サッカリンの2世代発癌性追加研究はされてないでいる。この研究に関するデータは出版されている。(Schoenig 他、1985) 3%サッカリンナトリウム食餌の合計腫瘍発生率が1.7%であり、当時、報告された1.6%でなかったという例外を除いて、F₁雄ネズミの膀胱腫瘍発生率は前回の研究論文付録(Annex 1, reference 67)に報告されたものと同じである。限界値投与反応モデル適用データは3%に近い限界値を出したけれども、無観察影響濃度はこの食餌で1%だった。(Carlborg 1985)

incidence data for the urinary bladder of F₁ male rats were the same as those reported in the previous monograph addendum (Annex 1, reference 67) with the exception that the incidence of total tumours at 3% sodium saccharin in the diet was 1.7%, not 1.6% as then reported. The no-observed effect level was 1% in the diet, although the application of a threshold dose-response model to the data suggested a threshold close to 3% (Carlborg 1985).

The bladder histology studies have been re-evaluated under blind conditions with the result that higher incidences of papillomas and carcinomas were reported in both the control and lower treatment groups and the apparent increases in transitional cell carcinomas and combined neoplasms in the 3% group were found to be not statistically significant ($p=0.25$ and 0.41 , respectively). The blind reevaluation confirmed that the 1% dietary level of sodium saccharin had no carcinogenic nor proliferative effect on the bladder epithelium (Squire 1985).

Although no new 2-generation study has been reported in rats or other species, studies on promotion of bladder carcinogenicity used control groups in which the animals received 5% sodium, calcium and acid saccharin in the diet without treatment with an initiator. After 2 years or 72 weeks, respectively, of feeding with sodium saccharin, the incidence of simple hyperplasia was higher than that in untreated controls. The incidence of papillomas and carcinomas of the bladder was comparable in the sodium-saccharin-treated groups and untreated controls (Hasegawa *et al.* 1985; Cohen *et al.* 1991).

Nodular hyperplasia but no papillomas or carcinomas were detected in the bladder epithelium of male rats given 5% sodium saccharin in the diet for a period of 112 weeks, starting at 7 weeks of age (Hibino *et al.* 1985).

2.2.2 Special studies on promoting activity

The promotion of known bladder carcinogens by high dietary concentrations of sodium saccharin has been detected only in rats (Fukushima *et al.* 1983a). Administration of 5% sodium saccharin in the diet does not increase the incidence of bladder tumours in mice initiated with 2-acetylaminofluorene (Frederick *et al.* 1989).

High dietary concentrations of sodium saccharin (5.0% of the diet or 2.0 g/kg bw/dy from drinking water) promoted the effects of known bladder carcinogens such as methyl-N-nitrosourea (MNU) (Hicks *et al.* 1973), N-[4-(5-nitro-2-furyl)-thiazolyl]formamide (FANFT) (Cohen *et al.* 1979), N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) (Nakanishi *et al.* 1980b) and 2-acetylaminofluorene (AAF) (Nakanishi *et al.* 1982). Feeding rats with high concentrations of sodium saccharin following an insult such as freeze ulceration causes increases in nodular hyperplasia (Murasaki and Cohen 1983) and in bladder tumours (Hasegawa *et al.* 1985). Promotion of the effect of bladder carcinogens is not sex-specific and has been

reported in both male (Cohen *et al.* 1979) and female (Hicks *et al.* 1978) rats. The sex specificity of promoting activity has been studied in male and female F344 rats given BBN as an initiator and up to 5% sodium saccharin as the promoter. Papillomas and carcinomas were not detected, but both sexes showed a similar dose-response for sodium saccharin-related simple hyperplasia and papillary or nodular hyperplasia (Nakanishi *et al.* 1980a).

Administration of a diet containing 5% sodium saccharin to rats

乳頭腫と癌腫の、より高い発生率が対照区と、より低処理グループ両方に報告された結果を伴う盲目式条件の下で膀胱病理研究は再評価されている、そして、転位性細胞癌腫と3%グループの合計の新生物は統計的に重要(各 $P=0.25$ and 0.41) でないと分かった。1%サッカリンナトリウム濃度食餌は発癌性が無いし、膀胱上皮上に増殖影響も無いと盲目式再評価が追認した。

ネズミや他の種で新しい2世代研究は報告されてないけれども、膀胱発癌性促進に関する研究には起爆薬処理を伴わない食餌で動物の5%ナトリウム、カルシウムとサッカリン酸摂取対照グループを使った。それぞれ、2年か72週間のサッカリンナトリウム食餌後、単純増生発生率は無処理対照区よりも高かった。膀胱内の乳頭腫と癌腫の発生率はサッカリンナトリウム処理グループと無処理対照区で同等だった。(Hasegawa 他、1985; Cohen 他、1991)

7週間齢から始めた112週間5%サッカリンナトリウム食餌のネズミの膀胱上皮に、乳頭腫以外の結節性増生か癌腫が検出された。(Hibino 他、1985)

2. 2. 2 促進活動の特別研究

サッカリンナトリウムの高濃度食餌による、既知の膀胱発癌性物質の促進性がネズミにだけ検出されている。(Fukushima 他、1983a) 5%サッカリンナトリウム食餌は2-アセチルアミノフルオレンで起爆されたハツカネズミの膀胱腫瘍発生率を増加させなかった。(Frederick 他、1989)

サッカリンナトリウム(5.0%食餌か2.0 g/kg bw/dy 飲料水)の食餌高濃度はメチル-N-ニトロソ尿素(MNU)(Hicks 他、1973)、N-[4-(5-ニトロ-2-フリル)-チアゾイル]ホルムアミド(FANFT)(Cohen 他、1979)、N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(BBN)(Nakanishi 他、1980b)と2-アセチルアミノフルオレン(AAF)(Nakanishi 他、1982)のような既知の膀胱発癌性物質による影響を促進した。サッカリンナトリウム高濃度のネズミの食餌は結節性増生(Murasaki and Cohen 1983)の増加と膀胱腫瘍(Hasegawa 他、1985)の増加の原因になった。膀胱発癌性物質の影響促進は特に性別に関係なく、ネズミの雄(Cohen 他、1979)と雌(Hicks 他、1979)の両方で報告されている。起爆剤としてのBBNと促進剤としての5%サッカリンナトリウムを与えられた雌雄のF344ネズミで促進活動性別特異性が研究されている。乳頭腫や癌腫は検出されなかった、しかし、サッカリンナトリウムに関係した単純増生と乳頭性か結節性増生に関して同じ投与反応を両性が見せた。(Nakanishi 他、1980a)

ネズミの5%サッカリンナトリウム食餌投与は膀胱内のDNA合成を増加させた、しかし、肝臓内や前胃内では増加しなかった。この投与は上記の器官(Tatematsu 他、1986)でオルニチンデカルボキシラーゼ活動(腫瘍促進分子指標)に影響しなかった。色々な構造の数種の促進剤によって尿路上皮内のDNA合成の増加が起きた。(Shibata 他、1989c)

increased DNA synthesis in the urinary bladder, but not in liver or forestomach. It did not affect ornithine decarboxylase activity (a molecular marker of tumour promotion) in these organs (Tatematsu et al. 1986). An increase in DNA synthesis in the urothelium is produced by a number of promoters of diverse structure (Shibata et al. 1989c).

Transitional cell carcinomas of the urinary bladder in rats initiated with FANFT treatment for 4 or 6 weeks followed by long-term treatment with sodium saccharin or other promoters have been analyzed for the presence of H-ras gene activation. There was evidence of increased expression of the ras gene product, p21, in transitional cell carcinomas and of H-ras gene mutations. The compounds used in the promoting phase had essentially no effect on H-ras mutation, and the authors concluded that the effects observed were due to the FANFT initiation phase (Masui et al. 1990, 1991).

Proto-oncogenes may contribute to the development of malignancy when their structure or expression is altered, and ras gene activation in particular has been demonstrated in 5-17% of human urinary tract tumours (Fujita et al. 1984, 1985). Similar activation of the ras gene has been demonstrated in animals treated with the bladder carcinogens BBN and FANFT (Jones and Wang 1989; Sawczuk et al. 1987). The expression of ras p21 has been studied using immunohistochemical techniques in normal urothelium as well as in urothelial lesions in rats from long-term promotion studies using FANFT. Immunoreactivity with ras p21 antibody was demonstrated in urinary bladder lesions of more than 50% of rats treated with FANFT alone or FANFT followed by sodium saccharin (0.2 or 5.0% in the diet). Immunoreactivity to ras p21 was not observed in rats treated with sodium saccharin alone. More recent studies by the same authors have confirmed the mutational activity of the H-ras gene in rat urinary bladders induced by FANFT and the lack of any effect of sodium ascorbate or sodium saccharin on this activation (Masui et al. 1990, 1991).

2.2.3 Special studies on genotoxicity

The results of genotoxicity studies with saccharin are summarized in Table 1. Genotoxicity studies with saccharin.

Test System	Test Object	Concentration of saccharin
Cell mutation/ouabain resistance	Human RSa cells	10 - 22.5 mg/ml
In vitro chromosomal aberration	Chinese hamster lung fibroblasts	8 - 16 mg/ml
In vivo chromosomal aberration	ICR/Swiss male mice	0, 0.5, 1.0 and 1.5 g/kg bw/day, p.o. for 24 weeks
Dominant lethal	ICR/Swiss male and female mice	0, 1 and 2 g/kg bw/12 h x 5, p.o.

サッカリンナトリウムや他の促進剤で長期処理後、4 か 6 週間 FANFT 処理で起爆されたネズミの膀胱内転位性細胞癌腫は H-ras 遺伝子活性化の存在として分析されている。転位性細胞癌腫中に Ras 遺伝子産物、p 2 1 の増加発現形跡と H-ras 遺伝子突然変異の増加発現形跡があった。促進段階に使われた化合物は基本的に H-ras 突然変異に影響なかった、そして、観察された影響は FANFT 起爆段階によるものだと著者達は結論付けた。(Masui 他、1990, 1991)

原腫瘍形成遺伝子の構造や発現が変えられた時、それらの遺伝子は悪性腫瘍に発展する一助となるかもしれない、そして、特別な ras 遺伝子活性化が 5 - 17 % の人間の尿路腫瘍で立証されている。(Fujita 他、1984, 1985) ras 遺伝子の同様な活性化が膀胱発癌性物質 BBN と FANFT で処理された動物で立証されている。(Jones and Wang 1989; Sawczuk 他、1987) 正常尿路上皮で免疫組織化学技術を使ったり、FANFT を使った長期促進研究でネズミの尿路上皮病変を使ったりして、ras p 2 1 の発現が研究されている。FANFT だけで処理されたネズミや、サッカリンナトリウム (0.2 か 5.0 % 食餌) 使用後に FANFT で処理されたネズミの 50 % 以上で膀胱病変中に ras p 2 1 抗体を伴う免疫反応性が立証された。サッカリンナトリウムだけで処理したネズミでは ras p 2 1 に反応する免疫反応性は観察されなかった。この活性化でアスコルビン酸ナトリウムかサッカリンナトリウムの影響無しに FANFT で誘導されたネズミの膀胱内の H-ras 遺伝子の突然変異活性化を同著者による、より最近の研究で確認されている。(Masui 他、1990, 1991)

2. 2. 3 遺伝子毒性の特別研究

サッカリンに関する遺伝子毒性研究の結果は表に要約されている。

表 1. サッカリンに関する遺伝子毒物研究

試験方法	試験対象	サッカリン濃度
細胞突然変異/ ウーアバイン耐性	人間 RSa 細胞	10 - 22.5 mg/ml
試験管内染色体異常型	チャイニーズハムスター 肺繊維芽細胞	8 - 16 mg/ml
生体内染色体異常	ICR/スイス雄ハツカネズミ	0, 0.5, 1.0 & 1.5 g/kg bw/day, p.o. 24 週間
優性致死	ICR/スイス雌雄ハツカネズミ	0.1 & 2 g/kg bw/12 h x 5, p.o.

A review by Ashby (1985) presents evidence that the positive results obtained in genotoxicity studies with saccharin, mostly showing clastogenicity, probably do not involve covalent interaction of saccharin with nuclear DNA, but are more probably the result of ionic imbalances at the high concentrations used in the assays. The low systemic toxicity of saccharin to mammals and their constituent cells in culture has allowed the use of exceptionally high dose levels in genotoxicity assays. It was concluded that the structural disturbances of eukaryotic cells *in vitro* and very weak intermittent activity *in vivo* were equivalent to and comparable to the genotoxic profile for sodium chloride.

The different salts of saccharin (at 8-16 mg/ml) showed equal clastogenic activity in Chinese hamster lung cells (Ashby and Ishidate 1986), indicating that both ionic and osmotic changes to the medium may be critical determinants of the observed clastogenic effects. Mutagenicity and/or chromosome aberrations due to sodium chloride at high concentrations have been demonstrated recently using mouse lymphoma cells (Brusick 1986; Moore and Brock 1988) and *Saccharomyces cerevisiae* (Parker and von Borstel 1987). Sodium chloride was included as a control in a study on human R5a cells and gave a small non-significant increase at a concentration equivalent to the high concentration of sodium saccharin (0.11M) (Suzuki & Suzuki 1988). However, the results of this study are difficult to interpret because the prolonged exposure to high concentration of sodium ion and chloride ion may have affected Na_+/K_+ -ATPase activity, and sodium and chloride channels, thereby altering intracellular sodium concentration and sensitivity to ouabain.

Positive results have also been reported in 2 recent studies in which mice were dosed with solutions prepared by dissolving commercial saccharin tablets in water (no information was given on the salt form, purity or the excipients present). In one study, a dose-related increase in the incidence of chromosomal abnormalities in bone marrow and meiotic cells (not specified) was reported (Prasad and Rai 1987). This finding contrasts with a report that administration of saccharin at 20 g/L (salt not specified) in drinking water for 100 days affected neither bone marrow cells nor dividing spermatocytes (Leonard and Leonard 1979).

The second study using commercial saccharin tablets involved a dominant lethal test. An increased incidence of dead implants was reported in the females mated with saccharin-treated male mice (Prasad and Rai 1986).

A positive dominant lethal test had been reported previously in a study in which mice were treated with a 1.72% solution of sodium saccharin, again prepared by the dissolution of commercial saccharin tablets manufactured in India and administered as drinking water (Sanjeeva Rao and Qureshi 1972).

In contrast to these studies, pure sodium saccharin has been shown to be negative in dominant lethal studies using male mice treated at 5 g/kg/day for 5 days (Machemer and Lorke 1973); using male and female mice treated at 2 g/kg/day for 10 weeks (Lorke and Machemer 1975); and using male mice given either a single intraperitoneal injection (2 g/kg) or 2% saccharin in the drinking water for 100 days (Leonard and Leonard 1979). The positive findings also conflict with the negative data from multi-generation

サッカリン遺伝子毒物性研究で得られたサッカリン影響肯定的結果が、ほとんど染色体異常誘発性を示して、おそらく、DNA 核とサッカリンの電子体共有相互作用を含まない事と、しかし、より多分に、分析に使われた高濃度でのイオン不均衡の結果であるという証拠を Ashby (1985) による総覧は示している。哺乳動物へのサッカリンの低全身性毒性と培養組織中の動物の組成細胞は遺伝子毒物性分析で例外的に高い投与使用を認めている。試験管内実験の真核生物の構造的障害と生体内の非常に弱い周期的活性は塩化ナトリウムの遺伝子毒性要素に相当すると結論付けられた。

サッカリン (8-16 mg/ml) の異なる塩化物はチャイニーズハムスターの肺細胞で同等の分裂遺伝性活動を見せた、そして、媒質のイオン変化とオスモル濃度変化は観察された染色体異常誘発性影響の重大な決定要素かもしれないと示した。ハツカネズミのリンパ腫細胞 (Brusick 1986; Moore and Brock 1988) と麦酒酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* (Parker and von Borstel 1987) を使って、突然変異性と塩化ナトリウム高濃度原因の異常型が立証されている。塩化ナトリウムが人間の RSa 細胞の研究対照に含まれた、そして、サッカリンナトリウム高濃度に等しい濃度の塩化ナトリウム (0.11M) は少しも重要な増加を見せなかった。(Suzuki & Suzuki 1988) 然しながら、この研究の結果を解明する事は難しい、何故なら、ナトリウムと塩化イオンの高濃度長期曝露は Na^+/k^+ -アデノシン三リン酸分解酵素活性に影響したかもしれないし、その結果ナトリウムイオンチャンネルと塩化イオンチャンネルが細胞内ナトリウム濃度とウーアバイン感度を変えているからである。

ハツカネズミが市販用サッカリン錠 (塩化物型、純度や補形薬存在の情報無し) を水に溶かした溶剤で投与された2件の研究でサッカリン影響肯定的結果も報告されている。1件の研究で、骨髓と減数分裂細胞 (特に指定無) の投与依存による染色体異常発生の増加が報告された。(Prasad and Rai 1987) 100日間の20 g/L サッカリン (塩化物指定無) 飲料水投与が骨髓細胞や分裂している精母細胞に影響が無かったという報告とこの調査結果は相反している。(Leonard and Leonard 1979)

市販用サッカリン錠を使った2番目の研究は優勢致死試験を取り入れた。サッカリン処理された雄のハツカネズミと交配された雌のハツカネズミで移植組織の死亡発生率増加が報告された。(Prasad and Rai 1986)

ハツカネズミの1.72%サッカリンナトリウム溶剤処理研究でサッカリン影響肯定的優性致死試験が前に報告されていた、又、このサッカリンナトリウム溶液はインドで生産された市販用サッカリン錠で溶解され、飲料水として用意された。(Sanjeeva Rao and Qureshi 1972)

これらの研究とは対照的に、5日間、5 g/kg/day 処理された雄ハツカネズミを使った研究 (Machemer and Lorke 1973); 10日間、2 g/kg/day 処理された雌雄のハツカネズミを使った研究と、単一静脈注射 (2 g/kg) が100日間、2%サッカリン飲料水のどちらかを与えられた雄ハツカネズミを使った研究 (Leonard and Leonard 1979) の優勢致死試験はサッカリン影響否定的であると純性サッカリンナトリウムが示している。サッカリン影響肯定的調査結果もハツカネズミの多世代食餌研究の否定的データと相反している。

feeding studies in mice (Kroes et al. 1977).

2.2.4 Special studies on cell transformation

Malignant transformation of cultured human foreskin fibroblasts occurred when the cells were exposed to a non-toxic concentration of sodium saccharin (50 $\mu\text{g/ml}$) after being released from the G_1 phase, followed by exposure to either N-ethyl or N-methylnitrosourea. The combination of nitrosourea and saccharin was necessary for the observation of transformation (Milo et al. 1988).

Prolonged exposure (up to 89 days) to sodium saccharin (6 or 12 mM; approximately 1-2 mg/ml) caused hyperplastic and other abnormal cellular changes in cultures of bladder epithelial cells from female rats (Knowles et al. 1986). A subsequent study (Knowles and Jani 1986) showed that treatment of the culture with N-methylnitrosourea (MNU) resulted in the appearance of preneoplastic epithelial foci and that treatment with sodium saccharin (12 mM) following a low dose of MNU (25 $\mu\text{g/ml}$) resulted in a very small but apparently significant increase in such foci. The incidences of such lesions were 0/896 for MNU alone and 3/1096 for MNU followed by saccharin. The parameters for determining significance were not indicated. No concurrent controls were run for this experiment and the incidence in controls from a different experiment run in the same series was 6/863. In contrast to the foci produced by high doses of MNU alone (250 $\mu\text{g/ml}$), none of the foci produced by MNU (25 $\mu\text{g/ml}$) followed by saccharin gave cell lines that were tumorigenic *in vivo*.

The combined effects of sodium saccharin with MNU on *in vitro* explants of female rat bladders were also studied. MNU alone exhibited severe and extensive cytotoxicity to both the urothelium and stroma, while sodium saccharin (0.5% in the medium) as well as sodium cyclamate and cyclophosphamide produced changes in the urothelium consistent only with hyperplasia, demonstrating globular and pleomorphic microvilli. Treatment with a low dose of MNU (100 $\mu\text{g/ml}$) after exposure to sodium saccharin (0.1 or 0.5% for 28 days) elicited more extensive abnormalities. On the basis of these *in vitro* data, the authors suggested that saccharin may have initiating activity in a multistage process, a conclusion which is at variance with the large body of information on the mechanism of action of saccharin (Norman et al., 1987).

Sodium saccharin (6 mM) did not produce proliferating epithelial foci in bladder explants from female rats but increased the numbers of foci in explants treated with MNU (50 or 100 $\mu\text{g/ml}$) prior to exposure to saccharin. Cultured cell lines from foci derived from explants treated with MNU alone and MNU + saccharin formed tumours when injected into mice (Nicholson and Jani 1988).

The urothelial transforming activity of sodium saccharin *in vitro* has been studied using epithelial cells derived from male rat bladders and treated with 2-amino-4-(5-nitro-furyl)thiazole (ANFT), a water-soluble metabolite of FANFT. Prolonged treatment with ANFT (1 $\mu\text{g/ml}$), but not sodium saccharin (25 $\mu\text{g/ml}$), transformed the cells *in vitro* as evidenced by morphological changes, the ability to grow on plastic, and tumorigenicity when injected into mice. Exposure to sodium saccharin and ANFT produced effects similar to ANFT alone, while urea (0.05%) may have enhanced the effects of ANFT. The absence of "promotion" in this study compared with those presented above may have arisen from the lower concentration of sodium saccharin employed (Mann et al. 1991).

2. 2. 4 細胞形質転換特別研究

N-エチルかN-メチルニトロソ尿素のどちらかの曝露後にG₁期から解放された後、サッカリンナトリウム(50 μ g/ml)の無毒性濃度に細胞が曝露された時に培養された人間包皮繊維芽細胞で悪性形質転換が起こった。ニトロソ尿素とサッカリンの組み合わせは形質転換の観察には必要条件だった。(Milo 他、1988)

サッカリンナトリウム(6か12 mM; 約1-2 mg/ml)の長期曝露は雌ネズミの膀胱上皮の培養組織の増生と異常細胞変化の原因となった。(Knowles 他、1986) N-メチルニトロソ尿素(MNU)は前癌状態上皮病巣出現を起したり、MNU(25 μ g/ml)低投与後のサッカリンナトリウム(12 mM)は非常に少ないが、明らかに、重要な病巣増加を起したりしたと次に行われた研究(Knowles and Jani 1986)が示した。その病巣発生率はMNUだけの時、0/896でサッカリン後MNUは3/1096だった。重要性を決定したパラメーターは示されなかった。同一の対照区はこの実験に使われなくて、同じシリーズに使われた異なる実験の対照区発生率は6/863だった。高投与MNU(250 μ g/ml)だけによって生じた病巣と対照的に、サッカリン後MNU(25 μ g/ml)によって生じた病巣は生体内実験腫瘍形成性細胞系を生じなかった。

雌ネズミの膀胱外植片の生体内実験でサッカリンナトリウムとMNUの複合影響も研究された。MNUだけがひどい拡張性の細胞毒性を尿路上皮と基質両方に現した、一方、サッカリンナトリウム(0.5%媒質)や同様なシクラメートナトリウムとシクロフォスファミドは球状で多型の微絨毛を見せた増生を伴うだけの一貫した尿路上皮の変化を引き起こした。サッカリンナトリウム(0.1か0.5%、28日間)曝露後のMNU(100 μ g/ml)の低投与処理はより拡張性異常を誘発した。これらの試験管内実験データを基礎にして、サッカリンは多くの段階的過程で、すなわち、サッカリン影響メカニズムに関して多くの情報で矛盾する結論を出す、活性開始性を持つかもしれないと著者は示唆した。(Norman 他、1987)

サッカリンナトリウム(6 mM)は雌ネズミの膀胱外植片に上皮病巣を増殖しなかったが、サッカリン曝露前にMNU(50か100 μ g/ml)処理した外植片病巣数を増加させた。MNUだけとハツカネズミに注入すると腫瘍を形成させたMNU+サッカリンを使って外植片から採った病巣の培養細胞系が処理された。(Nicholson and Jani 1988)

雄ネズミの膀胱から採った上皮細胞を使って、2-アミノ-4-(5-ニトロフリル)チアゾール(ANFT)、FANFT水溶性代謝産物で処理されたサッカリンナトリウム試験管内実験の尿路上皮形質転換活動が研究されている。ハツカネズミに注入した時に、組織形態変化、増殖能力と腫瘍形成として顕れた試験管内実験細胞をANFT(1 μ g/ml)長期処理は形質転換させたが、サッカリンナトリウム(25 μ g/ml)は形質転換させなかった。上記に述べられた研究と比較して、この研究における「促進物」の欠如が、使われたサッカリンナトリウムの低濃度から生じているのかもしれない。(Mann 他、1991)

A model of promotion of bladder carcinogenicity has been reported in which male Fischer 344 rats were given the bladder carcinogen BBN (0.05%) for 3 weeks, followed by the possible promoter for 9 weeks. At termination, the urinary bladders were removed, digested with collagenase and DNAase and the number of colonies able to grow on double soft agar was determined. Growth in double soft agar is considered indicative of transformation (Hamburger and Salmon 1977; Colburn et al. 1978). In this test system, 9 weeks of dietary administration of 5% sodium saccharin, 1% D-tryptophan, DL-, D-, or L-leucine and DL- or L-isoleucine all significantly increased the numbers of colonies growing *in vitro*. Dietary administration of 2% L-tryptophan did not significantly increase the numbers of colonies. Treatment of the rats with BBN for 6 weeks in the absence of a putative promoter resulted in a high yield of colonies (Hashimura et al 1987).

High concentrations of the sodium, potassium and calcium salts of saccharin (100-200 mM; equivalent to 18-36 mg/ml) are toxic to the AY27 line of transformed rat bladder epithelial cells. Comparable toxicity was shown by sodium ascorbate but not by sodium, potassium or calcium chlorides. The authors claim that these observations are of relevance because such high concentrations of sodium and saccharin are present in the urine of rats fed saccharin-containing diets. However, the intra-cellular concentration of the saccharin anion *in vivo* is much closer to that of plasma which is about 10-fold less than that in urine (Garland et al. 1989a).

2.2.5 Special studies on the effect of saccharin on urine composition and bladder epithelial proliferation

Statistically significant, dose-related changes in urinary parameters (increased Na⁺ concentration, increased urine volume and decreased osmolality) have been found to precede and to occur in association with tumour development in the urinary bladder of male rats. A large number of studies have been conducted to establish the effect of factors modifying these non-neoplastic responses on subsequent outcomes of the treatment on the bladder epithelium.

2.2.5.1 Salt form

Feeding different salts of saccharin (sodium, potassium, calcium and acid) for 10 weeks resulted in different effects on [³H]-thymidine labelling in the urinary bladder epithelium (Hasegawa & Cohen 1986). Dietary ingestion of the sodium salt resulted in the highest labelling index (0.6±0.2%), the potassium salt resulted in a weak, but significant, effect (0.2±0.1%), the calcium salt resulted in a questionable and non-significant effect (0.1±0.1%), while the acid form (0.07±0.04%) gave a result similar to controls (0.06±0.04%). In each of these cases, the bladder epithelium was exposed to similar concentrations of the saccharin anion in the urine. Dietary ingestion of the sodium and potassium salts of saccharin were associated with an increased urine volume and slightly higher urine pH (sodium salt only) compared with untreated controls, while a decrease in urine pH and no change in urine volume was found in the calcium and acid saccharin groups.

These findings were essentially confirmed in a subsequent study in which male rats were fed diets containing 200 µmol/g of the different salt forms (equivalent to 5% sodium saccharin) for 10 weeks. Simple hyperplasia of the bladder epithelium was noted in the rats ingesting the sodium and potassium salts, but not in those ingesting the calcium or free acid forms. The effect was independent of the total urinary saccharin or urinary concentration of saccharin (Anderson et al. 1988a).

雄の Fischer 344 ネズミが9週間の考えられる促進物投与後、3週間、膀胱発癌性物質 BBN (0.05%) を与えられた膀胱発癌性促進モデルが報告されている。終了時に、膀胱は採取され、コラーゲナーゼとデオキシリボヌクレアーゼで消化され、二重軟性寒天培養地上に増える集落数が測定された。二重軟性寒天培養地の増加が形質転換の指標と考えられた。(Hamburger and salmon 1977; Colburn 他、1978) この試験方法で、5%サッカリンナトリウム、1%D-トリプトファン、DL-、D-かL-ロイシンとDL-かL-イソロイシンの9週間食餌の全ての処理はかなり、試験管内実験の集落数を増加させた。2%L-トリプトファン食餌投与はあまり、集落数を増加させなかった。推定される促進物無しで6週間、BBN 投与のネズミ処理は集落数の高い収率になった。(Hashimura 他、1987)

サッカリン (100-200 mM; 18-36 mg/ml 相等) のナトリウム塩、カリウム塩とカルシウム塩の高濃度は形質転換されたネズミの膀胱上皮細胞の AY27 線に毒性がある。毒性はアスコルビン酸ナトリウムで比較できたが、塩化ナトリウム、塩化カリウムや塩化カルシウムでは出来なかった。著者はこれらの観察は関連性があると主張する、何故なら、高濃度のナトリウムとサッカリンがサッカリン食餌のネズミの尿内に存在するから。然しながら、生体内実験の細胞内サッカリン陰イオン濃度は尿内サッカリン陰イオン濃度よりも約10分の1の血漿内サッカリン陰イオン濃度に大変近い。(Garland 他、1989a)

2. 2. 5 尿組成と膀胱上皮増殖に関するサッカリン影響特別研究

尿パラメーターの統計的に重要である投与依存による変化 (Na^+ 濃度を増加させたり、尿量を増加させたり、オスモル濃度を減少させた) が雄ネズミの膀胱で腫瘍発生の兆候を見せたり、起こしする事が分かっている。膀胱上皮処理のこれらの非新生物増殖性のその後の発現に関する反応を加減する要素影響を確立する為に多数の研究が行われている。

2. 2. 5. 1 塩型

10週間、サッカリン (ナトリウム、カリウム、カルシウムと酸) の異なる塩の食餌は ^3H -チアミジン標識付けで異なる影響結果になった。(Hasegawa & Cohen 1986) ナトリウム食餌摂取は最高度標識付け指標 ($0.6 \pm 0.2\%$) の結果になり、カリウム塩は弱いがかなりの影響 ($0.2 \pm 0.1\%$) の結果になり、カルシウム塩は疑わしい無視できる影響 ($0.1 \pm 0.1\%$) の結果になった、一方、酸型 ($0.07 \pm 0.04\%$) は対照区 ($0.06 \pm 0.04\%$) と同様な結果になった。これらの各ケースで、尿中のサッカリン陰イオンの同等濃度で膀胱上皮が曝露された。サッカリンナトリウム塩とサッカリンカリウム塩の食餌摂取は無処理対照区と比較して増加尿量と僅かにより高い尿 pH (ナトリウム塩だけ) に関連があった、一方、尿 pH 減少と尿量の無変化がカルシウムと酸性のサッカリングループで見つけられた。

雄ネズミが異なる塩型 (5%サッカリンナトリウムに相等) $200 \mu\text{mol/g}$ 食餌を与えられたその後の研究でこれらの調査結果は基本的に確認された。膀胱上皮の単純増生はナトリウム塩とカリウム塩食餌のネズミで記録された、しかし、カルシウムか非酸性型では記録されなかった。影響は合計尿サッカリンかサッカリン尿濃度と無関係だった。(Anderson 他、1988a)

Based on the finding that the sodium, potassium, calcium and acid forms of saccharin differed in the extent to which they produced epithelial proliferation in the bladder of the male rat in the presence of similar concentrations of saccharinate anion, Williamson and coworkers investigated the possibility that differences in the ionic concentration of urine could result in differences in the electronic structure of the saccharin molecule itself. Using nuclear magnetic resonance spectroscopy, the electronic structure of the saccharin molecule was observed in the presence of varying concentrations of hydrogen, potassium, sodium, calcium, magnesium, bicarbonate and urate ions. The presence of these ions at physiological levels did not significantly alter the electronic structure of the saccharin molecule (Williamson et al., 1987).

A recent study has extended these short-term observations to a full initiation-promotion study in which male rats were given 0.2% dietary FANFT for 6 weeks followed by various treatments for 72 weeks. Treatments included doses of sodium saccharin equivalent to the bottom (3%) and middle (5%) of the dose-response as reported in the IRDC 2-generation bioassay (Schoenig et al. 1985). Sodium saccharin in ProLab diet produced a dose-related increase in the incidence of bladder carcinoma over that in FANFT-initiated controls. Calcium saccharin also produced a statistically significant increase of bladder carcinomas but equimolar dietary concentrations of acid saccharin did not produce a significant increase in the incidence of bladder tumours.

The observation that co-administration of ammonium chloride (NH_4Cl) with 5% sodium saccharin abolished the promoting activity was of equal or greater significance to the data for the different salt forms of saccharin. The urine pH of animals given sodium saccharin following FANFT initiation was slightly, but significantly higher (by about 0.1 - 0.2 pH units) than that of the corresponding controls, while calcium saccharin caused a slight decrease in urine pH. In contrast, the urine pH of animals given saccharin acid or sodium saccharin + NH_4Cl was 1 pH unit less than that of the corresponding controls. The study also showed that administration of calcium saccharin with sodium chloride or sodium saccharin with calcium carbonate resulted in promoting activity similar to that with sodium saccharin alone. In addition, sodium chloride itself had a significant tumour-promoting effect. The authors concluded that the enhancing factors for promotion of bladder carcinogenesis in the rat by compounds such as sodium saccharin are a high urinary sodium concentration, a high urinary pH (>6.5) and possibly an increase in urine volume (Cohen et al. 1991).

A study in which a range of compounds was given to male F344 rats for 16 weeks reported that 5% sodium saccharin caused an approximately 5-fold increase in labelling index. Sodium bicarbonate produced a 10-fold increase and a combination of sodium saccharin and sodium bicarbonate gave an approximately additive effect (Debiec-Rychter and Wang 1990).

2.2.5.2 Anion specificity

High dietary concentrations of the sodium salts of other organic acids (>1%) have also been tested for their ability to enhance DNA synthesis or hyperplasia of the urinary epithelium of the rat or act as promoters of bladder carcinogenesis.

In initiation-promotion models, the sodium salts of the following compounds were found to act as promoters of bladder

サッカリンのナトリウム、カリウム、カルシウムと酸型がサッカリン陰イオンの同等濃度の時、雄ネズミの膀胱上皮増殖を起こす程度を違えたという調査結果を基礎にして、サッカリン分子尿イオン濃度の相違はサッカリン分子そのものの電子構造の相違の結果になり得るという可能性を Williamson と同僚は調査した。水素、カリウム、ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、重炭酸塩と尿酸塩の色々な濃度で核電磁振動分光検査法を使って、サッカリン分子の電子構造が観察された。(Williamson 他、1987)

7 2 週間の色々な処理後、更に 6 週間、0. 2 %FANFT 食餌の雄ネズミで起爆—促進の完全な研究にまで最近の研究はこれらの短期観察を伸ばしている。IRDC 2 世代生物検定で報告されたものと同じ最低(3 %)、中程度(5 %)サッカリンナトリウム投与を処理方法に取り入れた。(Schoenig 他、1985) FANFT で起爆した発生率以上に投与に関係した膀胱癌腫発生率増加をサッカリンナトリウム Prolab 食餌が生じさせた。膀胱癌腫の統計的に重要な増加をサッカリンカルシウムも生じさせたが、サッカリン酸濃度と同等モル濃度食餌は膀胱腫瘍発生率増加をあまり生じさせなかった。

5 %サッカリンナトリウムと塩化アンモニウム (NH_4Cl) の相互投与が促進活動を中止させた観察結果はサッカリンの異なる塩化型のデータと重要度が互角か、より高いものだった。FANFT 起爆後、サッカリンナトリウムを与えられた動物の尿 pH は小さかった、しかし、相当対照区の尿 pH よりもかなり、より高かった (約 0. 1—0. 2 pH 単位まで)、一方、サッカリンカルシウムは少し、尿 pH 減少を引き起こした。対照的に、サッカリン酸かサッカリンナトリウム+ NH_4Cl を与えられた動物の尿 pH は相当対照区の pH よりも低く、1 pH 単位だった。塩化ナトリウムとサッカリンカルシウム一緒のものか炭酸カルシウムとサッカリンナトリウム一緒のものの投与はサッカリンナトリウムだけの投与と同じ促進活動を起したとこの研究は示もした。更に、塩化ナトリウムそのものは重要な腫瘍—促進影響を有した。サッカリンナトリウムのような化合物によるネズミの膀胱発癌の誘発要素は尿ナトリウム高濃度、尿高 pH (> 6. 5) とあるいは、尿量の増加であると著者は結論付けた。(Cohen 他、1991)

1 6 週間、雄 F3 4 4 ネズミにある範囲の化合物を与えた研究は 5 %サッカリンナトリウムが標識付け指標の約 5 倍の増加を引き起こしたと報告した。重炭酸ナトリウムは 1 0 倍の増加を起し、サッカリンナトリウムと重炭酸ナトリウムの混合は近似累加作用を示した。

2. 2. 5. 2 陰イオン特異性

DNA 合成やネズミの膀胱上皮増生を誘発したり、膀胱発癌促進剤としての役割をしたりする濃度効果に関して、他の有機酸 (> 1 %) のナトリウム塩の食餌高濃度も試験されている。

起爆—促進モデルで、次の化合物のナトリウム塩はネズミの膀胱発癌促進役をする事が分かった： アスコルビン酸 (Fukushima 他、1983b, 1983c, 1984, 1986a and b) Cohen 他、1991b); エリソルビン酸塩(Fukushima 他、1984); オルト—フェニル石炭酸塩(Fukushima 他、1983b); クエン酸

carcinogenesis in the rat: ascorbate (Fukushima *et al.* 1983b, 1983c, 1984, 1986a and b); Cohen *et al.* 1991b); erythorbate (Fukushima *et al.* 1984); o-phenylphenate (Fukushima *et al.* 1983d); citrate (Fukushima *et al.* 1986c); bicarbonate (Fukushima *et al.* 1986a, 1988a). All of these salts increased urine pH and sodium excretion compared with untreated controls. Promotion of bladder carcinogenesis was not caused by the corresponding acids erythorbic acid (Fukushima *et al.* 1987a); o-phenylphenol (Fukushima *et al.* 1983d); or nitrilotriacetic acid (Kitahori *et al.* 1988).

Sodium hippurate, which was not a promoter, increased urinary sodium excretion, but did not significantly increase urine pH (Fukushima *et al.* 1983b, 1986b).

One study did not show a promoting effect for sodium citrate or sodium ascorbate in an initiation-promotion protocol despite the expected increase in urinary sodium concentrations and demonstrated increase in urine pH (Inoue *et al.* 1988). The period for promotion in this study was 20 weeks as compared with 32 weeks in the positive studies.

Co-administration of ascorbic acid with salts which increased urine pH and elevated urinary sodium concentrations (sodium bicarbonate or potassium bicarbonate but not calcium carbonate or magnesium carbonate), resulted in promoting activity (Fukushima *et al.* 1986a, 1987b, 1988a, 1988b). Administration of the sodium salts of ascorbic acid and nitrilotriacetic acid in conjunction with ammonium chloride (sodium ascorbate and trisodium nitrilotriacetate) resulted in decreased urinary pH and decreased promoting activity (Fukushima *et al.* 1986a; Kitahori *et al.* 1988).

These data showing the importance of urine pH are consistent with the report that co-administration of sodium ascorbate with sodium saccharin enhances bladder tumour promotion in male rats. The co-administration of ascorbic acid with sodium saccharin both lowered the urine pH (by about 1 pH unit) compared with sodium saccharin on its own and abolished the promoting activity (Fukushima *et al.* 1990).

Similar results were obtained in studies with administration of high doses of organic acids either alone or in combination with other acidifying and alkalinizing salts using increased DNA synthesis and urothelial hyperplasia as the endpoints. Those treatments which caused a marked increase in urinary pH, sodium concentration and urine volume were associated with increased epithelial hyperplasia of the urinary bladder (5% ascorbic acid - Shibata *et al.* 1989b; 6% monosodium glutamate - De Groot *et al.* 1988).

Sodium bicarbonate fed at a level of 0.64% of the diet for 104 weeks study resulted in elevated urinary pH and Na⁺ concentration, but did not result in pleomorphic microvilli or a significant increase in bladder tumour incidence (Fukushima *et al.* 1989).

These findings suggest that although elevated urinary sodium concentrations and elevated pH are necessary co-factors in bladder tumour promotion, they are not sufficient stimulus for bladder tumour formation in the absence of an initiator.

2.2.5.3 Urine volume

The possible promoting activity arising from an increase in

塩(Fukushima 他、1986c); 重炭酸塩(Fukushima 他、1986a, 1988a)。無処理対照区と比較して、これらの塩の全てが尿 pH とナトリウム排出を増加させた。膀胱発癌促進は次の相当酸群によって引き起こされた： エリソルビン酸(Fukushima 他、1987a)； オルトーフェニルフェノール(Fukushima 他、1983d); かニトリロ三酢酸(Kitahori 他、1988)。

促進物ではなかった馬尿酸ナトリウムは尿ナトリウム排出を増加させた、しかし、尿 pH 値をあまり、増加させなかった。(Fukushima 他、1983b, 1986b)

予想された尿ナトリウム濃度増加にも拘らず、起爆一促進プロトコルでクエン酸ナトリウムやアスコルビン酸ナトリウムの促進影響を1件の研究は示さなくて、尿 pH の増加を立証した。(Inoue 他、1988) サッカリン影響肯定的研究の32週間と比較して、この研究の促進期間は20週間だった。

尿 pH を増加させ、尿ナトリウム濃度を上げた塩化物（重炭酸ナトリウムや重炭酸カリウム、しかし、炭酸カルシウムや炭酸マグネシウムは除く）と一緒にアスコルビン酸相互投与は活動を促進させる結果になった。(Fukushima 他、1986a, 1987b, 1988a, 1988b) 塩化アンモニウム（アスコルビン酸ナトリウムとニトリロ三酢酸塩三ナトリウム）と一緒に混合したアルコールビン酸ナトリウム塩とニトリロ三酢酸ナトリウム塩投与は尿 pH の減少の結果になり、促進活動を減少させた。(Fukushima 他、1986a; Kitahori 他、1988)

サッカリンナトリウムとアスコルビン酸ナトリウムの一緒に相互投与が雄ネズミの膀胱腫瘍促進を誘発させるという報告と、尿 pH データの重要性を示すこれらのデータは一致している。サッカリンナトリウムとアスコルビン酸の一緒に相互投与はサッカリンナトリウムだけと比較した尿 pH (約1 pH 単位まで) を低下させたり、促進活動を中止したりした。(Fukushima 他、1990)

終点として増加した DNA 合成と尿路上皮増生を使って、有機酸だけか他の酸化塩やアルカリ化塩と組み合わせた高投与の処理の研究で同様な結果が得られた。尿 pH に著しい増加を見せた処理やナトリウム濃度と尿量は増加した膀胱上皮増生と関連があった。(5%アスコルビン酸—Shibata 1989b; 6%グルタミン酸1ナトリウム—De Groot 他、1988)

食餌104週間研究の0.64%重炭酸ナトリウムは尿 pH と Na^+ 濃度を上げた、しかし、多型微絨毛になり、膀胱腫瘍発生率の増加をあまり起さなかった。(Fukushima 他、1989)

上昇した尿ナトリウム濃度と上昇した pH が膀胱腫瘍促進に必要な相互要素であるけれども、それらは起爆剤無しには膀胱腫瘍形成の十分な刺激剤ではない。

2. 2. 5. 3 尿量

尿 pH やナトリウムイオン濃度の著しい変化無しに尿量の増加から生じる考えられる促進活動はアセタゾールアミドとフロセミドの利尿剤を使って研究されている。アセタゾールアミド(0.35%) は尿オスモル濃度を下げ、液体摂取を増加させた、しかし、1件の研究で促進活動を欠

urine volume without a marked change in urine pH or sodium ion concentration has been studied using the diuretics acetazolamide and furosemide. Acetazolamide (0.35%) decreased the urine osmolality and increased fluid intake but lacked promoting activity in one study (Fukushima *et al.* 1983b). However, that study showed limited sensitivity in demonstrating the effects of 5% sodium saccharin and 5% sodium ascorbate.

A more recent initiation-promotion study using acetazolamide (0.35%) has reported significant promoting activity, but these effects were not shown to be independent of a change in pH since acetazolamide also increased the urine pH from 6.7 to 7.4 (Masui *et al.* 1988b).

Furosemide treatment 250 mg/kg, 3 times weekly for 32 weeks) was not a promoter of bladder carcinogenesis in male F344 rats. The dose produced an increase in urine volume, a slight increase in urine pH, but did not increase urinary sodium ion concentration (Shibata *et al.* 1989a). These data suggest that an increase in urine volume in the absence of changes in pH and sodium ion concentration does not result in the promotion of bladder carcinogenicity.

2.2.5.4 Diet and rat strain

Feeding rats 5 or 7.5% sodium saccharin in commercial diets, *i.e.* Prolab and Purina for 4 or 10 weeks resulted in an increased [³H]thymidine labelling index in the bladder epithelium. However, a greatly diminished or negligible increase in labelling index was observed when the same concentrations were incorporated into NIH-07 (a crude cereal-based diet) or AIN-76A (a purified diet) diets. Diet-related differences in urine volumes and urine pH were implicated as being contributory factors since rats fed 7.5% sodium saccharin in the AIN-76A diet had the lowest urine volume and the lowest pH compared with Purina diet. The urinary concentration of saccharin *per se* was highest in the group fed saccharin in the AIN-76A diet (this was the group which showed no increase in labelling index) indicating that the urinary concentration of saccharin is not a critical factor. The F344 strain was more sensitive to saccharin-induced hyperplasia and increases in the [³H]-thymidine labelling index than were Sprague-Dawley rats (Garland *et al.* 1989b).

In a similar study, sodium and calcium saccharin were fed to male F344 rats at 5% in either Prolab 3200 or AIN-76A diets to assess the effects on urinary parameters. The urine volume was actually greater in rats fed the AIN-76A diet containing saccharin than in the corresponding Prolab group and the urinary saccharin concentration was less. The urine pH was about 1.5 units lower in the urine from rats fed with the AIN-76A diets compared with those fed the Prolab diets (Fisher *et al.* 1989).

A full initiation-promotion study with sodium saccharin has shown that dietary levels of 5% do not act as a promoter of bladder carcinogenesis if given to rats in the AIN-76A diet (Okamura *et al.* 1991). This is consistent with an earlier observation with this diet (Imaida and Wang 1986).

The basal diet has been shown to play a similar critical role in the promotion of bladder carcinogenesis by sodium ascorbate (Mori *et al.* 1987). The nature of the basal diet also influences the urinary changes associated with the administration of monosodium glutamate (De Groot *et al.* 1988).

いた。(Fukushima 他、1983b) 然しながら、5%サッカリンナトリウムと5%アスコルビン酸ナトリウムの影響を立証するにはその研究は限られた反応しか示さなかった。

アセタゾールアミド(0.35%)を使った、より最近の起爆一促進研究がかなりの促進活動を報告している、しかし、アセタゾールアミドも尿pHを6.7から7.4まで増加させたのでこれらの影響はpH変化と無関係であると示されなかった。(Masui 他、1988b)

32週間、週に3回、250mg/kgフロセミド処理は雄F344ネズミの膀胱腫瘍発現性促進物では無かった。この投与は尿量の増加と尿pHの微増加を起した、しかし、尿ナトリウムイオン濃度を増加させなかった。(Shibata 他、1989a) pHとナトリウムイオン濃度の変化の無い尿量増加は膀胱発癌性促進を起さなかったとこれらのデータは示唆している。

2. 2. 5. 4 食餌とネズミ系統

4から10週間、市販用食餌、すなわちProlabとPurina中に5か7.5%サッカリンナトリウムのネズミ食餌は膀胱上皮の $[^3\text{H}]$ チミジン標識付け指標を増加させた。然しながら、NIH-07(粗製穀物性食餌)やAIN-76A(精製食餌)と合体された時に、標識付け指標を大きく減少させ、無視できる増加が観察された。AIN-76A食餌の7.5%サッカリンナトリウム食餌のネズミがPurina食餌と比較して、最低尿量と最低pHを有したので、食餌に関連した尿量と尿pHの相違は影響要素である事を意味した。サッカリン尿濃度が決定的要素でないと示すAIN-76A食餌(この食餌は標識付け指標の増加を示さないグループだった)でサッカリンを与えられたグループでサッカリンそのものの尿濃度が最も高かった。サッカリン誘発性増生と $[^3\text{H}]$ チミジン標識付け指標の増加に対してSprague-DawleyネズミよりもF344系統の方が、より反応した。(Garland 他、1989b)

同様な研究で、尿パラメーター影響を査定する為にサッカリンナトリウムとサッカリンカルシウムが雄F344ネズミに5%濃度でProlab 3200かAIN-76A食餌のどちらかで与えられた。Prolabグループよりもサッカリンを含むAIN-76A食餌を与えられたネズミの方に尿量は実際、多かったし、尿サッカリン濃度は、より低かった。AIN-76A食餌のネズミの尿の方がProlab食餌のものと比較して、尿pHは約1.5単位、より低かった。(Fisher 他、1989)

もし、AIN-76A食餌がネズミに与えられていたら、5%濃度食餌は膀胱発癌性促進物として働いていないという事をサッカリンナトリウムの完全起爆一促進研究が示している。(Okamura 他、1991) これはこの食餌に関する前回の観察と一致している。(Imaida and Wang 1986)

アスコルビン酸ナトリウムによる膀胱発癌性促進において、同様な決定的役割をする事を塩基食餌が示している。(Mori 他、1987) グルタミン酸1ナトリウム処理に関連した尿変化にも塩基食餌の素質が影響している。(De Groot 他、1988)

2.2.6 Special studies on the basis of sex/species specificity of carcinogenic effects of saccharin

Crystals and flocculent precipitate have been observed in the urine of rats fed sodium saccharin for four weeks (Cohen et al. 1989). Milky flocculent precipitate has also been noted in the urine of rats fed 5% sodium saccharin in a chronic study which was more pronounced in males than in females and was found to contain saccharin and protein (Arnold et al. 1980).

In preliminary evaluations, a correlation was demonstrated for individual rats between early appearance of the precipitate, consistent appearance over the course of the study and the subsequent severity of "bladder effects" over a 10-week treatment period (cited Cohen and Garland 1992).

A number of methods have been used to quantify this urinary precipitate. Visual inspection of the filtered urine showed that a white precipitate was frequently noted on the filters from male rats treated with sodium saccharin, but rarely on the filters from control male rats, control and treated female rats and control and treated male and female mice. In addition, precipitate was not noted in the filtered urine of rats treated with acid saccharin. A turbidity assay which measured absorbance of the urine at 620 nm showed that urine turbidity was increased by feeding of sodium saccharin to rats (information on sex not available but presumed to be male), at levels exceeding 3% and with sodium ascorbate at 6.84%. The urine turbidity of rats treated with lower levels of saccharin or with acid saccharin, ascorbic acid, sodium saccharin with

ammonium chloride or sodium saccharin in AIN-76A semi-synthetic diet was similar to that in untreated rats (cited in Cohen and Garland 1992).

Gel filtration of the protein component of the urinary precipitate showed it to migrate with low molecular weight proteins including α_{2u} -globulin (Cohen et al. 1990). Binding of saccharin to urinary proteins is minimal at a pH of 5.5, but increases with increasing pH. Treatments which were associated with a urinary pH less than 6.5 did not result in the formation of a urinary precipitate or in the production of proliferative changes in the bladder (cited in Cohen and Garland 1992).

A study was conducted to determine whether α_{2u} -globulin plays a role in the development of bladder lesions in sodium saccharin-treated rats. The effects of sodium saccharin on urinary parameters and bladder morphology were compared in NCI-Black-Reiter (NBR) male rats which do not synthesize α_{2u} -globulin, castrated male F344 rats which have lower α_{2u} -globulin levels, and intact male F344 rats. Scanning electron microscopy and light microscopy showed that 7.5% sodium saccharin in the diet had less of an effect on the bladders with respect to morphological changes (simple and proliferative hyperplasia) of the NBR rats than in the intact F344 rats, and the results from the castrated F344 rats were intermediate between the intact F344 and NBR male rats. The ability of saccharin to bind *in vitro* to urinary proteins was much less with NBR rat urine than with urine from intact F344 rats. Urine from castrated F344 rats was not tested. Binding was predominantly to proteins of low molecular weight in the F344 rat and equally divided between low and higher MW proteins in the NBR rat. Although urine volume and sodium concentration were elevated, urine pH was actually decreased in sodium saccharin-treated rats as compared with respective controls, but still exceeded values of 6.5. The NBR rats had in

2. 2. 6 性別/種特異性のサッカリン発癌性影響特別研究

4週間のサッカリンナトリウム食餌のネズミの尿中に結晶状で柔毛性の沈殿物が観察されている。(Cohen 他、1989) 雌よりも雄の方が沈殿物を多く生じさせた長期研究の5%サッカリンナトリウム食餌のネズミの尿中に乳白状柔毛性の沈殿物も記録されているし、この沈殿物がサッカリンと蛋白質を含んでいる事が分かった。(Arnold 他、1980)

述べられた序文の評価に、個々のネズミに研究期間中一貫して発生した早期発生や沈殿物と10週間以上の「膀胱影響」後に続く激烈さとの間に、相関関係が立証された。(Cohen and Garland 1992 引用)

いくつかの方式がこの尿沈殿物量を計る為に使われている。サッカリンナトリウム処理の雄ネズミからの濾過紙上に白い沈殿物がしばしば記録されたと濾過した尿の視覚検査が示した、しかし、対照雄ネズミ、対照区と処理雌ネズミと、対照区と処理雌雄ハツカネズミからの濾過紙にはめったに無かった。更に、サッカリン酸処理のネズミの尿中には沈殿物は記録されなかった。3%を超える6.84%アスコルビン酸ナトリウム濃度で、620核磁子度の尿吸収度を計測した混濁分析は、ネズミ(性別の情報無しだが、雄を推定される)にサッカリンナトリウムを与える事によって尿混濁度が増加されたという事を示した。サッカリンの、より低濃度で処理されたり、サッカリン酸やアスコルビン酸で処理されたり、サッカリンナトリウムと塩化アンモニウムを一緒にしたもので処理されたり、AIN-76A 半合成食餌中のサッカリンナトリウムで処理されたりしたネズミの尿混濁度は無処理ネズミの尿混濁度と同じだった。(Cohen and Garland 1992 引用)

尿沈殿物の蛋白質構成要素のゲル濾過は $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンを含む低分子量蛋白質と一緒に原子移動する事が分かった。(Cohen 他、1990) 尿蛋白質とサッカリンの結合は最小値 pH 5.5 である、しかし、pH が増加するにつれて、結合が増加する。6.5 より少ない尿 pH に関連した処理は尿沈殿物形成や膀胱内の増殖変化発生が起こらなかった。(Cohen and Garland 1992 引用)

$\alpha_2\text{U}$ -グロブリンがサッカリンナトリウムで膀胱病変発生に関係するかどうかを決定する為に研究が行われた。膀胱組織が $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンを合成させない雄の NCI-Black-Reiter(NBR)ネズミ、 $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンを、より低程度出す去勢された雄 F344 ネズミと去勢されてない F344 ネズミで尿パラメーターと膀胱形態に関するサッカリンナトリウム影響が比較された。7.5%サッカリンナトリウム食餌は NBR ネズミに膀胱組織変化(単純病変と増殖病変)の影響が去勢されてない F344 より少なかったと走査電子顕微鏡と光学顕微鏡検査で示した、そして、去勢された F344 ネズミの結果は去勢されて無い F344 と NBR 雄ネズミの中間値だった。試験管内実験で尿蛋白質と結合する為のサッカリンの効果は去勢されてない F344 ネズミの尿とよりも NBR ネズミの尿とにより少なかった。去勢された F344 ネズミの尿は試験されなかった。結合相手は主に F344 の低分子量の蛋白質だったし、NBR ネズミの低蛋白質分子量と、より高い蛋白質分子量の間で結合は等しく分けられた。尿量とナトリウム濃度が上昇したけれども、各対照区と比較して、サッカリンナトリウム処理のネズミの尿 pH は実際に減少した、しかし、6.5 の値をさらに超えた。NBR ネズミは一般的にかなり多量の尿を有し、その結果、溶質の尿濃度は減少した。無処理のネズミの尿サンプル中にとサッカリン処理された去勢さ

general a much greater urine volume, so that urinary concentration of solutes was decreased. Visual inspection indicated that a white precipitate was occasionally present in the urine of untreated rats, in the majority of urine samples collected from sodium saccharin-treated intact and castrated F344 rats and in approximately half of the sodium saccharin-treated NBR rats. The presence of alpha_{2u}-globulin was detected using Western blot analysis in the urine from intact male F344 rats, very low levels in the urine from female F344 rats and none in the urine from NBR rats. Data for the castrated rats were not available from this study, but levels are reported to be intermediate between those of intact and NBR rats. The results of this experiment demonstrated a relationship between urinary alpha_{2u}-globulin levels, binding of saccharin to urinary proteins and morphological changes in the bladder (Garland et al. 1992a).

The Committee was not convinced that this evidence showed that alpha_{2u}-globulin has a role in bladder carcinogenesis.

2.2.7 Special studies on the possible significance of exposure to saccharin through lactation

The physiological changes in young male rats that had been exposed to sodium saccharin from parturition (up to 5% in the diet) have been compared to those detected in animals exposed only from weaning and to controls. The results at 10 weeks after weaning showed that exposure during lactation slightly enhanced the effects of saccharin compared to animals exposed only from weaning. The animals exposed from parturition showed a significantly lower urine osmolality, lower body weight and lower food intake and a non-significant increase in urine mass, bladder mass and bladder hyperplasia compared with those exposed after weaning (Anderson et al. 1988b).

Administration of a diet containing 7.5% sodium saccharin during a 2-generation protocol resulted in anaemia in both dams and pups and a severe reduction in post-natal body weight (35% by day 30). This observation had been made previously in weanling rats from the IRDC long-term study (Schoenig et al. 1985). Saccharin-treated pups, 28-30 days old, showed the typical saccharin-related changes in the gastrointestinal tract (increased caecum weight and moist faeces) and in the urine (increased volume and decreased osmolality, increased Na⁺ and decreased K⁺ and Ca⁺⁺). Pups raised on saccharin-containing diets had elevated serum concentrations of cholesterol, triglycerides and Vitamin E, and decreased concentrations of Vitamin A and folate in the serum and liver compared with untreated controls (Garland et al. 1991a).

A subsequent investigation at dietary concentrations of 0, 1, 3 and 7.5% sodium saccharin using a two-generation protocol, investigated these findings in 30-day-old pups in more detail. The effects of sodium saccharin on anaemia, serum folate and Vitamin A were dose-dependent, while the effect on serum concentrations of vitamin E, cholesterol and triglycerides was biphasic, with a decrease at 1% and 3% and an increase at 7.5% in the diet. These effects were mostly reversible by 90 days of age. At 7.5% in the diet, there was a decrease in liver weight which was associated with a decrease in glycogen and an increase in the numbers of lipid vacuoles. The dietary NOEL for sodium saccharin-induced changes in the liver and for anaemia was estimated to be 1% (Garland et al. 1991b).

These nutritional and biochemical effects resemble findings in pups of iron-deficient dams, and further studies were conducted to

れてない F3 4 4 ネズミと去勢された F3 4 4 ネズミとサッカリンナトリウム処理された NBR ネズミの約半分から採取された尿サンプル中の大部分で白い沈殿物が時折現れたと視覚検査で分かった。去勢されてない雄 F3 4 4 ネズミの尿で Western blot 分析を使って、 $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンの存在が検出され、雌 F3 4 4 ネズミの尿濃度で非常に低濃度を検出し、NBR ネズミの尿濃度では検出されなかった。去勢されたネズミのデータはこの研究で入手不可能だった、しかし、濃度は去勢されてないネズミと NBR ネズミの中間値であると報告されている。 $\alpha_2\text{U}$ -グロブリン濃度、尿蛋白質とサッカリンの結合と膀胱組織変化の関係をこの実験の結果は立証した。(Garland 他、1992a)

$\alpha_2\text{U}$ -グロブリンが膀胱発癌性に関係あると上記の立証が示したという事を委員会は確信しなかった。

2. 2. 7 授乳期サッカリン曝露の考えられる重要性の特別研究

分娩時からサッカリンナトリウム（食餌の 5 % まで）に曝露していた若い雄ネズミの生理的変化が離乳期からしか曝露されてない動物に検出された変化と対照量に曝露された動物で検出された変化で比較されている。離乳期から曝露された動物と比較して、授乳期中曝露はわずかにサッカリン影響を誘発した事を離乳後の 10 週間目の結果が示した。離乳期後、曝露された動物と比較して、分娩時から曝露された動物はかなり、より低い尿オスモル濃度、より軽い体重とより少ない食餌摂取と尿量、膀胱質量と膀胱増生のかかなりの増加を示した。(Anderson 他、1988b)

2 世代プロトコルの期間中、7. 5 % サッカリンナトリウム食餌の投与は母畜と子畜の両方に貧血と出生後体重のひどい低下（出生 30 日後までに 35 %）を起した。IRDC 長期研究の離乳子畜のネズミでこの観察は前にされている。(Schoenig 他、1985) 典型的なサッカリンに関連した胃腸管内変化（盲腸重量と湿った便を増加させた）と尿変化（量を増加させてオスモル濃度を低下させた、 Na^+ を増加させて、 K^+ と Ca^{++} を低下させた）をサッカリン処理の 28 - 30 日齢の子畜が示した。無処理対照区と比較して、サッカリン含有食餌で育った子畜はコレステロール血漿濃度、トリグリセリド血漿濃度とビタミン E 血漿濃度を上げてしまっていた、そして、血漿内と肝臓内のビタミン A 濃度と葉酸濃度を減少させた。(Garland 他、1991a)

2 世代プロトコルの 0、1、3 と 7. 5 % サッカリンナトリウム濃度食餌の次の調査は、より詳細に 30 日齢子畜を調査した。貧血、葉酸血漿濃度とビタミン A 血漿濃度のサッカリンナトリウム影響は投与依存性があった、一方、ビタミン E、コレステロールとトリグリセリドの血漿濃度の影響は 1 % と 3 % 食餌で減少と 7. 5 % 食餌で増加の 2 種類だった。これらの影響は 90 日齢では、ほとんど逆だった。7. 5 % 食餌でグリコーゲンの減少と脂質空胞の数の増加に関連した肝臓重量低下があった。サッカリンナトリウム誘導の肝臓の変化の為の NOEL 食餌と貧血の為の NOEL 食餌は 1 % であると推定された。(Garland 他、1991b)

これらの栄養学的で生化学的な影響は鉄分欠乏症の母畜の子畜の調査結果と似ている、そして、鉄分と/か葉酸補充食餌が 30 日までの齢の子畜にサッカリンナトリウム 7. 5 % 食餌の影響に反

see whether iron and/or folate supplementation could counteract the effects of 7.5% dietary sodium saccharin in pups up to 30 days old. Iron supplementation reversed some of the biochemical changes, but had no effect on the majority of the urinary changes which are typically observed with high dietary levels of sodium saccharin and implicated with enhancing the epithelial hyperplasia of the bladder. It is likely that the biochemical changes in the neonatal rat

described above are a consequence of iron deficiency which is an indirect effect of sodium saccharin treatment and probably independent of urinary and bladder effects (Garland et al. 1992b).

Cohen and his associates have proposed that during the neonatal period newborn rats are uniquely sensitive to the mitogenic effects of saccharin on the urothelium. In this model, the importance of exposure to sodium saccharin during this period arises from the fact that approximately one third of the total lifetime mitoses of the urothelium occur within the first 3 weeks of life (Cohen and Ellwein 1991). A significant increase in cell proliferation rates due to sodium saccharin administration during the 3 weeks after birth (Masui et al 1988a), coupled with the background probability of spontaneous genomic errors would substantially increase the number of initiated cells (Cohen and Ellwein 1990).

The critical event(s) occurring during the neonatal phase, leading to an increased population of initiated cells, has not been identified.

2.2.8 Special studies on the effects of saccharin on digestion

The caecal enlargement which results from feeding high dietary concentrations of saccharin to rats is accompanied by an increase in the total numbers of micro-organisms (Mallett et al. 1985). Since saccharin has been shown to inhibit the activity of digestive enzymes mediating hydrolysis of complex carbohydrates, as well as that of several proteases and urease (Section 2.1.3), this increase in the numbers of caecal bacteria suggests a large increase in nutrient availability for microorganisms in the lower GI tract.

A study was performed to investigate a possible connection between the saccharin-mediated decrease in hydrolysis of complex carbohydrates and altered urinary parameters (increased urine volume, concomitant bladder mass increase and decreased osmolality) in the male rat. However, when the starch component of the 5% saccharin-containing diet was replaced with an equivalent amount of glucose, the effect on caecal enlargement was the same, leading the authors to conclude that in addition to inhibiting carbohydrate digestion, 5% sodium saccharin in the diet of rats also inhibited intestinal transport of glucose. A diet low in carbohydrates (3% sucrose) resulted in a smaller increase in caecal volume compared with diets containing various forms of carbohydrates at a level of 65%. It abolished the increase in relative urine volume and bladder mass noted in the carbohydrate-fed groups even though low-carbohydrate groups had a comparable increase in water intake. The authors concluded that the responses of urinary parameters in rats ingesting high doses of sodium saccharin were dependent on the effects of sodium saccharin on carbohydrate metabolism and glucose transport from the intestine. However, they did not take into consideration the effects of the high concentrations of cellulose and fat in the low-carbohydrate diet on the absorption of water from

the GI tract. They also did not comment on the fact that absorption of ingested saccharin was markedly decreased in rats on the low carbohydrate diet compared with the 65% carbohydrate diets; only

対作用し得るかを見る為に更に進んだ研究が行われた。鉄分補充はいくらか生化学的変化を逆転させた、しかし、サッカリンナトリウム高濃度食餌で観察されたり、膀胱上皮増生誘発に関連したりした典型的な尿変化の大部分で鉄分補充は影響が無かった。上記に述べられた新生児のネズミの生化学的変化はサッカリンナトリウムの間接的影響であり、おそらく、尿と膀胱影響と無関係であるらしい。(Garland 他、1992b)

新生児のネズミは膀胱上皮のサッカリンの有糸分裂促進影響に新生児期間中、独特的に影響すると Cohen と彼の同僚は提案している。このモデルでこの期間中のサッカリンナトリウム曝露で重要な事は膀胱上皮の合計寿命有糸分裂の約 3 分の 1 が最初の生存 3 週間以内に起きるという事実から生じている事である。(Cohen and Ellwein 1991) 自然発生的遺伝物質障害の背後確率を伴った生誕後、3 週間中にサッカリンナトリウム投与による細胞増殖率のかなりの増加が実質的に起爆された細胞数を増加させたのであろう。(Cohen and Ellwein 1990)

新生児段階に起きたり、起爆されたりした細胞個体数の増加を導く決定的な事象は確認されていないでいる。

2. 2. 8 消化に関するサッカリン影響の特別研究

ネズミの高サッカリン濃度食餌から生じる盲腸の拡大は微生物の合計数増加によって引き起こされている。(Mallett 他、1985) 錯体炭水化物の加水分解を媒介する消化酵素活動と同様な数種の蛋白質分解酵素とウレアーゼ酵素の活動を抑制するとサッカリンが示しているので、この盲腸細菌数増加はより下部の胃腸管中微生物による栄養素効用の大きな増加を示唆する。

サッカリン媒介の錯体炭水化物加水分解減少と尿パラメーター変化（尿量増加と同時発生の膀胱質量増加とオスモル濃度の減少）の間に考えられる関係を調査する為に一件の研究が行われた。然しながら、5 %サッカリン含有食餌の澱粉成分が同量のブドウ糖に代えられた時、盲腸拡大影響は同じものだった、そして、炭水化物消化を抑制する事に加えて、5 %サッカリンナトリウムのネズミの食餌もブドウ糖の腸内移動を抑制したと著者に結論付けさせた。低炭水化物食餌（3 %スクロース）は 65 %濃度の色々な炭水化物の型の食餌と比較して、より小さな盲腸体積の増加を引き起こした。低炭水化物グループが同等の水摂取増加を有したとしても、炭水化物食餌グループに記録された相対的尿量増加と膀胱質量増加をそれが止めた。ネズミのサッカリンナトリウム高濃度摂取の尿パラメーターの反応は炭水化物代謝とスクロースの腸内移動に関してサッカリンナトリウムの影響によるものであったと著者達は結論付けた。然しながら、著者達は胃腸管の水吸収に関して、セルロースの高濃度の影響と低炭水化物中の脂肪影響を考えに入れなかった。65 %炭水化物食餌と比較して、低炭水化物食餌のネズミでは摂取されたサッカリンの吸収は著しく減少したという事実に関して著者達は論評もしなかった； 67-83 %炭水化物食餌と比較して、サッカリン摂取投与の 31 %だけが尿中に排出された。(Anderson 他、1987a)

31% of the ingested dose of saccharin was excreted in the urine compared with 67-83% in the carbohydrate diets (Anderson *et al.* 1987a).

Measurement of the caecal contents of the rat has shown that sodium saccharin ingestion increases the total protein content of the caecum (Sims and Renwick 1985) and produces dose-related increases in the urinary excretion of the bacterial amino acid metabolites, indican and *p*-cresol, which are known to have promoting or co-carcinogenic properties (Lawrie *et al.* 1985; Lawrie and Renwick 1987). The toxicological significance of these abnormal metabolic profiles is uncertain.

Comparison of the extent of hyperplasia of the bladder epithelium in rats fed diets containing 5% sodium saccharin and/or 1.5% indole has demonstrated that indole *per se* does not contribute significantly to hyperplasia in the urinary bladder (Anderson *et al.* 1989).

Administration of 1 g/day of sodium saccharin to humans did not alter the urinary excretion of these bacterial amino acid metabolites (Lawrie and Renwick 1987).

A mechanism of action involving enhanced microbial activity in the gut resulting from excess undigested carbohydrates and protein in saccharin-treated rats was not apparent.

2.3 Observations in humans

Epidemiology studies on the possible association between saccharin ingestion and bladder cancer in humans covering the period up to 1983 were reviewed. The studies and conclusions included in this review were mentioned in the previous monograph addendum (Annex 1, reference 67), including a meta-analysis of 8 of the studies which concluded that the relative risk associated with ingestion of saccharin and subsequent development of bladder cancer was close to one for males, females or both sexes combined (Morgan and Wong 1985).

Since the review of 1985, there have been additional epidemiology studies published which considered the potential effect of saccharin on the urinary bladder. A novel study using autopsy specimens reported on the histological changes in sections from the urinary bladder in humans in which the numbers of cell rows and the presence and extent of cells with atypical nuclei were recorded. A total of 6503 sections from 282 patients were examined. No relationship was found between the changes in the bladder epithelium

and the use of artificial sweeteners in general (Auerbach and Garfinkel 1989).

Another important study was published by the group which had previously reported a significantly increased saccharin-related risk for males (odds ratio 1.6) but not females (Howe *et al.*, 1977). The more recent case-control study used 826 histologically-verified cases of bladder cancer (compared with 480 men and 152 women in the earlier study). The relative risk for the use of a number of artificial sweeteners, including saccharin, did not suggest an association with bladder cancer in either males or females (Risch *et al.* 1988).

Two studies attempted to identify the principal risk factors for bladder cancer in Spain using 406 patients with bladder cancer (353 males and 53 females) and age-matched controls from the same

盲腸の合計蛋白質内容物 (Sims and Renwick 1985) の増加と、促進性質と補発癌性性質 (Lawrie 他, 1985; Lawrie and Renwick 1987) を有すと知られている微生物アミノ酸代謝産物、インジカンとパラクレゾールの投与依存による増加をサッカリンナトリウム摂取は起こすとネズミの盲腸内容物測定が示している。

5%サッカリンナトリウムと/か1.5%インドール食餌のネズミの膀胱上皮増生の程度の比較はインドールそのものは膀胱内の増生にあまり関係しないと立証している。(Anderson 他, 1989)

サッカリンナトリウム 1 g/day の人間への投与はこれらの微生物アミノ酸代謝産物の尿排出を変化させなかった。(Lawrie and Renwick 1987)

サッカリン処理のネズミの過剰な未消化炭水化物と未消化蛋白質の結果になる胃の微生物活動を高める行為のメカニズムは明らかになってない。

2. 3 人間観察

1983年までの期間に取り扱われた人間に関するサッカリン摂取と膀胱癌との間に考えられる関連性について疫学的研究が再考された。この再考に取り入れられた研究と結論は前回の研究論文の付録 (Annex 1, reference 67) に述べられた、そして、サッカリン摂取とその後に続く膀胱癌に関連した相対的危険要素は雄、雌か雌雄両性に対する危険要素に近かったとその付録に述べられている。(Morgan and Wong 1985)

1985年の再考以来、膀胱内サッカリンの考えられる影響を考慮して出版された追加的疫学的研究が在る。細胞列数と異型性核の存在とその程度が試験されて人間の膀胱から採った切片の組織変化について検死標本を使った新しい研究が報告されている。282人の患者から得た合計6503切片が試験された。膀胱上皮変化と通常人工甘味料使用との間に関連性は見られなかった。(Auerbach and Garfinkel 1989)

雌は含まないで、雄(確立1.6)だけのサッカリン関連のかなりの増加をさせた危険要素を以前に報告したグループによって、もうひとつの重要な研究が出版された。(Howe 他, 1977)

膀胱癌(前の研究で男性480人と女性152人で比較された)の826件の組織分類された症例が、より最近の症例処理研究で使われた。サッカリンを含む幾つかの人工甘味料の使用の相対的危険要素は雄、雌のどちらにも膀胱癌との関連性を示唆しなかった。(Risch 他, 1988)

膀胱癌を持つ406人の患者(男性353人と女性53人)と悪性疾患も持っていない同じ病院の年齢別対照区を使ってスペインで主な膀胱癌危険要素を鑑定する為に2件の研究が試みられた。

アルコール摂取と膀胱癌(喫煙等級分類後)との間に関連性は無かったけれども、サッカリン

hospital who did not have any malignant disease. Consumption of wine with "gaseosa", which contains saccharin and cyclamate, was associated with an enhanced risk of bladder cancer in males although there was no association between alcohol ingestion and bladder cancer (after stratification for smoking). The authors did point out, however, that the wine consumed with gaseosa was typically of low quality and contained large amounts of impurities. Consequently, the low quality of the wine was an additional risk factor (Bravo and Del Rey-Calero 1987).

In a related paper, discriminant analysis was applied to the data obtained from the same patients (not presented) in order to identify and rank factors increasing the risk of bladder cancer. Use of artificially-sweetened beverages ranked fourth and use of artificial sweeteners themselves ranked eighth. The number of cigarettes smoked was the most important factor. Saccharin was not specifically mentioned (Bravo et al. 1987).

A small case-control study (194 bladder cancer patients and the same number of age- and sex-matched controls) conducted in Turkey reported a statistically significant association ($p < 0.05$) between the use of artificial sweeteners and the development of bladder cancer. The authors did not distinguish between the use of specific sweeteners and only 19 cases and 8 controls reported using these substances. In addition, there was no investigation of the possible influence of confounding factors (Akdas et al. 1990).

Two population-based case-control studies in the U.S.A. concluded that there was no link between consumption of artificial sweeteners and bladder cancer. One study was conducted with 173 female patients with bladder cancer and had only two categories of use of artificial sweeteners, that being 100 times or more life-time use of artificially-sweetened beverages or tabletop sweeteners or less than 100 times use (Piper et al. 1986).

The second study investigated the potential of increased volume of fluid intake or of specific fluids, including artificially-sweetened beverages, to increase the risk of bladder cancer. No association was found between the volume of intake of artificially-sweetened beverages and bladder cancer (Slattery et al. 1988).

A case-control study with 117 patients apparently showed no association between saccharin consumption and bladder cancer (the data were not presented) (Iscovitch et al. 1987). Although this study was small compared with some previous investigations, it was of sufficient power to show that cigarette smoking was a major risk factor.

An update of the earlier review of Morgan and Wong (1985) in which most of the above-mentioned studies were analyzed, was provided. In addition, they added two of these studies to the meta-analysis performed previously. The conclusions from this meta-analysis were the same as those in the previous paper: the relative risk from the combined data of 15 studies indicated that there was no association between ingestion of saccharin and development of bladder cancer (Elcock and Morgan 1992).

A study which investigated the correlation between the urinary excretion of the microbial amino acid metabolites indican, p-cresol and phenol (which have been shown to be co-carcinogenic or promoters) and bladder cancer was conducted in thirty-two patients with histologically-confirmed carcinoma of the urinary bladder and a similar number of matched controls. There was wide variability between individuals in the excretion of these

とシクラメートを含む「gaseosa」含有のワイン摂取は雄の膀胱癌の危険誘発要素と関連があった。然しながら、著者達は指摘をしなかったが、摂取された gaseosa 含有のワインは典型的に低品質であり、不純物を多量に含んでいた。結果として、ワインの低品質が付加的危険要素だった。(Bravo and Del Rey-Calero 1987)

これに関連した研究論文で、膀胱癌の危険要素を増加させる要素を鑑定したり、等級別に分ける為に同じ患者（提出無し）から得たデータを使ったりして等級別分析が取り入れられた。人工甘味飲料の使用は第4番目と等級付けされ、人工甘味料そのものは第8番目と等級付けされた。喫煙されたタバコの本数が最も重要な要素だった。サッカリンは特に述べられなかった。(Bravo 他、1987)

人工甘味料使用と膀胱癌発生との間の統計的に重要な関連性 ($p < 0.05$) をトルコで行われた小症例対照区研究（194人の膀胱癌患者と同数の年齢別と性別対照区）が報告した。著者達は19件の症例だけで特に甘味料の区別をしなかった、そして、8対照区がこれらの甘味料物質に反応した。更に、混乱させる要素の考えられる影響の調査は無かった。(Akdas 他、1990)

米国で行われた2件の母集団を基礎にした症例対照区研究は人工甘味料摂取と膀胱癌との間に関係は無いと結論付けた。1件の研究は膀胱癌を持つ173人の女性患者で行われて、この研究は人工甘味料を2種類だけで分類した、一種類目は、人工甘味化飲料か卓上甘味料を100回かそれ以上の終生使用した分類と二種類目は、100回以内の終生使用の分類である。(Piper 他、1986)

人工甘味料で甘くされた飲料を取り入れて、膀胱癌の危険要素を増加させる為の特別な液体物量と液体摂取量の効果が2番目の研究で調査された。人工甘味料で甘くされた飲料摂取量と膀胱癌の間に関連性は見つからなかった。(Slattery 他、1988)

117人で行われた症例対照区研究はサッカリン摂取と膀胱癌との間に関連性が無いと明らかに示した。(データは提出されなかった) (Iscovitch 他、1987) この研究は幾つかの前の調査と比較して、小規模だったけれども、喫煙が主な危険要素であると示した事は十分説得力がある。

上記に述べられた研究のほとんどが分析された Morgan and Wong (1985)の以前の総覧の最新版が提供された。更に、彼等は以前に行われた変化分析にこれら2件の研究を追加した。この変化研究の結論は以前の研究論文と同じものだった： 15件の研究の複合データからの相対的危険要素はサッカリン摂取と膀胱癌発生との間に関連性は無いと示した。(Elcock and Morgan 1992)

微生物アミノ酸代謝産物のインジカン、パラクレゾールとフェノール（補発癌性物が促進物として考えられている）の尿排出と膀胱癌との間の相関関係を調査した研究は組織に確認された膀胱癌を持つ32人の患者と同人数の対照区で行われた。これらの代謝産物の排出に関して、各個人で広い範囲の変異性があった、しかし、二つのグループでその相違は検出されなかった。(Renwick 他、1988)

metabolites, but no difference was detected between the two groups (Renwick *et al.* 1988).

3. COMMENTS

An independent assessment of the bladder histopathology data from the most recent two-generation feeding study in rats that was reviewed at the twenty-eighth meeting revealed the presence of transitional cell papillomas and carcinomas in the control group. This assessment reduced concern over setting the NOEL at a dose where tumours were observed and it eradicated the statistical significance of the increase in tumour incidence at the 3% dietary level. Application of a dose-response model to the carcinogenicity data suggested a threshold for carcinogenesis close to 3% saccharin in the diet. This is the dietary level at which saturation of renal tubular secretion occurs in the rat and anaemia and other biochemical changes occur in weanling rats. In this study, the absolute and relative weights of the urinary bladder of treated rats were significantly higher than those of controls when sodium saccharin was included in the diet at levels of 3% or higher.

The rat is the only species that has been reported to show an increase in the incidence of bladder tumours at high dietary concentrations of sodium saccharin in a 2-generation study. Apart from mice, studies in other species have not included neonatal exposure to saccharin at levels above the maximum tolerated dose. The Committee concluded from the long-term feeding studies that the dose-related carcinogenic activity of sodium saccharin on the urinary bladder was specific to the male rat and that exposure during the neonatal period was critical for the subsequent development of these tumours in the absence of an initiator or stimulus such as freeze ulceration. The critical events during the neonatal phase that lead to an increase in the population of initiated cells have not been identified.

The Committee considered the genotoxic potential of saccharin on the basis of its physicochemical properties and results from *in vitro* and *in vivo* assays. At physiological pH, saccharin exists almost exclusively as the anion. As such, the parent compound does not resemble an electrophilic chemical carcinogen that would bind to DNA, nor has it been shown to bind to DNA *in vivo*. Because it is not metabolized, it is not converted to an active metabolite. On the other hand, sodium saccharin has exhibited clastogenic activity in a number of *in vivo* and *in vitro* genotoxicity assays. Since high concentrations of sodium saccharin were used in these assays, it has been suggested that the clastogenic activity could be attributable to ionic imbalances at the chromosomal level at high concentrations. The clastogenic activity is also in disagreement with the results of the long-term studies and tumour-initiation promotion studies with sodium saccharin.

The conditions required for the hyperplastic and tumour-promoting activities of high dietary concentrations of saccharin (usually 5% or higher) on the urothelium in the male rat are an increased urinary concentration of sodium ion and an elevated pH. The response does not appear to be specific to saccharin, since high dietary concentrations of other organic anions have been shown to promote bladder carcinogenesis and induce urothelial hyperplasia under the same conditions. The differences in tumour-promoting activities observed between organic acids and their sodium salts were unrelated to the urinary concentration of the parent organic molecule.

3. 解説

第28回会議で再考されたネズミの2世代食餌に関する最近の研究である膀胱組織データについての独創的評価は対照区に転位性細胞乳頭腫と癌腫の存在を明らかにした。腫瘍が観察された投与に NOEL を取り入れる重要性をこの評価は少なくした、そして、3%濃度食餌の腫瘍発生率増加の統計的重要性を皆無にした。発癌性データの投与依存モデルの適用は3%サッカリン食餌に近い発癌性の最低基準を示唆した。これは尿細管分泌飽和状態がネズミに生じる食餌濃度であった、そして、貧血と他の生化学的変化を離乳子畜に生じさせた。この研究で、3%濃度かそれ以上の濃度の食餌にサッカリンナトリウムが含まれた時、処理ネズミの膀胱の絶対重量と相対重量は対照区の重量よりもかなり、より重かった。

2世代研究のサッカリンナトリウム高濃度食餌による膀胱腫瘍発生率増加を示したと報告されている唯一の種はネズミである。ハツカネズミを除いて、耐性最高投与以上の濃度の新生児のサッカリン曝露を他の種の研究は取り入れてないでいる。膀胱のサッカリンナトリウム投与依存した発癌性活動は雄のネズミに特異的であって、起爆剤か潰瘍凍結のような刺激の存在無しの場合、その後に続くこれらの腫瘍の発生には新生児期間の曝露は決定的要素だったと委員会は長期食餌研究から結論付けた。起爆された細胞の母集団に増加を誘導する新生児段階期間の決定的な事象は鑑定されないでいる。

サッカリンの物理化学的特性と試験管内実験分析と生体内実験分析の結果からサッカリンの遺伝子毒物効果を委員会は考慮した。生理的 pH で、サッカリンはほとんど陰イオンとしてだけで存在する。その様にして、DNA と結合しようとする求電子性の化学発癌物質に親化合物は似ていないし、親化合物は生体内実験の DNA と結合する事も見せていないでいる。何故なら、それは代謝されないからである、それは活動代謝産物に変えられていない。これに反して、幾つかの生体内実験と試験管内実験の遺伝子毒物性分析で染色体異常誘発性活動をサッカリンナトリウムは顕している。高濃度サッカリンナトリウムがこれらの分析に使われているので、染色体異常誘発性活動が高濃度染色体レベルのイオンバランスによって起こり得ると示唆されている。染色体異常誘発性活動は長期研究の結果とサッカリンナトリウムの腫瘍起爆促進物研究の結果と不一致でもある。

雄のネズミの尿路上皮のサッカリン（普通5%かそれ以上）の高濃度食餌の増生活動と腫瘍形成促進活動に必要な条件は増加されたナトリウムイオン濃度と上昇した pH の尿濃度である。膀胱発癌性を促進し、膀胱上皮増生を誘発する事を他の有機酸陰イオンの高濃度食餌が示しているので、同じ条件の下で、この反応はサッカリンに限ったわけではないと見える。有機酸とそのナトリウム塩の間に観察された腫瘍促進活動の特異性は親有機酸分子の尿濃度に無関係であった。

The Committee was not convinced that the available evidence implicated alpha_{2u}-globulin in bladder carcinogenesis. The Committee also noted that a proposed mechanism of action involving enhanced microbial activities in the gut, resulting from excess undigested carbohydrates and protein in rats administered saccharin in the diet had been investigated without any conclusive evidence.

The epidemiological studies on saccharin did not show any evidence that saccharin ingestion increases the incidence of bladder cancer in human populations.

The Committee accepted that, on the basis of data reviewed to date, it would be inappropriate to consider the bladder tumours induced in male rats by sodium saccharin to be relevant to the assessment of a toxicological hazard to humans.

4. EVALUATION

In re-assessing saccharin, the Committee considered that the 1% dietary level in the most recent 2-generation feeding study in rats, equivalent to 500 mg/kg bw/day, was appropriate for establishing an intake causing no relevant toxicological effects. This was based on the observation that, although dose levels of up to 7.5% sodium saccharin in the diet had no adverse effect on survival, the animals demonstrated a marked disturbance of homeostasis at levels of 3% and higher. In particular, persistent dose-related decreases in body weight gain in the presence of increased food consumption are indicative of decreased biological performance and were probably related to the inhibitory effects of saccharin on carbohydrate and protein digestion. A no-effect level of 500 mg/kg bw/day was also observed in a long-term toxicity study in monkeys reviewed at the twenty-sixth meeting (Annex 1, reference 60).

The Committee allocated a group ADI of 0-5 mg/kg bw/day to saccharin and its calcium, potassium, and sodium salts, based on the NOEL of 500 mg/kg bw/day in the 2-generation long-term feeding study in rats and a safety factor of 100.

5. REFERENCES

- AKDAS, A., KIRKALI, Z. & BILIR, N. (1990). Epidemiological case-control study on the etiology of bladder cancer in Turkey. *Eur. Urol.*, 17, 23-26.
- ANDERSON, R.L., FRANCIS, W.R. & LEFEVER, F.R. (1987a). Effects of dietary carbohydrate type and content on the response of male rats to dietary sodium saccharin. *Food Chem. Toxicol.* 25, 271-275.
- ANDERSON, R.L., LEFEVER, F.R. & MAURER, J.K. (1987b). Effect of inherent urine output on the response of male rats to 7.5% dietary sodium saccharin. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 641-643.
- ANDERSON, R.L., LEFEVER, F.R. & MAURER, J.K. (1988a). The effect of various saccharin forms on the gastro-intestinal tract, urine and bladder of male rats. *Food Chem. Toxicol.*, 26, 665-669.
- ANDERSON, R.L., LEFEVER, F.R. & MAURER, J.K. (1988b). Comparison of the responses of male rats to dietary sodium saccharin exposure initiated during nursing with responses to exposure initiated at weaning. *Food Chem. Toxicol.*, 26, 899-907.
- ANDERSON, R.L., LEFEVER, F.R., MILLER, N.S. & MAURER, J.K. (1989). Comparison of the bladder response to indole and sodium saccharin ingestion by male rats. *Food Chem. Toxicol.* 27, 777-779.

入手できた実証例が膀胱発癌性における $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンと関係あったと委員会は確信しなかった。サッカリン食餌投与に関するネズミの過剰な未消化炭水化物と未消化蛋白質の結果になる胃内の活発化された微生物活動を含む行為について発議されたメカニズム活動は決定的証拠無しに調査されていたと委員会は記録もした。

人間の母集団に膀胱癌の発生率をサッカリン摂取が増加させるという証拠をサッカリンの疫学的研究は示さなかった。

現在までに再考されたデータを基礎にして、サッカリンナトリウムによって雄ネズミに誘発した膀胱腫瘍を人間にも当てはめて毒物的危険性があるという評価は不適切であろうと委員会は認識した。

4. 評価

サッカリンを再評価して、最近のネズミの2世代食餌研究の500 mg/kg bw/day 相当の1%濃度食餌は毒物影響を起こす摂取と認める事は不適切だと委員会は考えた。7.5%までのサッカリンナトリウム食餌が生存障害影響を有さなかったけれども、3%とそれ以上の濃度で恒常性の著しい障害を動物が見せたという観察をこの見解は基礎にした。特に、食物摂取の増加にも拘わらず、生化学的減少結果を投与依存持続性体重減少が示しているし、おそらく、炭水化物消化と蛋白質消化においてサッカリンの抑制影響に関係した。第26回会議で再考されたサル長期毒物研究で500 mg/kg bw/day の濃度も影響ないと観察された。(Annex 1, reference 60)

ネズミの2世代長期食餌研究で500 mg/kg bw/day のNOELを基礎にして、サッカリンのカルシウム塩、カリウム塩とナトリウム塩の摂取に関して、ADI 0-5 mg/kg bw/day と100%の安全率を委員会は割り当てた。

5. 参考文献

左頁参照

- ARNOLD, D.L., MOODIE, C.A., GRICE, H.C., CHARBONNEAU, S.M., STAVRIC, B., COLLINS, B.T., MCGUIRE, P.F., ZAWIDZKA, Z.Z. & MUNRO, I.C. (1980). Long-term toxicity of ortho-toluenesulfonamide and sodium saccharin in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 52, 113-152.
- ASHBY, J. (1985). The genotoxicity of sodium saccharin and sodium chloride in relation to their cancer promoting properties. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 507-519.
- ASHBY, J. & ISHIDATE, M. (1986). Clastogenicity *in vitro* of the Na, K, Ca and mg salts of saccharin; and of magnesium chloride; consideration of significance. *Mutation Res.*, 163, 63-73.
- AUERBACH, O. & GARFINKEL, L. (1989). Histologic changes in the urinary bladder in relation to cigarette smoking and use of artificial sweeteners. *Cancer*, 64, 983-987.
- BALL, L.M. (1973). The metabolism of saccharin and related compounds. Report 4 from the Department of Biochemistry, St. Mary's Hospital Medical School, London, U.K. Unpublished report submitted to WHO. Cited in the 1982 monograph (Annex 1, Ref 59).
- BALL, L.M., RENWICK, A.G. & WILLIAMS, R.T. (1977). The fate of [¹⁴C]saccharin in man, rat and rabbit and of 2-sulphamoyl[¹⁴C]benzoic acid in the rat. *Xenobiotica*, 7, 189-203.
- BRAVO, M.P., & DEL REY-CALERO, J. (1987). Bladder cancer and the consumption of alcoholic beverages in Spain. *Eur. J. Epidemiol.*, 3, 365-369.
- BRAVO, M.P., DEL REY-CALERO, J. & CONDE, M. (1987). Risk factors of bladder cancer in Spain. *Neoplasma*, 34, 633-637.
- BRUSICK, D. (1986). Genotoxic effects in cultured mammalian cells produced by low pH treatment conditions and increased ion concentrations. *Environmental Mutagenesis*, 8, 879-886.
- CARLBORG, F.W. (1985). A cancer risk assessment for saccharin. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 464-469.
- COHEN, S.M. & ELLWEIN, L.B. (1990). Cell proliferation in carcinogenesis. *Science*, 249, 1007-1011.
- COHEN, S.M. & ELLWEIN, L.B. (1991). Cell proliferation and bladder tumor promotion. *Chemically Induced Cell Proliferation: Implications for Risk Assessment*, 347-355. Wiley-Liss, Inc.
- COHEN, S.M. & GARLAND, E.M. (1992). Summary of recent results of research concerning the carcinogenicity of saccharin. Unpublished report.
- COHEN, S.M., ARAI, M., JACOBS, J.B. & FRIEDEL, G.H. (1979). Promoting effect of saccharin and DL-tryptophan in urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Res.*, 39, 1207-1217.
- COHEN, S.M., CANO, M., GARLAND, E.M. & EARL, R.A. (1989). Silicate crystals in urine and bladder epithelium of male rats fed sodium saccharin. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 30, 205.
- COHEN, S.M., FISHER, M.J., SAKATA, T., CANO, M., SCHOENIG, G.P., CHAPPEL, C.I. & GARLAND, E.M. (1990). Comparative analysis of the proliferative response of the rat urinary bladder to sodium

左頁参照

saccharin by light and scanning electron microscopy and autoradiography. *Scanning Microscopy*, 4, 135-142.

COHEN, S.M., ELLWEIN, L.B., OKAMURA, T., MASUI, T., JOHANSSON, S.L., SMITH, R.A., WEHNER, J.M., KHACHAB, M., CHAPPEL, C.I., SCHOENIG, G.P., EMERSON, J.L. & GARLAND, E.M. (1991). Comparative bladder tumour promoting activity of sodium saccharin, sodium ascorbate, related acids and calcium salts in rats. *Cancer Res.*, 51, 1766-1777.

COHEN-ADDAD, N., CHATTERJEE, M., BEKERSKY, I. & GLUMENTHAL, H.P. (1986). *In utero* exposure to saccharin: A threat? *Cancer Letters*, 32, 151-154.

COLBURN, N.H., BRUEGGE, W.F., BATES, J.R., GRAY, R.H., ROSSEN, J.D., KELSEY, W.H. & SHIMADA, T. (1978). Correlation of anchorage-independent growth with tumorigenicity of chemically transformed mouse epidermal cells. *Cancer Research*, 38, 624-634.

DEBIEC-RYCHTER, M. & WANG, C.Y. (1990). Induction of DNA synthesis by sodium phenobarbital, uracil, and sodium saccharin in urinary bladder of the F344 rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 105, 345-349.

ELCOCK, M. & MORGAN, R.W. (1992). Update on artificial sweeteners and bladder cancer. Unpublished report.

FISHER, M.J., SAKATA, T., TIBBELS, T.S., SMITH, R.A., PATIL, K., KHACHAB, M., JOHANSSON, S.L. & COHEN, S.M. (1989). Effect of sodium saccharin and calcium saccharin on urinary parameters in rats fed Prolab 3200 or AIN-76 diet. *Food Chem. Toxicol.*, 27, 1-9.

FREDERICK, C.B., DOOLEY, K.L., KODELL, R.L., SHELDON, W.G. & KADLUBAR, F.F. (1989). The effect of lifetime sodium saccharin dosing on mice initiated with the carcinogen 2-acetylaminofluorene. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 12, 346-357.

FUJITA, J., YOSHIDA, O., YUASA, Y., RHIM, J.S., HATANAKA, M. & AARONSON S.A. (1984). Ha- ras oncogenes are activated by somatic alterations in human urinary tract tumours. *Nature*, 309, 464-466.

FUJITA, J., SRIVASTAVA, S.K., KRAUS, M.H., RHIM, J.S., TRONICK, S.R. & AARONSON, S.A. (1985). Frequency of molecular alterations affecting ras protooncogenes in human urinary tract tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 82, 3849-3853.

FUKUSHIMA, S., ARAI, M., NAKANOWATARI, J., HIBINO, T., OKUDA, M. & ITO, N. (1983a). Differences in susceptibility to sodium saccharin among different strains of rats and other animal species. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 74, 8-20.

FUKUSHIMA, S., HAGIWARA, A., OGISO, T., SHIBATA, M. & ITO, N. (1983b). Promoting effects of various chemicals in rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-nitroso- n-butyl-(4-hydroxybutyl)amine. *Food Chem. Toxicol.*, 21, 59-68.

FUKUSHIMA, S., IMAIDA, K., SAKATA, T., OKAMURA, T., SHIBATA, M. & ITO, N. (1983c). Promoting effects of sodium-L-ascorbate on two-stage urinary bladder carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, 43, 4454-4457.

FUKUSHIMA, S., KURATA, Y., SHIBATA, M., IKAWA, E. & ITO, N. (1983d). Promoting effect of sodium o-phenylphenate and o-phenylphenol on two-stage urinary bladder carcinogenesis in rats. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 74, 625-632.

左頁参照

FUKUSHIMA, S., KURATA, Y., SHIBATA, M., IKAWA, E. & ITO, N. (1984). Promotion by ascorbic acid, sodium erythorbate and ethoxyquin of neoplastic lesions in rats initiated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Cancer Letters*, 23, 29-37.

FUKUSHIMA, S., SHIBATA, M., SHIRAI, T., TAMANO. & ITO, N. (1986a). Roles of urinary sodium ion concentration and pH in promotion by ascorbic acid of urinary bladder carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, 46, 1623-1626.

FUKUSHIMA, S., SHIBATA, M., KURATA, Y., TAMANO, S. & MASUI, T. (1986b). Changes in the urine and scanning electron microscopically observed appearance of the rat bladder following treatment with tumor promoters. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 77, 1074-1082.

FUKUSHIMA, S., THAMAVIT, W., KURATA, Y. & ITO, N. (1986c). Sodium citrate; a promoter of bladder carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 77, 1-4.

FUKUSHIMA, S., OGISO, T., KURATA, Y., SHIBATA, M. & KAKIZOE, T. (1987a). Absence of promotion potential for calcium L-ascorbate, L-ascorbic dipalmitate, L-ascorbic stearate and erythorbic acid on rat urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Letters*, 35, 17-25.

FUKUSHIMA, S., SHIBATA, M., SHIRAI, T., KURATA, Y., TAMANO, S. & IMAIDA, K. (1987b). Promotion by L-ascorbic acid of urinary bladder carcinogenesis in rats under conditions of increased urinary K ion concentration and pH. *Cancer Res.*, 47, 4821-4824.

FUKUSHIMA, S., IMAIDA, K., SHIBATA, M., TAMANO, S., KURATA, Y. & SHIRAI, T. (1988a). L-Ascorbic acid amplification of second-stage bladder carcinogenesis promotion by NaHCO_3 . *Cancer Res.*, 48, 6317-6320.

FUKUSHIMA, S., SHIRAI, T., HIROSE, M. & ITO, N. (1988b). Significance of L-ascorbic acid and urinary electrolytes in promotion of rat bladder carcinogenesis. In *Diet, Nutrition and Cancer*, edited by Y. Hagashi, et al., pp 159-168. Japan. Sci. Soc. Press/VNU Sci. Press., Utrecht, The Netherlands.

FUKUSHIMA, S., INOUE, T., UWAGAWA, S., SHIBATA, M. & ITO, N. (1989). Co-carcinogenic effects of NaHCO_3 or o-phenylphenol-induced rat bladder carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 10, 1635-1640.

FUKUSHIMA, S., UWAGAWA, S., SHIRAI, T., HASEGAWA, R. & OGAWA, K. (1990). Synergism by sodium L-ascorbate but inhibition by L-ascorbic acid for sodium saccharin promotion of rat two-stage bladder carcinogenesis. *Cancer Res.*, 50, 4195-4198.

GARLAND, E.M., PARR, J.M., WILLIAMSON, D.S. & COHEN, S.M. (1989a). *in vitro* cytotoxicity of the sodium, potassium and calcium salts of saccharin, sodium ascorbate, sodium citrate and sodium chloride. *Toxic. in Vitro*, 3, 201-205.

GARLAND, E.M., SAKATA, T., FISHER, M.J., MASUI, T. & COHEN, S.M. (1989b). Influences of diet and strain on the proliferative effect on the rat urinary bladder induced by sodium saccharin. *Cancer Res.*, 49, 3789-3794.

GARLAND, E.M., KRAFT, P.L., SHAPIRO, R., KHACHAB, M., PATIL, K., ELLWEIN, L.B. & COHEN, S.M. (1991a). Effects of *in utero* and postnatal sodium saccharin exposure on the nutritional status of the young rat. I. Effects at 30 days post-birth. *Food Chem. Toxicol.*,

左頁参照

GARLAND, E.M., SHAPIRO, R., KRAFT, P.L., MATTSON, B.J., PARR, J.M. & COHEN, S.M. (1991b). Effects of *in utero* and postnatal sodium saccharin exposure on the nutritional status of the young rat. II. Dose response and reversibility. *Food Chem. Toxicol.*, 29, 669-679.

GARLAND, E.M., ST. JOHN, M., EKLUND, S.H., MATTSON, B.J., JOHNSON, L.S., CANO, M. & COHEN, S.M. (1992a). A comparison of the effects of sodium saccharin in NBR rats and in intact and castrated male F344 rats. Unpublished report.

GARLAND, E.M., SHAPIRO, R., WEHNER, J.M., JOHNSON, L.S., MATTSON, B.J. & COHEN, S.M. (1992b). The effects of dietary iron and folate supplementation on the nutritional and physiological changes produced in weanling rats by sodium saccharin exposure. Unpublished report.

de GROOT, A.P., FERON, V.J. & IMMEL, H.R. (1988). Induction of hyperplasia in the bladder epithelium of rats by a dietary excess of acid or base: implications for toxicity/carcinogenicity testing. *Food Chem. Toxicol.*, 26, 425-434.

HAMBURGER, A.W. & SALMON, S.E. (1977). Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science*, 197, 461-463.

HASEGAWA, R. & COHEN, S.M. (1986). The effect of different salts of saccharin on the rat urinary bladder. *Cancer Letters*, 30, 261-268.

HASEGAWA, R., SO, J.M.K., CANO, M., ISSENBERG, P., KLEIN, D.A., WALKER, B.A., JONES, J.W., SCHNELL, R.C., MERRICK, B.A., DAVIES, M.H., MCMILLAN, D.T. & COHEN, S.M. (1984). Bladder freeze ulceration and sodium saccharin feeding in the rat: Examination for urinary nitrosamines, mutagens and bacteria, and effects on hepatic microsomal enzymes. *Fed. Chem. Toxicol.*, 22, 935-942.

HASEGAWA, R., GREENFIELD, R.E., MURASAKI, G., SUZUKI, T. & COHEN, S.M. (1985). Initiation of urinary bladder carcinogenesis in rats by freeze ulceration with sodium saccharin promotion. *Cancer Res.*, 45, 1469-1473.

HASHIMURA, T., KANAMARU, H. & YOSHIDA, O. (1987). Soft agar colony formation of bladder cells during carcinogenesis induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine and application to detection of bladder cancer promoters. *Jpn. J. Cancer Res.*, 78, 473-479.

HEATON, G.D. & RENWICK, A.G. (1991a). The effects of high dietary concentrations of saccharin on *in vitro* metabolism of xenobiotics in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 29, 297-303.

HEATON, G.D. & RENWICK, A.G. (1991b). The effects of high dietary concentrations of sodium saccharin on *in vivo* metabolism of xenobiotics in rats. *Food Chem. Toxicol.* 29, 305-312.

HIBINO, T., HIRASAWA, Y. & ARAI, M. (1985). Morphologic changes in the urinary bladder and stomach after long-term administration of sodium saccharin in F344 rats. *Cancer Letters*, 29, 255-263.

HICKS, R.M., WAKEFIELD, J. ST. J., & CHOWANIEC, J. (1973). Co-carcinogenic action of saccharin in the chemical induction of bladder cancer. *Nature (London)*, 243, 347-349.

左頁参照

HICKS, R.M. CHOWANIEC, J. & WAKEFIELD, J.S.J. (1978). Experimental induction of bladder tumors by a two-stage system. *Carcinogenesis*, Vol.2. *Mechanisms of Tumor Promotion and Cocarcinogenesis*. Edited by T.J. Slaga, A. Sivak and R.K. Boutwell, Raven Press, New York, pp 475-489.

IMAIDA, K. & WANG, C.Y. (1986). Effect of sodium phenobarbital and sodium saccharin in AIN-76A diet on carcinogenesis initiated with N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide and N,N-dibutyl nitrosamine in male F344 rats. *Cancer Res.*, 46, 6160-6164.

INOUE, T., IMAIDA, K., SUZUKI, E., OKADA, M. & FUKUSHIMA S. (1988). Combined effects of L-ascorbic acid, citric acid or their sodium salts on tumor induction by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine or N-ethyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in the rat urinary bladder. *Cancer Letters*, 40, 265-273.

ISCOVICH, J., CASTELLETTO, R., ESTEVE, J., MUNOZ, N., COLANZE, R., CORONEL, A., DEAMEZOLA, I., TASSI, V. & ARSLAN, A. (1987). Tobacco smoking, occupational exposure and bladder cancer in Argentina. *Int. J. Cancer*, 40, 734-740.

JONES, R. F. & WANG, C.Y. (1989). Activation of Ha- ras-1 genes in bladder tumors induced in rats with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) or N[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT). *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res.*, 30, 436.

KITAHORI, Y., SHIMOYAMA, T. OHSHIMA, M., MATSUKI, H., HASHIMOTO, H., MINAMI, S., KONISHI, N. & HIASA, Y. (1988). Effects of trisodium nitrilotriacetate monohydrate, nitrilotriacetic acid and ammonium chloride on urinary bladder carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Letters*, 43, 105-110.

KNOWLES, M.A. & JANI, H. (1986). Multistage transformation of cultured rat urothelium : the effects of N-methyl-N-nitrosourea, sodium saccharin, sodium cyclamate and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Carcinogenesis*, 7, 2059-2065.

KNOWLES, M.A., JANI, H. & HICKS, R.M. (1986). Induction of morphological changes in the urothelium of cultured adult rat bladder by sodium saccharin and sodium cyclamate. *Carcinogenesis*, 7, 767-774.

KROES, B., PETERS, P.W.J., DERKVEN, J.M., VERSCHUUREN, H.O., DE VRIES, T. & VAN ESCH, G.J. (1977). Long term toxicity and reproduction study (including a teratogenicity study) with cyclamate, saccharin and cyclohexylamine. *Toxicology*, 8, 285-300.

LAMM, L.M., REICHERT, D.F. & LAMM, D.L. (1989). Rapid screening of potential human bladder carcinogens: genotoxicity in meiosis repair deficient *Drosophila melanogaster*. *J. Urol.*, 142, 1356-1358.

LAWRIE, C.A. & RENWICK, A.G. (1987). The effect of saccharin ingestion on the excretion of microbial amino acid metabolites in rat and man. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 91, 415-428.

LAWRIE, C.A., RENWICK, A.G. & SIMS, J. (1985). The urinary excretion of bacterial amino-acid metabolites by rats fed saccharin in the diet. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 445-450.

LEONARD, A. & LEONARD, E.D. (1979). Mutagenicity test with saccharin in the male mouse. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 2,

左頁参照

LETHCO, E.J. & WALLACE, W.C. (1975). The metabolism of saccharin in animals. *Toxicology*, 3, 287-300.

LOK, E., IVERSON, F. & CLAYSON, D.B. (1982). The inhibition of urease and proteases by sodium saccharin. *Cancer Letters*, 16, 163-169.

LORKE, D. & MACHEMER, L. (1975). Effect of several weeks treatment of male and female mice with saccharin, cyclamate or cyclohexylamine sulfate on fertility and dominant lethal effects. *Hum. Genet.*, 26, 199. Cited In: Ashby, 1985.

LUTZ, W.K. & SCHLATTER, CH. (1977). Saccharin does not bind to DNA of liver or bladder in the rat. *Chemico-Biol. Interactions.*, 19, 153.

MACHEMER, L. & LORKE, D. (1973). Dominant lethal test in the mouse for mutagenic effects of saccharine. *Humangenetik*, 19, 193-198.

MALLET, A.K., ROWLAND, I.R. & BEARNE, C.A. (1985). Modification of rat caecal microbial biotransformation activities by dietary saccharin. *Toxicology*, 36, 253-262.

MANN, A.M., MASUI, T., CHLAPOWSKI, F.J., OKAMURA, T., BORGESON, C.D. & COHEN, S.M. (1991). *in vitro* transformation of rat bladder epithelium by 2-amino-4-(5-nitro-2-furyl)thiazole. *Carcinogenesis*, 12, 417-422.

MASUI, T., SAKATA, T., GARLAND, E.M., ELLWEIN, L.B., JOHANSSON, S.L. & COHEN, S.M. (1988a). Effects of sodium saccharin (NaS) on rat fetal and neonatal urinary bladder. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 29, Abs. 642.

MASUI, T., SHIRAI, T., IMAIDA, K., UWAGAWA, S. & FUKUSHIMA, S. (1988b). Effects of urinary crystals induced by acetazolamide, uracil and diethylene glycol on urinary bladder carcinogenicity in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine - initiated rats. *Toxicol. Lett.*, 40, 119-126.

MASUI, T., MANN, A.M., GARLAND, E.M., OKAMURA, T., JOHANSSON, P.L. & COHEN, S.M. (1990). Point mutation in codons 12 and 61 of the Ha- ras gene in rat urinary bladder carcinomas induced by N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide. *Molecular Carcinogenesis*, 3, 210-215.

MASUI, T., MANN, A.M., MACATEE, T.L., OKAMURA, T., GARLAND, E.M., FUJII, H., PELLING, J.C. & COHEN, S.M. (1991). H- ras mutations in rat urinary bladder carcinomas induced by N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide and sodium saccharin, sodium ascorbate, or related salts. *Cancer Res.*, 51, 3471-3475.

MATTHEWS, H.B., FIELDS, M. & FISHBEIN, L. (1973). Saccharin: Distribution and excretion of a limited dose in the rat. *J. Agric. Fd. Chem.*, 21, 916-919. Cited In: Renwick, 1985b.

MILO, G.E., OLDHAM, J.W., NOYES, I., LEHMAN, T.A., KUMARI, L., WEST, R.W., KADLUBAR, F.F. (1988). Cocarcinogenicity of saccharin and N-alkylnitrosoureas in cultured human diploid fibroblasts. *J. of Toxicol. Environ. Health*, 24, 413-421.

MINEGISHI, K.I., ASAHINA, M. & YAMAHA, T. (1972). The metabolism of saccharin and the related compounds in rats and guinea pigs. *Chem.*

左頁参照

Pharm. Bull., Tokyo, 20, 1351.

MOORE, M.M. & BROCK, K.H. (1988). High concentrations of sodium chloride induce a "positive" response at the TK locus of L5178Y/TK⁺ mouse lymphoma cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 12, 265-268.

MORGAN, R.A. & WONG, O. (1985). A review of epidemiological studies on artificial sweeteners and bladder cancer. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 529-533.

MORI, S., KURATA, Y., TAKEUCHI, Y., TOYAMA, M., MAKINO, S. & FUKUSHIMA, S. (1987). Influences of strain and diet on the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, 47, 3492-3495.

MURASAKI, G. & COHEN, S.M. (1983). Effects of sodium saccharin on urinary bladder epithelial regenerative hyperplasia following freeze ulceration. *Cancer Res.*, 43, 182-187.

NAKANISHI, K., HAGIWARA, A., SHIBATA, M., IMAIDA, K. TATEMATSU, M. & ITO, N. (1980a). Dose response of saccharin in induction of urinary bladder hyperplasias in Fischer 344 rats pretreated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 65, 1005-1010.

NAKANISHI, K., HIROSE, M., OGISO, T., HASEGAWA, R., ARAI, M., & ITO, N. (1980b). Effects of sodium saccharin and caffeine on the urinary bladder of rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 71, 490-500.

NAKANISHI, K., FUKUSHIMA, S., HAGIWARA, A., TAMANO, S., & ITO, N. (1982). Organ-specific promoting effects of phenobarbital sodium and sodium saccharin in the induction of liver and bladder tumors in male F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 68, 497-500.

NICHOLSON, L.J. & JANI, H. (1988). Effects of sodium cyclamate and sodium saccharin on focus induction in explant cultures of rat bladder. *Int. J. Cancer*, 42, 295-298.

NORMAN, J.T., HOWLETT, A.R., SPACEY, G.D. & HODGES, G.M. (1987). Effects of treatment with N-methyl-N-nitrosourea, artificial sweeteners, and cyclophosphamide on adult rat urinary bladder *in vitro*. *Lab. Invest.*, 57, 429-438.

OKAMURA, T., GARLAND, E.M., MASUI, T., SAKATA, T., ST. JOHN, M. & COHEN, S.M. (1991). Lack of bladder tumor promoting activity in rats fed sodium saccharin in AIN-76A diet. *Cancer Res.*, 51, 1778-1782.

PARKER, K.R. & VON BORSTEL, R.C. (1987). Base-substitution and frameshift mutagenesis by sodium chloride and potassium chloride in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.*, 189, 11-14.

PIPER, J.M., MATANOSKI, G.M. & TONASCIA, J. (1986). Bladder cancer in young women. *Am. J. Epidemiol.*, 123, 1033-1042.

PITKIN, R.M., REYNOLDS, W.A., FILER, L.J. & KLING, T.G. (1971). Placental transmission and fetal distribution of saccharin. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 111, 280-286. Cited In: IARC, 1980.

PRASAD, O. & RAI, G. (1986). Mutagenicity of saccharin as evidenced by the induction of dominant lethals in albino mice. *Nat. Acad. Sci. Letters*, 9, 55-58.

左頁参照

- PRASAD, O. & RAI, G. (1987). Induction of chromosomal aberrations by prefeeding saccharin in albino mice. *Indian J. Exp. Biol.*, 25, 124-128.
- RENWICK, A.G. (1985). The disposition of saccharin in animals and man - a review. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 429-435.
- RENWICK, A.G. (1989). Saccharin: A toxicological evaluation. *Comments Toxicology*, 3, 289-305.
- RENWICK, A.G., THAKRAR, A., LAWRIE, C.A. & GEORGE, C.F. (1988). Microbial amino acid metabolites and bladder cancer, no evidence of promoting activity in man. *Human Toxicol.*, 7, 267-272.
- RISCH, H.A., BURCH, J.D., MILLER, A.B., HILL, G.B., STEELE, R. & HOWE, G.R. (1988). Dietary factors and the incidence of cancer of the urinary bladder. *Am. J. Epidemiol.*, 127, 1179-1191.
- ROBERTS, A. & RENWICK, A.G. (1985). The effect of saccharin on the microbial metabolism of tryptophan in man. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 451-455.
- SANJEEVA RAO, M. & QURESHI, A.B. (1972). Induction of dominant lethals in mice by sodium saccharin. *Indian J. Med. Res.*, 60, 599-603.
- SAWCZUK, I.S., WALSH, W., KING, W., OLSSON, C.A. & NGUYEN-HUU, C. (1987). Enhanced expression of Harvey- ras oncogene in FANFT-induced transitional cell carcinoma. *Urol. Int.*, 42, 321-325.
- SCHOENIG, G.P., GOLDENTHAL, E.I., GEIL, R.G., FRITH, C.H., RICHTER, W.R. & CARLBORG, F.W. (1985). Evaluation of the dose response and in utero exposure to saccharin in the rat. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 475-490.
- SHIBATA, M.A., HAGIWARA, A., TAMANO, S., ONO, S. & FUKUSHIMA S. (1989a). Lack of a modifying effect by the diuretic drug furosemide on the development of neoplastic lesions in rat two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J. Toxicol. Environ. Health*, 26, 255-265.
- SHIBATA, M.A., TAMANO, S., KURATA, Y., HAGIWARA, A., & FUKUSHIMA, S. (1989b). Participation of urinary Na⁺, K⁺, pH and L-ascorbic acid in the proliferative response of the bladder epithelium after the oral administration of various salts and/or ascorbic acid to rats. *Food Chem. Toxicol.*, 27, 403-413.
- SHIBATA, M., YAMADA, M., TANAKA, H., KAGAWA, M. & FUKUSHIMA, S. (1989c). Changes in urine composition, bladder epithelial morphology, and DNA synthesis in male F344 rats in response to ingestion of bladder tumor promoters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 99, 37-49.
- SIMS, J. & RENWICK, A.G. (1985). The microbial metabolism of tryptophan in rats fed a diet containing 7.5% saccharin in a two-generation protocol. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 437-444.
- SLATTERY, M.L., WEST, D.W. & ROBISON, L.M. (1988). Fluid intake and bladder cancer in Utah. *Int. J. Cancer*, 42, 17-22.
- SQUIRE, R.A. (1985). Histopathological evaluation of rat urinary bladders from the IRDC two-generation bioassay of sodium saccharin. *Food Chem. Toxicol.*, 23, 491-497.

左頁参照

SUZUKI, H. & SUZUKI, N. (1988). Mutagenicity of saccharin in a human cell strain. *Mutation Res.*, 209, 13-16.

SWEATMAN, T.W. & RENWICK, A.G. (1980). The tissue distribution and pharmacokinetics of saccharin in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 55, 18-31.

SWEATMAN, T.W., RENWICK, A.G. & BURGESS, C.D. (1981). The pharmacokinetics of saccharin in man. *Xenobiotica*, 11(8), 531-540.

TATEMATSU, M., MERA, Y., KOHDA, K., KAWAZOE, Y. & ITO, N. (1986). Ornithine decarboxylase activity and DNA synthesis in rats after long term treatment with butylated hydroxyanisole, sodium saccharin or phenobarbital. *Cancer Lett.*, 33, 119-124.

WILLIAMSON, D.S., NAGEL, D.L., MARKIN, R.S. & COHEN, S.M. (1987). Effects of pH and ions on the electronic structure of saccharin. *Food Chem. Toxicol.*, 25, 211-218.1

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY

WORLD HEALTH ORGANIZATION

**TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
FOOD COLOURS, EMULSIFIERS, STABILIZERS,
ANTI-CAKING AGENTS AND CERTAIN
OTHER SUBSTANCES**

FAO Nutrition Meetings Report Series
No. 46A WHO/FOOD ADD/70.36

The content of this document is the result of the deliberations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Rome, 27 May - 4 June 1969¹

Food and Agriculture Organization of the United Nations

World Health Organization

¹ Thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, in press; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., in press.

STEAROYL LACTYLATE, CALCIUM SALT and STEAROYL LACTYLATE, SODIUM SALT

Biochemical aspects

In vitro tests with lipase showed ready hydrolysis into stearic and lactic acid (Hodge, 1961). Rats fed the sodium or calcium salt excreted only traces of lactate in the faecal fat showed good utilization of the stearic acid moiety and of the calcium (Hodge, 1961).

Experiments comparing the metabolism of a mixture of 1 stearic acid and C¹⁴ labelled lactic acid with stearyl lactylate containing C¹⁴ in the lactic acid moiety, showed that 58 per cent. of the C¹⁴ in the physical mixture was excreted in the first 24 hours as CO₂ through the lungs and 61 per cent. of the lactic acid moiety similarly. There was no difference in C¹⁴ distribution and excretion in animals receiving lactate in either form. Thus lactate derived from stearyl lactylate is metabolized normally after prompt and quantitative

<180>

国際化学物質安全性計画

世界保健機構

食品着色料、乳化剤、安定剤、固結防止剤、およびその他の特定物質の毒性評価

FAO 栄養会合報告シリーズ No. 46A WHO/FOOD ADD/70.36

この文書の内容は、1969 年 5 月 27 日～6 月 4 日にかけて、ローマにて開催された FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議²における審議の成果である。

国連食糧農業機関

世界保健機構

ステアロイル乳酸のカルシウム塩、およびステアロイル乳酸のナトリウム塩

生化学分野

リパーゼを用いた *in vitro* 試験で、ステアリン酸および乳酸への速やかな加水分解が見られた (Hodge, 1961)。ラットに対して、そのナトリウム塩、またはカルシウム塩を与えると、ステアリン酸部分およびカルシウムは十分に活用され、糞中の脂肪には痕跡程度の乳酸塩が排出されたのみであった (Hodge, 1961)。

1-ステアリン酸と C^{14} 標識乳酸の混合物の代謝と、乳酸部分に C^{14} をもつステアロイル乳酸の代謝とを比較した実験から、単なる物理的な混合物の C^{14} の 58%が、肺を経由して CO_2 として、24 時間以内に排出され、それと同様に、乳酸部分の C^{14} の 61%が排出された。動物が、どちらの形状で乳酸塩を摂取しても、その C^{14} の分布ならびに排泄に差異は見られなかった。したがって、ステアロイル乳酸に由来する乳酸塩は、通常は、吸収に先立って、迅速かつ定量的に遊離されて代謝をうける (Hodge, 1961)。

² FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議の第 13 報告書、FAO 栄養会合報告シリーズ、印刷中；Wld Hlth Org.thechn.Rep. Ser.、印刷中。国連食品農薬部門

release prior to absorption (Hodge, 1961).

Acute toxicity

Four out of eight rats given 30 g/kg body-weight stearyl lactylate acid died but all eight rats in each group given 20 g or 25 g/kg body-weight survived. This is not a true LD50 estimation because much unabsorbed material was found in the stomach of the dead animals (Hodge, 1961).

Short-term studies

Rat. Calcium stearyl lactylate was fed to groups of five male rats at levels of 0.5 per cent., 2.0 per cent. and 12.5 per cent. in their diet for 43 days. At the two per cent. level and 12.5 per cent. level the relative liver weights were increased.

In a similar experiment on groups of 10 male and 10 female rats calcium stearyl lactylate was fed in the diet at levels of 0.5 per cent., 5.0 per cent. and 12.5 per cent. for 98 days. Growth was retarded at 5 per cent. and 12.5 per cent. and the relative weights of liver, stomach, heart, spleen and brain were increased at 12.5 per cent. No histological abnormalities were seen in kidneys, brain, lung, spleen and liver, but at the 12.5 per cent. level lipogranulomata were detected in the adipose tissue. No increase in stainable liver fat was seen. Urinalysis and blood morphology were normal. Radiological studies of femurs were normal indicating that the additional calcium in the diet had no effect on body load (Hodge, 1961). Ten male rats received five per cent. calcium stearyl lactylate in their diet and developed slightly greater relative liver weights. On the other hand, 20 male rats fed five per cent. sodium stearyl lactylate showed no difference in relative liver weight between test and control rats.

Twenty male rats received 5 per cent. sodium stearyl lactylate for 28 days with 20 controls on stock diet. After 28 days the experimental group was also returned to normal diet and observed for another three months. Groups of five rats were sacrificed 32, 60, 90 and 140 days. Relative liver weights were slightly higher in each test group except in animals examined after 90 days (Hodge, 1961).

Further experiments were undertaken to elucidate the effect of different levels of calcium stearyl lactylate on relative liver weights as well as the effect of the fat level of the diet on relative liver weights. The relative liver weights became normal when rats returned to stock diets. When diets contained physical mixtures of stearic acid, lactic acid and calcium carbonate instead of calcium stearyl lactylate they produced comparable relative liver weights (Hodge, 1961).

Groups of 25 rats received diets containing 0 per cent., 0.1, 1.0 per cent., 2 per cent., 3 per cent., 4 per cent., 5 per cent. and 7.5 per cent. of calcium stearyl lactylate. At the two highest levels there was growth retardation with relative liver weight increase. Groups of five male rats were given diets containing either 15 per cent. lard or 10 per cent lard + five per cent. calcium stearyl lactylate for 30 days. The test group grew at a lower rate but relative liver weights were less than in the controls. Groups of 10 rats received diets containing five per cent. of calcium palmityl lactylate or calcium oleyl lactylate for 30 days. All test groups grew slower and had markedly raised relative liver weights compared with five per cent. calcium stearyl lactylate. Kidney weights were normal for all groups and histological examination of liver, kidneys and fatty tissues revealed no abnormalities in any of these groups (Hodge, 1961),

急性毒性

ラット 8 匹に対して、30 g/kg 体重量のステアロイル乳酸を与えたグループでは、その中の 4 匹が死亡したが、20 g/kg 体重量の、または 25 g/kg 体重量のステアロイル乳酸を与えたグループでは、8 匹すべてが生き残った。死亡ラットの胃には多量の非吸収物質が見つかっていることから、これが正しい LD₅₀ (50%致死量) の推定値ではない (Hodge, 1961)。

短期試験

ラット

雄のラット 5 匹で構成されるグループに対してステアロイル乳酸カルシウムをそれぞれ 0.5%、2.0%、12.5% 含んだ餌を 43 日間与えた。その結果、2.0% グループおよび 12.5% グループの肝臓の相対重量が増加した。

同様の実験で、1 群、雄 10 匹雌 10 匹からなるラットに対して、0.5%、5.0%、12.5% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、98 日間にわたりそれぞれ与えた。その結果、5.0% 群および 12.5% 群に成長遅延が見られ、12.5% 群には肝臓、胃、心臓、脾臓、および脳に、相対重量の増加が見られた。腎臓、脳、肺、脾臓、および肝臓には、組織学的な異常所見は見られなかったが、12.5% 群では、脂肪組織に脂肪肉芽腫が見られた。肝臓に染色可能な脂肪の増加は認められなかった。尿検査および血液形態検査は正常であった。また大腿骨の放射線検査が正常であったことから、餌に添加されたカルシウムが身体負荷に影響しないことを示している (Hodge, 1961)。5.0% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を与えられた 10 匹の雄では、肝臓の相対重量がわずかに増えた。一方、5.0% のステアロイル乳酸ナトリウムを含む餌を与えられた 20 匹の雄では、試験ラットと対照ラットとの間に、肝臓の相対重量の違いはみられなかった。

雄のラット 20 匹で構成される群に対して、5.0% のステアロイル乳酸ナトリウムを、また、20 匹の対照群に対しては普通の餌を、28 日間にわたりそれぞれ与えた。28 日を経過した後に、試験群も普通餌に戻して、そして、さらに 3 ヶ月間にわたり観察を続けた。32 日目、60 日目、90 日目、そして 140 日目に、それぞれの群から 5 匹ずつを屠殺した。その結果、90 日後に検査を行ったラット以外は、肝臓の相対重量が、試験群でわずかに増加していた (Hodge, 1961)。

さらに、肝臓の相対重量に対するステアロイル乳酸カルシウムの影響のほか、肝臓の相対重量に対する食餌の脂肪量の影響を明らかにするために、種々の用量で実験を行った。その結果、普通餌に戻すと肝臓の相対重量は正常になった。餌にステアロイル乳酸カルシウムの代わりに、ステアリン酸、乳酸、炭酸カルシウムの物理的混合物を含む餌を投与した場合も、肝臓の相対重量は同じような増加を示した (Hodge, 1961)。

ラット 25 匹で構成される群に対して、0%、0.1%、1.0%、2%、3%、4%、5%、そして 7.5% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、それぞれ与えたところ、5% 群および 7.5% 群に、成長遅延と肝臓の相対重量の増加がみられた。1 群 5 匹の雄ラットに対して、15% のラード、または 10% ラードと 5% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌のいずれかを、30 日間にわたり与えた。試験群では、対照群と比較して、発育増加が少なく、肝臓の相対重量は対照群よりも低値を示した。1 群 10 匹のラットに対して、5% のパルミチル乳酸カルシウムを含む餌、または 5% オレイル乳酸カルシウムを含む餌のいずれかを、30 日間にわたり与えたところ、5% のステアロイル乳酸カルシウム群と比較して、すべての試験群で、発育緩徐および肝臓の相対重量の著しい増加が見られた。腎臓重量はすべての群で正常であり、また、肝臓、腎臓、および脂肪組織の組織学的検査でもこ

The appearance of lipogranulomata and the increased relative liver weight are related to the excessive intake of abnormal proportions of long-chain fatty acids. The balance between saturated and unsaturated fats (S:U ratio) in the human diet is about 0.6 if the diet contains 30 - 40 per cent. fat. Rats fed diets containing 35 - 50 per cent. saturated fatty acid products (palmitic acid, stearic acid, ethylstearate, monoglycerides and acetylated monoglycerides of hydrogenated lard) develop localized fat necrosis with formation of lipogranulomata. The condition is preventable by simultaneous feeding of cornoil and reversible by a return to normal diet (Cox & De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose et al., 1958).

Groups of five rats were maintained for periods up to six months on diets containing varying levels of calcium stearyl dilactylate (3 per cent. - 25 per cent.) and stearyl lactic acid (8 per cent. - 22 per cent.). The total fat content was 20 per cent. The outcome depended on the S:U ratio. The added fats were chosen to give ratios from 0.6 to 4.4. Growth was depressed with increasing percentage of calcium stearyl lactylate at 16 per cent. and higher levels and with 14 per cent. and above, for the acid. Mortality was high at levels of 20 per cent. and above. Relative liver weights were normal at S:U ratios of

0.6 (17 per cent. fat + 3 per cent. calcium stearyl lactylate or 17 per cent. fat + 2.6 stearyl lactic acid) but rose with higher ratios. Lipogranulomata appeared at ratio values beyond 1.4. The iodine number of depot fats reflected the variation in S:U ratio of the diet. Restoration to the basal ration containing 20 per cent. fat caused disappearance of lipogranulomata in four - six months. No histopathological abnormalities were seen (Hodge et al., 1964). In a repeat experiment with 40 male and 40 female rats fed 25 per cent. calcium stearyl lactylate or 118 per cent. stearyl lactic acid in their diet, all animals developed severe lipogranulomata with high mortality. Recovery was rapid if animals were placed on basal diet containing 20 per cent. fat (half cornoil, half lard). Growth rate recovered and any deaths occurring were unrelated to the diet (Hodge, 1961).

Dog. One male and three female beagles were fed a diet containing 7.5 per cent. calcium stearyl lactylate; another group of one male and three females acted as controls. After two years no noteworthy differences were observed between the two groups. Urinalysis and haematological findings remained normal. No gross or microscopic tissue changes were found attributable to administration of calcium stearyl lactylate. Liver weights were within normal range; nor did the livers differ in moisture, protein, lipids, ash or glycogen. Other organ weights were also normal. No adverse effects were observed in one dog receiving sodium stearyl lactylate in his diet for one month at a level of 7.5 per cent., then increased to 12.5 per cent. for two weeks and to 15 per cent. for another month. No changes occurred in the blood; organ weights and the microscopic appearance of the tissues were normal (Hodge, 1961).

Long-term studies

None available.

Comments

The metabolism of these substances has been studied satisfactorily. Despite the absence of long-term feeding studies it is possible to proceed with their evaluation. Extensive short-term studies in rats have shown that at levels below two per cent. in the diet there is no effect on growth or relative liver weight. The dog appears to be a less sensitive species. It would be desirable to carry out metabolic

これらの群で異常所見はなかった (Hodge, 1961)

脂肪肉芽腫の出現、および肝臓の相対重量の増加は、異常な比率の長鎖脂肪酸の過剰摂取に関係している。ヒトの食事における飽和脂肪 (S)、および不飽和脂肪 (U) のバランス (S : U 比) は、食事に 30~40% の脂肪が含まれている場合は、およそ 0.6 である。35~50% の飽和脂肪酸製品 (パルミチン酸、ステアリン酸、エチルステアリン酸、モノグリセリド、および水素化ラードのアセチル化モノグリセリド) を含む餌を与えたラットでは、脂肪肉芽腫の形成を伴う限局性脂肪壊死が認められた。この条件は、トウモロコシ油を同時に与えることで防止でき、また、正常餌に戻すことで回復することができる (Cox & De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose ら, 1958)。

1 群 5 匹のラットに対して、種々のレベルのステアリルジ乳酸カルシウム (3%~25%)、およびステアロイル乳酸 (8%~22%) を含む餌を、6 ヶ月間にわたり与えた。総脂肪量は 20% であった。得られる結果は S : U 比に依存していた。添加脂肪量を、S : U 比が 0.6~4.4 となるように設定した。発育の抑制が、16% 以上のステアロイル乳酸カルシウムを添加した場合と、14% 以上のステアロイル乳酸を添加した場合にみられた。死亡率は 20% 以上の群で高かった。肝臓の相対重量は、S : U 比が 0.6 (17% の脂肪と 3% のステアロイルラフチル酸カルシウム又は 17% の脂肪と 2.6% のステアロイルラクチリン酸) のときに正常であったが、その比率が上がると相対重量は増加した。脂肪肉芽腫は、S : U 比が 1.4 を超えた場合に出現した。貯蔵脂肪のヨウ素価は、餌の S : U 比の変化を反映していた。20% の脂肪を含む基礎餌に戻すことにより、4~6 ヶ月以内に脂肪肉芽腫が消滅した。組織学的に異常所見は認められなかった (Hodge ら, 1964)。ラットの雄 40 匹と雌 40 匹に対して、25% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌、または 18% (<訳注>本文の 118% は誤り) のステアロイル乳酸を含む餌を与える反復投与実験では、すべてのラットに、高い死亡率を伴い重度の脂肪肉芽腫が形成された。それらの動物を 20% の脂肪 (トウモロコシ油とラードが半々) を含む基礎餌に変えると回復は速かった。成長率が回復し、また、発生したすべての死亡例も餌とは無関係となった (Hodge, 1961)。

イヌ

ビーグル犬の雄 1 匹と雌 3 匹からなる試験群に対して、7.5% のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を与えた。雄 1 匹と雌 3 匹からなる群を、対照群として用いた。2 年間を経過しても、これらの 2 群間に特記すべき差異は観察されなかった。尿検査と血液学的所見は正常であった。肉眼検査や顕微鏡検査では、ステアロイル乳酸カルシウムの投与に結びつけることのできる組織的变化はまったく発見できなかった。肝臓重量は正常範囲内であり、肝臓の水分量、タンパク質、脂質、灰分、グリコーゲンにも差異は認められなかった。他器官の重量も正常であった。1 匹のイヌに対して、7.5% ステアロイル乳酸ナトリウムを含む餌を 1 ヶ月間与えたところ、有害作用は見られず、その後、ステアロイル乳酸ナトリウム量を 12.5% に増やして、2 週間与え、さらに、15% まで増やして 1 ヶ月間投与した。血液中に変化は起こっていなかった。器官の重量および組織の顕微鏡的所見も正常であった。 (Hodge, 1961)

長期試験

入手可能な資料はなし。

コメント

これらの物質の代謝については十分に研究されてきた。長期の食餌研究がなされていないにもかかわらず、その評価を進めることが可能である。ラットを用いた広範囲にわたる短期試験から、

studies in man to ascertain species differences.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect in the rat.

0.5 per cent. (= 5000 ppm) in the diet equivalent to 250 mg/kg body-weight per day.

Estimate of acceptable daily intake for man

mg/kg body-weight

Temporary acceptance

0 - 2.5

Further work required by June 1972

See specification Ref. 19, Annex 1.

REFERENCES

Ambrose, A. M., Robbins, D. J. & Cox, A. J. (1958) Fd Res., 23, 536

Cox, A. J. & De Eds, F. (1958) Amer. J. Path., 34, 263

Herting, D. C. & Crain, R. C. (1958) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 98, 347

Hodge, H. C., Maynard, E. A., Downs, W. L. & Panner, B. (1964) Toxic. appl. Pharmac., 6, 350

Hodge, H. C. (1961) Unpublished report to the C. J. Patterson Co. submitted by Markel, Hill & Byerley, 1969

See Also:

Toxicological Abbreviations

これらの物質の餌への含有率が2%未満であれば、発育や肝臓の相対重量に影響しないことが示された。イヌは感受性の低い動物種であるようである。ヒトに対する代謝試験を実施して、動物種間の差異を確かめることが望ましい。

評価

ラットで、毒性作用を引き起こさないレベル。

餌の0.5% (= 5,000 ppm) で、250 mg/kg 体重量／日に相当。

ヒトにおける許容1日摂取量の推定

暫定許容値：0～2.5 (mg/kg 体重量)

1972年6月までにさらなる研究が求められた。

付属文書1の規格参考文献19を参照。

参考文献

(左頁参照)

WORLD HEALTH ORGANIZATION

WHO Food Additives Series 1972, No. 1

**TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
ENZYMES, MODIFIED STARCHES AND
CERTAIN OTHER SUBSTANCES**

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Rome, 16-24 June 1971¹

World Health Organization

Geneva

1972

¹ Fifteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1972, No. 488; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1972, No. 50.

The monographs contained in the present volume are also issued by the Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, as FAO Nutrition Meetings Report Series, No. 50A

(c) FAO and WHO 1972

STEAROYL LACTYLIC ACID, CALCIUM AND SODIUM SALTS

Biological data

Biochemical aspects

In vitro hydrolysis with lipase proceeded readily to form stearic and lactic acid (Hodge, 1961). Rats fed either salt of this acid excreted only traces of lactate in the faecal fat with good utilization of stearic acid and calcium (Hodge, 1961).

世界保健機構

WHO 食品添加物シリーズ 1972、No. 1

酵素、改変でんぷん、および、それに類する物質についての毒性評価

この出版物に含まれている評価は、1971 年 6 月 16 日～24 日にわたり、ローマにて開催された FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議³によって作成されたものである。

世界保健機構

ジュネーブ

1972 年

この巻に含まれているモノグラフも、ローマで開催された国連食糧農業機関によって、FAO 栄養会合報告シリーズ、No. 50A として発行されたものである。

(c) FAO および WHO (1972 年)

ステアロイル乳酸、カルシウム塩、およびナトリウム塩

生物学的データ

生化学分野

リパーゼを用いた *in vitro* 試験で、ステアリン酸および乳酸への速やかな加水分解がみられた (Hodge, 1961)。ラットに対して、そのナトリウム塩またはカルシウム塩を与えると、ステアリン酸部分およびカルシウムは十分に活用され、糞中の脂肪には痕跡程度の乳酸塩が排出されたのみであった (Hodge, 1961)。

³ FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会の第 15 報告書、Wld Hlth Org. thechn. Rep. Ser. (WHO 技術報告シリーズ)、1972 年、No. 488；FAO 栄養会合報告シリーズ、1972 年、No. 50。

Experiments comparing the metabolism of mixed stearic acid and ^{14}C -lactic acid with calcium ^{14}C -stearoyl lactylate (lactic acid labelled) showed 58 per cent. excretion of the ^{14}C of the physical mixture and 60 per cent. of the ^{14}C -moiety as $^{14}\text{CO}_2$ within 24 hours. There was no difference in C^{14} -distribution and excretion between the two groups. Thus lactate derived from calcium stearoyl lactylate is metabolized normally (Hodge, 1955).

Acute toxicity

Animal	Route	LD_{50} (mg/kg body-weight)	Reference
rat	oral	over 25 000	Schuler & Thornton, 1952

Short-term studies

Rat

Groups of 5 male rats received CaSL at levels of 0.5, 2.0 and 12.5 per cent. in their diet for 43 days. No animal died but the weights of liver, heart, brain, stomach and testes were increased at the 12.5 per cent. level, relative liver weight was increased at the 2 per cent. level and growth was reduced at the 2 and 12.5 per cent. level (Hodge, 1953).

In a paired feeding study, groups of 10 rats were given 0 or 5 per cent. CaSL for 27 days. The test group showed slightly lower food efficiency. Liver weight of the test group was increased but the histology was normal except for a slight increase in glycogen. In another paired feeding study, groups of 10 male and 10 female rats received either 0.5 per cent. CaSL, or 12.5 per cent. of a 41:59 mixture of calcium lactate and stearic acid. The test groups grew a little better but had raised liver weight. Histology of livers and kidneys was normal in all groups and X-rays of femurs were comparable (Hedge, 1953a).

Groups of 5 male rats received either 41:59 mixtures of calcium lactate and stearic acid for 32 days or 41:59 mixtures of sodium lactate and stearic acid for 52 days at 0, 0.5, 2 and 10 per cent. of the diet. At the 10 per cent. level the sodium lactate group had a slightly reduced growth, but the organ weights of brain, stomach, spleen, lung and testes were raised. Histology was normal. Some organ weights were reduced at the 10 per cent. level in the calcium lactate group but histology was normal (Hedge, 1953).

Groups of 8 male and 8 female rats received either 3.5 per cent. cellulose fibre or 3.5 per cent. stearoyl lactylate in their diet for 90 days. There was no difference between groups in growth rate, food consumption, faecal fat elimination, gross and histopathology (Schuler et al., 1952).

Groups of 10 male and 10 female rats received NaSL at 0, 0.5, 5 and 12.5 per cent. in their diet for 102 days. Growth was reduced at the highest level. No abnormalities compared with controls were seen as regards urinalysis, haematology, and faecal excretion. At the highest test level the weights of liver, brain, stomach and spleen were increased but gross and histopathology were normal (Hodge, 1953).

In a similar experiment on groups of 10 male and 10 female rats, CaSL

ステアリン酸と ^{14}C 標識乳酸の混合物と、ステアロイル乳酸カルシウム（乳酸に標識されている）の代謝を比較した実験により、単なる物理的な混合物に含まれる ^{14}C の 58%と、 ^{14}C 標識乳酸部分の 60%がともに、 $^{14}\text{CO}_2$ として 24 時間以内に排泄されたことが示された。 ^{14}C の分布と排泄に関してこの 2 つの群の間に差異はみられなかった。したがって、ステアロイル乳酸カルシウム塩に由来する乳酸塩は正常に代謝される (Hodge, 1955)。

急性毒性

動物	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg body-weight)	文献
ラット	経口	25 000 以上	Schuler & Thornton, 1952

短期試験

ラット

1 群 5 匹の雄ラットからなる群に対して、0.5%、2.0%、12.5%のステアロイル乳酸カルシウム (CaSL) をそれぞれ含んだ餌を 43 日間にわたり与えた。死亡動物はなかったが、12.5%群の肝臓、心臓、脳、胃、および精巣の重量が増加したほか、肝臓の相対重量が 2%群で増加し、発育の遅延が 2%と 12.5%群でみられた。(Hodge, 1953)。

1 群ラット 10 匹からなる群に対して CaSL をそれぞれ 0%または 5.0%含む餌を 27 日間与え、1 対比較混餌試験を行った。その結果、試験群では食餌効率がわずかに低下していた。試験群の肝臓重量は増加したが、組織像ではグリコーゲンがわずかに増加しているほかは正常であった。他の 1 対比較混餌試験では、1 群雄 10 匹と雌 10 匹のラットに対して、0.5% CaSL を含む餌、あるいは 12.5%の乳酸カルシウムとステアリン酸の 41:59 の混合物のいずれかを与えたところ、試験群の発育はわずか良好だったが、肝臓重量は増加していた。肝臓および腎臓の組織像はすべての群で正常であり、大腿骨の X 線はどの群も同様であった (Hodge, 1953a)。

1 群雄 5 匹からなるラットのに対して、餌にそれぞれ 0%、0.5%、2%、10%の割合で乳酸カルシウムとステアリン酸を 41:59 で混ぜたものを 32 日間、または、乳酸ナトリウムとステアリン酸 (NaSL) を 41:59 で混ぜたものを 52 日間与えた。その結果、乳酸ナトリウムとステアリン酸の混合物 10%の群にわずかな発育遅延が見られたが、脳、胃、脾臓、肺、精巣の重量は増加した。組織検査は正常であった。また乳酸カルシウムとステアリン酸の混合物 10%群では、いくつかの器官の重量が減少したが、組織像は正常であった (Hodge, 1953)。

1 群雄 8 匹と雌 8 匹からなるラットに対して、3.5%のセルロース繊維を含む餌、または 3.5%のステアロイル乳酸を含む餌のいずれかを、90 日間にわたり与えた。成長率、摂餌量、糞中の脂肪排泄、肉眼所見、および組織像について、群間に差異は見られなかった (Schuler ら、1952)。

1 群雄 10 匹と雌 10 匹からなるラットに対して、0%、0.5%、5.0%、12.5%の NaSL をそれぞれ含む餌を 102 日間与えた。その結果、最高用量群に発育の低下が認められた。また、対照群との比較から、尿検査、血液検査、糞排泄において異常は見られなかった。最高用量群では肝臓、脳、胃、脾臓の重量が増加していたが、肉眼所見および病理組織学的所見では正常であった (Hodge, 1953)。

was fed in the diet at levels of 0.5, 5 and 12.5 per cent. for 98 days. Growth was slightly retarded at 5 per cent. and significantly reduced at 12.5 per cent. and the relative weights of liver, stomach, heart, spleen and brain were increased at 12.5 per cent. No histological abnormalities were seen in kidneys, brain, lung, spleen and liver, but at the 12.5 per cent. level lipogranulomata were detected in the adipose tissue. No increase in stainable liver fat was seen. Urinalysis and blood morphology were normal. Radiological studies of femurs were normal and showed that the additional dietary calcium had no effect on body load (Hodge, 1953a).

Groups of 12 rats were fed for 4 weeks diets containing 0 or 5 per cent. CaSL or a mixture of calcium lactate, stearic acid and lactic acid. The animals on CaSL grow best with better food efficiency and better calcium deposition in the bones than in controls. The liver weights of the CaSL group were greater than those of controls or the group on the mixed compounds. No other pathological changes were seen (Wisconsin Alumni Research Foundation, 1955).

Twenty male rats received 0 or 5 per cent. NaSL for 28 days and 30 male rats received 0 or 5 per cent. CaSL for 32 days. Relative liver weights were normal compared with controls in the CaSL group but raised slightly in the NaSL group. Groups of 5 rats were sacrificed at 32, 60, 90 and 140 days. Liver weights were normal in the NaSL group after 90 days (Hodge, 1954).

Further experiments were undertaken to elucidate the effect of different levels of calcium and sodium on relative liver weights as well as the effect of the fat level of the diet on relative liver weights. The relative liver weights became normal when rats returned to stock diets. When diets contained physical mixtures of stearic acid, lactic acid and calcium carbonate, they produced comparable liver weights (Hodge, 1954). Similar tests using 5 per cent. CaSL, 4.3 per cent. stearyl lactic acid or 3 per cent. stearic acid in 24 groups of 5 male rats each at varying levels of dietary fat showed slightly reduced body-weight in the groups receiving CaSL or stearyl lactic acid. Mortality was not affected by treatment. The relative liver weights were comparable for all groups and liver histology revealed no abnormalities (Hedge, 1959). In a similar experiment 4 groups of 32 male rats each were fed diets containing 0 or 5 per cent. CaSL, 3.11 per cent. calcium stearate or 3.2 per cent. sodium stearate. The group on CaSL grew better than all other groups. The relative liver weights of the controls were higher than all other groups (C. J. Patterson Co., 1956). The chemical composition of the liver was determined in groups of 10 male and 10 female rats given 0 or 5 per cent. CaSL for 1 month. Only slight changes in glycogen, protein and lipid content were noted, lipid and protein being slightly increased compared with controls (Hedge, 1955a).

Groups of 25 rats received diets containing 0, 0.1, 1.0, 2, 3, 4, 5, and 7.5 per cent. of calcium stearyl lactylate for 1 month. At the two highest levels there was growth retardation with relative liver weight increase. Groups of 5 male rats were given diets containing either 15 per cent. lard or 10 per cent. lard plus 5 per cent. calcium stearyl lactylate for 30 days. The test group grew at a lower rate but relative liver weights were less than in the controls. Groups of 10 rats received diets containing 5 per cent. of calcium palmityl lactylate or calcium oleyl lactylate for 30 days. All test groups grew slower and had markedly raised relative liver weights compared with 5 per cent. calcium stearyl lactylate. Kidney weights were normal for all groups and histological examination of liver, kidneys and fatty tissues revealed no abnormalities in any of these groups (Hedge, 1956).

同様の実験で、1 群雄 10 匹雌 10 匹からなるラットに対して、0.5%、5.0%、12.5%の CaSL を含む餌を、98 日間にわたりそれぞれ与えた。その結果、5.0%群に发育遅延がわずかにみられ、12.5%群には有意な遅延がみられたほか、12.5%群では、肝臓、胃、心臓、脾臓、および脳の相対重量の増加がみられた。腎臓、脳、肺、脾臓、および肝臓には組織学的な異常所見はみられなかったが、12.5%群では脂肪組織に脂肪肉芽腫が認められた。染色可能な肝脂肪の増加はみられなかった。尿検査および血液形態検査は正常であった。また大腿骨の放射線検査が正常であったことから、餌に添加されたカルシウムが身体負荷に影響を与えないことを示している (Hodge, 1953a)。

1 群 12 匹のラットからなる群に対して、0%または 5%の CaSL を含む餌、または乳酸カルシウムとステアリン酸と乳酸の混合物を含む餌を 4 週間与えた。その結果、CaSL 群は、发育が良く、対照群よりも飼料効率や骨へのカルシウム蓄積が優れていた。CaSL 群では、肝臓重量も対照群や混合化合物群に比べて高かった。その他に病的変化は見られなかった (Wisconsin Alumni Research Foundation, 1955)。

雄のラット 20 匹に対して、0%または 5.0%の NaSL を含む餌を、28 日間にわたり与え、また、雄のラット 30 匹に対しては、0%または 5.0%の CaSL を含む餌を 32 日間にわたり与えた。その結果、対照群と比較して、CaSL 群の肝臓の相対重量は正常であったが、NaSL 群ではわずかに増加していた。次に、ラット 5 匹をそれぞれ、32 日目、60 日目、90 日目、および、140 日目に、屠殺した。90 日後の NaSL 群ラットの肝臓重量は正常であった (Hodge, 1954)。

その後の実験が、肝臓の相対重量に対する食餌に含まれる脂肪量の影響のほか、肝臓の相対重量に対するカルシウムおよびナトリウムの種々の用量での影響を明らかにするために実施された。その結果、肝臓の相対重量は普通餌に戻すと正常になった。餌が、ステアリン酸、乳酸、炭酸カルシウムの物理的混合体の場合にも、肝臓重量は同様の変化を示した (Hodge, 1954)。同様の試験で、1 群雄ラット 5 匹からなる 24 群に対して、5%の CaSL、4.3%のステアロイル乳酸、3%のステアリン酸について、飼料中の脂肪量を種々に変えてそれぞれの餌に添加して与えた結果、CaSL 群やステアロイル乳酸群でわずかな体重低下がみられた。死亡率には、処置によって影響を認めなかった。肝臓の相対重量は、すべての群で同様であり、肝臓の組織像にも異常はなかった (Hodge, 1959)。各群雄ラット 32 匹からなる 4 群に対する同様の試験では、0 または 5%の CaSL、3.11%のステアリン酸カルシウム、または、3.2%のステアリン酸ナトリウムを含む餌をそれぞれ与えた。その結果、CaSL 群は他の群に比べて发育が良好であった。対照群の肝臓の相対重量は、他の群に比べて高かった (C.J. Patterson Co., 1956)。肝臓の化学組成が、各群雄 10 匹と雌 10 匹からなるラットに対して、0 または 5%の CaSL を含む餌を 1 ヶ月間投与して調べられた。その結果、グリコーゲン、タンパク質、脂質の量にわずかな変化が見られたのみで、特に、脂質およびタンパク質の量は対照群と比べてわずかに増加していた (Hodge, 1955a)。

1 群 25 匹のラットからなる群に対して、0%、0.1%、1.0%、2%、3%、4%、5%、そして 7.5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、1 ヶ月間、それぞれに与えた。高用量 2 群に、发育遅延と肝臓の相対重量の増加がみられた。次に、1 群雄 5 匹のラットに対して、15%のラード、または 10%ラードと 5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、30 日間にわたりそのいずれかを与えた。試験群では、发育の低下がみられたが、肝臓の相対重量は対照群より低値を示した。1 群 10 匹のラットに対して、5%のパルミチル乳酸カルシウムを含む餌、または 5%オレイル乳酸カルシウムを含む餌のいずれかを、30 日間にわたり与えた。すべての試験群で发育低下がみられ、肝臓の相対重量は、5%のステアロイル乳酸カルシウム群と比較して、著しい増加がみられた。腎

The appearance of "lipogranulomata" and the increased relative liver weight are related to the excessive intake of abnormal proportions of long-chain fatty acids. The balance between saturated and unsaturated fats (S:U ratio) in the human diet is about 0.6 if the diet contains 30-40 per cent. fat. Rats fed diets containing 35-50 per cent. saturated fatty acid products (palmitic acid, stearic acid ethylstearate, monoglycerides and acetylated monoglycerides of hydrogenated lard) develop localized fat necrosis with formation of "lipogranulomata". The condition is preventable by simultaneous feeding of cornoil and reversible by a return to normal diet (Cox & De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose et al., 1958).

Groups of 5 rats were maintained for periods up to 6 months on diets containing varying levels of calcium stearyl dilactylate (3 per cent. to 25 per cent.) and stearyl lactylate acid (8 per cent. to 22 per cent.). The total fat content was 20 per cent. The outcome depended on the S:U ratio. The added fats were chosen to give ratios from 0.6-4.4. Growth was depressed with increasing percentage of calcium stearyl lactylate at 16 per cent. and higher levels and with 14 per cent. and above for the acid. Mortality was high at levels of 20 per cent. and above. Relative liver weights were normal at S:U ratios of 0.6 (17 per cent. fat plus 3 per cent. calcium stearyl lactylate or 17 per cent. fat plus 2.6 stearyl lactylate acid) but rose with higher ratios. Lipogranulomata appeared at ratio values beyond 1.4. The iodine number of depot fats reflected the variation in S:U ratio of the diet. Restoration to the basal ration containing 20 per cent. fat caused disappearance of lipogranulomata in 4-6 months. No histopathological abnormalities were seen (Hodge et al., 1964). In a repeat experiment with 40 male and 40 female rats fed 25 per cent. calcium stearyl lactylate or 18 per cent. stearyl lactylate acid in their diet, all animals developed severe lipogranulomata with high mortality. Recovery was rapid if animals were placed on basal diet containing 20 per cent. fat (half cornoil half lard). Growth rate recovered and any deaths occurring were unrelated to the diet (Hodge, 1960).

Dog

One male and 3 female beagles were fed a diet containing 7.5 per cent. calcium stearyl lactylate; another group of 1 male and 3 females served as controls. After 2 years, no noteworthy differences were observed between the 2 groups. Urinalysis and haematological findings remained normal. No gross or microscopic changes were found attributable to administration of calcium stearyl lactylate. Liver weights were within normal range; nor did the livers differ in moisture, protein, lipids, ash or glycogen content. Other organ weights were also normal. No adverse effects were observed in 1 dog receiving sodium stearyl lactylate in his diet for 1 month at a level of 7.5 per cent., then increased to 12.5 per cent. for 2 weeks and to 15 per cent. for another month. No changes occurred in the blood; organ weights and the microscopic appearance of the tissues were normal (Hodge, 1955b).

Long-term studies

None available.

Comments

Adequate biochemical studies have revealed no differences between the metabolism of C^{14} -labelled lactic acid when present as stearyl ester and when mixed with an equivalent amount of stearic acid. Since all the lactic acid derived from stearyl lactylate enters the metabolic pool after complete hydrolysis of the ester, it is justifiable to

臓重量はすべての群で正常であり、また、肝臓、腎臓、および脂肪組織の組織学的検査でも異常所見を示した群はなかった (Hodge, 1956)。

“脂肪肉芽腫”の出現、および肝臓の相対重量の増加は、異常な割合の長鎖脂肪酸の過剰摂取と関係がある。ヒトの食事における飽和脂肪と不飽和脂肪のバランス (S:U 比) は、食事に 30~40%の脂肪が含まれている場合は、およそ 0.6 である。ラットに、35~50%の飽和脂肪酸製品 (パルミチン酸、ステアリン酸、エチルステアリン酸、モノグリセリド、および水素化ラードのアセチル化モノグリセリド) を含む餌を与えると、“脂肪肉芽腫”の形成を伴う限局性脂肪壊死が認められる。この状態は、コーン油を同時に与えることで防止でき、また、正常餌に戻すことで回復することができる (Cox & De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose ら, 1958)。

1 群 5 匹のラットに対して、種々のレベルのステアロイル乳酸カルシウム (3%~25%)、およびステアロイル乳酸 (8%~22%) を含む餌を、6 ヶ月間にわたり与え続けた。総脂肪量は 20% であった。得られる結果は S:U 比に依存していた。S:U 比を 0.6~4.4 となるように、添加脂肪量を設定した。16%以上のステアロイル乳酸カルシウムを添加した場合と、14%およびそれ以上のステアロイル乳酸を添加した場合に、発育が抑制された。死亡率は 20%以上の群で高かった。肝臓の相対重量は、S:U 比が 0.6 (17%の脂肪+3%のステアロイル乳酸カルシウム、または 17%の脂肪+2.6%のステアロイルラクチリン酸) のときに正常であったが、その比率が上がるとともに相対重量も増加した。脂肪肉芽腫は、S:U 比が 1.4 を超えた場合に出現した。貯蔵脂肪のヨウ素価は、餌の S:U 比の変化を反映した。20%の脂肪を含む基礎餌に戻すことにより、4~6 ヶ月以内に脂肪肉芽腫が消失した。病理組織学的に異常所見は認められなかった (Hodge ら, 1964)。ラットの雄 40 匹と雌 40 匹を用いた再度の実験で、25%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌、または 18%のステアロイル乳酸を含む餌を与えたところ、すべての動物に、高い死亡率を伴う重度の脂肪肉芽腫が発生した。それらのラットに 20%の脂肪 (トウモロコシ油とラードが半々) を含む基礎餌に変えると回復は速かった。成長率は回復し、すべての死亡例の発生が餌とは関係のないものでなった (Hodge, 1960)。

イヌ

ビーグル犬の雄 1 匹と雌 3 匹からなる試験群に対して、7.5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を与えた。対照群として、雄 1 匹と雌 3 匹からなる群を設置した。2 年間を経過しても、これらの 2 群間に特記すべき差異は観察されなかった。尿検査と血液学的所見は正常であった。肉眼的検査や顕微鏡的検査では、ステアロイル乳酸カルシウムの投与に起因するような変化は見出されなかった。肝臓重量は正常範囲内であり、肝臓の水分量、タンパク質、脂質、灰分、グリコーゲンにも差異は認められなかった。他の器官重量も正常であった。1 匹にイヌに対して、7.5%ステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を 1 ヶ月間与え、その後、ステアロイル乳酸カルシウム量を 12.5%に増やして 2 週間与え、さらに、15%まで増やして 1 ヶ月間投与したところ、有害作用は見られなかった。血液に変化は起こらなかった。器官重量および組織の顕微鏡的所見も正常であった。 (Hodge, 1955 b)

長期試験

入手可能な資料なし。

コメント

適切な生化学的検査では、 ^{14}C 標識乳酸をステアリン酸エステルとして用いた場合の代謝と、 ^{14}C

consider conventional long-term studies as unnecessary. Extensive short-term studies in rats have given variable and inconsistent results as regards levels producing no-effect on growth or relative liver weight. Taking into account that the dog appears to be a less sensitive species, it appears reasonable to accept the 2 per cent. level as no-effect level for the rat. It would be desirable to confirm that man metabolizes stearyl lactylate similarly to other species.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect in the rat

Two per cent. (20 000 ppm) in the diet equivalent to 1000 mg/kg body-weight/day.

Estimate of acceptable daily intake for man mg/kg body-weight

Unconditional acceptance	0-20
--------------------------	------

REFERENCES

- Ambrose, A. M., Robbins, D. J. & Cox, A. J. (1958) Fed. Res., 23, 536
- Cox, A. J. & De Eds, F. (1958) Amer. J. Path., 34, 263
- Herting, D. C. & Crain, R. C. (1958) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 98, 347
- Hodge, H. C. (1953) Unpublished report dated 2 April 1953, submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1953a) Unpublished report dated 18 July 1953, submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1954) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1955) Unpublished report dated 30 June 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge H. C. (1955a) Unpublished report dated 28 May 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1955b) Unpublished report dated 17 June 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1956) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1959) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1960) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1961) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C., Maynard, R. A., Downs, W. L. & Panner, B. (1954) Toxicol. appl. Pharmacol., 6, 350
- C. J. Patterson Co. (1956) Unpublished report

標識乳酸に相当量のステアリン酸を混ぜた場合の代謝との間に、特に違いが認められなかった。エステルを完全に加水分解した後に、ステアロイル乳酸由来のすべての乳酸が代謝プールに入るため、従来の長期試験は必要でないことが正当化されると思われる。ラットを用いて大規模な短期試験が行われたが、レベルを変えても発育や肝臓の相対重量に影響しないレベルに関して、様々で一貫性のない結果が得られている。イヌが感受性の低い種であることを考慮にいと、ラットに影響を与えないレベルを2%とするのが妥当であるように思われる。ステアロイル乳酸の代謝が、ヒトについても他の動物種と同様であることを確かめることが望ましい。

評価

ラットで毒性作用を引き起こさないレベル

飼料中 2% (= 20,000 ppm) で 1,000 mg/kg 体重量/日 に相当

ヒトにおける許容 1 日摂取量の推定

無条件許容値

mg/kg 体重量

0~20

参考文献

(左頁参照)

Schuler, M. N. & Thornton, M. H. (1952) Unpublished report submitted by Midwest Research Institute

Schuler, M. N., Kodras, R., Allebach, H. K. B. & Gilliam, W. S. (1952) Unpublished report submitted by Midwest Research institute

Wisconsin Alumni Research Foundation (1955) Unpublished report submitted by J. C. Patterson Co.

See Also:

Toxicological Abbreviations

Stearoyl lactic acid, calcium and sodium salts (WHO Food Additives Serie

左頁参照

Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Geneva, 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
Geneva
1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

STEAROYL LACTYLIC ACID, CALCIUM AND SODIUM SALTS

Explanation

These substances have been evaluated for acceptable daily intake by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1, Ref. No. 20 and 27) in 1969 and 1971.

The previously published monographs have been revised and are reproduced in their entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

In vitro hydrolysis with lipase proceeded readily to form stearic and lactic acid (Hodge, 1961). Rats fed either salt of this acid excreted only traces of lactate in the faecal fat with good utilization of stearic acid and calcium (Hodge, 1961).

Experiments comparing the metabolism of mixed stearic acid and ¹⁴C-lactic acid with calcium ¹⁴C-stearoyl lactylate (lactic acid labelled) showed 58% excretion of the ¹⁴C of the physical mixture and 60% of the ¹⁴C-moiety as ¹⁴CO₂ within 24 hours. There was no difference in C¹⁴-distribution and excretion between the two groups. Thus lactate derived from calcium stearoyl lactylate is metabolized normally (Hodge, 1955).

固結防止剤、抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、増粘剤を含む食品添加物の毒性評価

WHO 食品添加物シリーズ No. 5

この出版物に含まれている評価は、1973 年 6 月 25 日～7 月 4 日にジュネーブにて開催された FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議⁴によって作成されたものである。

世界保健機構

ジュネーブ

1974 年

ステアロイル乳酸、カルシウム塩、およびナトリウム塩

解説

これらの物質については 1969 年および 1971 年に、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議により、許容 1 日摂取量についての評価が行われた（付属文書 1 の参考文献 No. 20 および No. 27 を参照）。

過去に出版されたモノグラフを改訂して、以下にその全文を示した。

生物学的データ

生化学分野

リパーゼを用いた *in vitro* 試験で、ステアリン酸および乳酸への速やかな加水分解がみられた（Hodge, 1961）。ラットに対して、そのナトリウム塩またはカルシウム塩を与えると、ステアリン酸部分およびカルシウムは十分に活用され、糞中の脂肪には痕跡程度の乳酸塩が排出されたのみであった（Hodge, 1961）。

ステアリン酸と ^{14}C 標識乳酸の混合物と、ステアロイル乳酸カルシウム（乳酸に標識されている）の代謝を比較した実験により、単なる物理的な混合物に含まれる ^{14}C の 58%と、 ^{14}C 標識乳酸部分の 60%がともに、 $^{14}\text{CO}_2$ として 24 時間以内に排泄されたことが示された。 ^{14}C の分布と排泄に関してこの 2 つの群の間に差異はみられなかった。したがって、ステアロイル乳酸カルシウム塩に由来する乳酸塩は正常に代謝される（Hodge, 1955）。

⁴ FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会の第 17 報告書、*Wld Hlth Org. thechn. Rep. Ser.* (WHO 技術報告シリーズ)、1974 年、No. 539；FAO 栄養会合報告シリーズ、1974 年、No. 53。

TOXICOLOGICAL STUDIES

Acute toxicity

Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Reference
Rat	oral	over 25 000	Schuler & Thornton, 1952

Short-term studies

Rat

Groups of five male rats received CaSL at levels of 0.5, 2.0 and 12.5% in their diet for 43 days. No animal died but the weights of liver, heart, brain, stomach and testes were increased at the 12.5% level, relative liver weight was increased at the 2% level and growth was reduced at the 2 and 12.5% level (Hodge, 1953).

In a paired feeding study, groups of 10 rats were given 0 or 5% CaSL for 27 days. The test groups showed slightly lower food efficiency. Liver weight of the test group was increased but the histology was normal except for a slight increase in glycogen. In another paired feeding study, groups of 10 male and 10 female rats received either 0.5% CaSL or 12.5% of a 41:59 mixture of calcium lactate and stearic acid. The test groups grew a little better but had raised liver weight. Histology of livers and kidneys was normal in all groups and X-rays of femurs were comparable (Hodge, 1953a).

Groups of five male rats received either 41:59 mixtures of calcium lactate and stearic acid for 32 days or 41:59 mixtures of sodium lactate and stearic acid for 52 days at 0, 0.5, 2 and 10% of the diet. At the 10% level the sodium lactate group had a slightly reduced growth, but the organ weights of brain, stomach, spleen, lung and testes were raised. Histology was normal. Some organ weights were reduced at the 10% level in the calcium lactate group but histology was normal (Hodge, 1953).

Groups of eight male and eight female rats received either 3.5% cellulose fibre or 3.5% stearyl lactylate in their diet for 90 days. There was no difference between groups in growth rate, food consumption, faecal fat elimination, gross and histopathology (Schuler et al., 1952).

Groups of 10 male and 10 female rats received NaSL at 0, 0.5, 5 and 12.5% in their diet for 102 days. Growth was reduced at the highest level. No abnormalities compared with controls were seen as regards urinalysis, haematology, and faecal excretion. At the highest test level the weights of liver, brain, stomach and spleen were increased but gross and histopathology were normal (Hodge, 1953).

In a similar experiment on groups of 10 male and 10 female rats, CaSL was fed in the diet at levels of 0.5, 5 and 12.5% for 98 days. Growth was slightly retarded at 5% and significantly reduced at 12.5% and the relative weights of liver, stomach, heart, spleen and brain were increased at 12.5%. No histological abnormalities were seen in kidneys, brain, lung, spleen and liver, but at the 12.5% level lipogranulomata were detected in the adipose tissue. No increase in stainable liver fat was seen. Urinalysis and blood morphology were normal. Radiological studies of femurs were normal and showed that the

毒性試験

急性毒性

動物	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg bw)	文献
ラット	経口	25 000 以上	Schuler & Thornton, 1952

短期試験

ラット

1 群 5 匹の雄ラットからなる群に対して、0.5%、2.0%、12.5%のステアロイル乳酸カルシウム (CaSL) をそれぞれ含んだ餌を 43 日間にわたり与えた。死亡動物はなかったが、12.5%群の肝臓、心臓、脳、胃、および精巣の重量が増加したほか、肝臓の相対重量が 2%群で増加し、発育の遅延が 2%と 12.5%群でみられた。(Hodge, 1953)。

1 群ラット 10 匹からなる群に対して CaSL をそれぞれ 0%または 5.0%含む餌を 27 日間与え、1 対比較混餌試験を行った。その結果、試験群では食餌効率がわずかに低下していた。試験群の肝臓重量は増加したが、組織像ではグリコーゲンがわずかに増加しているほかは正常であった。他の 1 対比較混餌試験では、1 群雄 10 匹と雌 10 匹のラットに対して、0.5% CaSL を含む餌、あるいは 12.5%の乳酸カルシウムとステアリン酸の 41 : 59 の混合物のいずれかを与えたところ、試験群の発育はわずか良好だったが、肝臓重量は増加していた。肝臓および腎臓の組織像はすべての群で正常であり、大腿骨の X 線はどの群も同様であった (Hodge, 1953a)。

1 群雄 5 匹からなるラットのに対して、餌にそれぞれ 0%、0.5%、2%、10%の割合で乳酸カルシウムとステアリン酸を 41 : 59 で混ぜたものを 32 日間、または、乳酸ナトリウムとステアリン酸 (NaSL) を 41 : 59 で混ぜたものを 52 日間与えた。その結果、乳酸ナトリウムとステアリン酸の混合物 10%の群にわずかな発育遅延が見られたが、脳、胃、脾臓、肺、精巣の重量は増加した。組織所見は正常であった。また乳酸カルシウムとステアリン酸の混合物 10%群では、いくつかの器官の重量が低下していたが、組織像は正常であった (Hodge, 1953)。

1 群雄 8 匹と雌 8 匹からなるラットに対して、3.5%のセルロース繊維を含む餌、または 3.5%のステアロイル乳酸を含む餌のいずれかを、90 日間にわたり与えた。成長率、摂餌量、糞中の脂肪排泄、肉眼所見、および組織像について、群間に差異は見られなかった (Schuler ら、1952)。

1 群雄 10 匹と雌 10 匹からなるラットに対して、0%、0.5%、5.0%、12.5%の NaSL をそれぞれ含む餌を 102 日間与えた。その結果、最高用量群に発育の低下が認められた。また、対照群との比較から、尿検査、血液検査、糞排泄において異常は見られなかった。最高用量群では肝臓、脳、胃、脾臓の重量が増加していたが、肉眼所見および病理組織学的所見では正常であった (Hodge, 1953)。

同様の実験で、1 群雄 10 匹雌 10 匹からなるラットに対して、0.5%、5.0%、12.5%の CaSL を含む餌を、98 日間にわたりそれぞれ与えた。その結果、5.0%群に発育遅延がわずかにみられ、12.5%群には有意な遅延がみられたほか、12.5%群では、肝臓、胃、心臓、脾臓、および脳の相対重量の

additional dietary calcium had no effect on body load (Hodge, 1953a).

Groups of 12 rats were fed for four weeks diets containing 0 or 5% CaSL or a mixture of calcium lactate, stearic acid and lactic acid. The animals on CaSL grew best with better food efficiency and better calcium deposition in the bones than in controls. The liver weights of the CaSL group were greater than those of controls or the group on the mixed compounds. No other pathological changes were seen (Wisconsin Alumni Research Foundation, 1955).

Twenty male rats received 0 or 5% NaSL for 28 days and 30 male rats received 0 or 5% CaSL for 32 days. Relative liver weights were normal compared with controls in the CaSL group but raised slightly in the NaSL group. Groups of five rats were sacrificed at 32, 60, 90 and 140 days. Liver weights were normal in the NaSL group after 90 days (Hodge, 1954).

Further experiments were undertaken to elucidate the effect of different levels of calcium and sodium on relative liver weights as well as the effect of the fat level of the diet on relative liver weights. The relative liver weights became normal when rats returned to stock diets. When diets contained physical mixtures of stearic acid, lactic acid and calcium carbonate, they produced comparable liver weights (Hodge, 1954). Similar tests using 5% CaSL, 4.3% stearyl lactic acid or 3% stearic acid in 24 groups of five male rats each at varying levels of dietary fat showed slightly reduced body weight in the groups receiving CaSL or stearyl lactic acid. Mortality was not affected by treatment. The relative liver weights were comparable for all groups and liver histology revealed no abnormalities (Hodge, 1959). In a similar experiment four groups of 32 male rats each were fed diets containing 0 or 5% CaSL, 3.11% calcium stearate or 3.2% sodium stearate. The group on CaSL grew better than all other groups. The relative liver weights of the controls were higher than all other groups (C. J. Patterson Co., 1956). The chemical composition of the liver was determined in groups of 10 male and 10 female rats given 0 or 5% CaSL for one month. Only slight changes in glycogen, protein and lipid content were noted, lipid and protein being slightly increased compared with controls (Hodge, 1955a).

Groups of 25 rats received diets containing 0, 0.1, 1.0, 2, 3, 4, 5 and 7.5% of calcium stearyl lactylate for one month. At the two highest levels there was growth retardation with relative liver weight increase. Groups of five male rats were given diets containing either 15% lard or 10% lard plus 5% calcium stearyl lactylate for 30 days. The test group grew at a lower rate but relative liver weights were less than in the controls. Groups of 10 rats received diets containing 5% of calcium palmityl lactylate or calcium oleyl lactylate for 30 days. All test groups grew slower and had markedly raised relative liver weights compared with 5% calcium stearyl lactylate. Kidney weights were normal for all groups and histological examination of liver, kidneys and fatty tissues revealed no abnormalities in any of these groups (Hodge, 1956).

The appearance of "lipogranulomata" and the increased relative liver weight are related to the excessive intake of abnormal proportions of long-chain fatty acids. The balance between saturated and unsaturated fats (S:U ratio) in the human diet is about 0.6 if the diet contains 30 to 40% fat. Rats fed diets containing 35 to 50% saturated fatty acid products (palmitic acid, stearic acid ethylstearate, monoglycerides and acetylated monoglycerides of

hydrogenated lard) develop localized fat necrosis with formation of "lipogranulomata". The condition is preventable by simultaneous feeding of corn oil and reversible by a return to normal diet (Cox

増加がみられた。腎臓、脳、肺、脾臓、および肝臓には組織学的な異常所見はみられなかったが、12.5%群では脂肪組織に脂肪肉芽腫が認められた。染色可能な肝脂肪の増加はみられなかった。尿検査および血液形態検査は正常であった。また大腿骨の放射線検査が正常であったことから、餌に添加されたカルシウムが身体負荷に影響を与えないことを示している (Hodge, 1953a)。

1群12匹のラットからなる群に対して、0%または5%のCaSLを含む餌、または乳酸カルシウムとステアリン酸と乳酸の混合物を含む餌を4週間与えた。その結果、CaSL群は、発育が良く、対照群よりも飼料効率や骨へのカルシウム蓄積が優れていた。CaSL群では、肝臓重量も対照群や混合化合物群に比べて高かった。その他に病的変化は見られなかった(Wisconsin Alumni Research Foundation, 1955)。

雄のラット20匹に対して、0%または5.0%のNaSLを含む餌を、28日間にわたり与え、また、雄のラット30匹に対しては、0%または5.0%のCaSLを含む餌を32日間にわたり与えた。その結果、対照群と比較して、CaSL群の肝臓の相対重量は正常であったが、NaSL群ではわずかに増加していた。次に、ラット5匹を、それぞれ32日目、60日目、90日目、および、140日目に、屠殺した。90日後のNaSL群ラットの肝臓重量は正常であった (Hodge, 1954)。

その後の実験が、肝臓の相対重量に対する食餌に含まれる脂肪量の影響のほか、肝臓の相対重量に対するカルシウムおよびナトリウムの種々の用量での影響を明らかにするために実施された。その結果、肝臓の相対重量は普通餌に戻すと正常になった。餌が、ステアリン酸、乳酸、炭酸カルシウムの物理的混合体の場合にも、肝臓重量は同様の変化を示した (Hodge, 1954)。同様の試験で、1群雄ラット5匹からなる24群に対して、5%のCaSL、4.3%のステアロイル乳酸、3%のステアリン酸について、飼料中の脂肪量を種々に変えてそれぞれの餌に添加して与えた結果、CaSL群やステアロイル乳酸群でわずかな体重低下がみられた。死亡率には、処置によって影響を認めなかった。肝臓の相対重量は、すべての群で同様であり、肝臓の組織像にも異常はなかった (Hodge, 1959)。各群雄ラット32匹からなる4群に対する同様の試験では、0または5%のCaSL、3.11%のステアリン酸カルシウム、または、3.2%のステアリン酸ナトリウムを含む餌をそれぞれ与えた。その結果、CaSL群は他の群に比べて発育が良好であった。対照群の肝臓の相対重量は、他の群に比べて高かった (C.J. Patterson Co., 1956)。肝臓の化学組成が、各群雄10匹と雌10匹からなるラットに対して、0または5%のCaSLを含む餌を1ヶ月間投与して調べられた。その結果、グリコーゲン、タンパク質、脂質の量にわずかな変化が見られたのみで、特に、脂質およびタンパク質の量は対照群と比べてわずかに増加していた (Hodge, 1955a)。

1群25匹のラットからなる群に対して、0%、0.1%、1.0%、2%、3%、4%、5%、そして7.5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、1ヶ月間、それぞれに与えた。高用量2群に、発育遅延と肝臓の相対重量の増加がみられた。次に、1群雄5匹のラットに対して、15%のラード、または10%ラード+5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を、30日間にわたりそのいずれかを与えた。試験群では、発育の低下がみられたが、肝臓の相対重量は対照群より低値を示した。1群10匹のラットに対して、5%のパルミチル乳酸カルシウムを含む餌、または5%オレイル乳酸カルシウムを含む餌のいずれかを、30日間にわたり与えた。すべての試験群で発育低下がみられ、肝臓の相対重量は、5%のステアロイル乳酸カルシウム群と比較して、著しい増加がみられた。腎臓重量はすべての群で正常であり、また、肝臓、腎臓、および脂肪組織の組織学的検査でも異常所見を示した群はなかった (Hodge, 1956)。

& De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose et al., 1958).

Groups of five rats were maintained for periods up to six months on diets containing varying levels of calcium stearyl dilactylate (3 to 25%) and stearyl lactylate acid (8 to 22%). The total fat content was 20%. The outcome depended on the S:U ratio. The added fats were chosen to give ratios from 0.6 to 4.4. Growth was depressed with increasing percentage of calcium stearyl lactylate at 16% and higher levels and with 14% and above for the acid. Mortality was high at levels of 20% and above. Relative liver weights were normal at S:U ratios of 0.6 (17% fat plus 3% calcium stearyl lactylate or 17% fat plus 2.6% stearyl lactylate acid) but rose with higher ratios. Lipogranulomata appeared at ratio values beyond 1.4. The iodine number of depot fats reflected the variation in S:U ratio of the diet. Restoration to the basal ration containing 20% fat caused disappearance of lipogranulomata in four to six months. No histopathological abnormalities were seen (Hodge et al., 1964). In a repeat experiment with 40 male and 40 female rats fed 25% calcium stearyl lactylate or 18% stearyl lactylate acid in their diet, all animals developed severe lipogranulomata with high mortality. Recovery was rapid if animals were placed on basal diet containing 20% fat (half corn oil half lard). Growth rate recovered and any deaths occurring were unrelated to the diet (Hodge, 1960).

Dog

One male and three female beagles were fed a diet containing 7.5% calcium stearyl lactylate; another group of one male and three females served as controls. After two years, no noteworthy differences were observed between the two groups. Urinalysis and haematological findings remained normal. No gross or microscopic changes were found attributable to administration of calcium stearyl lactylate. Liver weights were within normal range; nor did the livers differ in moisture, protein, lipids, ash or glycogen content. Other organ weights were also normal. No adverse effects were observed in one dog receiving sodium stearyl lactylate in his diet for one month at a level of 7.5%, then increased to 12.5% for two weeks and to 15% for another month. No changes occurred in the blood; organ weights and the microscopic appearance of the tissues were normal (Hodge, 1955b).

Long-term studies

None available.

Comments:

Adequate biochemical studies have revealed no differences between the metabolisms of ¹⁴C-labelled lactic acid when present as stearyl ester and when mixed with an equivalent amount of stearic acid. Since all the lactic acid derived from stearyl lactylate enters the metabolic pool after complete hydrolysis of the ester, it is justifiable to consider conventional long-term studies as unnecessary. Extensive short-term studies in rats have given variable and inconsistent results as regards levels producing no-effect on growth or relative liver weight. The 2% level has been taken to be the no-effect level for the rat. The dog appears to be a less sensitive species. It would be desirable to confirm that man metabolizes stearyl lactylate similarly to other species.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 20 000 ppm (2%) in the diet equivalent to 1000 mg/kg bw.

“脂肪肉芽腫”の出現、および肝臓の相対重量の増加は、異常な割合の長鎖脂肪酸の過剰摂取と関係がある。ヒトの食事における飽和脂肪と不飽和脂肪のバランス（S：U比）は、食事に30～40%の脂肪が含まれている場合は、およそ0.6である。ラットに、35～50%の飽和脂肪酸製品（パルミチン酸、ステアリン酸、エチルステアリン酸、モノグリセリド、および水素化ラードのアセチル化モノグリセリド）を含む餌を与えると、“脂肪肉芽腫”の形成を伴う限局性脂肪壊死が認められる。この状態は、コーン油を同時に与えることで防止でき、また、正常餌に戻すことで回復することができる（Cox & De Eds, 1958; Herting & Crain, 1958; Ambrose ら、1958）。

1群5匹のラットに対して、種々のレベルのステアロイル乳酸カルシウム（3%～25%）、およびステアロイル乳酸（8%～22%）を含む餌で、6ヶ月間飼育した。総脂肪量は20%であった。得られる結果はS：U比に依存していた。S：U比を0.6～4.4となるように、添加脂肪量を設定した。16%以上のステアロイル乳酸カルシウムを添加した場合と、14%およびそれ以上のステアロイル乳酸を添加した場合に、発育が抑制された。死亡率は20%以上の群で高かった。肝臓の相対重量は、S：U比が0.6（17%の脂肪+3%のステアロイル乳酸カルシウム、または17%の脂肪+2.6%のステアロイルラクチリン酸）のときに正常であったが、その比率が上がるとともに相対重量も増加した。脂肪肉芽腫は、S：U比が1.4を超えた場合に出現した。貯蔵脂肪のヨウ素価は、餌のS：U比の変化を反映した。20%の脂肪を含む基礎餌に戻すことにより、4～6ヶ月以内に脂肪肉芽腫が消失した。病理組織学的に異常所見は認められなかった（Hodge ら、1964）。ラットの雄40匹と雌40匹を用いた再度の実験で、25%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌、または18%のステアロイル乳酸を含む餌を与えたところ、すべての動物に、高い死亡率を伴う重度の脂肪肉芽腫が発生した。それらのラットに20%の脂肪（トウモロコシ油とラードが半々）を含む基礎餌に変わると回復は速かった。成長率は回復し、すべての死亡例の発生が餌とは関係のないものとなった（Hodge, 1960）。

イヌ

ビーグル犬の雄1匹と雌3匹からなる試験群に対して、7.5%のステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を与えた。対照群として、雄1匹と雌3匹からなる群を設置した。2年間を経過しても、これらの2群間に特記すべき差異は観察されなかった。尿検査と血液学的所見は正常であった。肉眼的検査や顕微鏡的検査では、ステアロイル乳酸カルシウムの投与に起因するような変化は見出されなかった。肝臓重量は正常範囲内であり、肝臓の水分量、タンパク質、脂質、灰分、グリコーゲンにも差異は認められなかった。他の器官重量も正常であった。1匹にイヌに対して、7.5%ステアロイル乳酸カルシウムを含む餌を1ヶ月間与え、その後、ステアロイル乳酸カルシウム量を12.5%に増やして2週間与え、さらに、15%まで増やして1ヶ月間投与したところ、有害作用は見られなかった。血液中に変化は起こらなかった。器官重量および組織の顕微鏡的所見も正常であった。（Hodge, 1955 b）

長期試験

入手可能な資料はなし。

コメント

適切な生化学的検査では、 ^{14}C 標識乳酸をステアリン酸エステルとして用いた場合の代謝と、 ^{14}C 標識乳酸に相当量のステアリン酸を混ぜた場合の代謝との間に、特に違いが認められなかった。

Estimate of acceptable daily intake for man

0-20 mg/kg bw.

FURTHER WORK OR INFORMATION

Desirable: Studies confirming that this compound is metabolized by man in the same way as by other species.

REFERENCES

- Ambrose, A. M., Robbins, D. J. & Cox, A. J. (1958) Fed. Res., 23, 536
- Cox, A. J. & De Eds, F. (1958) Amer. J. Path., 34, 263
- Herting, D. C. & Crain, R. C. (1958) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 98, 347
- Hodge, H. C. (1953) Unpublished reported dated 2 April 1953, submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1953a) Unpublished reported dated 18 July 1953, submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1954) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1955) Unpublished report dated 30 June 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1955a) Unpublished report dated 28 May 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1955b) Unpublished report dated 17 June 1955 submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1956) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1959) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1960) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C. (1961) Unpublished report submitted by C. J. Patterson Co.
- Hodge, H. C., Maynard, E. A., Downs, W. L. & Panner, B. (1954) Toxicol. appl. Pharmacol., 6, 350
- C. J. Patterson Co. (1956) Unpublished report
- Schuler, M. N., Kodras, R., Allebach, H. K. B. & Gilliam, W. S. (1952) Unpublished report submitted by Midwest Research Institute
- Schuler, M. N. & Thornton, M. H. (1952) Unpublished report submitted by Midwest Research Institute
- Wisconsin Alumni Research Foundation (1955) Unpublished report submitted by J. C. Patterson Co.

See Also:

エステルを完全に加水分解した後に、ステアロイル乳酸由来のすべての乳酸が代謝プールに入るため、従来の長期試験は必要でないことが正当化されると思われる。ラットを用いて大規模な短期試験が行われたが、レベルを変えても発育や肝臓の相対重量に影響しないレベルに関して、様々で一貫性のない結果が得られているイヌが感受性の低い動物種であることを考慮にいれると、ラットに影響を与えないレベルを2%とするのが妥当であるように思われる。ステアロイル乳酸の代謝が、ヒトについても他の動物種と同様であることを確かめることが望ましい。

評価

毒性作用を引き起こさないレベル

ラット：餌の 20,000 ppm (2%) で、1,000 mg/kg 体重量に相当。

ヒトにおける許容1日摂取量の推定

0～20 mg/kg 体重量

今後の研究または情報

要望事項：ヒトについても、この化合物が他の動物種と同じように代謝されるということを確認する研究。

参考文献

(左頁参照)

FAO Nutrition Meetings
Report Series No. 40A,B,C
WHO/Food Add./67.29

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
 ANTIMICROBIALS, ANTIOXIDANTS, EMULSIFIERS,
 STABILIZERS, FLOUR-TREATMENT AGENTS, ACIDS AND BASES

The content of this document is the result of the deliberations of the
 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met at Rome,
 13-20 December, 1965¹ Geneva, 11-18 October, 1966²

¹ Ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
 Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1966 No. 40;
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339

² Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
 Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967, in press;

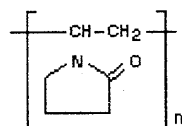
Food and Agriculture Organization of the United Nations
 World Health Organization
 1967

POLYVINYLPYRROLIDONE

Synonyms Polyvidone; PVP

Empirical formula $(C_5H_9ON)_n$

Structural formula



Molecular weight of unit: 111.1

Average molecular weight range of the
 polymer between 11 500 and 25 000.

Definition Polyvinylpyrrolidone contains not less

<090>

FAO 栄養会議

報告書シリーズ No. 40A, B, C,

WHO/Food Add./67.29

抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、安定剤、製粉処理剤、酸および塩基の毒性評価

本文書の内容は、1965 年 12 月 13 日～20 日にわたりローマにて⁵、また、1966 年 10 月 11 日～18 日にわたりジュネーブにて⁶開かれた、FAO/WHO 合同食品添加物会議における討議の成果である。

国連食糧農業機関

世界保健機構

1967 年

ポリビニルピロリドン

同義語 ポリビドン ; PVP

実験式 $(C_6H_9ON)_n$

構造式 左図参照

分子構造 23

分子量 1 構成単位 : 111.1
平均ポリマー分子量 : 11,500～25,000

定義 ポリビニルピロリドンは $(C_6H_9ON)_n$ を 95%以上含む。

⁵ FAO/WHO 合同食品添加物会議の第 9 報告書、FAO 栄養会議報告書シリーズ、1966 年 No. 40; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339。

⁶ FAO/WHO 合同食品添加物会議の第 10 報告書、FAO 栄養会議報告書シリーズ、1967 年、印刷中。

than 95 per cent. $(C_6H_9ON)_n$

Description

Fine white or light yellow powder, odourless, tasteless and slightly hygroscopic.

Uses

Clarifying agent.

Biological Data

Biochemical aspects

Polyvinylpyrrolidone (PVP) is a macromolecular polymer of N-vinylpyrrolidone. It is metabolically inert in rat, dog and man as shown by experiments using ^{14}C - or ^{131}I -labelled PVP (Ravin et al., 1952). It has been widely used as plasma expander. The excretion of PVP is inversely related to increasing molecular weight. The glomerulus can excrete all PVP of molecular weight 40 000 or below within a few days (Ravin et al., 1952). Low molecular weight PVP adsorbs various substances, e.g. bacterial toxins, inorganic poisons, barbiturates, vitamins and hormones in the blood, either reducing their toxicity or prolonging their activity (Weese, 1944). In blood it

is mainly attached to the upsilon globulins (Bennhold & Schubert, 1944). The reticuloendothelial system retains PVP with a molecular weight in excess of about 100 000 for a long time (Ravin et al., 1952; Heinrich et al., 1966; Weese & Fresen, 1952). PVP is also accumulated in the mitochondria of the kidneys (Traenckner, 1954). In the PVP-storing cells it is surrounded by carbohydrates and lipids in a capsule-like manner, perhaps due to coacervation processes (Hübner, 1960). The problem of whether the extremely long storage of PVP in the body produces toxic effects is open to discussion (Altemeir et al., 1954; Ammon & Miller, 1949).

Transfer of intravenously injected PVP to the brain or through the placenta was not observed (Ravin et al., 1952). I.v. injection of ^{131}I -labelled PVP has been clinically used to detect gastrointestinal protein losses.

PVP of m.w. 11 500 is not absorbed from the intestinal tract by man or by rat (Angerwall & Berntsson, 1961). PVP of m.w. 16 000 is not absorbed from the gastrointestinal tract by guinea-pigs (Scheffner, 1955).

Acute toxicity

Animal	Route	Molecular weight	LD ₅₀ (mg/kg body-weight)	References
Rat	oral	10 000-30 000	>40 000	Scheffner, 19 Badische Anil Sodafabrik, 1
Mouse	oral		>40 000	Scheffner, 19 Badische Anil Sodafabrik, 1
	i.p.		12 000-15 000	Angerwall & B 1961

説明 白色または淡黄色の微粉末、無臭、無味、および軽い吸湿性。

用途 清澄剤

生物学的データ

生化学分野

ポリビニルピロリドン (PVP) は、N-ビニルピロリドンの高分子ポリマーである。 ^{14}C または ^{131}I 標識した PVP を使用した実験によって示されたように、PVP はラット、イヌおよびヒトにおいて代謝的に不活性である (Ravin ら、1952)。血漿増量剤として広く使用されてきた。PVP の排泄は分子量の増加に逆比例している。糸球体は、40,000 以下の分子量を持つすべての PVP を、数日以内に排泄することができる (Ravin ら、1952)。低分子量の PVP は、血中の多様な物質 (例えば、細菌毒素、無機質の毒物、バルビツレート、ビタミン、ホルモン) を吸収し、それらの毒性を減じるか、あるいは、その活性を引き延ばす (Weese, 1944)。血中で PVP は、主にイプシロン-グロブリンに吸着している (Bennhold & Schubert, 1944)。細網内皮系は、分子量約 100,000 以上の PVP を長期間保持する (Ravin ら、1952; Heinrich ら、1966; Weese & Fresen, 1952)。PVP は、また腎臓のミトコンドリアに蓄積される (Traenckner, 1954)。PVP 貯蔵細胞は、おそらくコアセルベーションの進行に起因して、糖質および脂質によって被膜のように取り囲まれている (Hübner, 1960)。体内における PVP の非常に長い貯蔵が、毒性作用を引き起こすのかどうかの問題には、依然として議論の余地がある (Altemeir ら、1954; Ammon & Miller, 1949)。

静脈内に注入された PVP の脳への移動、または、胎盤を通過しての移動は、観察されなかった (Ravin ら、1952)。 ^{131}I 標識した PVP の静脈内注入は、臨床的に消化系の蛋白質の喪失を検出するために使用されてきた。

分子量 11,500 の PVP は、ヒトまたはラットの腸管から吸収されない (Angerwall & Berntsson, 1961)。分子量 16,000 の PVP は、モルモットの消化管から吸収されない (Scheffner, 1955)。

左表参照

Rat	oral	40 000	100 000	Burnette, 196 Shelanski et
Guinea-pig	oral	40 000	100 000	Burnette, 196 Shelanski et

Oral PVP (m.w. up to 40 000) in higher doses causes diarrhoea, the minimal effective dose being 0.5 g/kg body-weight for cats, and 1-2 g/kg body-weight for dogs (Scheffner, 1955)

Short-term studies

PVP molecular weight up to 40 000

Dog. Four groups of 4 beagle dogs were, fed 0, 2, 5, and 10 per cent. PVP (m.w. 38 000) for 2 years. There were no differences in weight gain, food consumption and results of the of blood and urine. At the end of the 2-year period all animals were in good health and histological examination disclosed no specific changes, except for swollen RES cells in the mesenteric and other lymph nodes of all test groups, especially at the 10 per cent. level. No PVP was detected in the urine. No malignant tumours were detected (Burnette, 1962). In 2 similar feeding experiments using a total of 32 dogs and lasting for 1 year no adverse effects could be detected. The intestines, spleens and livers of all animals were shown to be free of PVP, but PVP was demonstrated in the mesenteric lymph nodes of all animals, including the controls (Burnette, 1962).

Several other short-term studies in rat, cat and dog showed no toxic effects (Scheffner, 1955).

PVP molecular weight 220 000-1 500 000

Dog. Two dogs were given oral doses of 5 g/kg body-weight PVP (m.w. 220 000 and 1 500 000) for 1-1/2 weeks and 2 weeks respectively without any abnormal findings (Scheffner, 1955).

Long-term studies

Rat. Groups of rats were fed diets containing 0, 1 and 10 per cent. PVP (m.w. 38 000) for 2 years. No toxic effects or gross or histological changes were noted which could be attributed to the test compound. There was no evidence of absorption of PVP from the intestinal tract (Badische Anilin and Sodafabrik, 1958; Burnette, 1962).

Comments

There is a large amount of experience available on the parenteral administration of PVP to man. I.v. injected PVP having a molecular weight exceeding 40 000 is stored in the body for a long time, mainly in the RES. Orally administered PVP is not absorbed from the Intestinal tract except perhaps in small quantities that may enter the intestinal lymph nodes. Further feeding experiments in order to clarify the problem of possible storage or PVP intestinal lymph nodes and studies on the possible effects of PVP on the absorption of nutrients are required within the next 2 years.

Evaluation

The animal data provided do not allow the use of the normal procedure for arriving at an acceptable daily intake for man. The evaluation is based provisionally on the large clinical experience in

より高用量の PVP (分子量 40,000 まで) を経口投与すると、下痢が起こるが、その最小有効量は、ネコに対して 0.5 g/kg 体重であり、イヌに対しては 1~2 g/kg 体重であった (Scheffner, 1955)。

短期試験

PVP 分子量 40,000 以下

イヌ

ビーグル犬 4 匹で構成される 4 群に対して、0%、2%、5%、および 10% の PVP (分子量 38,000) を含む餌を、2 年間にわたりそれぞれ与えたところ、体重増加、餌の摂取量、そして、血液検査および尿検査の結果に、群間の差異は認められなかった。この 2 年間の終点に、すべてのイヌが健康で、かつ、組織検査でもはっきりとした変化は発見されなかった。ただし、すべての試験群で、特に 10% 群で、腸間膜、およびその他のリンパ節の中に、肥大した RES (細網内皮系) 細胞が認められた。尿からは PVP は検出されなかった。悪性腫瘍は発見されなかった (Burnette, 1962)。2 つの類似の食餌試験を、総計 32 匹のビーグル犬に対して、1 年間にわたり実施したが、PVP の有害作用は認められなかった。すべてのビーグル犬で、腸、脾臓、および肝臓から PVP は検出されなかったが、対照群も含めてすべてのビーグル犬の腸間膜リンパ節内に PVP が検出された (Burnette, 1962)。

ラット、ネコ、イヌに対する他のいくつかの短期試験においても、毒性作用はまったく示されなかった (Scheffner, 1955)。

PVP 分子量 220,000~1,500,000

イヌ

2 匹のイヌに対して、5 g/kg 体重の PVP (分子量 220,000 および 1,500,000) を、それぞれ 1.5 週間および 2 週間にわたり経口投与したが、異常な所見は得られなかった (Scheffner, 1955)。

長期試験

ラット

ラット群に対して、0%、1%、および 10% の PVP (分子量 38,000) を含む餌を、2 年間にわたりそれぞれ与えた。その結果、この試験化合物と結び付けることのできるような変化は、肉眼検査でも組織検査でもまったく認められなかった。PVP が腸管から吸収された形跡は見られなかった (Badische Anilin & Sodafabrik, 1958; Burnette, 1962)。

コメント

PVP のヒトに対する非経口的投与については、膨大な実績がある。分子量が 40,000 を超える PVP を静脈内注射すると、体内に長期間にわたり蓄積するが、その主たる部位は RES である。経口投与した PVP は腸管からは吸収されないが、例外として、腸リンパ節に入り込む極少量の PVP がある。起こりうる PVP の腸リンパ節における蓄積の問題に決着をつけるためのさらなる給餌試験と、栄養素の吸収に対して PVP が及ぼしうる作用についての研究が、今後の 2 年間以内に求められる。

評価

今回提示された動物実験資料からでは、ヒトの 1 日摂取許容量に到達するための正規の手順を利用することができない。あらゆる評価は、PVP のヒトに対する大規模な臨床経験、ならびに、PVP

man and the known metabolic inertness of this substance. No unconditional acceptance can be given because of probable accumulation in the lymph nodes.

Estimate of acceptable daily intake for man

mg/kg body-weight

Conditional acceptance

0-1

Further work required

Further feeding experiments in order to clarify the problem of a possible storage of PVP in the intestinal lymph nodes. Studies on the possible effects of PVP on the absorption of nutrients.

REFERENCES

- Altemeir, W. A., Schiff, L., Gall, E. A., Gluseffi, J., Freiman, D.,
Mindrum, G. & Braunstein, H. (1954) Amer. Med. Assoc. Arch. Surg.,
69, 300
- Ammon, R. & Müller, W. (1949) Dtsch. Med. Wsch., 15,
- Angerwall, L. & Berntsson, S. (1961) J. Inst. brwnig., 67, 353
- Badische Anilin und Sodafabrik A. G. (1958) Unpublished report
submitted to WHO
- Bennhold, H. & Schubert, R. (1944) Klin. Wschr., 23, 30
- Burnette, L. W. (1962) Proc. Sci. Sect. Toilet Goods Assoc., 38, 1
- Heinrich, H. C., Gabbe, E. E., Nass, W. P. & Becker, K. (1966) Klin.
Wschr., 44, 488
- Hübner, G. (1960) Virchows Arch. Path. Anat., 333, 29
- Ravin, H. A., Seligman, A. M. & Fine, J. (1952) New England. J.
med., 247, 921
- Scheffner, D. (1955) Thesis, University of Heidelberg, summary
submitted to WHO
- Shelanski, A. A., Shelanski, M. V. & Cantor, A. (1954) J. Soc. Cosm.
Chem., 5 129
- Traenckner, K. (1954) Z. ges. exp. Med., 123, 101
- Weese, H. (1944) Med. Z., 1, 19
- Weese, H. & Fresen, O. (1952) Zieglers Beitr., 112, 44

See Also:

Toxicological Abbreviations
Polyvinylpyrrolidone (JECFA Evaluation)

の既知の代謝不活性にもとづいてなされるべきである。リンパ節内に蓄積が起こる可能性があり、
そのために無条件の容認を与えることはできない。

ヒトの推定 1 日摂取許容量

条件付許容量 0～1 (mg/kg 体重)

必要とされる追加研究

起こりうる PVP の腸リンパ節における蓄積の問題を明らかにするためのさらなる食餌実験と、
栄養素の吸収に対して PVP が及ぼしうる作用についての試験。

参考文献

左頁参照

Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Geneva, 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
 Geneva
 1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

POLYVINYL PYRROLIDONE

Explanation

This substance has been evaluated for acceptable daily intake by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1, Ref. No. 13) in 1966.

Since the previous evaluation, additional data have become available and are summarized and discussed in the following monograph. The previously published monograph has been expanded and is reproduced in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Polyvinyl pyrrolidone (PVP) is a macromolecular polymer of N-vinylpyrrolidone. It is metabolically inert in rat, dog and man as shown by experiments using ¹⁴C- or ¹³¹I-labelled PVP (Ravin et al., 1952). It has been widely used as plasma expander. The excretion of PVP is inversely related to increasing molecular weight. The glomerulus can excrete all PVP of molecular weight 40 000 or below within a few days (Ravin et al., 1952). Low molecular weight PVP adsorbs various substances, e.g. bacterial toxins, inorganic poisons, barbiturates, vitamins and hormones in the blood, either reducing their toxicity or prolonging their activity (Weese, 1944). In blood it

固結防止剤、抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、および、増粘剤などの食品添加物の毒性評価
WHO 食品添加物シリーズ No. 5

本出版物に含まれている評価は、1973 年 6 月 25 日～7 月 4 日にわたり、ジュネーブにて開催された FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議⁷によって起草されたものである。

世界保健機構

ジュネーブ

1974 年

ポリビニル・ピロリドン

解説

1966 年に FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議は、本物質の 1 日摂取許容量についての評価を行った（付属文書 1 の参考文献 No. 13 を参照）。

前回の評価以降、追加データが得られ、要約され、そして、以下の専攻論文の中で論じられた。過去に出版された専攻論文が拡充され、その全文が以下に再現された。

生物学的データ

生化学分野

ポリビニルピロリドン (PVP) は、N-ビニルピロリドンの高分子ポリマーである。¹⁴C または ¹³¹I 標識した PVP を使用した実験によって示されたように、PVP はラット、イヌおよびヒトにおいて代謝的に不活性である (Ravin ら、1952)。血漿増量剤として広く使用されてきた。PVP の排泄は分子量の増加に逆比例している。糸球体は、40,000 以下の分子量を持つすべての PVP を、数日以内に排泄することができる (Ravin ら、1952)。低分子量の PVP は、血中の多様な物質（例えば、細菌毒素、無機質の毒物、バルビツレート、ビタミン、ホルモン）を吸収し、それらの毒性を減じるか、あるいは、その活性を引き延ばす (Weese, 1944)。血中で PVP は、主にガンマーグロブリンに吸着している (Bennhold & Schubert, 1944)。細網内皮系は、分子量約 100,000 以上の PVP を長期間保持する (Ravin ら、1952; Heinrich ら、1966; Weese & Fresen, 1952)。PVP は、また腎臓のミトコンドリアに蓄積される (Traenckner, 1954)。PVP 貯蔵細胞は、おそらくコアセルベーション

⁷ FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会の第 17 報告書、Wld Hlth Org. thechn. Rep. Ser. (WHO 技術報告シリーズ)、1974 年、No. 539；FAO 栄養会合報告シリーズ、1974 年、No. 53。

is mainly attached to the gamma-globulins (Bennhold & Schubert, 1944). The reticuloendothelial system retains PVP with a molecular weight in excess of about 100 000 for a long time (Ravin et al., 1952; Heinrich et al., 1966; Weese & Fresen, 1952). PVP is also accumulated in the mitochondria of the kidneys (Traenckner, 1954). In the PVP-storing cells it is surrounded by proteins, carbohydrates and lipids in a capsule-like manner, perhaps due to coacervation processes (Hübner, 1960). The problem of whether the extremely long storage of PVP in the body produces toxic effects is open to discussion (Altemeir et al., 1954; Ammon & Miller, 1949).

Transfer of intravenously injected PVP to the brain or through the placenta was not observed (Ravin et al., 1952). I.v. injection of ¹³¹I-labelled PVP has been clinically used to detect gastrointestinal protein losses.

PVP of m.w. 11 500 is not absorbed from the intestinal tract by man or by rat (Angerwall & Berntsson, 1961). PVP of m.w. 16 000 is not absorbed from the gastrointestinal tract by guinea-pigs (Scheffner, 1955).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies

In rats, weekly subcutaneous injections of 6% solution induced fibrosarcoma in 43% (Lusky & Nelson, 1957).

Daily hypodermal injections in the guinea-pig lead to accumulation in liver, spleen and lungs (Cabanne et al., 1966).

Six different samples were given to rats by subcutaneous and peritoneal implantation and by intravenous injection. After 18 months, 127 of 295 rats treated with four of the samples were dead: of these, 34 had generalized reticulum cell sarcomas, originating from lymph nodes, and four had sarcomas originating from Kupffer cells. No tumours were seen in rabbits or mice given comparable treatment (Hueper, 1956).

Acute toxicity

Animal	Route	Molecular weight	LD ₅₀ (mg/kg bw)	References
Rat	oral	10 000-30 000	> 40 000	Scheffner, 1955; Badische Anilin & Sodafabrik, 1958
Mouse	oral		> 40 000	Scheffner, 1955; Badische Anilin & Sodafabrik, 1958
	i.p.		12 000-15 000	Angerwall & Berntsson, 1961
Rat	oral	40 000	100 000	Burnette, 1962; Shelanski et al., 1954
Guinea-pig	oral	40 000	100 000	Burnette, 1962; Shelanski et al., 1954

ンの進行に起因して、タンパク質、糖質および脂質によって被膜のように取り囲まれている (Hübner, 1960)。体内における PVP の非常に長い貯蔵が、毒性作用を引き起こすのかどうかの問題には、依然として議論の余地がある (Altemeir ら、1954; Ammon & Miller, 1949)。

静脈内に注入された PVP の脳への移動、または、胎盤を通過しての移動は、観察されなかった (Ravin ら、1952)。¹³¹I 標識した PVP の静脈内注入は、臨床的に消化系の蛋白質の喪失を検出するために使用されてきた。

分子量 11,500 の PVP は、ヒトまたはラットの腸管から吸収されない (Angerwall & Berntsson, 1961)。

分子量 16,000 の PVP は、モルモットの消化管から吸収されない (Scheffner, 1955)。

毒性試験

特別試験

ラットに対して、6%のPVP溶液を週1回皮下注射したところ、43%に線維肉腫が誘発された (Lusky & Nelson, 1957)。

モルモットに対して、PVP の皮下注射を1日一回行ったところ、肝臓、脾臓、および肺への蓄積が見られた (Cabanne ら、1966)。

ラットに対して、6種類の異なる試料を、皮下埋め込み法、腹膜埋め込み法、ならびに、静脈内注射法により投与した。18ヵ月を経過した後に、これら6種類の試料のうちの4種類を投与した295匹中の127匹が死亡し、また、その127匹中の34匹にはリンパ節から発生した全身性細網細胞肉腫が認められ、さらに、4匹にはクップファー細胞から発生した肉腫が見出された。同様の処理を、ウサギやマウスに対して実施しても、腫瘍は認められなかった (Hueper, 1956)。

急性毒性

左表参照

Oral PVP (m.w. up to 40 000) in higher doses causes diarrhoea, the minimal effective dose being 0.5 g/kg bw for cats, and 1 to 2 g/kg bw for dogs (Scheffner, 1955).

Short-term studies

PVP molecular weight up to 40 000

Dog

Four groups of four beagle dogs were fed 0, 2, 5 and 10% PVP (m.w. 38 000) for two years. There were no differences in weight gain, food consumption and results of the examinations of blood and urine. At the end of the two-year period all animals were in good health and histological examination disclosed no specific changes, except for swollen RES cells in the mesenteric and other lymph nodes of all test groups, especially at the 10% level. No PVP was detected in the urine. No malignant tumours were detected (Burnette, 1962). In two similar feeding experiments using a total of 32 dogs and lasting for one year no adverse effects could be detected. The intestines, spleens and livers of all animals were shown to be free of PVP, but PVP was demonstrated in the mesenteric lymph nodes of all animals, including the controls (Burnette, 1962).

Several other short-term studies in rat, cat and dog showed no toxic effects (Scheffner, 1955).

PVP molecular weight 220 000 to 1 500 000

Dog

Two dogs were given oral doses of 5 g/kg bw PVP (m.w. 220 000 and 1 500 000) for one and-a-half weeks and two weeks respectively without any abnormal findings (Scheffner, 1955).

Long-term studies

Rat

Groups of rats were fed diets containing 0, 1 and 10% PVP (m.w. 38 000) for two years. No toxic effects or gross or histological changes were noted which could be attributed to the test compound. There was no evidence of absorption of PVP from the intestinal tract (Badische Anilin & Sodafabrik, 1958; Burnette, 1962).

OBSERVATIONS IN MAN

Daily subcutaneous injections of polyvinyl-pyrrolidone-vasopressin in a woman with diabetes insipidus for six years led to a papular dermatosis. Polyvinylpyrrolidone was detected in biopsy material (La Chapelle, 1966).

Comments:

There is a large amount of experience available on the parenteral administration of PVP to man. I.v. injected PVP having a molecular weight exceeding 40 000 is stored in the body for a long time, mainly in the RES. Orally administered PVP is not absorbed from the intestinal tract except perhaps in very small quantities that may enter the intestinal lymph nodes. Further feeding experiments in order to clarify the problem of possible body storage of PVP and studies on the possible effects of PVP on the absorption of nutrients are needed.

より高用量の PVP (分子量 40,000 まで) を経口投与すると、下痢が起こるが、その最小有効量は、ネコに対して 0.5 g/kg 体重であり、イヌに対しては 1~2 g/kg 体重であった (Scheffner, 1955)。

短期試験

PVP 分子量 40,000 以下

イヌ

ビーグル犬 4 匹で構成される 4 群に対して、0%、2%、5%、および 10% の PVP (分子量：38,000) を含む餌を、2 年間にわたりそれぞれ与えたところ、体重増加、餌の摂取量、そして、血液検査および尿検査の結果に、群間の差異は認められなかった。この 2 年間の終点に、すべてのイヌが健康で、かつ、組織検査でもはっきりした変化が発見されなかった。ただし、すべての試験群で、特に 10% 群で、腸間膜、およびその他のリンパ節の中に、肥大した RES (細網内皮系) 細胞が認められた。尿からは PVP は検出されなかった。悪性腫瘍は発見されなかった (Burnette, 1962)。2 つの類似の食餌試験を、総計 32 匹のビーグル犬に対して、1 年間にわたり実施したが、PVP の有害作用は認められなかった。すべてのビーグル犬で、腸、脾臓、および肝臓から PVP は検出されなかったが、対照群も含めてすべてのビーグル犬の腸間膜リンパ節内に PVP が検出された (Burnette, 1962)。

ラット、ネコ、イヌに対する他のいくつかの短期試験においても、毒性作用はまったく示されなかった (Scheffner, 1955)。

PVP 分子量 220,000~1,500,000

イヌ

2 匹のイヌに対して、5 g/kg 体重の PVP (分子量：220,000 と 1,500,000) を、それぞれ 1.5 週間および 2 週間にわたり経口投与したが、異常な所見は得られなかった (Scheffner, 1955)。

長期試験

ラット

ラット群に対して、0%、1%、および 10% の PVP (分子量：38,000) を含む餌を、2 年間にわたりそれぞれ与えた。その結果、この試験化合物と結び付けることのできるような毒性の影響は、肉眼検査でも組織検査でもまったく認められなかった。PVP が腸管から吸収された形跡は見られなかった (Badische Anilin & Sodafabrik, 1958; Burnette, 1962)。

ヒトにおける所見

尿崩症の 1 名の女性に対して、ポリビニル・ピロリドン・バソプレシンを、1 日 1 回の頻度で 6 年間にわたり皮下注射したところ、丘疹性皮膚炎を引き起こした。生検試料からポリビニル・ピロリドンが検出された (La Chapelle, 1966)。

コメント

PVP のヒトに対する非経口投与については、膨大な実績がある。分子量が 40,000 を超える PVP を静脈内注射すると、体内に長期間にわたり蓄積するが、その主たる部位は RES である。経口投与した PVP は腸管からは吸収されないが、例外として、腸リンパ節に入り込む極少量の PVP がある。起こりうる PVP の体内蓄積の問題に決着をつけるために、さらなる給餌試験が必要であり、また、栄養素の吸収に対して PVP が及ぼしうる作用についての研究も必要である。今回提示された動物実験資料からでは、ヒトの 1 日摂取許容量に到達するための正規の手順を利用することができない。あらゆる評価は、PVP のヒトに対する大規模な臨床経験、ならびに、PVP の既知の代

The animal data provided do not allow the use of the normal procedure for arriving at an acceptable daily intake for man. Any evaluation would have to be based on the large clinical experience in man and the known metabolic inertness of this substance. However, recent data on the absorption of macromolecules and other accumulation and persistence in reticuloendothelial cells did not allow the setting of an ADI.

EVALUATION

Not possible with data provided.

REFERENCES

- Altemeir, W. A., Schiff, L., Gall, E. A., Gluseffi, J., Freiman, D., Mindrum, G. & Braunstein, H. (1954) Amer. Med. Assoc. Arch. Surg., 69, 300
- Ammon, R. & Müller, W. (1949) Dtsch. Med. Wschr., 15, 465
- Angerwall, L. & Berntsson, S. (1961) J. Inst. Brwnig. 67, 353
- Badische Anilin & Sodafabrik, A. G. (1958) Unpublished report submitted to WHO
- Bennhold, H. & Schubert, R. (1944) Klin. Wschr., 23, 30
- Burnette, L. W. (1962) Proc. Sci. Sect. Toilet Goods Assoc., 38, 1
- Cabanne, F., Chapnis, J. L., Duperrat, B. & Patelat, R. (1966) Ann. Anat. path., 11, 386
- Heinrich, H. C., Gabbe, E. E., Nass, W. P. & Becker, K. (1966) Klin. Wschr., 44, 488
- Hubner, G. (1960) Virchows Arch. path. Anat., 333, 29
- Hueper, W. C. (1956) Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2, 120
- La Chapelle, J. M. (1966) Dermatologia (Basel), 132, 476
- Lusky, L. M. & Nelson, A. A. (1957) Fed. Proc., 16, 318
- Ravin, H. A., Seligman, A. M. & Fine, J. (1952) New England J. med., 247, 921
- Scheffner, D. (1955) Thesis, University of Heidelberg, summary submitted to WHO
- Shelanski, A. A., Shelanski, M. V. & Cantor, A. (1954) J. Soc. Cosm. Chem., 5, 129
- Traenckner, K. (1954) Z. ges. exp. Med., 123, 101
- Weese, H. (1944) Med. Z., 1, 19
- Weese, H. & Fresen, O. (1952) Zieglers Beitr., 112, 44

See Also:

Toxicological Abbreviations

謝不活性にもとづいてなされるべきである。しかしながら、高分子の吸収や、細網内皮細胞への他の蓄積および残留に関する最近の資料からでは、ADIを設定することはできない。

評価

提示された資料では評価できない。

参考文献

左頁参照

POLYVINYLPIRROLIDONE (PVP)

Explanation

This substance was evaluated for acceptable daily intake for man (ADI) by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives in 1966 and 1973 (see Annex I, Refs. 12 and 32). Toxicological monographs were issued in 1966 and 1973 (see Annex I, Refs. 13 and 33). Since the previous evaluation, additional data have become available and are summarized and discussed in the following monograph.

BIOLOGICAL DATA

Povidone is the generic name for polyvinylpyrrolidone (PVP). It is the soluble homopolymer of N-vinyl-2-pyrrolidone. As a food additive it appears as the form identified as K-30. To clarify the discussion, the relationship of K-30 to other marketed forms is as follows:

Form	K-range*	Average molecular weight
K-15 or 17	12-18	10 000
K-30	26-35	40 000
K-90	80-100	360 000

* Note: based on viscosity.

It should be noted that the data described in this evaluation include some studies of povidone having molecular weights other than that of K-30.

Another related product is crospovidone - chemically identified as polyvinylpolypyrrolidone or cross-linked, insoluble polyvinylpyrrolidone. It is the insoluble, cross-linked homopolymer of N-vinyl-2-pyrrolidone. Crospovidone is not the subject of the present evaluation.

BIOCHEMICAL ASPECTS

Absorption

Loehry et al. (1970) measured the permeability of the rabbit small intestine to water soluble molecules over a range of molecular weights from 60 to a molecular weight of 80 000. They reported a well correlated inverse log/log linear relationship between absorption and molecular weight. The amount of povidone (average molecular weight 33 000) that was cleared from the lumen by blood was 0.39% of the urea

cleared from the lumen by blood. If urea is completely absorbed from the intestine, then povidone of this average molecular weight is 0.39% absorbed.

Hanka (1971) detected povidone in the portal venous blood of rabbits following intestinal perfusion with a solution containing

ポリビニルピロリドン (PVP)

解説

1966年および1973年に、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議は、本物質の1日摂取許容量(ADI)についての評価を行った(付属文書1の参考文献No. 12およびNo. 13を参照)。毒性学的専攻論文が、1996年ならびに1973年に発行されている(付属文書1の参考文献No. 13およびNo. 33を参照)。前回の評価以降、追加データが得られ、要約され、そして、以下の専攻論文の中で論じられている。

生物学的データ

ポビドンは、ポリビニルピロリドン (PVP) の総称名である。ポビドンは、N-ビニル-2-ピロリドンの可溶性ホモポリマーであり、食品添加物としてはK-30として識別される型である。ここでの議論を明確にするために、K-30と他の市販型との関連を以下に示す。

左表参照

*粘度による分類。

本評価のなかで取り上げられている資料に、はK-30の分子量以外を有するポビドンに関するいくつかの研究も含まれることを記す。

もうひとつの関連製品は、クロスポビドンである。この物質は、化学的にはポリビニルポリピロリドン、または、架橋された不溶性ポリビニルピロリドンである。N-ビニル-2-ピロリドンの不溶性、架橋されたホモポリマーとして識別される。クロスポビドンは、今回の評価の対象とはなっていない。

生化学分野

吸収

Loehry ら (1970) は、分子量範囲が 60~80,000 までの水溶性分子を利用して、ウサギの小腸の透過性を測定して、その吸収と分子量との間に、よい対数-対数の逆線形関係が成り立つことを報告している。血液により小腸内腔から除去されたポビドン量(平均分子量: 33,000)は、血液により小腸内腔から除去された尿素の 0.39%であった。もし、尿素が腸から完全に吸収されれば、この平均分子量のポビドンの 0.39%が吸収されることとなる。

Hanka (1971) は、ポビドン(平均分子量: 40,000)を含む溶液でウサギの腸内灌流を行った後に、門脈血からポビドンを検出した。

ポビドンの胃腸からの吸収に関するその他の研究の多くは、従来から実施されてきた伝統的毒性

povidone (av. mw 40 000).

Other studies of the gastrointestinal absorption of povidone have usually been associated with conventional toxicity studies that have been conducted. Scheffner (1955) reported that povidone (av. mw 16 000) was not absorbed from the gastrointestinal tract of guinea-pigs. It was reported that, following the oral administration of isotopically labelled povidone (av. mw 40 000 and 70 000) to rats, less than 0.5% of the activity was absorbed from the gastrointestinal tract (Shelanski, 1953; Burnette, 1962). In a group of rats fed diets containing 1% and 10% povidone (av. mw 38 000) for two years, no evidence of absorption of povidone from the gastrointestinal tract was observed (Shelanski, 1957; Burnette, 1962). Angervall & Berntsson (1961) reported that povidone (av. mw 11 500) was not absorbed from the gastrointestinal tract of man and rat. Burnette (1962) reported that in a group of beagles fed 2.5% and 10% povidone (av. mw 38 000) in the diet for one year, povidone was found in the mesenteric lymph nodes indicating gastrointestinal absorption.

Distribution

Information on the distribution of povidone within the body comes primarily from studies following its intravenous or intraperitoneal administration. Ravin et al. (1952) administered intravenous infusions of varying average molecular weights to rabbit, rat, dog and man. Cells of the reticuloendothelial (RES) retained povidone; the higher molecular weight molecules were retained the longest. Povidone with an average molecular weight of less than 40 000 left the body within a few days. Fresen & Weese (1952) reported on the presence of povidone (av. mw 38 000) in the RES as did Jeckeln (1952) for povidone (av. mw 40 000). Others have also made similar reports (for example, Frommer, 1955; Heinrich et al., 1966). Povidone storage in the RES is as a result of its incorporation into macrophages by pinocytosis (Pratten & Lloyd, 1979). This incorporation gives rise to the vacuolated appearance which has led to the description of "foam cells". The earlier assumption that the molecules were stored in the mitochondria (Traenckner, 1954) is incorrect (Wessel et al., 1974).

Povidone of varying molecular weights was reported not to pass the blood-brain as well as the placental barriers (Ravin et al., 1952).

Elimination

The elimination of povidone has been studied by a number of investigators, again mostly following intravenous and intraperitoneal administration. The elimination of varying molecular weights has been tabulated from the world literature by Wessel et al. (1974). The $T_{1/2}$ for the elimination of povidone in the average molecular weight range of 40 000 has been reported to be as low as 12 hours and as high as 72 hours. The glomerulus can clear povidone of a molecular weight of at least 25 000 and perhaps as high as 40 000 and the peritubular capillaries are permeable to even larger molecules of povidone (Gartner et al., 1968).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Carcinogenicity studies

Hueper (1957, 1959, 1961) reported on three studies involving povidone of various molecular weights.

In the first study, Hueper (1957) utilized four forms of povidone having average molecular weights of 20 000, 22 000, 50 000 and

研究に関するものである。Scheffner (1955) は、ポビドン (平均分子量: 16,000) がモルモットの胃腸管から吸収されないことを報告している。アイソトープ標識したポビドン (平均分子量 40,000 および 70,000) をラットに対して経口投与した後に、0.5%以下の放射活性が胃腸管から吸収されたと報告されている (Shelanski, 1953; Burnette, 1962)。ラットの群に対して、1%および10%のポビドンを (平均分子量: 38,000) 含む餌を、2年間にわたり与えたところ、胃腸からポビドンが吸収された形跡はまったく観察されなかった (Shelanski, 1957; Burnette, 1962)。Angervall と Berntsson (1961) は、ポビドン (平均分子量: 11,500) が、ヒトやラットの胃腸管からも吸収されないと報告している。しかしながら Burnette (1962) は、ビーグル犬の1群に対して、2.5%と10%のポビドン (平均分子量 38,000) を含む餌を1年間にわたり与えたところ、ポビドンが腸間膜リンパ節から検出されたが、そのことが、ポビドンが胃腸管から吸収されることを示唆するものと報告している。

分布

ポビドンの体内分布についての多くの情報が、主に静脈内投与や腹腔内投与後の試験から得られる。Ravin ら (1952) は、ウサギ、ラット、イヌ、およびヒトに対して、様々な平均分子量を有するポビドンを静脈内注入した。細網内皮系 (RES) 細胞にはポビドンが貯留されていた。大きい平均分子量を持つポビドンが、もっとも貯留時間が長かった。平均分子量が 40,000 未満のポビドンは、2~3 日以内で体内から消失した。Fresen と Weese (1952) は、ポビドン (平均分子量: 38,000) が RES に存在することを報告しており、Jeckeln (1952) もまた、平均分子量 40,000 のポビドンで同様の報告をしている。他にも同様の報告がいくつかある (例: Frommer, 1955; Heinrich ら, 1966)。RES 中へのポビドンの貯留は、それがピノサイトーシスによりマクロファージ内に取り込まれてしまう結果である (Pratten & Lloyd, 1979)。この取り込みにより、空胞様に見えることから、「泡沫細胞」と呼ばれることになった。ポビドン分子が、ミトコンドリアに貯留されているという以前の仮説 (Traenckner, 1954) は間違っている (Wessel ら, 1974)。

様々な分子量を有するポビドンが、血液脳関門も胎盤関門も追加しないことが報告されている (Ravin ら, 1952)。

排泄

多くの研究者が、ポビドンの排泄について研究してきたが、その多数はやはり静脈内投与や腹腔内投与後の試験であった。Wessel ら (1974) は、世界中の文献にもとづき、様々な分子量のポビドンの排泄を表にまとめている。平均分子量の範囲が 40,000 であるポビドンが排泄されるために要した半減期は、最低 12 時間であり、また、最高 72 時間であったとの報告がなされた。糸球体は、少なくとも分子量が 25,000 のポビドンを排泄することができ、おそらく、分子量が 40,000 までポビドンも排泄できる。また、管周の毛細血管は、もっとも分子量の大きいポビドンでさえも透過できる。 (Gartner ら, 1968)。

毒性試験

発癌性試験

Hueper (1957, 1959, 1961) は、様々な分子量を有するポビドンに関する 3 つの試験を報告している。

その最初の試験 (1957) の中で Hueper は、平均分子量 20,000、22,000、50,000、および 300,000 の 4 種類の型のポビドンを使用した。ひとつ目のシリーズ試験で、4 種類の粉末状ポビドンを、C57 黒色マウスおよび Bethesda 黒色ラットの首の項部に、皮下埋め込み手術法により投与した。別のシリーズ試験では、同じ 4 種類のポビドンを、同じく 2 種類のマウスに腹膜埋め込み手術法により投与した。また、もうひとつのシリーズ試験では、これらのラットに対して、ポビドンの 7% 溶液の 2.5 ml を、週 1 回の頻度で 8 週間にわたり静脈内投与した。これらすべての研究で用いた全動物を、研究期間中に死亡したものは死亡後に、その他は 24 ヶ月後に屠殺して、それらの剖

300 000. In one series four povidones were implanted in powder form subcutaneously into the nape of the neck in C57 black mice and Bethesda black rats. In a second series the same four povidones were implanted intraperitoneally in the same two species. In still another series, rats were given 2.5 ml of a 7% solution intravenously once a week for eight weeks. All animals from all studies were autopsied either after dying on study or being sacrificed after 24 months. Hueper used the descriptions lymphosarcoma, reticulum cell sarcoma and Kupffer cell sarcoma. For purposes of this discussion all will be considered as RES sarcomas. The results were as follows:

Species	Route	Povidone (av. mw)	RES sarcomas	Carcinomas
Mouse	Subcut. (powder)	20 000	0/50	0/50
		22 000	3/50	0/50
		50 000	0/50	0/50
		300 000	1/50	0/50
	i.p. (powder)	20 000	0/50	0/50
		22 000	1/50	0/50
		50 000	3/50	0/50
		300 000	0/50	0/50
Rat	Subcut. (powder)	20 000	7/50	0/50
		22 000	0/50	1/50
		50 000	9/50	0/50
		300 000	7/50	1/50
	i.p. (powder)	20 000	7/50	4/50
		22 000	2/50	0/50
		50 000	5/50	0/50
		300 000	12/50	0/50
	i.v.	20 000	2/50	1/50
		22 000	0/50	1/50
		50 000	6/50	1/50
		300 000	2/50	1/50

The reported incidence of sarcomas among control mice was 0.4%. Among the rats 1/23 of the studied, untreated controls had an RES sarcoma. Other "control" rats had been exposed to various metal dusts or to dextran and did not provide useful data.

A similar study was done by Hueper (1959) in which the incidence of RES sarcomas was 11/200 in untreated rats. In this study, additional samples of povidone within the same molecular weight range used previously were studied. The data suggested the development of RES sarcomas related to the parenteral administration of povidone as well as other polymers including dextran. Again the studies were controlled only to a limited extent. There were no manipulation controls for any of the groups.

In the third study Hueper (1961) emphasized molecular size as a study criterion. He used povidone "K-17" (molecular weight range 2000-38 000 with the major fraction being between 5000 and 15 000; average mw 10 000) and povidone "K-25" (major fraction of molecular weight between 15 000 and 30 000; average mw 18 000) (these averages for K-17 and K-25 are somewhat lower than what has been reported since

検を行った。Hueper は、リンパ肉腫、細網細胞肉腫、および、クップファー細胞肉腫という 3 種の記述を用いたが、議論するために、これらをすべて RES 肉腫と考えることとする。その結果は以下の通りであった。

左表参照

報告された対照マウスにおける肉腫の発生数は 0.4% だった。試験された未投与の対照ラットでは、23 匹のうちの 1 匹が RES 肉腫を発症した。その他の「対照」ラットは、様々な金属粉塵やデキストランに曝露していたため、有用なデータが得られなかった。

同様の試験が Hueper (1959) によって行われたが、その中では、未投与マウスの 200 匹中の 11 匹が RES 肉腫を発症した。この試験では、先に使用したものと同じ分子量範囲のポビドンの試料が追加された。得られた結果は、RES 肉腫の発生が、ポビドンとデキストランなどの他のポリマーの非経口投与に関係していることを示唆していた。その場合も、対照試験が限られており、どの試験群にも処置による対照群がなかった。

3 番目の研究 (1961) の中で Hueper は、試験の判断基準のひとつとして、分子の大きさを重要視した。彼はポビドン「K-17」(分子量が 2,000~38,000 で主な分画が 5,000~15,000。平均分子量は 10,000) およびポビドン「K-25」(分子の主な分画が 15,000~30,000。平均分子量は 18,000) を使用した (K-17 と K-25 の平均分子量は、これ以後に、この型のものとして報告されている平均分子量ものよりも幾分やや小さい)。また彼は、ラットに対して 2 種類のポビドン (平均分子量: 50,000) を用いて比較実験を行った。一方のポビドンは GAF により、また、もう一方のポビドンは BASF によって作成されたものである。これらの物質を、およそ 6 から 10 週間の期間にわたり、分割用量で腹腔内投与した。その結果、最長生存期間は、ラットが 24 ヶ月間であり、また、ウサギが 28 ヶ月間であった (この 2 つの期間が終了した後に、それぞれの生存動物を屠殺してその実

then for these forms). He also used for comparison purposes in rats two povidones having an average mw of 50 000. One made by GAF and one made by BASF. The materials were administered intraperitoneally in divided doses over a period from approximately six to 10 weeks. Maximum survival was 24 months for rats and 28 months for rabbits (at which times the experiments were terminated by sacrificing the surviving animals). Results were as follows:

Species	Povidone type	Total Administration	RES sarcomas	Carcinomas
Rat	K-17	2 g	3/35	2/35
	K-25	2 g	1/35	2/35
	50 000 (GAF)	9 g	2/20	0/20
	50 000 (BASF)	9 g	0/30	0/30
	Control		2/30	3/30
Rabbit	K-17	62.2 g	0/6	0/6
	K-25	62.2 g	0/6	0/2
	Control		0/2	0/2

Hueper concluded that the rabbit may have had less tumours because of the ability to filter larger molecules at the glomerulus than the rat can.

Teratogenicity studies

Povidone K-25 (av. mw less than 40 000) was tested for prenatal toxicity in rats. The animals received 10% povidone K-25 added to their feed. Substance-containing feed was available ad lib. on days 0-20 post-coitum. All foetuses were examined for externally recognizable skeletal malformation, variations and retardations in the case of two-thirds of the foetuses of a litter; the examination covered organ malformations, variations and retardations. The pregnant animals tolerated administration of substance-containing feed with no clinically recognizable symptoms of poisoning. The only observed effect was slightly loose faeces. With all other parameters examined, no changes, and particularly no damage to the progeny, such as could be attributed to administration of K-25 were found (BASF 1977c).

A similar study was conducted on povidone K-90. The animals received 10% K-90 added to their feed. The results were qualitatively and quantitatively similar to those observed with povidone K-25 (BASF 1977d).

In a special teratogenicity study, injection of povidone (av. mw 11 500) into the yolk sac of nine-day rabbit embryos (500 mg/embryo) did not increase the number of resorptions or malfunctions compared to the number of resorptions and malformations induced in saline injected embryos (Claussen & Breuer, 1975).

Mutagenicity and transformation tests in vitro

Povidone K-30 was tested for mutagenic effects on the germ cells of male mice (dominant lethal test) after one intraperitoneal application. The animals received a single injection of 3 160 mg povidone K-30 (dissolved in aquadest.) per kg body weight in a volume of 10 ml/kg. No animals displayed any recognizable symptoms of toxicity over the entire test period. The administration of povidone K-30 had no effect on the conception rate, average number of

験を終了した)。その結果を以下に示す。

左表参照

以上の結果から Hueper は、ウサギがラットに比べて、糸球体でより大きな分子を濾過することができるため、腫瘍の発生が少ないとの結論に達した。

催奇形性試験

ポビドン K-25 (平均分子量: 40,000 未満) をラットに投与して出生前毒性についての検査が行われた。試験ラットに対して、10%のポビドン K-25 を含む餌を与えた。このポビドン入りの餌は、交尾後の 0~20 日にわたり、適宜食することができるようにした。同腹の胎児の 3 分の 2 にあたる全胎児に対して、外観で認識可能な骨格上の奇形、異形、そして成長遅延について調べた。この検査には、臓器の奇形、異形、そして成長遅延も含まれていた。これらの妊娠ラット自身は、ポビドン入りの餌の投与に耐えることができ、臨床的に認識できる中毒症状は見られなかった。観察された唯一の作用は、糞がわずかにゆるくなったことであつた。他のすべてのパラメータを調べた結果、K-25 投与と結び付けることができるような変化は、特に妊娠に対する被害は、まったく認められなかった (BASF, 1977c)。

同様の試験がポビドン K-90 を用いて行われた。妊娠ラットに対して、10%の K-90 を含む餌が与えられたところ、定性的にも定量的にも、ポビドン K-25 と同様の所見が得られた (BASF, 1977d)。

ある特殊な催奇形性試験では、9 日目のウサギの胚の卵黄嚢の中に、ポビドン (平均分子量: 11,500) が注入された (500 mg/胚)。その結果、生理食塩水を注入した胚で誘発された吸収および奇形の数と比較して、ポビドンを注入した胚に誘発された吸収や機能不全は増加していなかった (Claussen & Breuer, 1975)。

変異原性および形質転換の in vitro 試験

雄マウスへに対して、ポビドン K-30 を腹腔内に単回投与して、その後で、生殖細胞に対する変異原性作用を検査した (優性致死検査)。まず、雄マウスにポビドン K-30 (蒸留水中に溶解したもの) を、1 kg 体重あたり 3,160 mg の用量 (1 kg 体重あたり 10 ml の容量) で、単回投与した。その結果、試験期間の全体を通して、認めうるような毒性症状を示したラットは、まったくいなか

implantations, percentage of living foetuses or the mutagenicity index (BASF 1977e).

Mutagenicity and transformation tests in vitro employing mouse cells (lymphoma L5178Y, TK+/-BUDR and Balb/3T3, respectively) demonstrated that PVP at concentrations of 0.5%, 1.0%, 5.0% and 10.0% in the media did not cause significant mutagenic or transformation effects when compared to non-treated cells (Carchman, 1978).

Quantification of RES storage

Frommer (1956) quantified storage of povidone "foam cells" following the administration of povidone (av. mw 20 000, 40 000 and 125 000) in rats. He suggested a threshold existed for storage equivalent to the system content of 0.1 g/kg.

Acute toxicity

Animal	Route	Average molecular weight	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Refer
Rat	Oral	10 000-30 000	40 000	Scheffne BASF, 19
Mouse	Oral		40 000	Scheffne BASF, 19
	i.p.		12 000-15 000	Angerval Berntsso
Rat	Oral	40 000	100 000	Burnette Shelansk 1954
Guinea-pig	Oral	40 000	100 000	Burnette Shelansk 1954

Oral povidone (av. mw up to 40 000) in high doses caused diarrhoea, the minimal effective dose being 0.5 g/kg bw for cats, and 1-2 g/kg for dogs (Scheffner, 1955).

Two dogs were given oral doses of 5 g/kg bw povidone (av mw 220 000 and 1 500 000) for one-and-a-half weeks and two weeks, respectively, without any abnormal findings (Scheffner, 1955).

Four pure bred beagles of each sex were given 0, 25 000, 50 000 and 100 000 ppm povidone (K-90) in the feed for 28 days. Another group of eight animals receiving 100 000 ppm cellulose in the feed were also used as control. No toxic effects or pathological changes were noted which could be related to the administered substance, except slightly increased relative spleen weight was observed in the female animals of the 100 000 ppm group (BASF, 1977).

Povidone K-90 was administered to Sprague-Dawley rats (10 rats/sex/group) in concentrations of 25 000 and 50 000 ppm in the feed over a 28-day test period. No toxic effects or pathological-histological changes were noted due to administration of K-90 (BASF, 1973).

Povidone was also evaluated for acute toxic effect by rapid

った。ポビドン K-30 を投与しても、その受胎率、平均着床数、生存胚のパーセンテージ、あるいは、変異原性指数に対する影響は出なかった (BASF, 1977e)。

マウス細胞 (それぞれ、リンパ腫 L5178V、TK+/-BUDR リンパ腫、および Balb/3T3 リンパ腫) を使って、変異原性および形質転換の *in vitro* 試験を実施した。その結果、0.5%、1.0%、5.0%、および 10.0% の PVP をそれぞれ培養液中に添加しても、非投与細胞と比較して、有意な変異原性または形質転換の作用が見られなかった (Carchman, 1978)。

RES 貯留の定量化

Frommer (1956) は、ラットに対してポビドン (平均分子量: 20,000、40,000、125,000) を投与した後に、ポビドンの「泡沫細胞」への貯留を定量化した。そして Frommer は、貯留の閾値は、細網内皮系が含む 0.1 g/kg 量と同等であることを示唆した。

急性毒性

左表参照

ポビドン (平均分子量: 40,000 以下) を経口で高用量投与すると、下痢を引き起こすが、その最小有効量は、ネコに対して 0.5 g/kg 体重であり、イヌに対しては 1~2 g/kg 体重であった (Scheffner, 1955)。

イヌ 2 匹に対して、ポビドン (平均分子量: 220,000 および 1,500,000) を、各 5 g/kg 体重の用量で、それぞれ 1.5 週間と 2 週間にわたり経口投与したが、異常な所見は得られなかった (Scheffner, 1955)。

純血種のビーグル犬の雄 4 匹と雌 4 匹に対して、0、25,000、50,000、および、100,000 ppm のポビドン K-90 を含む餌を、28 日間にわたりそれぞれ与えた。同じ構成のもうひとつの群に対しては、100,000 ppm のセルロースを含む餌を与えて、対照群として用いた。その結果、100,000 ppm のポビドン K-90 を含む餌を与えた雌で、わずかな脾臓の相対重量の増加が見られたが、それ以外には、ポビドン K-90 投与に関係すると思われる毒性作用や病的変化は、まったく認められなかった (BASF, 1977)。

Sprague-Dawley 系ラットの雌 10 匹と雄 10 匹で構成される各群に対して、25,000 ppm および 50,000 ppm のポビドン K-90 を含む餌を、28 日の試験期間にわたりそれぞれ与えたが、K-90 と結び付けられるような毒性作用や病的組織変化は、まったく認められなかった (BASF, 1973)。

ビーグル犬に対してポビドンを急速に静脈投与し、その急性毒性作用についての評価も行われた

intravenous administration to beagle dogs (Hazleton Laboratories, 1970). One animal of each sex was given 0, 1, 3 or 10 g of povidone/kg bw. The animals were observed for the subsequent 28 days. No deaths occurred at any dose. Immediately following administration, the animals showed tremors and/or subconvulsive movements, defaecation, salivation, depression and ptosis. There were early sporadic changes in transaminases and haematologic values which generally returned to normal within 48 hours of the dose and remained essentially within normal limits during the remainder of the 28-day observation period. Gross and histopathological examinations of brain, spinal cord, thyroid, adrenal, heart, lung, thymus, spleen, parathyroid, trachea, oesophagus, salivary gland, liver, kidneys, stomach, pancreas, small and large intestine, mesenteric lymph nodes, urinary bladder, prostate and testes in males, uterus and ovaries in females, bone, peripheral nerve, and skeletal muscle were conducted. No histopathological or gross pathological changes were reported.

Four groups of animals, each group consisting of two males and two females, were distributed as follows: control, 10% diet of Solka Floc; * 2% povidone K-30 plus 8% Solka Floc; 5% povidone K-30 plus 5% Solka Floc; 10% povidone K-30. The feeding period was two years. There were no reported adverse effects at the end of this treatment. Histopathological examination of thyroid, parathyroid, heart, lung, rib bone and bone marrow, skin, stomach, small bowel, large bowel, liver, gall bladder, spleen, kidneys, lymph nodes, urinary bladder, uterus or prostate, left adrenal, pancreas and testes or ovaries were conducted. Swollen RES cells in the lymph nodes of the high dose group were reported. There was evidence of this in the middle and low dose groups and the 10% Solka Floc control, but "less consistently and to a lesser degree". No other histopathological findings were reported (Burnette, 1962). In two similar feeding experiments using a total of 32 dogs and lasting for one year, no adverse effects could be detected. The intestines, spleens and livers of all animals were shown to be free of povidone, but povidone was demonstrated in the mesenteric lymph nodes of all animals, including the controls (Burnette, 1962).

Several other short-term studies in rat, cat and dog showed no toxic effects (Scheffner, 1955; Wolven & Levensten, 1957; Shelanski, 1958).

Chronic studies

Groups of rats (Wistar strain) were fed diets containing 0, 1 and 10% povidone (mw 38 000) for two years. No toxic effects or gross histological changes were noted which could be attributed to the test compound (BASF, 1958; Burnette, 1962).

* Solka Floc = cellulose.

In another two-year rat feeding test povidone (K-25) was added to the feed in concentrations of 50 000 or 100 000 ppm. Groups each of 100 rats (Sprague-Dawley) equally divided by sex were used in this study. The feed intake, body weight, clinical parameters tested (urea, GPT, HB, Ery, HT, Leuco, differential blood count, urine status), macroscopic organ findings and the absolute and relative organ weights (heart, liver, kidneys) did not differ from those of the two control groups. No differences were found between average life span of the test and the control animals. In all control and test groups, the appearance of benign and malignant tumours was within the normal limits usually found in rats in long-term investigations in this strain of rats. Histological examination of the tissue of the organs

(Hazelton 研究所、1970)。雌雄各 1 匹に対して、0、1、3、または、10 g/kg 体重の用量のポビドン[®]をそれぞれ投与して、その後 28 日間にわたり観察を続けた。その結果、どの用量を投与した場合でも死は発生しなかった。投与直後に、ビーグル犬は、震えおよび／または亜痙攣性運動、排便、唾液過多、抑うつ、および、下垂症を示した。トランスアミナーゼおよび血液成分値に早期散発性の変化が見られたが、投与後 48 時間以内には概ね正常な範囲に戻り、残りの 28 日間の観察期間は基本的に正常な範囲を維持していた。脳、脊髄、甲状腺、副腎、心臓、肺、胸腺、脾臓、副甲状腺、気管、食道、唾液腺、肝臓、腎臓、胃、膵臓、小腸、大腸、腸間膜リンパ節、膀胱、そして雄の場合には前立腺および精巣、雌の場合には子宮および卵巣、骨、末梢神経、骨格筋に対する肉眼検査および組織検査が行われたが、組織変化や肉眼による病的変化は報告されなかった。

ビーグル犬の雄 2 匹と雌 2 匹で構成される 4 群に対して、各群にそれぞれ 10% の Solka Floc[®] を含む餌、2% のポビドン K-30 と 8% の Solka Floc を含む餌、5% のポビドン K-30 と 5% の Solka Floc を含む餌、そして、10% のポビドン K-30 を含む餌を、2 年間にわたって与えたところ、投与期間の終点において、有害作用がまったく報告されなかった。甲状腺、副甲状腺、心臓、肺、肋骨、骨髓、皮膚、胃、小腸、大腸、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、リンパ節、膀胱、雌の場合には子宮、雄の場合には前立腺、左の副腎、膵臓、雄の場合には精巣、雌の場合には卵巣に対する病理組織学的検査が行われた。その結果、ポビドンの高用量群にリンパ節の RES 細胞の肥大が報告された。同じ徴候が、ポビドンの中用量群、および低用量群、ならびに、10% Solka Floc 群にも認められたが、「一貫性が低く症状もより軽度である」とされた。他の病理組織学的変化は報告されていない (Burnette, 1962)。また合計 32 匹のビーグル犬に対して、2 件の同様の食餌実験を 1 年にわたって実施したが、有害作用は認められなかった。すべてのビーグル犬で、腸、脾臓、および肝臓からポビドンは検出されなかったが、腸間膜リンパ節からは対照群を含めすべてのイヌからポビドンが検出された (Burnette, 1962)。

ラット、ネコ、そしてイヌを用いて実施されたその他の短期試験においても、毒性作用がまったく認められなかった (Scheffner, 1955; Wolven & Levensten, 1957; Shelansky, 1958)。

長期試験

Wistar 系ラットの群に対して、0%、1%、および 10% のポビドン (分子量: 38,000) を含む餌を 2 年間にわたりそれぞれ与えたところ、ポビドンと結び付けることができるような変化が、肉眼検査からも組織検査からも認められなかった (BASF, 1958; Burnette, 1962)。

* Solka Floc = セルロース

次に、Sprague-Dawley 系ラット 100 匹 (雌雄各 50 匹) で構成される群に対して、50,000 ppm または 100,000 ppm のポビドン K-25 を含む餌を、2 年間にわたり与えた。餌の摂取量、体重、臨床パラメータ (尿素、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、血色素量、赤血球数、ヘマトクリット値、白血球数、血球百分率、尿の状態)、臓器の肉眼的所見、ならびに、臓器の絶対重量と相対重量 (心臓、肝臓、腎臓について) を測定したところ、2 つの対照群との間には差異が認められなかった。試験群と対照群の平均寿命にも差がなかった。すべての対照群および試験群において、良性腫瘍および悪性腫瘍の発生は、この系統のラットを長期調査した際に通常見られる正常範囲内であった。臓器の組織学的検査でも、この食餌試験に伴うと思われる変化が発見されなかった。ポビドン K-25 またはその分解物が、十二指腸の粘膜、腸、腸間膜リンパ節のいずれかに

revealed no changes that could be associated with the feeding test. There was no evidence that povidone K-25 or its degradation products were stored in either the mucous membrane of the duodenum or the intestines or the mesenterial lymph nodes (BASF, 1978b).

OBSERVATIONS IN MAN

Daily subcutaneous injections of polyvinylpyrrolidonevasopressin in a woman with diabetes insipidus for six years led to a papular dermatosis. Polyvinylpyrrolidone was detected in biopsy material (La Chapelle, 1966).

To date, the only chronic toxic effect noted in man upon subcutaneous injection has been cutaneous thesaurismosis after parenteral doses of 200-1000 g over 3-12 years (La Chapelle, 1966).

Injection of a povidone-containing medication (Depot-Impletol) in a woman resulted in large foreign body granulations in the breast and in the epigastric area (Gille & Brandau, 1975).

Comments

Only data on the soluble homopolymer of N-vinyl-2-pyrrolidone i.e., povidone were evaluated.

No carcinogenicity has been reported for povidone as a consequence of oral administration.

Studies involving parenteral administration, primarily intravenous or intraperitoneal indicate that there may be some storage of povidone in the reticuloendothelial system (RES) under certain conditions.

The primary predictor of long-term storage relates to the molecular size of povidone in the circulation. That is, if the molecular size is such that filtration at the kidney occurs then the likelihood of storage is less.

This leads to a question of povidone's absorption from the gastrointestinal tract. It is difficult to determine the exact level of povidone's absorption from the gastrointestinal tract. This difficulty is due to the fact that the absorption of a compound like povidone that is both hydrophilic and lipophobic is dependent on its molecular size and weight, and the fact that polymer products such as povidone consist of a range of molecular weights. It would appear that any povidone absorbed from the gastrointestinal tract would be of the size that would be cleared by the kidney thus reducing the likelihood of accumulation in the RES. Data from studies of povidone's oral absorption, distribution and elimination are needed to test this hypothesis. These data could be obtained from studies using radiolabelled povidone. Mathematical analyses of data available on molecular sizes absorbed from the intestine and filtered at the glomerulus may also provide the information sought.

Since the phenomenon of RES storage may be common to all high molecular weight polymers, povidone should also be evaluated from the viewpoint of comparing it to other polymers used as food additives.

The only reported biological effect attributed to oral administration of povidone is stool softening or diarrhoea. In long-term feeding studies in rats no evidence of carcinogenicity was noted as well as no indication of storage in the RES.

貯留している形跡も認められなかった (BASE, 1978b)。

ヒトにおける所見

尿崩症の女性 1 名に対してポリビニルピロリドンバソプレシンを 1 日 1 回の頻度で、6 年間にわたり皮下注射したところ、丘疹性皮膚炎が引き起こされた。ポリビニルピロリドンが生検材料から検出された (La Chapelle, 1966)。

現在までのところ、ヒトへの皮下注射に伴う慢性毒性作用は、200～1,000 g を 3～12 年間にわたり非経口投与した後に発生する、皮膚性貯蔵症のみである (La Chapelle, 1966)。

ポビドンを含む医薬品 (Depot-Impleto) を女性に注射したところ、胸部および胃上部に大きな異物肉芽が形成された (Gille & Brandau, 1975)。

コメント

評価が実施されたのは、N-ビニル-2-ピロリドンの可溶性ホモポリマー (すなわちポビドン) についての資料のみである。

ポビドンを経口投与した結果の発癌性は、まったく報告されていない。

主として静脈内投与や腹腔内投与の非経口的投与試験から、ある特定の条件下で細網内皮系 (RES) 細胞内にある程度のポビドンが貯留することが示唆される。

長期性蓄積は、主に循環中のポビドンの分子サイズに関連して予測することができる。つまり、ポビドンの分子サイズが腎臓で濾過されるような大きさであれば、蓄積される可能性は少ない。

このことから、胃腸管からのポビドンの吸収という疑問が持ち上がった。胃腸管でのポビドンの正確な吸収レベルを割り出すのは困難である。この困難性は、親水性かつ疎脂肪性のポビドンのような化合物の吸収は、その分子サイズと分子量に左右されるという事実と、さらに、ポビドンのようなポリマー製品は分子量が様々であるという事実のためである。胃腸管から吸収されるようなポビドンも、その大きさが腎臓で除去されるような大きさであるために、RES に蓄積する可能性は少なくなると考えることができる。この仮説を検証するために、ポビドンの経口吸収、分布、および排泄に関する試験を実施して、資料を得る必要がある。これらの資料は、放射性標識したポビドンを用いた試験から得ることができる。腸から吸収され、糸球体で濾過される分子サイズに関して入手しうるデータの数学的解析からも、このような求められる情報を与える可能性がある。

RES への貯留の現象が、おそらく、すべての高分子ポリマーに共通しているため、ポビドンも食品添加物として利用されている他のポリマーとの比較の視点から評価すべきである。

ポビドンの経口投与と結び付けることができる唯一の生物学的作用として報告されているものは、便の軟化や下痢である。ラットに対する長期的食餌試験からは、発癌性の形跡も、RES への貯留に関する何の徴候も認められなかった。

EVALUATION

Establishment of an ADI is deferred pending a review and evaluation of existing or new data relating to pharmacokinetics and RES storage.

REFERENCES

- Altemeir, W. A., Schiff, L., Gall, E. A., Giuseffi, J., Freiman, D., Mindrum, G. & Braunstein, H. Physiological and pathological effects of long-term polyvinylpyrrolidone retention. AMA Arch. Surg., 69, 308-314, 1954
- Ammon, R. & Muller, W. The influence of high doses of periston on the rabbit, with special consideration of the spleen (Ger.). Dtsch. med. Wschr., 74, 465-468, 1949
- Angervall, L. & Berntsson, S. Oral toxicity of polyvinylpyrrolidone products at low average molecular weight. J. Inst. Brewing, 67, 335-336, 1961
- Bennhold, H. & Schubert, R. Uber die plasmaahnlichkeit des periston, Klin. Wschr., 23, 30, 1944
- Burnette, L. W. A review of the physiological properties of PVP. Proceedings of the Scientific Section of the Toilet Goods Association, 38, 1-4, 1960
- Carchman, R. A. In vitro evaluation of PVP and PVP-1 for mutagenicity and cell transformation capacities. Unpublished report from the Medical College of Virginia, Richmond, Va. Submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, Wayne, New Jersey, United States of America, 1979
- Claussen, U. & Breuer, H. W. The teratogenic effects in rabbits of doxycycline, dissolved in polyvinylpyrrolidone, injected into the yolk sac. Teratology, 12, 297-301, 1975
- Fresen, O. & Weese, H. Tissular findings in animals following perfusion with different collidon fractions (peritoneal periton, highly viscous periston). Beitr. path. Anat., 112, 44-62, 1952
- Gartner, K., Vogel, G. & Ulbrich, M. Pflügers Arch., 298, 303-321, 1968
- Gille, J. & Brandau, H. Geburtsh U. Frauenheilk., 35, 799-801, 1975
- Hanka, R. Intestinal absorption of polyvinylpyrrolidone. Nihon Univ. J. Med., 13, 129-146, 1971
- Heinrich, H. C., Gabbe, E. E., Nas, W. P. & Becker, K. Metabolic behavior of ¹³¹I-labeled polyvinylpyrrolidone in the human body. Klin. Wschr., 44, 488-493, 1966
- Huebner, G. On the formation of organ substances in collidon storage. Virchows Arch. path. Anat., 333, 29-39, 1960
- Hueper, W. C. Experimental carcinogenic studies in macromolecular chemicals. I. Neoplastic reactions in rats and mice after parenteral introduction of polyvinylpyrrolidone. Cancer, 10, 8-18, 1957

評価

薬物動態学および RES への貯留に関する既存資料や新規資料の再検討と評価が終了するまで、ADI の設定は延期されている。

参考文献

左頁参照

- Hueper, W. C. Carcinogenic studies on water-soluble and insoluble macromolecules. Arch. Path., 67, 589-617, 1959
- Hueper, W. C. Bioassay on polyvinylpyrrolidone with limited molecular weight range. J. nat. Cancer Inst., 26, 229-237, 1961
- Jeckeln, E. Histologic findings in infants after repeated administration of periston. Arch. Path. Anat. Physiol., 322, 529-562, 1952
- Kirsch, P., Dati, F., Freisberg, K. O., Birnstiel, H., Mirea, D. & Zeller, H. Report on a study on the effects of Kollidon 90 when applied orally to rats over a 25-day period. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1972
- Kirsch, P., Dati, F., Freisberg, K. O., Hempel, K. J., Mirea, D., Peh, J., Deckardt, K. & Zeller, H. Report on a study on the effects of polyvinylpyrrolidone (Kollidon 90) when applied orally to dogs over a 28-day toxicity test period. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1975a
- Kirsch, P., Deckardt, K., Mirea, D., Hempel, K. J. & Merkle, J. Report on testing of Kollidon CE5050 for toxicity when administered to rats over a 28-day period. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, Wayne, New Jersey, United States of America, 1975
- La Chapelle, J. M. Thesaurismose cutanée par polyvinylpyrrolidone. Dermatologica (Basel), 132, 476-489, 1966
- Leuschner, F., Leuschner, A., Schwerdtfeger, W. & Dontenwill, W. Oral toxicity of Kollidon CE5050 in the beagle dog, repeated dosage over four weeks. Unpublished report from the Laboratorium Per Pharmakologie and Toxikologie, Hamburg, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1975
- Leuschner, F., Leuschner, A., Schwerdtfeger, W. & Rogulza, P. Six-month toxicity of Kollidon CE5050, batch XXIV 544-1 - called for short "Kollidon CE5050" - in beagle dogs when administered by stomach tube. Unpublished report from the Laboratorium für Pharmakologie and Toxikologie, Hamburg, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1975
- Loehry, C. A., Axon, A. T. R., Hilton, P. J., Hider, R. C. & Creamer, B. Permeability of the small intestine to substances at different molecular weight. Gut, 11, 466-470, 1970
- Lusky, L. M. & Nelson, A. A. Fibrosarcomas induced by multiple subcutaneous injections of carboxymethyl-cellulose (CMC), polyvinylpyrrolidone (PVP), and polyoxyethylene sorbitan monostearate (Tween 60) (Abstract No. 1363). Fed. Proc., 16, 318, 1957
- Pratten, M. K. & Lloyd, J. B. Effects of temperature, metabolic inhibitors and some other factors on fluid-phase and adsorptive pinocytosis by rat peritoneal macrophages. Biochem. J., 180, 567-571, 1979
- Princiottto, J. V., Rubbacky, E. P. & Dardin, V. J. Two-year feeding study in dogs with polyvinylpyrrolidone (Plasdone C, PVP-NP-K-

左頁参照

- 30), final report. Unpublished report from Chemo Medical Consultants, Arlington, Va., United States of America. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1954
- Ravin, H. A., Seligman, A. M. & Fine, J. Polyvinylpyrrolidone as a plasma expander, studies on its excretion distribution and metabolism. New Engl. J. Med., 247, 921-929, 1952
- Scheffner, D. Tolerance and side-effects of various Kollidons administered by mouth and their behavior in the gastrointestinal tract (translation from German), Doctors' Thesis, University of Heidelberg, 1955
- Shelanski, A. A., Shelanski, M. V. & Cantor, A. Polyvinylpyrrolidone (PVP), a useful adjunct in cosmetics. J. Soc. Cosm. Chem., 5, 129-132
- Shelanski, M. V. Final two-year report of a chronic oral toxicity study with PVP (K-30) in rats. Unpublished report from the Industrial Biological Research and Testing Laboratories, United States of America. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1957
- Shelanski, H. A. PVP K-30 ¹⁴C single dose excretion study. Unpublished report from the Industrial Toxicology Laboratories, United States of America. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1953
- Shelanski, M. V. One year feeding study in dogs with plasdone, Unpublished report from Industrial Toxicology Laboratories. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1958
- Wessel, W., Schoog, M. & Winkler, E. Polyvinylpyrrolidone (PVP): its diagnostic, therapeutic and technical application and consequences thereof. Arzneim. Forsch. Drug Res., 21, 1468-1482, 1974
- Traenckner, K. Experimental studies on periston storage in mitochondria of renal tubuli. Z. Ges. Exp. Med., 123, 101-103, 1954
- Wolven, A. & Levenstein, I. One-year feeding study in dogs with PVP, final report. Unpublished report from Leberco Laboratories, United States of America. Submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, Wayne, New Jersey, 1957
- Zeller, H. & Engelhardt, G. Testing of Kollidon 30 for mutagenic effects in male mice after a single intraperitoneal application, dominant lethal test. Unpublished report from the Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1977
- Zeller, H. & Peh, J. Report on a study on the effects of Kollidon 25, batch 1229 on the prenatal toxicity with rats. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1976a
- Zeller, H. & Peh, J. Report on a study on the effects of Kollidon 90, batch 5, on the prenatal toxicity with rats. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World Health Organization by BASF, 1976b
- Zeller, H., Sachsse, K., Kirsch, P., Tobst, P., Birnstiel, H., Hempel, K. J. & Merkle, J. Two-year feeding test with Kollidon 25 in

左頁参照

rats. Unpublished report from BASF Gewerbehygiene and
Toxikologie, Ludwigshafen, Rhein, FRG. Submitted to the World
Health Organization by BASF, 1969

Zendzion, R. P. & Teeter, W. R. Tests intravenous administration of
PVP in beagle dogs. Unpublished report from Hazleton Laboratories

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

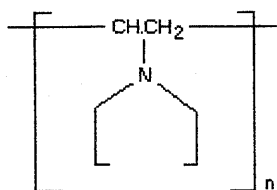
POLYVINYLPOLYPYRROLIDONE, INSOLUBLE (PVPP)

Explanation

This compound has not been previously evaluated by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.

Introduction

Insoluble polyvinylpolypyrrolidone (PVPP); Crosspovidone; 1-vinyl-2-pyrrolidone crosslinked insoluble polymer is a crosslinked homopolymer of purified vinyl pyrrolidone.

BIOLOGICAL DATABIOCHEMICAL ASPECTSAbsorption, distribution and excretion

Male Sprague-Dawley rats weighing between 200 and 300 g were dosed orally (gastric gavage) with 2.25 mg of ^{14}C -PVPP suspended in 0.1 ml of distilled water. At 6, 12, 24 and 48 hours after dosing urine and faeces were collected. The rats were then sacrificed and the major organs (spleen, kidneys, liver, lungs, thymus and adrenal glands) and blood removed. The ^{14}C content of the urine, faeces, blood and organs was determined. Less than 1% of the administered ^{14}C dose was detected in the major organs, blood and urine. Sixty-three to 74% of the ^{14}C was recovered in the faeces during the 48-hour period, with most of the ^{14}C being recovered 12 hours after dosing (Digenis, 1979).

Six Sprague-Dawley (I.F.F. A CREDD) rats (three male and three female), weighing 180-210 g, received a single oral dose of ^{14}C -PVPP suspension by gastric intubation. Each dose contained approximately 250 mg PVPP. The PVPP used had been treated by dialysis and ultrafiltration to remove polymers of M.W. of less than 10 000. Urine and faeces were collected at 12-hour time intervals for a period of five days after dosing and ^{14}C excretion determined. The animals were then sacrificed and the radioactivity remaining in the carcass, gastrointestinal tract and lungs, determined. About 0.128% of the administered ^{14}C was excreted in the urine, with most of the ^{14}C being excreted in the first 24 hours. Eighty to 99% of the ^{14}C was recovered in the faeces in the period 12-24 hours. Less than 0.1% of the administered ^{14}C was recovered in the carcass, with most being in the gastrointestinal tract. There was no evidence of preferential binding of the ^{14}C to any organ or tissue (Istin, 1979).

In another study, a group of four rats (male) weighing 250-300 g had their bile ducts catheterized. After resting one day, the rats

ポリビニルポリピロリドン、不溶性 (PVPP)

解説

本化合物は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議によってかつて評価されたことはない。

序文

不溶性ポリビニルポリピロリドン (PVPP) ; クロスポビドン ; 1-ビニル-2-ピロリドンの架橋性不溶ポリマーは精製ビニルピロリドンの架橋性ホモポリマーである。

左図参照

生物学的データ

生化学分野

吸収、分布、および排泄

体重 200 g~300 g の Sprague-Dawley 系雄ラットに対して、0.1 ml の蒸留水中に懸濁させた 2.25 mg の ^{14}C -PVPP を、経口的に投与（胃内に挿管）した。投与後 6、12、24、および 48 時間後に尿と糞を採集した。その後、ラットを屠殺して、主要臓器（脾臓、腎臓、肝臓、肺、胸腺、および副腎）と血液を採取した。そして尿、糞、血液及び臓器中の ^{14}C 量を測定した。投与された ^{14}C 量の 1%未満の量がそれら主要臓器中、ならびに、血液中と尿中で検出された。 ^{14}C の 63%~74%が、48 時間以内に糞中に回収されたが、そのうちのほとんどの ^{14}C が投与後の 12 時間以内に回収された (Digenis, 1979)。

体重 180 g~210 g の 6 匹の Sprague-Dawley 系 (I.F.F. A CREDD) ラット（3 匹の雄と 3 匹の雌）に対して、胃内挿管法により、 ^{14}C -PVPP の懸濁液を単回経口投与した。各用量は約 250 mg の PVPP を含んでいた。透析と限外濾過により処理した 10,000 未満の分子量を持つポリマーを除去した PVPP を用いた。投与後、12 時間の間隔で 5 日間にわたり尿と糞を採集して ^{14}C の排泄量を測定した。その後、ラットを屠殺し、屠殺体、消化管、および肺中に残留する放射活性を測定した。投与された ^{14}C 量の約 0.128%が尿中に排泄され、そのうちのほとんどが最初の 24 時間以内に排泄されていた。投与された ^{14}C の 80%~99%が、12~24 時間以内に採集した糞中に回収された。投与された ^{14}C の 0.1%未満の量が屠殺体中に回収され、また、そのうちのほとんどが消化管中に存在していた。投与された ^{14}C の、臓器または組織特異的な結合を示すような証拠はなかった (Istin, 1979)。

別の試験では、体重 250 g~300 g の 4 匹のラット群（雄）の胆管にカテーテルを挿入した。1 日休息させた後に、それらのラットに対して、胃内挿管法により、 ^{14}C -PVPP (250 mg) の懸濁液を単回投与した。1.5 時間の間隔で胆汁を、また、24 時間の間隔で尿と糞を、それぞれ採集した。

received a single dose of ^{14}C -PVPP (250 mg) suspension by gavage. Bile was collected at 1.5-hour intervals, urine and faeces at 24-hour intervals. At the termination of the study, the animals were sacrificed and the ^{14}C in the carcass measured. Approximately 0.00816% of the administered ^{14}C was recovered in the bile. Urine, faecal and carcass distribution of ^{14}C was similar to that in the previous study (Istin, 1979).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on teratogenicity

Groups each of 26 pregnant rats (SPF rats) were dosed by gavage with a suspension of PVPP (Kollidon CE 5050) in carboxymethyl cellulose in doses of 1000 or 3000 mg/kg. Other groups served as vehicle control or received no treatment. Dosing was from day 6 to day 15 of gestation. The test animals were sacrificed on day 20 of gestation and the foetuses examined. Two-thirds of the foetuses of each litter were examined for skeletal changes and the remaining one-third for visceral changes. Weight gain was similar for all groups, with the exception of the high-dose group, that showed a slight decrease in weight gain during the period of administration of the test compound. However, at termination of the study the weight gain was comparable in all groups. No significant clinical symptoms were observed in the test animals. There were no maternal deaths and no compound-related changes were observed at autopsy. The conception rate and percentage of live and dead implantations were similar for test and control animals. The weight of the foetuses of test animals was slightly lower than those of controls, but no changes were observed in the foetal length. There were no compound-related skeletal or visceral abnormalities (Anon., 1977a).

An additional two groups each of 12 pregnant rats (SPF rats) were dosed by gavage with a suspension of PVPP (Kollidon CD 5050) in carboxymethyl cellulose in doses of 1000 or 3000 mg/kg bw. Dosing was from day 15 to day 21 post-parturition. The rats in these groups were allowed to litter spontaneously and rear their progeny to day 21 post-parturition. There were no significant differences in weight gain for test and control animals. None of the test animals died. The time of delivery and average litter size were similar for test and control animals. At termination of the study, none of the mothers showed any macroscopic, compound-related effects. The pups of the treated animals showed similar mortality, body weight increases and behaviour (as measured by swimming test on day 14) as controls. At autopsy there were no compound-related skeletal or visceral abnormalities. However, the heart weight of both male and female pups in the 3000 ppm (0.3%) group was significantly lower than the control group, as was the spleen weight of the male group. The kidneys of males and livers of females also showed some changes from controls (Anon., 1977b).

Short-term studies

Rat

Groups each of 40 rats (equally divided by sex) were maintained on diets containing 0, 10 000, 25 000, 50 000 or 100 000 ppm (0, 1, 2.5, 5 or 10%) of Kollidon CE 5050 (PVPP) for four weeks, and then for two weeks on diets free of PVPP. Serum clinical chemistry, haematology and urinalysis were carried out on days 7, 28 and 42 of the study. At termination of the study, the animals were autopsied; absolute and relative weight was determined for the liver, heart, kidney and spleen. A histological examination was made of the principal organs and tissues. There was a slight decrease in body weight at the highest doses fed. Clinical chemistry and haematology for control and test

試験の終点にラットを屠殺し、その屠殺体中の ^{14}C を測定した。投与された ^{14}C の約 0.00816% が胆汁中に回収された。尿、糞、屠殺体中における ^{14}C の分布は、前回の試験と同様であった (Istin, 1979)。

毒性試験

催奇形性についての特別試験

それぞれ 26 匹からなる妊娠ラット (SPF ラット) 群に対して、PVPP (Kollidon CE 5050) とカルボキシメチルセルロースの懸濁液を、1,000 あるいは 3,000 mg/kg の用量で胃内挿管法により投与した。その他の群は媒体対照群、あるいは、無処理群として用いた。投与期間は妊娠 6 日目から 15 日目であった。試験ラットを、妊娠 20 日目に屠殺して胎児を調べた。各同腹の子の 3 分の 2 を用いて骨格の変化を調べ、また、残りの 3 分の 1 を用いて臓器の変化について調べた。試験化合物の投与期間中における体重増加量は、すべての群で類似していたが、唯一の例外として、僅かな減少を示した高用量の群があった。しかしながら、試験の終点では、すべての群で体重増加量が同等であった。すべての試験ラットで、有意な臨床的兆候が観察されなかった。妊娠ラットの死亡例もなく、また、剖検時に化合物と結び付けるような変化も観察されなかった。受胎率、および生存着床と死亡着床の割合は、試験ラットと対照ラットとの間で特に差がなかった。試験ラットの胎児の体重は、対照群よりもわずかに低かったが、胎児の体長には変化がなかった。化合物に関連するような骨格および臓器の異常はなかった (Anon, 1977a)。

12 匹の妊娠ラット (SPF ラット) からなる 2 群を追加して、カルボキシメチルセルロースに懸濁した PVPP (Kollidon CD 5050) を、1,000 あるいは 3,000 mg/kg 体重の用量で胃内挿管により投与した。投与期間は出産後 15 日目から 21 日目であった。これらの群のラットは自然に出産させ、そして、出産後 21 日目まで仔を育てさせた。試験ラットと対照ラットの体重増加量には、際立った違いはなかった。試験ラットは 1 匹も死亡しなかった。仔の出産時期および平均体長は、試験ラットと対照ラットとの間で類似していた。試験の終点で、母ラットは化合物に関連するような肉眼的影響はなんら示さなかった。試験ラットの仔は、対照群と類似の死亡率、体重増加、および行動 (14 日目の水泳試験によって測定するような) を示した。化合物に関連するような骨格および臓器の異常は剖検では見いだされなかった。しかしながら、3,000 ppm (0.3%) 群では、雄と雌両方の仔の心臓の重さが、対照群よりかなり低く、同じことが、雄群の脾臓重量でも見られた。雄の腎臓と雌の肝臓もまた、対照群とは違っていた (Anon, 1977 b)。

短期試験

ラット

40 匹のラット (雌雄同数) 群に対して、0、10,000、25,000、50,000 または、100,000 ppm (0%、1%、2.5%、5%、または、10%) の Kollidon CE 5050 (PVPP) を含んだ食餌を 4 週間にわたりそれぞれ与えて、その後 2 週間は、PVPP の入っていない食餌を与えた。試験の 7、28、および 42 日目に、血清臨床化学検査、血液検査、および、尿検査を実施した。試験の終点にラットを剖検して、肝臓、心臓、腎臓、および脾臓の絶対重量と相対重量を測定した。主要臓器と組織の組織学的検査も併せて行った。最高用量の食餌群で、体重のわずかな減少が見られた。臨床化学的検査および血液学的検査の結果は、対照ラット群と試験ラット群との間で類似していた。尿検査により、投与後最初の 4 週間には雌ラットの尿沈殿物の尿円柱が用量依存的に増加することが示されたが、この影響は、それらのラットを PVPP の入っていない食餌に戻すと消失した。化合物に関連するようなその他の影響は観察されなかった。PVPP は小腸の粘膜あるいは腸間膜のリンパ節に沈着していなかった (Anon., 1977a)。別の試験において、雌雄均等な 40 匹の FDRL/Wistar 系ラ

animals were similar. Urinalysis showed a dose-dependent increase in urinary casts in the urine sediment of female rats during the first four weeks of treatment, but this effect was no longer observed when the rats were returned to diets free of PVPP. No other compound-related effects were observed. PVPP was not deposited in the mucosa of the small intestine or the mesenteric lymph nodes (Anon., 1977a). In another study, groups each of 40 FDRL/Wistar rats equally divided by sex were fed diets containing 0, 2 or 10% PVPP for 90 days. One of the control groups was utilized as a pair feeding control with the high-level groups. Haematological, clinical biochemistry and urinalysis studies were carried out on day 90 prior to termination of the study. At termination of the study, the animals were autopsied and absolute and relative organ/body weights determined for brain, heart, pituitary, thyroid, liver, kidney, spleen, adrenals and gonads. A histological examination was made of the principal organs and tissues from the high-dose and control animals. The behaviour and appearance of the rats were normal during the study. Food consumption, feed efficiency and body weight gain were similar for test and control

animals. No compound-related effects were observed in the clinical studies, or at autopsy or following histological examination of the tissues (Anon., 1976).

Dog

Groups each of six beagle dogs (equally divided by sex) were dosed daily by stomach tube with an aqueous suspension of PVPP equivalent to 1000, 2000 or 5050 mg/kg bw for a period of four weeks. Control animals received either water or a suspension of cellulose (400 mg/kg bw) in water. Haematology, clinical chemistry and urinalysis were carried out prior to administration of the test compound and at the end of the test period. Electrocardiography examinations were made before and two hours post-administration of the test compound. Ophthalmic and auditory tests as well as a dental inspection were carried out during the course of the study. At the end of the test period, the dogs were sacrificed and a complete autopsy was performed. Absolute and relative weights were determined for the internal organs, and a complete histological examination made of organs and tissues. In addition, the liver, kidneys and mesenteric lymph nodes were evaluated for possible PVPP storage. During the course of the study, there were no compound-related effects on food and water intake and body weight. Haematology, clinical chemistry and urinalysis were similar for test and control animals and within normal limits. No compound-related histopathology was observed. There was no accumulation of PVPP in the liver, kidneys and mesenteric lymph nodes (Leuschner et al., 1975).

In another study, groups each of eight beagle dogs (equally divided by sex) were dosed daily by stomach tube with an aqueous suspension of PVPP equivalent to 300, 1200 or 4888 mg/kg bw for a period of 26 weeks. Control animals received either water or 4800 mg cellulose (type 402-26)/kg bw. Because dogs at the high-dose level showed increasing emesis during weeks 7-12, the test substance was given in divided doses. No intolerance was observed at the lower dose levels. Haematology, clinical chemistry and urinalysis were carried out on animals prior to administration of the test compounds, and in weeks 6, 18 and 26 of the test. Electrocardiography, ophthalmic and auditory tests were also carried out. In addition, an examination of the circulatory function was made after 26 weeks' treatment. At the end of the test period, the dogs were sacrificed and a complete autopsy carried out. Absolute and relative weights were determined for the internal organs, and a complete histological examination made of organs and tissues. Special staining techniques were used to investigate possible PVPP deposition in the liver, kidneys and

ットからなる各群に対して、0、2、または 10%の PVPP を含んだ食餌を 90 日間にわたり与えた。対照群の 1 つを高レベル群と対になる食餌対照として利用した。血液検査、臨床生化学検査、および尿検査を、試験の終了に先立つ 90 日目に実施した。試験の終点にラットを剖検して、脳、心臓、下垂体、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、および生殖腺について、絶対重量および相対重量（臓器／体重）を測定した。組織学的検査を、高用量のラットと対照ラットから採取した主要臓器と組織について実施した。ラットの行動および外観は、試験期間中正常であった。飼料摂取、飼料効率、および体重増加は、試験ラットおよび対照ラットとの間で類似していた。臨床学的検査、または剖検、または剖検後の組織学的検査によっても、化合物に関連するような影響はまったく観察されなかった（Anon., 1976）。

イヌ

6 匹のビーグル犬（雌雄同数）からなる群に対して、1,000、2,000、または 5,050 mg/kg 体重に相当する用量の PVPP の懸濁水を、胃管により 4 週間にわたりそれぞれ毎日投与した。対照イヌに対しては、水またはセルロース（400 mg/kg 体重）の懸濁水を与えた。試験化合物の投与前、および試験期間の終了時に、血液検査、臨床化学検査、および尿検査を実施した。心電計による検査を、試験化合物の投与前と投与の 2 時間後に行なった。歯の検査、および、眼と耳の検査も併せて試験期間中に実施した。試験期間の終点にイヌを屠殺して徹底した剖検を行った。内臓器官の絶対重量および相対重量を測定した。さらに、臓器と組織については、徹底的な組織学的検査を実施した。さらに加えて、肝臓、腎臓、および腸間膜リンパ節を、潜在的 PVPP の貯蔵の視点から評価した。試験期間の全般にわたって、食餌摂取、水分摂取、および体重に及ぼす化合物に関連するような影響は見られなかった。血液検査、臨床化学検査、および尿検査の結果は、試験イヌと対照イヌとの間で差がなく、それらは正常の範囲内であった。化合物に関連するような組織学的変化はまったく観察されなかった。肝臓、腎臓、および腸間膜リンパ節中に PVPP の蓄積はなかった（Leuschner ら、1975）。

他の試験では、8 匹のビーグル犬（雌雄同数）からなる群に対して、300、1,200 または 4,888/kg 体重の用量に相当する PVPP の懸濁水を、胃管により 26 週間にわたりそれぞれ毎日投与した。対照イヌには、水または 4,800 mg/kg 体重用量のセルロース（402-26 型）の懸濁水を与えた。高用量投与群は、7 から 12 週目にかけて増強性の嘔吐を示したので、試験物質を分割して投与した。低用量投与群では、不寛容性は観察されなかった。試験化合物の投与前、また試験の 6 日目、18 日目、および 26 日目に、血液検査、臨床化学検査、および、尿検査を実施した。心電計による検査、および眼と耳の検査も、試験期間中に併せて行なった。さらに加えて、循環機能の検査も投与後 26 週目に行なった。試験期間の終点にイヌを屠殺して、徹底的な剖検を行なった。内臓器官の絶対重量と相対重量を計測した。さらに、臓器と組織の徹底的な組織学的検査も実施した。特別な染色技術を用いて、肝臓、腎臓、および腸間膜リンパ節内への PVPP 沈積の可能性を調べた。試験期間の全般にわたり、行動、食餌と水分の摂取、および成長に対する化合物に関連する影響は見られなかった。化合物に関連する影響を示すような検査項目は、まったく見出されず、また、PVPP の組織貯蔵を示す証拠もなかった（Leuschner ら、1977）。

mesenteric lymph nodes.

During the course of the study, there were no compound-related effects on behaviour, food and water intake, and growth. None of the parameters studied showed any compound-related effects nor was there any evidence of tissue storage of PVPP (Leuschner et al., 1977).

Comments

Studies with ^{14}C -labelled PVPP in the rat indicate an almost complete lack of absorption of the orally administered material. The small amount of ^{14}C detected in the tissues and urine is most likely due to the presence of low M.W. polymers in the PVPP rather than any absorption of PVPP *per se*. Studies in the rat failed to demonstrate any biliary excretion of the test compound. In addition, there does not appear to be any accumulation of the PVPP in the gastrointestinal tract. Short-term feeding studies in the rat and dog, with levels as high as 10% of the diet in the rat and 2% of the diet in the dog, did not demonstrate any adverse effects or tissue deposition of PVPP. Any toxicological questions relating to the safety of the small amount of absorbed PVPP are adequately answered with previous studies with PVPP (WHO, 1980). These include lifetime feeding studies in the rat, teratogenicity studies as well as mutagenicity and transformation tests *in vitro*. In addition, exposure to low M.W. weight compounds that might be present in the PVPP is expected to be infinitesimally small.

EVALUATION

Estimate of acceptable daily intake for man

ADI not specified.*

- * The statement "ADI not specified" means that, on the basis of the available data (chemical, biochemical, toxicological, and other), the total daily intake of the substance, arising from its use at the levels necessary to achieve the desired effect and from its acceptable background in food, does not, in the opinion of the Committee, represent a hazard to health. For this reason, and for reasons stated in the individual evaluations, the establishment of a numerical figure for an acceptable daily intake (ADI) is not deemed necessary.

REFERENCES

- Anon. (1976) Ninety-day feeding study with polyvinylpyrrolidone in rats. Unpublished report from B.A.S.F., submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA
- Anon. (1977a) Bericht uber die Prufung der Toxizitat von Kollidon CE-5050 im 4-Wochen-Futterungsversuch an der Ratte. Unpublished report from B.A.S.F., submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA
- Anon. (1977b) Prenatal, perinatal, and post natal toxicity of kollidon CE-5050 in rats. Unpublished study from B.A.S.F., submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA
- Digenis, George A. (1979) Oral absorption study of PVPP. Preliminary report, submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA

コメント

ラットにおける ^{14}C 標識 PVPP を用いた試験から、経口投与された物質の吸収が、ほぼ完全にな
いことが示唆されている。組織中や尿中に検出された少量の ^{14}C は、PVPP それ自体の吸収という
よりもむしろ、PVPP に含まれる低分子量ポリマーのためであろう。ラットの試験からは、試験化
合物の胆汁への排泄を証明することはできなかった。その上、消化管内の PVPP 蓄積も、まった
くなくようなのである。ラットとイヌの短期間の食餌試験では、ラットでは餌の 10% レベル、イヌで
は餌の 2% のレベルの投与で、PVPP の悪影響も組織沈着もまったく見られなかった。吸収された
少量の PVPP の安全性に関する毒性学的疑問に対しては、前回なされた PVPP の試験の結果 (WHO,
1980) と併せて、十分に答えている。これらの試験は、ラットの生涯にわたる食餌試験と催奇形
性試験、ならびに *in vitro* の変異原性と形質転換試験である。加えて、PVPP に存在する可能性が
ある低分子量化合物に対する暴露も、極々小さいものと予想されている。

評価

ヒトの推定 1 日摂取許容量

ADI は定められていない。*

*「ADI は定められていない」という記述は、所期の効果を達成するための必要な使用量と、また、
食品内として容認されてきた背景によって決まる、当該物質の 1 日当たりの総摂取量が、入手可
能なデータ（化学的、生化学的、毒性学的、およびその他）にもとづいて、本会議の意見として、
健康危害を示さないことを意味する。この理由、および個々の評価で記述された理由のために、1
日摂取許容量 (ADI) を、数値で設定する必要がないとみなされている。

参考文献

Anon. (1976) ラットにおけるポリビニルピロリドンを使用した 90 日間にわたる食餌試験。
B.A.S.F. 未発表報告 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Anon. (1977a) ラットにおける Kollidon CE-5050 の 4 週間にわたる食餌毒性試験の報告。B.A.S.F.
未発表報告 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Anon. (1977b) ラットの出生前、出産期、および出生後における Kollidon CE-5050 の毒性。B.A.S.F.
未発表報告 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Digenis, George A. (1979) PVPP の経口的吸収に関する研究：仮報告書 (GAF Corporation, New
Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Istin, M. (1979) Study of the urinary, biliary, and fecal excretion of ^{14}C by rats treated with labeled polyvinylpyrrolidone by gastric intubation. (Document prepared by the Laboratory for the Study of Drug Metabolism, Department of Biology, Atomic Energy Commission, France, for B.A.S.F.), submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA

Leuschner, F. et al. (1975) Oral toxicity of kollidon CE-5050 in the beagle dog. Repeated dosage over four weeks. Unpublished report for B.A.S.F., submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA

Leuschner, F. et al. (1977) Toxicity study of kollidon CE-5050 (Batch XXIV) administered by stomach tube to beagle dogs. Repeated dosage over six months. Unpublished report from Laboratorium fur Pharmakologie und Toxikologie, Hamburg, to B.A.S.F., submitted to the World Health Organization by GAF Corporation, New Jersey, USA

World Health Organization (1980) Toxicological evaluation of certain food additives, WHO Food Additives Series, No. 15

See Also:

Toxicological Abbreviations

Istin, M. (1979) 標識化したポリビニルピロリドンを胃管挿入法により投与したラットによる ^{14}C の尿中、胆汁液中、ならびに糞中への排泄に関する研究。フランス原子力委員会生物學研究所藥物代謝研究室により作成された B.A.S.F.文書 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Leuschner, F. ら (1975) ビーグル犬における Kollidon CE-5050 の経口毒性：4 週間にわたる反復投与。B.A.S.F.未発表報告 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

Leuschner, F. ら (1977) ビーグル犬における胃管挿入法により投与された Kollidon CE-5050 (パッチ XXIV) の毒性研究：6 ヶ月にわたる反復投与。B.A.S.F.ハンプブルグ薬理学および毒性學研究所の未発表報告 (GAF Corporation, New Jersey, USA から世界保健機構に提出)。

世界保健機構 (1980) 一部の食品添加物の毒性評価、WHO 食品添加物シリーズ、No. 15

毒性略語集も参照

FAO Nutrition Meetings
 Report Series No. 40A,B,C
 WHO/Food Add./67.29

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
 ANTIMICROBIALS, ANTIOXIDANTS, EMULSIFIERS,
 STABILIZERS, FLOUR-TREATMENT AGENTS, ACIDS AND BASES

The content of this document is the result of the deliberations of the
 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met at Rome,
 13-20 December, 1965¹ Geneva, 11-18 October, 1966²

¹ Ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
 Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1966 No. 40;
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339

² Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
 Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967, in press;

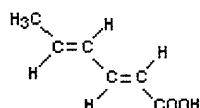
Food and Agriculture Organization of the United Nations
 World Health Organization
 1967

SORBIC ACID

Chemical names Sorbic acid;
 Trans, trans-2,4-hexadienoic acid

Empirical formula C₆H₈O₂

Structural formula



Molecular weight 112.13

Definition Sorbic acid after drying for 4 hours in
 a vacuum desiccator over sulfuric acid,
 contains not less than 99 per cent. of

034. Sorbic acid (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc)

FAO Nutrition Meetings

Report Series No. 40A, B, C

WHO/Food Add./67.29

抗菌剤、抗酸化剤、乳化剤、安定剤、粉末処理剤、酸類と塩基類の毒物評価

この書類内容はジュネーブで1965¹年12月13日～20日と1966²年10月11日～18日に行われた食品添加物に関するFAO/WHO 両専門委員会の討議の結果である。

¹ 食品添加物に関するFAO/WHO 両専門委員会9番報告書、FAO Nutrition Meetings Report Series, 1966 No. 40; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339

² 食品添加物に関するFAO/WHO 両専門委員会10番報告書、FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967、印刷中；

Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization 1967

ソルビン酸

化学名

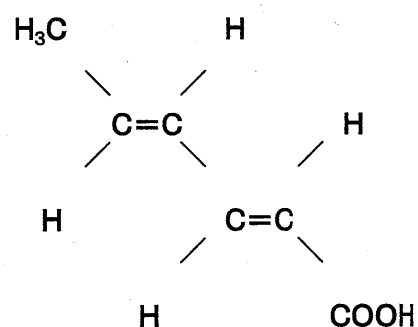
ソルビン酸；

Trans, trans-2, 4-hexadienoic acid

実験式

$C_6H_8O_2$

構造式

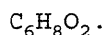


分子量

112.13

定義

硫酸を真空乾燥器で4時間乾燥後のソルビン酸は $C_6H_8O_2$ を99%以上含んでいる。



Description

Sorbic acid is a white, crystalline solid with a mildly acrid odour.

Uses

As an antimicrobial and fungistatic agent.

Biological Data

This additive was evaluated by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives in its Sixth and Eighth Reports (FAO/WHO, 1962; FAO/WHO, 1965). Since their publication some new experimental work has been carried out on this compound. This and other work not included in the previous reports is presented in this monograph.

Biochemical aspects

The metabolism of 1-¹⁴C-sorbic acid has been studied by Fingerhut et al. (1962); 85 per cent. of the activity was found in the expired CO₂, 0.4 per cent. in the faeces, 2 per cent. in the urine as urea and CO₂, 3 per cent. in internal organs, 3 per cent. in the skeletal muscles and 6.6 per cent. in the other parts of the carcass. No glycogen was formed from sorbic acid. Most of the activity was

found in the subcutaneous fat deposits and in the lipids of the organs. There was a linear relationship between dose and oxidation rate; the half-life, of the oxidation was 40-110 minutes in the dose range from 60-1200 mg/kg body-weight. In a similar experiment on mice, also using 1-¹⁴C-sorbic acid, these results were confirmed; 81 ± 10 per cent. of the sorbic acid was oxidised to CO₂, the dose given ranging from 40-3000 mg/kg body-weight. About 7 per cent. of the activity was excreted as sorbic acid and 0.4 per cent. as trans, trans-muconic acid (Westöö, 1964).

Long-term studies

The feeding experiment on groups of 100 rats (50 males and 50 females) given 0 and 5 per cent. sorbic acid was extended to the whole life-span of the first generation. The average life-span of the group receiving sorbic acid was 811 days for the males and 789 days for the females. In the control group the life-span of the males was 709 days and for the females 804 days, possibly suggesting protection by sorbic acid against lung infection. Autopsies were performed on all rats of the first generation that died during the experiment. There were no differences in the organ weight of the individual groups nor in the distribution of the causes of death. In each group (5 per cent. sorbic acid and controls) only 2 tumours were found. The animals of the second generation were sacrificed after 250 days of feeding sorbic acid. Examination of liver, kidney, heart and testes showed no abnormalities (Lang, 1962; Long et al., 1967).

Evaluation

(See potassium Sorbate)

REFERENCES

FAO/WHO (1962) FAO Nutrition Meetings Report Series No 31 Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 228

FAO/WHO (1965) FAO Nutrition Meetings Report Series No. 38; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 309

解説

ソルビン酸は穏やかな刺激臭を伴う白い結晶固体である。

使用法

抗菌剤や静真菌剤として。

生物学的データ

この添加物は食品添加物に関する FAO/WHO 両専門委員会の 6 番と 8 番報告書によって評価された。(FAO/WHO, 1962; FAO/WHO, 1965) 会議の出版以来、この化合物の新しい実験が行われている。この新しい実験と前回の報告書に含まれてない実験がこの研究論文に載っている。

生化学的側面

$1-^{14}\text{C}$ -ソルビン酸の代謝は Fingerhut 他によって研究されている。(1962a); 活性の 85% が吐出した CO_2 の中に、糞便の中に 0.4%、尿素と CO_2 としての尿の中に 2%、内臓器官の中に 3%、骨格筋の中に 3% と胴体の他の部分に 6.6% 見つけられた。ソルビン酸からグリコーゲンは形成されなかった。活性のほとんどが皮下脂肪蓄積と器官の脂質に見つけられた。ソルビン酸からはグリコーゲンは形成されなかった。活性のほとんどが皮下脂肪蓄積や器官の脂質の中に見つかった。投与と酸化率の間に比例関係があった; 酸化による半減期は $60-1200 \text{ mg/kg body weight}$ の範囲で $40-110$ 分だった。 $1-^{14}\text{C}$ ソルビン酸を使った同様なハツカネズミの実験でも、ソルビン酸の $81 \pm 10\%$ が $40-3000 \text{ mg/kg body weight}$ の範囲の投与の時、 CO_2 に成った。活性の 7% 位がソルビン酸として排出され、又 trans 型及び trans 型ムコン酸として 0.4% 排出された。(Westö, 1964)

長期研究

0% か 5% のソルビン酸を与えた 100 匹のネズミのグループ (雄 50 匹と雌 50 匹) の食餌実験では第一世代の全寿命が引き伸ばされた。ソルビン酸を取ったグループの平均寿命は雄が 811 日、雌が 789 日だった。対照グループでは、雄の寿命は 709 日、雌が 804 日だった、そして、可能性としてソルビン酸が肺感染に予防になっている事を暗示している。検死解剖は実験中に死んだ第一世代の全てのネズミに行われた。個体グループの器官重量の相違や死亡原因の分布の相違は無かった。各グループで (ソルビン酸 5% と controls) 2 個の腫瘍しか見つからなかった。第二世代のネズミはソルビン酸食餌の 250 日後に実験を止められた。肝臓、腎臓、心臓及び精巢の試験で異常は無かった。(Lang, 1962; Long 他 1967)

評価

(カリウム・ソルビン酸塩参照)

REFERENCES

左頁参照

Fingerhut, M., Schmidt, B. & Lang, K. (1962) Biochem. Z., 335, 118

Lang, K. (1962) Arzneimittelforsch., 10, 997

Lang, K. et al. (1967) In preparation

Westöö, E. (1964) Acta chem. scand., 18, 1373

See Also:

Toxicological Abbreviations

Sorbic acid (ICSC)

Sorbic acid (JECFA Evaluation)

左頁参照

FAO Nutrition Meetings
Report Series No. 40A,B,C
WHO/Food Add./67.29

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
ANTIMICROBIALS, ANTIOXIDANTS, EMULSIFIERS,
STABILIZERS, FLOUR-TREATMENT AGENTS, ACIDS AND BASES

The content of this document is the result of the deliberations of the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met at Rome,
13-20 December, 1965¹ Geneva, 11-18 October, 1966²

¹ Ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1966 No. 40;
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339

² Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967, in press;

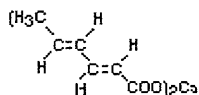
Food and Agriculture Organization of the United Nations
World Health Organization
1967

CALCIUM SORBATE

Chemical name Calcium sorbate, Calcium salt of
trans,trans-2,4- hexadienoic acid

Empirical formula $C_{12}H_{14}CaO_4$

Structural formula



Molecular weight 262.32

Definition Calcium sorbate contains not less than
98 per cent. and not more than the
equivalent of 102 per cent. of $C_{12}H_{14}CaO_4$

036. Sorbate, potassium (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc)

FAO Nutrition Meetings

Report Series No. 40A, B, C

WHO/Food Add./67.29

抗菌剤、抗酸化剤、乳化剤、安定剤、粉末処理剤、酸類と塩基類の毒物評価

この書類内容はジュネーブで1965¹年12月13日～20日と1966²年10月11日～18日に行われた食品添加物に関するFAO/WHO両専門委員会の討議の結果である。

¹ 食品添加物に関するFAO/WHO両専門委員会9番報告書、FAO Nutrition Meetings Report Series, 1966 No. 40; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1966, 339

² 食品添加物に関するFAO/WHO両専門委員会10番報告書、FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967、印刷中；

Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization 1967

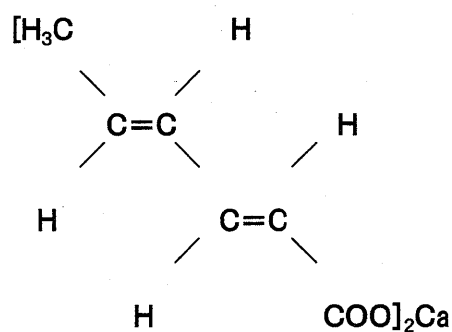
ソルビン酸カルシウム

化学名 ソルビン酸カルシウム；

Trans, trans-2, 4-hexadienoic acid のカルシウム塩

実験式 $C_{12}H_{14}O_4$

構造式



分子量 262.32

定義 ソルビン酸カルシウムは乾燥後、 $C_{12}H_{14}CaO_4$ の98%以上、102%相当以内の純度を持つ。

after drying.

Description Calcium sorbate occurs as a fine white crystalline powder.

Uses As an antimicrobial and fungistatic agent.

Biological Data

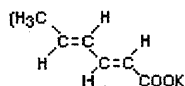
(See Potassium Sorbate)

POTASSIUM SORBATE

Chemical names Potassium sorbate; Potassium salt of trans,trans-2,4- hexadienoic acid

Empirical formula $C_6H_7O_2K$

Structural formula



Molecular weight 150.22

Definition Potassium sorbate contains not less than 98 per cent. and not more than the equivalent of 102 per cent. of $C_6H_7O_2K$.

Description Potassium sorbate occurs as white or yellowish-white crystals or crystalline powder.

Uses As an antimicrobial and fungistatic agent.

Biological Data

Biochemical aspects

The studies on the metabolism of ^{14}C -labelled sorbic acid were performed by using either sorbic acid neutralized with sodium hydroxide (Fingerhut et al., 1962) or the potassium salt (Westöö, 1964).

Acute toxicity

Substance	Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg body-weight)	References
Sodium sorbate	rat	oral	7 160	Smyth & Carpenter
Sodium sorbate	rat	oral	4 000 and 5 940	Deuel et al., 19
Potassium sorbate (solid isomer)	rat	oral	4 920	Mellon Institute
Potassium sorbate (mixed isomer)	rat	oral	6 170	Mellon Institute
Sodium sorbate	mouse	i.p.	2 500	Rhône-Poulenc, 1

解説

ソルビン酸カルシウムは精製白色結晶状粉として生じる。

使用法

抗菌剤や静真菌剤として。

生物学的データ

(ソルビン酸カリウム参照)

ソルビン酸カリウム

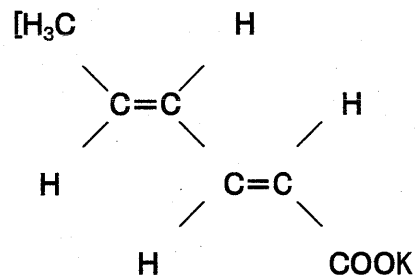
化学名

ソルビン酸カリウム ; トランス型、トランス 2-、4 型のヘキサジェン酸のカリウム塩

実験式

$C_6H_7O_2K$

構造式



分子量

150.22

定義

ソルビン酸カリウムは $C_6H_7O_2K$ を 98% 以上、102% 相当以内の純度を持つ。

解説

ソルビン酸カリウムは精製白色か帯黄色白色結晶か結晶状粉として生じる。

使用法

抗菌剤や静真菌剤として。

生物学的データ

生化学的側面

^{14}C -ソルビン酸の代謝の研究は水酸化ナトリウム(Fingerhut 他、1962)かカリウム塩 (Westöö, 1964) で中和したソルビン酸を使って行われた。

急性毒性

物質	動物	医薬経路	半数致死量 (mg/kg bw)		参考文献
ソルビン酸ナトリウム					
	ネズミ	経口	7	1 6 0	Smyth & Carpenter, 1948
ソルビン酸ナトリウム					
	ネズミ	経口	4	0 0 0	Deuel 他、1954a
			5	9 4 0	
ソルビン酸カリウム (固体異性体)					
	ネズミ	経口	4	9 2 0	Mellon Institute, 1954
ソルビン酸カリウム (混合異性体)					
	ネズミ	経口	6	1 7 0	Mellon Institute, 1954
ソルビン酸ナトリウム					
	ハツカネズミ	i. p.	2	5 0 0	Rhône-Poulenc, 1965

Short-term studies

Rat. Groups of 10 rats (5 male and 5 female) were fed potassium sorbate (solid or mixed isomers) at levels of 0, 1, 2, 5 and 10 per cent. of the diet for 3 months. Body-weight gain was initially depressed at 10 per cent., and, to a lesser degree, in the 5 per cent. female group. There are no figures given for the food consumption during this time. At the end of the experiment, the weights of the rats receiving 10 per cent. of either isomer were slightly depressed, but the food consumption of these animals was smaller. The food efficiency (weight gain/g food) was practically the same as in the

control group. Relative liver weights were the same in all groups. Kidney weights were increased at the 10 per cent. level, probably due to the high potassium load. This was also noted to a lesser degree at the 5 per cent. level. Gross pathological examination showed no abnormalities, even in the 10 per cent. level groups (Mellon Institute, 1954).

Dog. Eight dogs received 1 per cent. and 8 dogs 2 per cent. of the solid or mixed isomers of potassium sorbate in the diet for 3 months; 4 dogs were used as controls. There were no differences in weight gain. Gross examination on autopsy showed no evidence of a deleterious affect attributable to the sorbates (Mellon Institute, 1954).

Comments

The level of 10 per cent. and even per cent. potassium sorbate causes a very high potassium intake. The food consumption of 15 g/rat/day results in a daily intake of 12 meq. K for the 10 per cent. level group. The normal daily allowance for the mature rat is 1.5 meq. K.

When considering the results of the short-term studies, allowance, has been made for the adverse effects of high potassium intake. Accordingly it was concluded that the same no-effect level could be accepted for evaluation of sorbic acid and its Ca and K salts.

It is desirable that long-term studies be carried out on animals and metabolic investigations in man using the Ca or K salts.

Evaluation

Level causing no toxicological effect

Rat. 50 000 ppm in the diet, equivalent to 2500 mg/k body-weight/day.

Estimate of acceptable daily intakes for man

	<u>mg/kg body-weight¹</u>
Unconditional acceptance	0-12.5
Conditional acceptance	12.5-25

ソルビン酸カリウム

ハツカネズミ i.p.

1 3 0 0

Rhône-Pulenc, 1965

短期研究

ネズミ 10匹（雄5匹と雌5匹）のグループは0, 1, 2, 5と10%濃度のソルビン酸カリウム（固体と混合異性体）を3ヶ月間与えられた。5%の雌グループで体重増は最初10%減少した、後により低レベルで減少した。この期間の食物消費量の数値は無い。実験の最後に10%のソルビン酸ナトリウムかソルビン酸カリウムのどちらかの異性体を取ったネズミの体重は少し減少した、しかし、ネズミの食物消費量はより少なかった。食物効果(Weight gain/g food)は対照グループと事実上同じだった。相対的肝臓体重はすべてのグループで同じだった。腎臓の重さは10%濃度で増加した、多分、高カリウムの負荷量の性であろう。これは5%濃度でより低いレベルを示しもした。全体的病理学上の試験は異常性を示さず、10%濃度のグループさえも異常を示さなかった。(Mellon Institute, 1954)

犬 一組目の8匹の犬のグループが3ヶ月間食餌にソルビン酸カリウムの固体と混合異性体を1%取り、二組目の8匹の犬のグループが2%取った；4匹の犬が対照区として使われた。体重増に関して相違は無かった。検死解剖の全ての試験にソルビン酸塩による有害な影響の証拠を示さなかった。(Mellon Institute 1954)

解説

10%と偶数%濃度のソルビン酸カリウムは非常に高いカリウム摂取の原因となった。15 g /rat/dayの食物消費量は10%のカリウム12 meq. (ミリグラム当量)の一日当たり摂取の結果になった。成熟したネズミの通常一日許容量はカリウム1. 5 meq. の量である。

短期研究の結果から考えると、許容量は高カリウム摂取による有害効果に影響されている。結果的に、同じ無効化濃度がソルビン酸、ソルビン酸カルシウムとソルビン酸カリウムの評価を受け入れ可能と結論付けられた。

カルシウムやカリウムの塩化物を使った動物と人間の代謝調査が長期研究で行われる事が望ましい。

評価

毒性効果の原因となる濃度

ネズミ 50 000 ppmの食餌、2500 mg/k body-weight/dayに相当。

人間の一日当たり許容摂取量の推定値

mg/kg body-weight¹

無条件受容 .0 - 12. 5

条件付受容 12. 5 - 25

¹ ソルビン酸とソルビン酸カルシウムかソルビン酸カリウムの合計量として。(ソルビン酸として計算された。)

¹ As the sum of sorbic acid and Ca and K sorbates (calculated as sorbic acid).

REFERENCES

Deuel, H. J. jr et al. (1954) Food Res., 19, 1

Fingerhut, M., Schmidt, B. & Lang, K. (1962) Biochem. Z., 366, 118

Mellon Institute (1954) Unpublished report

Rhône-Poulenc (1965) Unpublished report

Smyth, H. F. jr & Carpenter, C. P. (1948) J industr. Hyg. Toxicol., 30, 63

Westöö, E. (1964) Acta chem. scand., 18, 1373

See Also:

Toxicological Abbreviations

参考文献

左頁参照

**Toxicological evaluation of some food
 additives including anticaking agents,
 antimicrobials, antioxidants, emulsifiers
 and thickening agents**

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication
 were prepared by the Joint FAO/WHO Expert
 Committee on Food Additives which met in Geneva,
 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
 Geneva
 1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on
 Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539;
FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

SORBIC ACID AND ITS CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM SALTS

Explanation

These compounds have been evaluated for acceptable daily intake
 by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1,
 Refs No. 6 and No. 13) in 1961 and 1965.

Since the previous evaluation, additional data have become
 available and are summarized and discussed in the following monograph.
 The previously published monograph has been expanded and is reproduced
 in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Sorbic acid did not act as an antimetabolite for essential fatty
 acids in the rat. The incorporation of sorbic acid into the diet of
 rats did not decrease the efficiency of utilization of calories.
 Sorbic acid is used by the animal organism as a source of calories
 (Deuel et al., 1954a). Sorbic acid is metabolized similarly to caproic
 acid (Cohen, 1937; Witter et al., 1950; Deuel et al., 1954b).

274. Sorbic acid and its calcium, potassium and sodium salts (WHO Food Additives...

抗粘結剤、抗菌剤、抗酸化剤、乳化剤及び濃縮剤を含む食品添加物の毒性評価

WHO FOOD ADDITIVES SERIES No. 5

この出版物にある評価は1973¹年6月25日～7月4日にジュネーブで行われた食品添加物に関するFAO/WHO 両専門委員会によって用意された。

World Health Organization

Geneva

1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No.53.

ソルビン酸とソルビン酸カルシウム、カリウムとナトリウム塩

解説

これらの化合物は1961年と1965年の食品添加物に関するFAO/WHO 両専門委員会 (Annex 1, Refs. No. 6 と No. 13 参照)によって一日当たりの許容摂取量に関して評価されている。前回の評価以来、追加されたデータが利用できるし、下記の研究論文にも論じられている。前回、出版された研究論文が発展詳説されているし、その全体が下記に再掲されている。

生物学データ

生化学側面

ソルビン酸はネズミにおける必須脂肪酸の抗代謝物として作用しなかった。ネズミに使ったソルビン酸食餌混合ではカロリー使用効率が減らなかった。ソルビン酸はカロリー源として動物器官に利用されている。(Deuel 他、1954a) ソルビン酸はカプロン酸と同様に代謝される。(Cohen, 1937; Witter 他 1950; Deuel 1954b)

In vitro studies using isolated rat liver particle systems show oxidation via 2-carbon atom fragments, which recondense to acetoacetate (Witter et al., 1950). Tissue homogenates or isolated mitochondria oxidize sorbic acid at the same speed as other fatty acids (Lang, 1960). The oxygen consumption of liver homogenates of parent rats fed for 120 days on diets containing 0% and 10% sorbic acid was similar in both groups. The female controls of the F₁ generation showed a significantly increased O₂ consumption compared with male or female F₁ rate on 10% sorbic acid (Demaree et al., 1955). Fasting female rats with exogenous ketonuria when fed sodium sorbate at various levels with or without additional glucose, produced similar amounts of ketone bodies in the urine or showed similar suppression of keto body formation as with caproic acid (Deuel et al., 1954b). Enzyme studies have shown that a concentration of 0.112% of sorbic acid inhibited catalase activity by 72 to 77% (Lück, 1957). Sulfhydryl enzymes in ficin and alcohol dehydrogenase were inhibited at a concentration of 10⁻⁴M. Aldolase and urease were not significantly inhibited by sorbic acid. Irradiated sorbic acid was a stronger inhibitor of ficin than sorbic acid (Whitaker, 1959). This inhibition of dehydrogenase is the main basis for the fungistatic activity of sorbic acid. It appears to be impossible to give sufficient sorbic acid to inhibit the dehydrogenase enzyme systems in the animal body (Melnick, et al., 1954a).

When sorbic acid is incorporated into food it may undergo oxidation, with the formation of peroxides and secondary oxidation products. In the presence of sufficient metabolizable carbohydrates the end-products are carbon dioxide and water. If metabolizable carbohydrates are not present, acetoacetate and acetone are also produced (Melnick et al., 1954b).

The metabolism of 1-¹⁴C-sorbic acid has been studied by Fingerhut et al. (1962a); 85% of the activity was found in the expired CO₂, 0.4% in the faeces, 2% in the urine as urea and CO₂, 3% in internal organs, 3% in the skeletal muscles and 6.6% in the other parts of the carcass. No glycogen was formed from sorbic acid. Most of the activity was found in the subcutaneous fat deposits and in the lipids of the organs. There was a linear relationship between dose and oxidation rate; the half-life of the oxidation was 40-110 minutes in the dose range from 60-1200 mg/kg bw. In a similar experiment on mice, also using 1-¹⁴C-sorbic acid, these results were confirmed; 81 ± 10% of the sorbic acid was oxidized to CO₂, the dose given ranging from 40-3000 mg/kg bw. About 7% of the activity was excreted as sorbic acid and 0.4% as trans, trans-muconic acid (Westöö, 1964).

The studies on the metabolism of ¹⁴C-labelled sorbic acid were performed by using either sorbic acid neutralized with sodium hydroxide (Fingerhut et al., 1962) or the potassium salt (Westöö, 1964).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on reproduction

Mouse

Mice fed for eight months 0 or 40 mg + 2 mg Nisin/kg/day sorbic acid were mated and allowed to produce F₁ to F₄ generations. Weight gains were compared at 3.5 months after weaning. Weight gain was better than controls in the F₄ only (Shtenberg and Ignatev, 1970).

Rat

隔離したネズミの肝臓粒子組織を使つての試験管内実験では2-carbon 原子断片を媒介として酸化を示す、そして2-carbon 原子断片は再び凝結する。(Witter 他、1950) 組織ホモジェネート懸濁液や分離したミトコンドリアは他の脂肪酸と同様の速度でソルビン酸を酸化する。(Lang 1960) 0%と10%のソルビン酸を含む食餌で120日間給餌された親のネズミの肝臓ホモジェネート懸濁液の酸素消費量は両グループで同じだった。F₁世代の雌の対照区は10%ソルビン酸での雄やF₁雌の率と比較するとO₂消費を非常に増大させた。(Demaree 他、1955) ケント尿症を伴い絶食している外来栄養の雌のネズミはグルコースを追加したり、しなかったりして色々なレベルでソルビン酸を与えた時、尿に同量のケトン体を作ったり、カプロン酸と一緒に、ケトン体形成の同様な分泌を示した。(Deuel 他、1954b) 酵素研究ではソルビン酸の0.112%の濃度がカタラーゼ

活動を72%から77%まで抑制した。(Lück, 1957) フィシンとアルコール脱水素酵素のスルフヒドリル酵素は 10^{-4} Mの濃度で抑制された。アルドラーゼとウレアーゼはソルビン酸によって大きくは抑制されなかった。照射されたソルビン酸は照射されて無いソルビン酸よりもフィシンのより強い抑制物質だった。(Whitaker, 1959) この脱水素酵素の抑制はソルビン酸の静真菌性活動の主な根拠である。動物の体内にアルコール脱水素酵素の酵素組織を抑制する為に十分なソルビン酸を与えるのは不可能の様に思われる。(Melnick, 他 1954a)

ソルビン酸が食品と結合されるとソルビン酸は過酸化水素形成と第二酸化産物を伴い、酸化変化を受ける場合がある。十分な代謝可能な炭水化物最終産物は二酸化炭素と水となって現れる。もし代謝可能な炭水化物が存在しなかったなら、アセト酢酸塩とアセトンも作られる。(Melnick 他 1954b)

$1-^{14}\text{C}$ -ソルビン酸の代謝はFingerhut 他によって研究されている。(1962a); 活性の85%が吐出したCO₂の中に、糞便の中に0.4%、尿素とCO₂としての尿の中に2%、内臓器官の中に3%、骨格筋の中に3%と胴体の他の部分に6.6%見つけられた。ソルビン酸からグリコーゲンは形成されなかった。活性のほとんどが皮下脂肪蓄積と器官の脂質に見つけられた。ソルビン酸からはグリコーゲンは形成されなかった。活性のほとんどが皮下脂肪蓄積や器官の脂質の中に見つかった。投与と酸化率の間に比例関係があった; 酸化による半減期は60-1200mg/kg body weight の範囲で40-110分だった。 $1-^{14}\text{C}$ ソルビン酸を使った同様なハツカネズミの実験でも、40-3000mg/kg body weight の範囲の投与の時、ソルビン酸の $81 \pm 10\%$ が、CO₂に成った。活性の7%位がソルビン酸として排出され、又trans型及びtrans型ムコン酸として0.4%排出された。(Westöö, 1964)

^{14}C 放射性同位元素で区別したソルビン酸の代謝研究は水酸化ナトリウム(Fingerhut 他、1962) かカリウム塩(Westöö, 1964) で中和したソルビン酸を使用して行われた。

毒性研究

繁殖の特別研究

ハツカネズミ

0か40mg + 2mg ナイシン/kg/day ソルビン酸を8ヶ月間取ったハツカネズミは交配されてF₁からF₄世代までの繁殖が認められた。体重増は離乳後3.5ヶ月で比較された。体重増はF₄世代だけの対照区より多かった。(Shtenberg and Ignatev, 1970)

ネズミ

雄5匹と雌5匹のネズミのグループが0%か10%ソルビン酸で120日間飼われた。60日

Groups of five male and five female rats were kept for 120 days on either 0 or 10% sorbic acid. After 60 days they were mated and produced similar numbers of off-spring. Fourteen rats of the F₁ generation were kept on control diet, 19 on 10% sorbic acid for a further 70 days and mated. The number of off-spring were similar in both groups. Females on 10% had normal liver weight but males showed reduced growth (Demarce et al., 1955).

Acute toxicity

Substance	Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	References
Sorbic acid	rat	oral	10 500	Deuel et al., 1954a
	rat	oral	7 400	Witter et al., 1950
		oral	7 360	Smyth & Carpenter, 1948
Sodium sorbate	rat	oral	7 160	Smyth & Carpenter, 1948
Sodium sorbate	rat	oral	4 000 & 5 940	Deuel et al., 1954a
Na-sorbate	rat	oral	7 200	Witter et al., 1950
Potassium sorbate (solid isomer)	rat	oral	4 920	Mellon Institute, 1954
Potassium sorbate (mixed isomer)	rat	oral	6 170	Mellon Institute, 1954
K-sorbate	rat	oral	4 200	
Sodium sorbate	mouse	i.p.	2 500	Rhône-Poulenc, 1965
Potassium sorbate	mouse	i.p.	1 300	Rhône-Poulenc, 1965

Short-term studies

Mouse

Groups of 25 male or 25 female mice received for two months by oral intubation daily 40 mg/kg/day sorbic acid. Survival, weight gain and food consumption were no different from controls: at the end of the study food was restricted by 50% for five days. Mortality and weight loss was less than in controls. Physical stress had no effect, mortality after giving 0.1 ml CC14 was less in sorbic acid treated mice than controls. Groups of 50 males and 50 females received by oral intubation 80 mg/kg sorbic acid for three months. Growth was somewhat restricted compared with controls. When stressed by 90% food restriction for 18 days there was no difference in mortality from controls. When given 0.1 ml CC14 mortality was nil compared to 30% in controls (Shtenberg & Ignatev, 1970).

Rat

Feeding sorbic acid at 1% or 2% in the diet for 80 days had no adverse effect on the growth of rats nor did any histological abnormalities appear in internal organs. Only the liver was slightly enlarged compared with controls (Kramer & Tarjan, 1962). Feeding 1% sorbic acid in the diet for four months had no effect on blood

後、ネズミは交配されて同数の子を産んだ。F₁世代の14匹のネズミが対照食餌実験に飼われ、更に70日間10%ソルビン酸で19匹が飼われ交配された。子の数は両グループで同じだった。雌の10%が平常肝臓の重さを示したが、雄は減退成長を示した。

急性毒性

物質	動物	医薬経路	半数致死量 (mg/kg bw)	参照文献
ソルビン酸	ネズミ	経口	10 500	Deuel 他、1954a
	ネズミ	経口	7 400	Witter 他、1950
		経口	7 360	Smyth & Carpenter, 1948
ソルビン酸ナトリウム				
	ネズミ	経口	7 160	Smyth & Carpenter, 1948
ソルビン酸ナトリウム				
	ネズミ	経口	4 000	Deuel 他、1954a
			5 940	
ソルビン酸 Na				
	ネズミ	経口	7 200	Witter 他、1950
ソルビン酸カリウム (固体異性体)				
	ネズミ	経口	4 920	Mellon Institute, 1954
ソルビン酸カリウム (混合異性体)				
	ネズミ	経口	6 170	Mellon Institute, 1954
ソルビン酸 K	ネズミ	経口	4 200	
ソルビン酸ナトリウム				
	ハツカネズミ	i. p.	2 500	Rhône-Poulenc, 1965
ソルビン酸カリウム				
	ハツカネズミ	i. p.	1 300	Rhône-Poulenc, 1965

短期研究

ハツカネズミ

雄25匹と雌25匹のグループは毎日 40mg/kg/day ソルビン酸を経口挿管法で2ヶ月間取った。死亡率、体重増と食物消費量は対照区と異ならなかった；研究の最後に食物を5日間50%まで制限した。死亡率と体重減は対照区より少なかった。身体的ストレスは影響無かったし、0.1 ml CC14 を与えた後の死亡率はソルビン酸実験したハツカネズミの方が対照区より少なかった。雄50匹と雌50匹のグループは3ヶ月間 80mg/kg ソルビン酸を経口挿管法で取った。成長はいくらに対照区と比較して、制限された。18日間90%の食物制限をしてストレスを与えた時、対照区の死亡率に相違は無かった。0.1 ml CC14 を与えられた時、死亡率は対照区の30%と比較して値は零だった。(Shtenberg & Ignatev, 1970)

ネズミ

80日間1%か2%のソルビン酸を与えた食餌はネズミの成長にも内臓器官に現れる組織上の異常にも有害な影響は無かった。ほんの少し肝臓だけが対照区と比較して拡大した。(Kramer & Tarjan, 1962) 4ヶ月1%ソルビン酸を与えた食餌は内臓器官に脂肪蓄積を伴い、10%の濃度を上げる一方、血液内コレステロール濃度には影響が無かった。白血球数は2ヶ月後に減少し、コリンエステラーゼ活動の部分的減損が有った。(Slakov & Petrow, 1964) 雄5匹と雌5匹のネズミのグループが120日間0%か10%のソルビン酸食餌で飼われた時、外観、行動と食物消

cholesterol level while 10% raised the level together with fat deposition in the internal organs. Leucocytes number was depressed after two months and there was partial impairment of cholinesterase activity (Slavkov & Petrowa, 1964). When groups of five male and five female rats were kept on a diet with 0% and 10% sorbic acid for 120 days appearance, behaviour and food consumption were normal but some animals at the 10% level showed increased liver/bw ratios (Demarce et al., 1955).

Tests with two different strains of rats in two separate laboratories showed that ingestion of diets containing 4% and 8% of sorbic acid for a period of 90 days did not affect the rate of weight gain. The animals receiving 4% of sorbic acid showed no abnormality of renal, hepatic or other tissues. Rats on the 8% diet showed a slight but statistically significant increase in relative liver weight. The histopathological appearance of the liver was, however, normal (Deuel et al., 1954a).

Sorbic acid was shown to produce local sarcomas in rats when given by repeated subcutaneous injection at the same site in either arachis oil or in aqueous solution. The potassium salt when administered under similar conditions failed to produce any tumours. Sorbic acid in the drinking-water (10 mg/100 ml) for 64 weeks and the potassium salt given either in the drinking-water (0.3%) or in the diet (0.1%) for 100 weeks failed to produce any tumours (Dickens et al., 1966, 1968).

Groups of 10 rats (five male and five female) were fed potassium sorbate (solid or mixed isomers) at levels of 0, 1, 2, 5 and 10% of the diet for three months. Body weight gain was initially depressed at 10%, and, to a lesser degree, in the 5% female group. There are no figures given for the food consumption during this time. At the end of the experiment, the weights of the rats receiving 10% of either isomer were slightly depressed, but the food consumption of these animals was smaller. The food efficiency (weight gain/g food) was practically the same as in the control group. Relative liver weights were the same in all groups. Kidney weights were increased at the 10% level, probably due to the high potassium load. This was also noted to a lesser degree at the 5% level. Gross pathological examination showed no abnormalities, even in the 10% level groups (Mellon Institute, 1954).

Rabbit

3.3 g sorbic acid daily/kg bw was tolerated by rabbits without adverse effects (Kuhn et al., 1937).

Dog

Eight dogs received 1% and eight dogs 2% of the solid or mixed isomers of potassium sorbate in the diet for three months; four dogs were used as controls. There were no differences in weight gain. Gross examination on autopsy showed no evidence of a deleterious effect attributable to the sorbates (Mellon Institute, 1954).

In dogs fed for three months on a diet containing 50% of cheddar cheese to which 4% of sorbic acid or 4% of caproic acid had been added, the response was similar to that in dogs on the same cheese diet without such supplements. No histopathological differences were observed in tissues obtained from any of the three groups (Deuel et al., 1954a).

Long-term studies

Mouse

費量は普通だったが、10%濃度で数匹が肝臓/体重の比率の増大を示した。(Demarce 他、1955)

別々の2箇所の実験室で2種の異なった系統のネズミの実験では90日間4%と8%のソルビン酸を含む食物摂取が体重増率に影響を与えなかった。4%のソルビン酸を取ったネズミは腎臓、肝臓や他の組織に異常を示さなかった。8%摂取のネズミは、少しであるが、相対的肝臓重量から見て統計的に重要な増加を示した。しかし、肝臓の組織病理学上の外観は正常だった。(Deuel 他、1954a)

10匹(雄5匹と雌5匹)のグループは0, 1, 2, 5と10%濃度のソルビン酸カリウム(固体と混合異性体)を3ヶ月間与えられた。5%の雌グループで体重増は最初10%減少した、後により低レベルで減少した。この期間の食物消費量の数値は無い。実験の最後に10%のソルビン酸ナトリウムかソルビン酸カリウムのどちらかの異性体を取ったネズミの体重は少し減少した、しかし、ネズミの食物消費量はより少なかった。食物効果(Weight gain/g food)は対照グループと事実上同じだった。相対的肝臓体重はすべてのグループで同じだった。腎臓の重さは10%濃度で増加した、多分、高カリウムの負荷量の性であろう。これは5%濃度でより低いレベルを示しもした。全体的病理学上の試験は異常性を示さず、10%濃度のグループさえも異常を示さなかった。(Mellon Institute, 1954)

うさぎ

3. 3gのソルビン酸 daily/kg bw では有害な影響は無く耐性があった。

犬

一組目の8匹の犬のグループが3ヶ月間食餌にソルビン酸カリウムの固体と混合異性体を1%取り、二組目の8匹の犬のグループが2%取った; 4匹の犬が対照区として使われた。体重増に関して相違は無かった。検死解剖の全ての試験にソルビン酸塩による有害な影響の証拠を示さなかった。(Mellon Institute 1954)

4%のソルビン酸、又は4%のカプロン酸を加えた50%のチェダーチーズを含む食餌を3ヶ月間与えた犬では、反応はそのような補充剤無しと同じチーズを与えた犬の反応と同じだった。組織病理学上の相違は、この3組のグループから採った組織に観察されなかった。(Deuel 他、1954a)

長期研究

ハツカネズミ

Groups of 33 male and female mice were injected s.c. up to 44 times with sorbic acid in arachis oil to a total of 31 mg sorbic acid. Controls had arachis oil only and 33 controls were untreated. Animals survived on average 40 weeks (range 4-80 weeks). No animal developed malignant tumours at the site of injection. Spontaneous mammary carcinomas occurred in equal numbers in untreated and treated groups (Gericke, 1968). Groups of 50 male and 50 female mice were given 40 mg/kg/day sorbic acid in their diet. No tumours were seen in control or sorbic acid group. General condition, behaviour, weight gain and survival were similar in control and test groups. The relative weights of liver, kidney and testes were lower in the test group than in controls. 100% starvation for 13 days at the end of the test increased mortality compared with controls (Shtenberg & Ignatev, 1970).

Rat

Groups of 10 male and 10 female rats received 40 mg/kg/day sorbic acid in their diet for 18 months. After the end of the test, animals were starved for 13 days completely but the test groups survived longer than controls. Weight gain was not measured. Blood pH, C-reactive protein levels and blood morphology were comparable with controls and no significant changes were seen in serum ceruloplasmin, serum complement or phagocytic activity of leucocytes. Tumour results were not reported (Shtenberg & Ignatev, 1970).

Groups of six rats were given 0.1% K-sorbate in food and 0.3% K-sorbate in drink for 60 weeks. Survival and general conditions were satisfactory. No special features were seen at 65 weeks in exploratory laparotomy nor at 100 weeks when all animals had died. No tumours were detected (Dickens et al., 1968).

Groups of six rats received by s.c. injection (light) sorbic acid in water or K-sorbate (light) in water and groups of 12 rats received SG/sorbic acid (Hoechst) in oil, and K-sorbate (Hoechst) in water. A control group of 12 received oil only. Dosage was 2 mg/0.5 ml twice weekly for 56-60 weeks. No local or distant tumours were seen in 12 controls, three of which survived 108 weeks. Sorbic acid (light) in water produced two local fibrosarcomata at the injection site, all six animals being dead at 76 weeks. Sorbic acid (Hoechst) in oil produced no local tumours at all with two animals surviving 108 weeks. K-sorbate (light) in water produced no local tumours in six rats, three animals surviving 100 weeks and K-sorbate (Hoechst) in oil also produced no tumours in 12 rats with two surviving 108 weeks (Dickens et al., 1968).

Feeding 5% of sorbic acid in the diet to groups of 100 rats for 1000 days in two generations had no effect on weight gain or reproduction. No ill effects were observed, and no sorbic acid could be found in the urine (Lang et al., 1967).

The feeding experiment on groups of 100 rats (50 males and 50 females) given 0 and 5% sorbic acid was extended to the whole life-span of the first generation. The average life-span of the group receiving sorbic acid was 811 days for the males and 789 days for the females. In the control group the life-span of the males was 709 days and for the females 804 days, possibly suggesting protection by sorbic acid against lung infection. Autopsies were performed on all rats of the first generation that died during the experiment. There were no differences in the organ weight of the individual groups nor in the distribution of the causes of death. In each group (5% sorbic acid and controls) only two tumours were found. The animals of the second generation were sacrificed after 250 days of feeding sorbic acid.

雌雄33匹のハツカネズミのグループにソルビン酸を合計31mg、落花生油の中にソルビン酸の入った皮下注射を44回までした。対照区は落花生油だけを取り、33匹の対照区は実験しなかった。ハツカネズミは平均40週間生きた。(4-80週間) ハツカネズミは皮下注射部位に悪性腫瘍はできなかった。実験していないものと実験したもののグループに自然発生の乳癌が同じ数できた。(Gericke, 1968) 雄50匹と雌50匹のハツカネズミに40mg/kg/dayのソルビン酸食餌を与えた。腫瘍は対照区とソルビン酸グループに見られなかった。一般体調、行動、体重増と生存率は対照区とテストされたグループとで同じだった。肝臓、腎臓、精巣の相対重量は対照区よりもテスト・グループの方が低かった。テスト最終の13日間にした100%絶食は対照区と比較して死亡率を増加させた。(Shtenberg & Ignatev, 1970)

ネズミ

雄10匹と雌10匹のネズミが40mg/kg/dayのソルビン酸を18ヶ月間取った。テストが終わった後、ネズミに13日間、完全絶食させたが、テスト・グループは対照区よりも生きた。体重増は無かった。血液 pH、C 反応性蛋白質濃度と血液組織形態を対照区で比較すると、血清セロプラズミン、血清補体や白血球の食細胞に重要な変化は見られなかった。腫瘍は結果として報告されなかった。(Shtenberg & Ignatev, 1970)

六匹のネズミのグループに60日間、0.1%のソルビン酸カリウムの食餌を与えたり、0.3%のソルビン酸カリウムの飲料を与えた。生存率と一般体調は満足 of いくものであった。診査腹壁切開を65週間後にした時や全てのネズミが死んでしまった100週間目の時も特別な様態は見られなかった。腫瘍は認められなかった。(Dickens 他、1968)

6匹のネズミが水の中に(軽)ソルビン酸を入れた皮下注射や水の中に(軽)ソルビン酸カリウムを入れた皮下注射を受け、12匹のネズミのグループがヘキスト社(Hoechst)製のSG/ソルビン酸を油の中に入れた皮下注射を受け、又、ヘキスト社(Hoechst)製のソルビン酸カリウムを水の中に入れた皮下注射を受けた。12匹の対照グループは油だけの皮下注射を受けた。投与量は56-60日の間に週2回2mg/0.5ml投与した。12匹の対照区では局部やdistant部分に腫瘍は見られなかったし、その内の3匹は108週間生きた。水の中に(軽)ソルビン酸を入れたものには、注射した局部に2個の繊維肉腫ができた、6匹のネズミ全てが76週間目に死んだ。油の中にヘキスト社製(Hoechst)ソルビン酸を入れたものには、108週間生きた2匹のネズミと共に全くlocal腫瘍ができなかった。水の中に(軽)ソルビン酸カリウムを入れたものは6匹のネズミにlocal腫瘍ができなかったし、3匹のネズミは100週間生きた、又、油の中にヘキスト社(Hoechst)製のソルビン酸カリウムを入れたものには108週間生きた2匹のネズミと共に12匹のネズミに腫瘍ができなかった。(Dickens 他、1968)

二世代に渡って1000日間100匹のグループに5%のソルビン酸を与えた食餌に体重増や繁殖に影響は無かった。病変効果は観察されず、ソルビン酸は尿中に見つからなかった。(Lang 他、1967)

0%か5%のソルビン酸を与えた100匹のネズミのグループ(雄50匹と雌50匹)の食餌実験では第一世代の全寿命が引き伸ばされた。ソルビン酸を取ったグループの平均寿命は雄が811日、雌が789日だった。対照グループでは、雄の寿命は709日、雌が804日だった、そして、可能性としてソルビン酸が肺感染に予防になっている事を暗示している。検死解剖は実験中に死んだ第一世代の全てのネズミに行われた。個体グループの器官重量の相違や死亡原因の分布の相違は無かった。各グループで(ソルビン酸5%とcontrols)2個の腫瘍しか見つからなかった。第二世代のネズミはソルビン酸食餌の250日後に実験を止められた。肝臓、腎臓、心臓及び精巣の試験で異常は無かった。(Lang, 1962; Long 他 1967)

Examination of liver, kidney, heart and testes showed no abnormalities (Lang, 1960: Lang et al., 1967).

Comments:

Sorbic acid is readily metabolized. Both man and rat appear to utilize identical metabolic mechanisms for oxidation of sorbate. The long-term studies suggest that the same no-effect level applies to the salts as to the free acid. Sorbic acid and K-sorbate corresponding to the specifications do not cause tumours when administered orally or subcutaneously. The earlier results of s.c. injection with an

unidentified sample remain unexplained. Long-term studies on parasorbic acid which, it has been claimed, may be produced from sorbic acid, also produce no evidence of carcinogenic potential when given orally.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 50 000 ppm (5%) in the diet, equivalent to 2500 mg/kg bw per day.

Estimate of acceptable daily intake for man

mg/kg bw
0-25*

REFERENCES

- Cohen, P. P. (1937) J. biol. Chem., 119, 333
- Demarce, G. E. et al. (1965) J. Amer. Pharm. Ass. Sci., 44, 619
- Deuel, H. J. et al. (1954a) Food Res., 19, 1
- Deuel, J. J. et al. (1954b) Food Res., 19, 113
- Dickens, F., Jones, H. E. H. & Waynforth, H. B. (1966) Brit. J. Cancer, 20, 134
- Dickens, F., Jones, H. E. H. & Waynforth, H. B. (1968) Brit. J. Cancer, 22, 762
- Fingerhut, M., Schmidt, B. & Lang, K. (1962) Biochem. Z., 335, 118
- Gericke, D. (1968) Z. Ernährungswiss., Suppl. 7, 29
- Kramer, M. & Tarjan, R. (1962) Int. Z. Vitaminforsch., 32, 149
- Kuhn, R., Köhlei, F. & Köhlei, L. (1937) Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 247, 197
- Lang, K. (1960) Arzneimittel-Forsch., 10, 997

* As sum of sorbic acid and calcium, potassium and sodium sorbate (expressed as sorbic acid).

Lang, K. et al. (1967) Unpublished report

Lück, H. (1957) Biochem. Z., 328, 411

解説

ソルビン酸は容易に代謝された。人間とネズミ両者にソルビン酸塩の酸化の同じ代謝メカニズムが現れる。同じ無効化濃度が遊離酸に関して塩類に適応していると長期研究は暗示している。経口か皮下で投与した時に、規格に沿ったソルビン酸とソルビン酸カリウムは腫瘍の原因にはなかった。未確認サンプルでの皮下注射の以前の結果データは説明されないままになっている。注目されている事であるが、ソルビン酸から生産されるかもしれないパラソルビン酸の長期研究は経口で与えられた時、発癌潜在性の証拠を示してもいない。

評価

無毒性効果の原因となる濃度

ネズミ： 毎日 2500 mg/kg bwに相当する 50 000 ppm (5%)。

人間の一日当たりの許容摂取量の推定値

mg/kg bw

0 - 25*

参考文献

左頁参照

Mellon Institute (1954) Unpublished report

Melnick, D., Luckmann, F. H. & Gooding, C. M. (1954a) Food Res., 19,
44

Melnick, D., Luckmann, F. H. & Gooding, C. M. (1954b) Food Res., 19,
33

Rhône-Poulenc (1965) Unpublished report

Shtenberg, A. J. & Ignatev, A. D. (1970) Fd. Cosmet. Toxicol., 8, 369

Slavkov, B. & Petrowa, A. (1964) Higiena (Sofia) 7, 4, 52

Smyth, H. F. jr & Carpenter, C. P. (1948) J. industr. Hyg. Toxicol.,
30, 63

Westöö, E. (1964) Acta chem. scand., 18, 1373

Whitaker, J. R. (1959) Food Res., 24, 37

Witter, R. F., Newcomb, E. H. & Stotz, E. (1950) J. biol. Chem.,
185, 537

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY

WORLD HEALTH ORGANIZATION

**TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
FOOD COLOURS, ENZYMES, FLAVOUR
ENHANCERS, THICKENING AGENTS, AND
CERTAIN FOOD ADDITIVES**

WHO FOOD ADDITIVES SERIES 6

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Rome, 4-13 June 1974¹

World Health Organization Geneva 1975

¹ Eighteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 557. FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 54.

BETA-APO-8'-CAROTENAL*

Explanation

This compound has been evaluated for acceptable daily intake by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1, Ref. No. 10) in 1966.

Since the previous evaluation additional data have become available and are summarized and discussed in the following monograph. The previously published monograph has been expanded and is reproduced in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

After administration to rats as the only dietary carotenoid, some

化学品安全性に関する国際プログラム

世界保健機関

食品着色料、酵素、調味料、増粘剤、食品添加物の毒物学的評価

世界保健機関食品添加物シリーズ 6

この発行物に含まれる評価は、1974¹年6月4日から13日にローマで会合した食品添加物に関する FAO/WH 合同専門委員会で準備されました。

世界保健機関

ジュネーブ 1975

¹ 食品添加物に関する FAO/WHO 合同委員会の第18回報告、
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 557.
国連食糧農業機関栄養会議報告シリーズ, 1974, No. 54.

BETA-APO-8'-CAROTENAL*

説明

この化合物は、1966年にFAO/WHO合同専門委員会により、食品添加物に関する一日当たりの摂取量を評価しました。(see 付属文書1、Ref. No. 10を参照して下さい)。

以前の評価以来、追加のデータが入手出来、要約され、次のモノグラムで討議します。以前に発行されたモノグラムは、拡大させて、以下に完全に複製します。

生物学的データ

生化学的側面

食物のみによるカロチノイドとしてラットに投与した後に、beta-apo-8'carotenal は、ビタミンAとbeta-apo-8'-carotenoic acidと共に肝臓に蓄積します(Thommen, 1962; Brubacher et al., 1960)。

beta-apo-8'-carotenal accumulates in the liver together with Vitamin A and beta-apo-8'-carotenoic acid (Thommen, 1962; Brubacher et al., 1960).

Almost all of an excessive dose is excreted in the faeces, only a small fraction being absorbed ordinarily (Wiss & Thommen, 1963).

Dogs absorb it poorly from the gastrointestinal tract and excrete it in the urine together with beta-apo-8'-carotenoic acid (Bagdon et al., 1960).

Hypervitaminosis A has not been seen in these dogs. The body fat and livers of monkeys show an orange discoloration after oral feeding of beta-apo-8'-carotenal, and it is stored in the liver together with an unidentified carotenoic acid. Laying hens excrete some into yolk (90% as ester, 10% as free beta-apo-8'-carotenoic acid), with deepening of colour (Tiews, 1963; Thommen, 1962).

Hypercholerolemic activity has been noted (Wood, 1963).

Only 4% of dietary catorenal is converted to Vitamin A in the gut of Vitamin A-deficient rats, compared with 10% of beta-carotene. Carotenals are easily oxidized to carotenoic acids and less readily reduced to alcohols in vivo, pointing to metabolic pathways other than beta-oxidation (Wiss & Thommen, 1963; Glover, 1960).

* Beta-apo-8'-carotenal is found in abundance in the vegetable kingdom, e.g. in the pulp and skin of citrus fruits and in various fodder plants (Wiss & Thommen, 1963; Thommen, 1962).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Acute toxicity

Animal	Route	LD ₅₀ mg/kg bw	Reference
Mouse	Oral	> 10 000	Anonymous, 1966

Short-term studies

Rat

Groups of 16 male rats received 0, 100 or 500 mg/kg of carotenal intragastrically five days per week for 34 weeks. No adverse effects were seen on body weight gain, general health, survival, liver and kidney function and organ weights. The testicular weight of the high level test group was significantly lower than that of the controls. Microscopic findings were normal except for granular pigment deposition in the liver and kidneys of test animals. Fertility as shown by monthly mating of four females, was not affected (Anonymous, 1962; Anonymous, 1966).

Dog

Groups of two to three female and three to four male dogs received 0, 0.1 or 1.0 g of carotenal daily per animal during 14 weeks. All remained healthy and no significant effect was noted. No pathological lesions related to the test substance were seen at post-

過剰な量の殆ど全ては便に排泄されて、通常、少量のみが吸収されます。(Wiss & Thommen, 1963)

イヌは胃腸管から殆ど吸収せず、beta-apo-8'-carotenoic acid と共に尿に排泄します。(Bagdon et al., 1960).

これらのイヌでは、ビタミン過剰症は見られませんでした。beta-apo-8'-carotena の経口投与の後に、体脂肪と猿の肝臓はオレンジ色を示し、特定されていない carotenoic acid と共に肝臓に蓄積されます。産卵鶏は、卵黄(エステルとして 90%、free beta-apo-8'-carotenoic acid として 0%)に少し排泄し、変色させます(Tiews, 1963; Thommen, 1962)。

Hypercholerolemic の活動が注目されました(Wood, 1963)。ベータカロチンの 10%と比較すると、食物中の catorenal の 4%のみが、ビタミン A 不足のラットの腸でビタミン A に変換されます。Carotenal は簡単に酸化されて carotenoic acid になり、簡単に体内でアルコールになり難く、beta-oxidation より代謝経路の傾向を示します(Wiss & Thommen, 1963; Glover, 1960)。

* Beta-apo-8'-carotenal は豊富に食物界、例えば果肉、柑橘類、飼料食物の中に見られます(Wiss & Thommen, 1963; Thommen, 1962)。

毒物学的研究

急性毒性

動物	経路	LD ₅₀	参考
		mg/kg bw	
マウス	経口	> 10 000	匿名、1966

短期間の研究

ラット

16 匹のオスのラットグループに、34 週間、一週間当り、0, 100 or 500 mg/kg の carotenal を胃腸の中に与えました。体重の増加、一般的な健康、生存、肝臓と腎臓の機能と臓器重量に関して、悪影響は見られませんでした。高レベルのテストグループの精巣重量は、コントロールのものより非常に軽かった。テスト動物の肝臓や腎臓での粒状顔料の沈殿を除いて、顕微鏡の所見は正常でした。4 匹のメスの毎月の交尾に見られたように、繁殖力は影響を受けなかった(匿名 1962; 匿名、1966)。

イヌ

3 匹のメスのイヌの 2 グループと 4 匹のオスのイヌの 3 グループに、14 週間、1 頭あたり毎日、0, 0.1 or 1.0 g の carotenal を与えました。全て健康であり、顕著な影響は見られなかった。検死解剖では、試験物質に関連する病理学的損傷は見られなかった。抹消血液像、肝臓機能テスト、血清酵素、血中尿素窒素は正常でした。ビタミン A や血清、肝臓、腎臓、副腎や腸間膜の脂肪ノレベルを推測しました。ビタミン A の血清レベルは、コントロールより 3 から 4 倍でした。1.0 g を与えられたグループでは、carotenal の血清レベルは増加し、0.1 g のグ

mortem. Peripheral blood picture, liver function tests, serum enzymes and blood urea were normal. Vitamin A and carotenal levels of serum, liver, kidney, adrenal and mesenteric fat were estimated. The kidney level of Vitamin A was three to five times that of controls. The serum level of carotenal was elevated in the group receiving 1.0 g and there was an occasional trace in the group on 0.1 g. Tissue amounts were variable. The only microscopic finding was pigmentation of the adipose tissue, kidney and adrenal cortex. Organ weights were normal (Bagdon et al., 1962).

Long-term studies

Rat

A three-generation study in rats at 0 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm and 5000 ppm for two years showed no adverse effect in any generation (Anonymous, 1966).

Comments:

Beta-apo-8'-carotenal has been adequately tested in rats. The use of this substance is unlikely to result in an increased level of vitamin A although the conversion rate for man is not known. Similarly to beta-carotene, this substance is poorly absorbed from the gastrointestinal tract when present in large amounts. It can, therefore, be evaluated on the same basis as beta-carotene.

EVALUATION

Estimate of acceptable daily intake for man

0-5 mg/kg bw*

REFERENCES

Anonymous (1962) Hoffmann-La Roche, Unpublished report

Anonymous (1966) Hoffmann-La Roche, Unpublished report

Bagdon, R. E., Impellizzeri, C. & Osadca, M. (1962) Toxic. Appl. Pharm., 4, 444

Bagdon, R. E., Zbinden, G. & Studer, A. (1960) Toxic. Appl. Pharm., 2, 223

Brubacher, G., Gloor, U. & Wiss, O. (1960) Chimia, 14, 19

Glover, J. (1960) Vit. Horm., 18, 371

Thommen, H. (1961) Chimin, 15, 433

Thommen, H (1962) Naturw., 49, 517

Tiews, J. (1963) Dtsch. Gesellsch. Ernährung., 9, 236

Wiss, O. & Thommen, H. (1963) Dtsch. Gesellsch. Ernährung., 9, 179

Wood, J. D. (1963) Canad. J. Biochem., 41, 1663

* As sum of the carotenoids: Beta-apo-8'-carotenal

Beta-carotene

ループでは、時々、痕跡がありました。組織量は変化していました。顕微鏡的所見のみは、脂肪組織、腎臓、副腎皮質の色素沈着でした(Bagdon et al., 1962)。

長期間の研究

ラット

2年間、0 ppm、1000 ppm、2000 ppm、5000 ppmでラットの3世代に亘る研究では、どの世代でも悪影響を示しませんでした。(匿名、1966)。

コメント:

Beta-apo-8'-carotenal は、ラットに於いて適切にテストされました。人間に対する変換率は未知ですが、この物質の使用は、ビタミンAのレベルの増加にはならないようです。同様にベータカロチンに対して、多少に存在していると、この物質は、胃腸管から殆ど吸収されません。従って、ベータカロチンとして同じ基準で増加します。

評価

人間に対する一日当たりの許容摂取量の推測

0-5 mg/kg bw*

REFERENCES

Anonymous (1962) Hoffmann-La Roche, Unpublished report

Anonymous (1966) Hoffmann-La Roche, Unpublished report

Bagdon, R. E., Impellizzeri, C. & Osadca, M. (1962) Toxic. Appl. Pharm., 4, 444

Bagdon, R. E., Zbinden, G. & Studer, A. (1960) Toxic. Appl. Pharm., 2, 223

Brubacher, G., Gloor, U. & Wiss, O. (1960) Chimia, 14, 19

Glover, J. (1960) Vit. Horm., 18, 371

Thommen, H. (1961) Chimin, 15, 433

Thommen, H (1962) Naturw., 49, 517

Tiews, J. (1963) Dtsch. Gesellsch. Ernährung., 9, 236

Wiss, O. & Thommen, H. (1963) Dtsch. Gesellsch. Ernährung., 9, 179

Wood, J. D. (1963) Canad. J. Biochem., 41, 1663

* As sum of the carotenoids: Beta-apo-8'-carotenal

Beta-carotene

Beta-carotenoic acid methyl ester

Beta-carotenoic acid ethyl ester

See Also:

Toxicological Abbreviations

Carotenal, beta-apo-8'- (JECFA Evaluation)

Beta-carotenoic acid methyl ester

Beta-carotenoic acid ethyl ester

下記の参照して下さい：

毒物学用略語

Carotenal, beta-apo-8'- (JECFA 評価)

TRIETHYL CITRATE

Explanation

The citrate ion is widely distributed in plant and animal tissues and is a naturally occurring component of man's diet. It is a common metabolic intermediate in oxidative metabolism. Citrate was evaluated by the ninth session of the JECFA and was given an ADI not limited.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Triethyl citrate is an odourless, nearly colourless, oily liquid. No absorption or metabolism studies have been reported, however, it is expected that the compound would rapidly metabolize in the body and liberate the citrate ion which would be handled through the usual biochemical pathways (FASEB, 1976).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Acute toxicity

Species	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Reference
Rat	p.o.	8 000	Finkelstein & Gold, 1955
Cat	p.o.	4 000	Finkelstein & Gold, 1955

Short-term studies

Mouse

A group of 20 mice given intraperitoneal doses of 350 mg/kg bw of triethyl citrate daily for 14 days had a slightly lower mean growth rate than control animals. No differences were seen in the two groups in erythrocyte and leucocyte blood cell count, clotting time and haemoglobin levels. Examination of the liver, lung and kidney tissues of two animals at necropsy revealed no pathological cellular changes.

Rat

Young rats were fed triethyl citrate at an initial rate of 1, 2 and 4 g/kg bw for eight weeks (Finkelstein & Gold, 1955). Urinalysis, blood counts and growth measurement, performed periodically, revealed no toxic effects. At necropsy, no gross abnormalities were seen in the thoracic or abdominal organs. Histological sections of the heart, lungs, gastrointestinal tract, liver, pancreas, spleen and kidneys were comparable in appearance to those from the untreated controls.

Cat

Cats receiving daily doses of 7% of the LD₅₀ (280 mg/kg bw) for

クエン酸トリエチル

説明

クエン酸塩イオンは、植物や動物の組織に広く分布し、人間の食物から自然に発生する成分です。クエン酸塩は、酸化の代謝に於ける一般的な中間代謝物です。クエン酸塩は、JECFA の第 9 回会議で評価されましたが、一日当りの許容摂取量を限定しませんでした。

生物学的データ

生化学的側面

クエン酸トリメチルは、無臭で、殆ど無色で、油性液です。吸収或いは代謝の研究は報告されていませんが、しかしながら、化合物は体内で迅速に代謝し、通常の生化学的プロセスを通して取扱われるクエン酸イオンを自由化します。(FASEB, 1976)。

毒物学的研究

急性毒性

種別	経路	LD ₅₀ (mg/kg bw)	参考
ラット	経口 p.o.	8 000	Finkelstein & Gold, 1955
ネコ	経口 p.o.	4 000	Finkelstein & Gold, 1955

短期間の研究

マウス

14 日間、350 mg/kg bw のクエン酸トリメチルを腹腔内投与した 20 匹のマウスのグループは、コントロールマウスより少し低い平均成長率でした。赤血球数と白血球数、凝固時間とヘモグロビンレベルの相違は、二つのグループでは見られませんでした。死検で、二つのグループのマウスの肝臓、肺と腎臓の組織の検査では、病理学的な細胞変化は現れませんでした。

ラット

若いラットに、8 週間、1、2、4 g/kg bw の初速度でクエン酸トリエチルを投与しました(Finkelstein & Gold, 1955)。定期的に行った尿検査、血球数と成長の測定では毒性の影響を表しませんでした。死検では、胸郭器官或いは腹部器官での全体的な異常は見られませんでした。心臓、肺、胃腸管、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓の組織学的部分は、処理されていないコントロールと外見では同等でした。

ネコ

8 週間、7% of the LD₅₀ (280 mg/kg bw) の 7% を一日の服用量として与えたネコは、体重、血球数、ヘモグロビン、血糖、血中窒素に関して、コントロール動物と変わりはありませんでした。

eight weeks did not differ from control animals with respect to weight, blood count, haemoglobin, blood sugar and blood nitrogen. However, weakness, ataxia and depression appeared after the fourth or fifth dose and progressed. After treatment was discontinued, the animals recovered within 24-96 days (Finkelstein & Gold, 1959).

Dog

Two young adult male and two young adult female beagle dogs were given daily doses of triethyl citrate of 0.05 and 0.25 ml/kg bw for six months. Measurement of body and organ weights, blood and urinalysis and the results of histological examination of tissues revealed no adverse effects (Hodge, 1954). Increasing the daily dose to 2.5 to 3.5 ml/kg bw for seven to 12 weeks resulted in liver pathology in three treated animals. A fourth dog that had previously reacted adversely to a 2 ml/kg bw dose showed no histological changes after receiving 1.5 ml/kg bw daily for an additional month.

Long-term studies

Rat

Three groups of 15 male and 15 female weanling Sprague-Dawley rats were fed diets containing 0.33, 1.0 and 3.0% triethyl citrate in a two-year feeding study (LaWall & Harrison, 1954). The initial doses were from 0.2 to 2.0 g/kg bw. Weight gain and food intake were reduced below that of the control groups when the level of the compound in the diet was increased. (No specific numbers were given for these results.) No adverse effects of haematologic, urinalysis, survival, gross or histopathologic parameters could be attributed to triethyl citrate.

Special studies on reproduction and teratology

At doses ranging from 0.5 to 10 mg/kg b.w. triethyl citrate was nonteratogenic in the chicken embryo. When injected into the air cell, the LD₅₀ was 1349.86 mg/kg bw (67.49 mg/egg) (Verrett, 1976).

Special studies on mutagenesis

Triethyl citrate was not mutagenic in plate and suspension tests using the Ames Salmonella microsome mutagenesis assay in strains TA 1535, TA 1537 and TA 1538 and the Saccharomyces cerevisiae D4 yeast assay with and without tissue homogenate activating systems (Litton Bionetics, Inc., 1976).

Special studies on neurological activity

Rat

In Wistar rats dose intraperitoneally at 400 mg/kg bw triethyl citrate produced a loss of the righting reflex, an effect reversible within 15 minutes.

Rabbit

Intravenous administration of a 100 mg/kg bw dose of triethyl citrate to rabbits produced a marked increase in motor activity and respiration (Meyer et al., 1964).

Comments

Citrate was evaluated by the ninth session of JEFCA (1966)¹ and ADI not limited was given. It is likely that triethyl citrate will be

んでした。しかしながら、第4回或いは第5回の投与後に、病弱、運動失調、機能低下が現れました。投与を中止すると、24日から96日以内に回復しました(Finkelstein & Gold, 1959)。

イヌ

2匹の若い成人のオスと2匹の成人のメスのビーグル犬に、6ヶ月間、0.05と0.25 ml/kg bwのクエン酸トリエチルを、毎日、投与しました。体重と臓器の重量の測定、血液と尿検査、組織の組織学的検査では悪影響を示しませんでした(Hodge, 1954)。7週間から12週間、一日の服用量を2.5から3.5 ml/kg bwまでに増やすと、3匹の服用した動物で肝臓病変になりました。以前に2 ml/kg bwの服用量に対して逆に反応した第4のイヌは、1ヶ月間追加して、毎日、1.5 ml/kg bwを投与した後に、組織学的変化を示しました。

長期間の研究

ラット

2年間の投与研究で、15匹のオスと15匹のメスの乳離れした幼児のSprague-Dawleyのグループに、0.33、1.0、3.0%のクエン酸トリエチルを含んでいる食物を与えました(LaWall &

Harrison, 1954)。最初の投与量は、0.2から2.0 g/kg bwでした。食物中の化合物のレベル

が増加すると、体重の増加、食品の摂取量はコントロールグループのそれらの以下でした。(これらの

結果には、特定した数字が与えられませんでした。) 血液、尿検査、生存、全体或いは組織病理学的

パラメーターの悪影響は、クエン酸トリエチルに起因していませんでした。

生殖と奇形学に関する特別研究

0.5から10 mg/kg b.w.の範囲での投与量では、クエン酸トリエチルは、鶏の胎児の奇形は有りませんでした。気泡に注入されると、LD₅₀は1349.86 mg/kg bw (67.49 mg/egg) でした(Verrett, 1976)。

突然変異生成に関する特別研究

strains TA1535、TA 1537、TA 1538に於けるAmes Salmonella microsome 変異誘発分析、tissue homogenate activating systems でのSaccharomyces cerevesiae D4 酵母分析、tissue homogenate activating systems なしでのSaccharomyces cerevesiae D4 酵母分析を使用しているプレートと懸濁テストでは、クエン酸トリエチルは突然変異性ではありませんでした(Litton Bionetics, Inc., 1976)。

神経活動に関する特別研究

ラット

Wistar ラットで、腹腔内に400 mg/kg bwのクエン酸トリエチルの量は、立ち直り反射の損失、15分以内に改善可能な影響を生じました。

ラビット

ラビットに、100 mg/kg bw量のクエン酸トリエチルを静脈投与すると、運動活動や呼吸の顕著な増加を生じました(Meyer et al., 1964)。

コメント

クエン酸塩は、JEFCA (1966)¹の第9回会議評価し、ADIの限界は設けませんでした。クエン酸トリエチルは、加水分解されて成分、クエン酸塩、生体内のエタノールになるようです。2

hydrolyzed to its component parts, citrate and ethanol in vivo. Data from two-year feeding studies suggest that rats can tolerate up to 2.0 g/kg. Dogs tolerated up to 0.25 ml/kg bw for six months without effects.

Triethyl citrate was not mutagenic in several microbiological assays.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 2 g/kg bw

Estimate of temporary acceptable daily intake for man

0-10 mg/kg bw

FURTHER WORK OR INFORMATION

Required by 1981.

Repeat metabolic studies in several species, preferably including man.

¹ Changed to 1973 on draft which was seventeenth session.

REFERENCES

- FASEB (1976) SCOGS, 84, Contract No. FDA 223-75-2006, submitted to FDA, Washington, D.C.
- Finkelstein, M. & Gold, H. (1959) Tox. Appl. Pharmacol., 1, 283
- Hodge, H. C. (1954) Unpublished data submitted to FASEB
- LaWall, (?) & Harrison, (?) (1954) Unpublished, prepared for Fleishmann Laboratories, Standard Brands, Inc., Stamford, Conn., USA
- Litton Bionetics, Inc. (1976) FDA-75-10 LBI Project No. 2468, unpublished data submitted to the FDA
- Meyer, D., Aulian, J. & Guess, W. L. (1964) J. Pharm. Sci., 53, 776
- Smith, H. et al. (1976) Health Physics, 30, 318
- Verret, M. J. (1976) Unpublished data, Food and Drug Administration

See Also:

Toxicological Abbreviations
Triethyl citrate (ICSC)
Triethyl citrate (WHO Food Additives Series 19)
Triethyl citrate (JECFA Evaluation)

年間の投与研究のデータから、ラットは2.0 g/kg まで許容出来ることを示しています。イヌは、6ヶ月間、影響なしに0.25 ml/kg bwまで許容しました。
クエン酸トリエチルは、種々の微生物学的分析では突然変異性では有りませんでした。

評価

毒物学的影響を起こさせないレベル

ラット： 2 g/kg bw

人間に対する一日当りの暫定許容摂取量の予測

0-10 mg/kg bw

更なる研究或いは情報

1981 年迄に必要。

人間を含むことが望ましいが、種々の種に於ける代謝研究を繰り返すこと。

¹ Changed 第 17 回会議のドラフトに関して 1973 年のものに変更した。

REFERENCES

FASEB (1976) SCOGS, 84, Contract No. FDA 223-75-2006, submitted to FDA, Washington, D.C.

Finkelstein, M. & Gold, H. (1959) Tox. Appl. Pharmacol., 1, 283

Hodge, H. C. (1954) Unpublished data submitted to FASEB

LaWall, (?) & Harrison, (?) (1954) Unpublished, prepared for Fleishmann Laboratories, Standard Brands, Inc., Stamford, Conn., USA

Litton Bionetics, Inc. (1976) FDA-75-10 LBI Project No. 2468, unpublished data submitted to the FDA

Meyer, D., Aulian, J. & Guess, W. L. (1964) J. Pharm. Sci., 53, 776

Smith, H. et al. (1976) Health Physics, 30, 318

Verret, M. J. (1976) Unpublished data, Food and Drug Administration
下記のものも参照して下さい：

毒物学用略語

クエン酸トリエチル (ICSC)

クエン酸トリエチル citrate (世界保健機関 食品添加物シリーズ 19)

クエン酸トリエチル (JECFA 評価)

TRIETHYL CITRATE*

Explanation

This compound was reviewed at the 23rd and 25th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (Annex 1, Ref. 50, 56) A temporary acceptable daily intake for man (ADI) of 0-10 mg/kg b.w. was established. A toxicological monograph was published in 1980. (Annex 1, Ref. 51.)

Since the previous evaluation, additional data have become available and are summarized and discussed in the following monograph addendum.

BIOLOGICAL DATA

Metabolism

Samples of freshly collected rat or human serum were spiked with triethyl citrate and the disappearance of the triethyl citrate measured over a 4 hr period. Triethyl citrate was rapidly hydrolysed by rat serum (15 min.), but occurred at a much slower rate in human serum and was not complete at the end of the 4 hr test period (Figdor & Ballinger, 1981).

Rat-, mouse- and human-liver homogenates as well as serum enzymes hydrolyse triethyl citrate to 1 mol citric acid and 3 mol ethanol/mol ester (Burns & Werners, 1962).

Comments

Although it seems unlikely that unchanged triethyl citrate would be absorbed, in vitro studies are available to show that both the liver and blood serum have enzyme systems capable of hydrolysing the ester.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect

Rat: 4% in the diet (40,000 ppm) equivalent to 2 g/kg body weight.

Estimate of an acceptable daily intake in man

0 - 20 mg/kg bw.

* Monograph addendum

REFERENCES

BRUNS, F.H. & WERNERS, H.P. (1962) Zum Stoffwechsel von Triethylcitrat und Acetyltriethylcitrat. Klin. Wschr., 40: 1169.

FIGDOR, S.K. & BALLINGER, W.E. (1981) Triethyl Citrate Disappearance from Rat and Human Serum. Unpublished report from Pfizer Central

クエン酸トリエチル*

Explanation

この化合物は、食品添加物に関する第 23 回と 25 回の FAO/WHO 合同専門委員会の会議で、検討されました(付属文書 1, Ref. 50, 56)。人間の一日当りの許容摂取量(ADI)を 0-10 mg/kg b.w. と確定しました。毒物学的モノグラフは 1980 年に発表されました(付属文書 1, Ref. 51.)。前回の評価以後、追加のデータが入手出来て、要約し、次のモノグラムの補遺で討議します。

生物学的データ

代謝

新たにラット或いは人間の血清の収集したサンプルをクエン酸トリエチルと混合させて、4 時間後にクエン酸トリエチルの消滅を確認しました。クエン酸トリエチルは、ラットの血清で迅速に加水分解されましたが(15 分)、人間の血清では更に遅い割合で加水分解され、4 時間のテスト期間の終わりには完全に加水分解されませんでした(Figdor & Ballinger, 1981)。

血清酵素と同様に、ラットの肝臓と人間の肝臓のホモジェネートは、クエン酸トリエステルを加水分解し、1 モルのクエン酸と 3 モルのエタノール/モルエステルにしました(Burns & Werners, 1962)。

コメント

変化しなかったクエン酸トリエチルは吸収されないことは有り得ないようですが、試験管の研究では、肝臓や血液血清はエステルを加水分解出来る酵素システムを持っていることを示すことが出来ます。

評価

毒物学的影響を起こさせないレベル

ラット: 2 g/kg body weight に相当する食物(40,000 ppm)中の 4%。

人間に於ける一日当りの許容摂取量の予測

0 - 20 mg/kg bw.

* モノグラムの補遺

参考文献

BRUNS, F.H. & WERNERS, H.P. (1962) Zum Stoffwechsel von Triethylcitrat und Acetyltriethylcitrat. Klin. Wschr., 40: 1169.

FIGDOR, S.K. & BALLINGER, W.E. (1981) Triethyl Citrate Disappearance from Rat and Human Serum. Unpublished report from Pfizer Central

Laboratory, Groton, Conn., USA. Submitted to the WHO.

See Also:

Toxicological Abbreviations

Triethyl citrate (ICSC)

Triethyl citrate (WHO Food Additives Series 14)

Triethyl citrate (JECFA Evaluation)

Laboratory, Groton, Conn., USA. Submitted to the WHO.

**Toxicological evaluation of some food
 additives including anticaking agents,
 antimicrobials, antioxidants, emulsifiers
 and thickening agents**

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication
 were prepared by the Joint FAO/WHO Expert
 Committee on Food Additives which met in Geneva,
 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
 Geneva
 1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on
 Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539;
FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

SILICON DIOXIDE AND CERTAIN SILICATES

Explanation

These compounds have been evaluated for acceptable daily intake
 by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1,
 Ref. No. 20) in 1969.

Since the previous evaluation, additional data have become
 available and are summarized and discussed in the following monograph.
 The previously published monograph has been expanded and is reproduced
 in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Silica, silicic acid and the calcium, magnesium and aluminium
 salts occur ubiquitously in the environment and some have been used
 for many years medically. Food contains various amounts of SiO₂, for
 example: potatoes 10.1, milk 2.1, drinking-water 7.1, mineral-water
 22.5, beer 131 gammaSiO₂ per g or cm³ (Baumann, 1960).

Very small amounts of silica are normally present in all body

固化防止剤、抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、増粘剤を含む食品添加物の毒性学的評価

WHO 世界保健機関の食品添加物シリーズ NO. 5

1973年6月25日から7月4日¹にジュネーブで会議した食品添加物に関するFAO/WHO合同の専門委員会で準備されたこの発行物に含まれる評価

世界保健機関
ジュネーブ
1974

¹ 食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会の第17回報告、
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539;
FAO 栄養会議報告シリーズ、1974, No. 53.

二酸化ケイ素とあるケイ酸塩

説明

1969年に、これらの化合物は、食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会で一日当り許容摂取量を評価しました(付属文書1, Ref. No. 20を参照)。
前回の評価以後、追加のデータが入手出来、要約し、次のモノグラムで討議します。以前に発表したモノグラムは拡大され、以下に全部を複製します。

生物学的データ

生化学的特徴

シリカ、ケイ酸とカルシウム、マグネシウムとアルミニウム塩は、環境の中に偏在的に発生し、あるものは、長年、医学的に使用されて来ました。食品は、 SiO_2 の種々の量を含んでいます。例えば、g 或いは cm^3 当り、ポテト、10.1、牛乳 2.1、飲料水 7.1、ミネラルウォーター 22.5、ビール 131 gammaSiO_2 (Baumann, 1960)。

非常に少量のシリカは、通常、全ての生体組織に存在しますが、シリカが生理学的役割をしている証拠は存在しません。

ケイ酸は、尿の正常成分であり、誕生後の早い数日間に見られます。食べ物により相当異なりま

tissues but there is no evidence that they play any physiological role.

Silicic acid is a normal constituent of the urine, where it is found as early as a few days after birth. The amount excreted in the urine, which varies considerably according to the diet, is in the order of 10 to 30 mg per day (Thomas, 1965). The silica content of human tissue varies from 10 to 200 mg/100 g dry weight (spleen 15 mg, lung 140 mg) (Anon., 1964). The normal level of silicic acid in human blood is below 1 $\mu\text{g SiO}_2/\text{cm}^3$; the concentration in the corpuscles is practically the same as that in the plasma. Silicic acid is present in plasma in a molybdate reactive form and is not bound to protein or any other substance of high molecular weight. Ingested monomeric silicic acid rapidly penetrates the intestinal wall and becomes distributed throughout the whole extra-cellular fluid. It enters the blood corpuscles at a slower rate (Baumann, 1960).

Silica dust was administered intragastrically to rabbits and dogs leading to a rise in urinary silica output without significant variation in blood silica levels. Considerable absorption took place with peak excretion in dogs occurring between four to eight hours after administration. There appears to be little retention in any organ of the body even if animals ingest large amounts of silicates in their food. Intragastric 5% silicic acid administered to dogs leads to considerable absorption and urinary excretion, peak excretion

occurring between three to eight hours after dosing. I.v. infusion of neutralized sodium silicate (1 mg/ml) in dogs leads to rapid urinary elimination of about 50% of the dose (King et al., 1933).

Rats receiving silica flour, powdered sand or magnesium trisilicate orally in large amounts were shown to have crystals of these substances in uninflamed myocardium. Entry was via the intestinal epithelium (Reimann et al., 1965, 1966). Using histochemical techniques lysosomal damage was demonstrated in macrophages which had ingested silica particles (Nadler & Goldfischer, 1970).

Administration of 5 g of the siliceous materials listed below in 20 ml of milk by stomach tube to cats showed the following urinary excretion within 120 hours; silicic acid (fresh) 43.3, calcium silicate 37.2, magnesium trisilicate 34.1, silicic acid (moist) 29.0, SiO_2 (quarz) (air sediment very fine) 20.8, magnesium silicates (talc) 9.2, diatomaceous earth 8.8 and calcium silico aluminate hydrate (kaolin) 7.6 mg SiO_2 . From this it can be observed that free silica is attacked to a variable extent depending on its physical and chemical condition. Several silicates are apparently unattacked, as nontreated animals excreted an average of 8.6 mg in 120 hours. Some complex silicates appear to suffer partial decomposition by the hydrochloric acid of the stomach, with partial solution of some of the products in the intestine (King & McGeorge, 1938).

"Quarz water" (water in which silicic acid had been dissolved as a result of contact with quartz powder) given to rats over a prolonged period as the only source of liquid intake did not show any SiO_2 storage in tissues (Klösterkotter, 1956).

In vitro investigations on slices of tissue showed that monomeric silicic acid penetrated liver and kidney cells easily, whereas spleen and muscle cells were more or less impenetrable (Kirsch, 1960).

Ten gamma monomeric SiO_2/cm^3 was shown in vitro to damage the

すが、尿に排泄される量は、一日当り、10 から 30 mg のオーダーです (Thomas, 1965)。人間の組織の中のシリカの量は、10 から 200 mg/100 g 乾燥重量です。(脾臓 15 mg、肺 140 mg) (Anon., 1964)。人間の血液中のケイ酸の正常なレベルは、 $1 \mu\text{g SiO}_2/\text{cm}^3$ 以下であり、小体中の濃度は、現実には血漿中の濃度と同じです。ケイ酸はモリブデン酸塩の反応型で血漿に存在しますが、タンパク質或いは高分子量のその他物質とは結合しません。摂取された単量体ケイ酸は、迅速に腸壁を通過し、全ての extra-cellular fluid を通して運ばれます。ゆっくりした速度で血球に入ります (Baumann, 1960)。

シリカの粉塵をイサギやイヌの胃内に与えると、血中のシリカレベルに重大な変化を与えずに尿からのシリカ排泄の増加になります。投与後の 4 時間から 8 時間の間に発生するイヌでの排泄のピークと共に相当な吸収が起きました。動物が食品中の多量のシリカを摂取しても、体内のいかなる器官でも殆ど保持していないようです。イヌの投与した胃内の 5% のケイ酸は、相当量の吸収と尿への排泄し、投与後の 3 時間から 8 時間の間にピーク排泄を発生させます。イヌに中和したケイ酸ナトリウム (1 mg/ml) を胃の中に注入すると、投与量の約 50% の迅速な尿への排泄となります (King et al., 1933)。

多量のシリカ粉末、粉末にした砂或いは三ケイ酸マグネシウムを経口的に与えたラットは、uninflamed 心筋に結晶があることを示しました。進入は、腸の上皮を通してでした (Reimann et al., 1965, 1966)。組織化学的技術を用いて、lysosomal 損傷が、シリカ粒子を取り込んだマクロファージに見られました (Nadler & Goldfischer, 1970)。

猫に胃のチューブより、20 ml のミルクの中に以下に記載した 5 g のケイ酸物質を投与すると、120 時間以内に尿中に、次の排泄を示しました。ケイ酸 (fresh) 43.3、ケイ酸カルシウム 37.2、三ケイ酸マグネシウムケイ酸 34.1、ケイ酸 (moist) 29.0、 SiO_2 (水晶) (空気体積 超微細) 20.8、マグネシウム (タルク) 9.2、珪藻土 8.8 と calcium silico aluminate hydrate (カオリン) 7.6 mg SiO_2 。このことから、フリーシリカは物理的や化学的状态により、種々の範囲まで攻撃を受けることが見られます。処理していない動物は、120 時間以内に平均、8.6 mg を排泄しましたので、数種のケイ酸塩は明らかに攻撃されません。ある複合ケイ酸塩は、胃の中の塩酸や腸内のある物質の一部の溶液により、一部、解されるようです。 (King & McGeorge, 1938)。

液体摂取の唯一の源として、長期間に亘りラットに投与した "Quarz water" (水晶の粉末と接触した結果、ケイ酸が分解した水) は、組織の中に SiO_2 の蓄積を示しませんでした。 (Klösterkotter, 1956)。

組織をスライスした試験管での調査では、単量のケイ酸は簡単に肝臓や腎臓の細胞を通過しましたが、脾臓や筋肉細胞は多かれ少なかれ通過しませんでした。 (Kirsch, 1960)。

10 ガンマ単量の SiO_2/cm^3 は、ラットの肝臓の中の独立したミトコンドリアの酵素を損傷させることが試験管の中で示されました。 (Hanger et al., 1963)。

enzymes of isolated mitochondria in rat liver (Hanger et al., 1963).

Very small amounts of silica are normally present in all body tissues. Recently it was found that silicon meets the criteria for an essential trace element in the chick (see short-term studies).

TOXICOLOGICAL STUDIES

Special studies on carcinogenicity

See under long-term studies.

Special studies on reproduction

Rat

A two-generation reproduction study with the oral administration of 100 mg/kg bw per day amorphous silica to rats was conducted simultaneously. The parent generation (one male and five females) produced five litters with a total of 25 rats. Half a year later one male and five females of the first generation were mated; the number of animals in the second generation was 21. Neither malformation nor any other adverse effects were noted (Mosinger, 1969).

Acute toxicity

Animal	Route	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Reference
Rat	Oral	3.16	Elsea, 1958a

The oral LD₅ in mice of finely ground silicic acid is >5 g/kg bw (Kimmerle, 1968).

Rabbits receiving 3 mg of silicon in their conjunctival sac showed mild irritation for 48 hours (Elsea, 1958a).

The probable lethal dose of silica (oral) for man is over 15 g/kg bw. The probable oral lethal dose of magnesium trisilicate for man is over 15 g/kg bw. There is some doubt as to whether large doses cause laxation. The probable oral dose for man of sodium silicate lies lower at between 0.5 and 5 g/kg and may well be due to its alkalinity (Anon., 1964). Data on inhalation toxicity of silica and silicates are not relevant to consideration of toxic hazard by the oral route.

Short-term studies

Rat

Oral administration of 50 mg amorphous silica to rats for three months did not cause any toxic effects but no experimental details are available (Malten & Zielhuis, 1964). Micronized silica gel was fed to four groups of 10 male rats each in their diet at 0%, 0.2%, 1.0% and 2.5% levels for 28 days. No adverse effects on mortality or abnormal gross autopsy findings were discovered. Body weight gain was significantly reduced at the 2.5% level and nearly significantly at the 1.0% level. No other parameters were examined (Keller, 1958).

Fifteen male and 15 female rats received daily 50 mg of amorphous polymeric silicone dioxide (99.8 SiO₂ content of water-free compound) by stomach tube for three months. There was no adverse effect on body

ごく少量のシリカは、通常、全ての体内組織に存在します。最近、シリコンは、ひよ子の中の必須追跡要素の基準を満たしていることが判明しました(短期の研究を参照)。

毒物学的研究

発癌性に関する特別研究

長期の研究を参照。

生殖に関する特別研究

ラット

ラットに一日当り、100 mg/kg bw の非結晶シリカを経口投与した2世代に亘る生殖の研究が行われました。親の世代(1匹のオスと5匹のメス)は総数25匹で5匹の子供を産みました。半年後に、第一世代の1匹のオスと5匹のメスが交尾しました。第二世代での動物の数は21でした。奇形も他の如何なる悪影響も見られませんでした(Mosinger, 1969)。

急性毒性

動物	経路	LD ₅₀	参考
		(mg/kg bw)	
ラット	経口	3.16	Elsea, 1958a

細かく粉にしたケイ酸のマウスの経口 LD₅₀ は 5 g/kg bw 以上です(Kimmerle, 1968)。結膜囊に 3 mg のシリコンを投与されたラットは、48 時間、軽い苛立ちを示しました(Elsea, 1958a)。

人間に対するシリカの推定致死量(経口)は、15 g/kg bw 以上です。人間に対する三ケイ酸マグネシウムの推定致死量は 15 g/kg bw 以上です。多量が弛緩を起こさせるかどうかに関して疑問があります。ケイ酸ナトリウムの人間に対する推定経口量は 0.5 と 5 g/kg の間より低く、アルカリ度によるのかも知れません(Anon., 1964)。シリカとケイ酸塩の吸引毒性に関するデータは、口径ルートによる毒性危害と関連性はありません。

短期間の研究

ラット

3ヶ月間、ラットに 50 mg の非結晶シリカを経口投与すると毒性の影響はありませんでした。実験的な詳細も入手出来ません(Malten & Zielhuis, 1964)。28日間、10匹のオスの4グループのラットに微粉にしたシリカゲルを食物中のレベルで 0%、0.2%、1.0%、2.5% を与えました。死亡或いは検死解剖結果に関する悪影響は見られませんでした。体重増加は、2.5%の level で減少し、1.0%のレベルでした。他のパラメーターは調べませんでした(Keller, 1958)。

15匹のオスと15匹のメスのラットに、3ヶ月間、胃に、毎日、50 mg の非結晶の高分子シリコン化合物を与えました(99.8 SiO₂ 容量の無水化合物)。体重の増加や死亡率に関する悪影響

weight gain and mortality. Pathology of organs not enumerated showed no abnormalities in comparison with the controls (Kuschinsky, 1955).

Groups of 15 male and 15 female rats were fed diets containing silica at concentrations of 0.0, 1.0, 3.0 and 5.0% for 90 days. A fifth positive control group received a diet containing 3.0% cosmetic talc. No evidence of systemic toxicity caused by silica was found in terms of survival, body weights and food consumption. No appreciable deposition of silicon dioxide was seen in the kidney, livers, spleen, blood and urine in the animals fed at the 5% level. No gross or microscopic pathology attributable to silicon were seen (Elsea, 1958b).

The same compound was fed to 20 male and 20 female rats at a concentration of 500 mg/kg bw per day for six months. The same number of animals served as the control. After four-and-a-half months five females were mated. No adverse effects were noted on mortality, body weight gain, haematology (haemoglobin, erythrocyte- and leucocyte-count) and reproductive performance. Histopathology of stomach, intestines, pancreas, liver and kidney of the test group showed no significant difference to that of the control group. Litter size, birth weight and morphological development of the offspring as well as weight gain were normal (Leuschner, 1963).

In a similar experiment (see Leuschner, 1963) the same results were obtained when feeding a hydrophobic preparation of amorphous polymeric SiO_2 in which some of the silanol groups on the surface reacted with dimethyl-dichlorosilane (98.5% SiO_2 content of water-free compound) (Leuschner, 1965).

The compound (see Leuschner, 1965) was also fed to groups of five male and five female rats at levels of 0, 500, 1000, 2000 mg/kg bw for five weeks. The highest level was raised after 14 days to 4000, after 28 days to 8000 and after 42 days to 16 000 mg/kg bw. When the level was raised to 16 g/kg, all animals lost weight and four animals died. Seven days after the level had been raised to 8000 mg/kg, the animals did not gain weight normally. At 1000 mg/kg two rats out of 10 showed slight changes in the liver epithelia. At higher levels atrophy of the liver epithelia, regression of the basophilic structure and glycogen content were observed. Histopathology of other organs (not enumerated) including the kidney of the animals at all levels showed no significant changes compared with the controls (Leuschner, 1964).

Fifteen rats of each sex were fed one of the four silicon compounds (silicon dioxide, aluminum silicate, sodium silicate and magnesium trisilicate) for four weeks at the same levels used in the

dog experiment (see below). Polydipsia, polyuria, and soft stools, seen intermittently in a few animals fed magnesium trisilicate or sodium silicate, were the only clinical symptoms observed. No compound-related lesions were seen in any of the rats (Newberne & Wilson, 1970).

Rabbit

The dermal effects of silica was tested on groups consisting of two male and two female rabbits at levels of five and 10 g/kg/day. A negative control group received methyl cellulose solution (0.5% w/w) and a positive control group received 10 g/kg/day of cosmetic talc. Applications were made five days/week for three weeks. No evidence of systemic toxicity caused by silica was found in terms of body weight, behaviour, silicon content of blood, urine, spleen, liver and kidney. No gross or microscopic pathology was seen in the major organs examined or in the skin (Elsea, 1958c).

は有りませんでした。コントロールと比較して、列挙されていない器官の病変は異常を示しませんでした (Kuschinsky, 1955)。

15 匹のオスと 15 匹のメスのラットに、0.0, 1.0, 3.0 and 5.0% の濃度のシリカを含む食物を 90 日間、与えました。第 5 の positive ロールグループに 3.0% の cosmetic talc を含む食物を与えました。生存、体重、食物消費に於いて、シリカによる全身毒性の証拠は見られませんでした。5% レベルを与えられた動物の腎臓、肝臓、脾臓、血液と尿では、二酸化ケイ素の多量の凝華は見られませんでした。シリコンに起因する多量或いは微細な病変は見られませんでした。(Elsea, 1958b)。

同じ化合物を 6 ヶ月間、毎日、500 mg/kg bw の濃度で 20 匹のオスと 20 匹のメスのラットに与えました。同じ数の動物がコントロールとしての役割をしました。4.5 カ月後、5 匹のメスが交尾をしました。死亡率、体重の増加、血液学 (ヘモグロビン、赤血球と白血球の数) と生殖能力に関する悪影響は見られませんでした。テストグループの胃、腸、脾臓、肝臓と腎臓の組織変化は、コントロールグループと重大な相違は有りませんでした。体重増加も子孫の同腹の子の数、体重と形態的発達に正常でした (Leuschner, 1963)。

同様の実験 (see Leuschner, 1963) で、表面の silanol groups のあるものが dimethyl-dichlorosilane (98.5% SiO_2 content of water-free compound) と反応した amorphous polymeric SiO_2 の hydrophobic preparation を与えると同じ結果が得られた (Leuschner, 1965)。

0, 500, 1000, 2000 mg/kg レベルの化合物 (Leuschner, 1965 を参照) を 5 週間、5 匹のオスと 5 匹のメスのラットのグループに与えた。最も高いレベルは、14 日後に 4000 mg/kg bw、28 日後に 8000 mg/kg bw、42 日後に 16 000 mg/kg bw になりました。レベルが 16 g/kg になると、全ての動物が体重を減らし、4 匹が死亡しました。8000 mg/kg のレベルに達した後の 7 日間は、正常に体重が増えませんでした。1000 mg/kg では、10 匹中の 2 匹のラットが肝臓の上皮組織に僅かな変化を示しました。高いレベルでは、肝臓上皮組織の萎縮、好塩基性構造とグリコゲン量の回帰が観測されました。コントロールと比較すると、全てのレベルでは、腎臓を含む他の器官 (列挙していませんが) の重大な組織変化を示しませんでした (Leuschner, 1964)。

各性別の 16 匹のラットに、4 週間、イヌの実験で使った同じレベルの 4 種類 (二酸化ケイ素、ケイ酸アルミウム、ケイ酸ナトリウム、三ケイ酸マグネシウム) もシリコンの一つを与えました (下記を参照)。三ケイ酸マグネシウム或いはケイ酸ナトリウムを与えられた動物では、時々、見られた多渴症、多尿症、軟便は観測された唯一の臨床的兆候でした。化合物に関連する病気は、どのラットにも見られませんでした (Newberne & Wilson, 1970)。

ウサギ

5 種類と 10 g/kg/day のレベルで 2 匹のオスと 2 匹のメスのウサギから構成されるグループに関して、シリカの皮膚への影響をテストしました。negative control group にはメチルセルロース溶液 (0.5% w/w) を、positive control group には cosmetic talc の 10 g/kg/day を与えました。3 週間、週に 5 日間、投与しました。体重、行動、血液、尿、脾臓、肝臓と腎臓のシリコン量に関しては、シリカによる全身毒性の証拠は見られませんでした。検査した主要な器官或いは皮膚では、総体的或いは微細な病変は見られませんでした (Elsea, 1958c)。

Dog

Pure-bred beagles of both sexes about six months of age were fed either silicon dioxide, aluminum silicate, sodium silicate or magnesium trisilicate for four weeks. The doses used provided approximately equivalent amounts of silicon dioxide as the end product (0.8 g/kg/day). Group sizes ranged from six to nine dogs of each sex. Polydipsia and polyuria were observed in a few animals fed sodium silicate and magnesium trisilicate. All clinical tests on blood and urine were within normal limits. However, histopathologic studies revealed characteristic renal lesions in all dogs fed sodium silicate or magnesium trisilicate but none in the other groups. The lesions were visible grossly in all but one animal (Newberne & Wilson, 1970).

Chicken

Day-old deuteotomized cockerels were kept in a trace element controlled environment and fed a synthetic low silicon diet. The diet of the test groups was supplemented with sodium metasilicate ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) at a level of 100 mg/kg. 114 chickens were in the control groups and 114 chickens in the test groups. Growth rates and the appearance of the animals were evaluated at two- to three- day intervals. The animals were killed at the end of a 25- to 35- day period. Gross pathology and histological examinations were carried out on the organs of each chick. Differences between the chicks on the basal and silicon-supplemented diets were noted after one to two weeks. At the twenty-third day of the study the average weight for the low silicon group was 76 g compared to a weight of 116 g for the supplemented group ($p < 0.02$). The average daily weight gain for the control groups was 2.57 g and that of the test groups reached 3.85 g ($p < 0.01$). The animals on the basal diet were smaller and all their

organs appeared relatively atrophied as compared to the test chickens. The leg bones of the deficient birds were shorter, of smaller circumference and thinner cortex. The metatarsal bones were relatively flexible and the femur and tibia fractured more easily under pressure than those of the supplemented group. Thus the effect of silicon on skeletal development indicates that it plays an important role in an early stage of bone formation (Carlisle, 1972).

Long-term studies

Rat

Twenty male and 20 female Wistar rats, with starting weights of 70 g, received daily one feed pellet containing amorphous silica ($>98.3\% \text{SiO}_2$) prior to feeding for two years. The silica content of pellets was regularly adjusted in order to ensure a steady consumption of 100 mg/kg bw per day. The animals were fed a synthetic diet. At the end of two years the survival rates of both male and female rats were 100%. No adverse effects on behaviour, clinical signs and weight gain were noted. The pathologic results of test groups were comparable with those of the controls. No evidence of carcinogenic effects was obtained.

OBSERVATIONS IN MAN

A single dose of 50 mg of monomeric silicic acid in 50 cm³ liquid was tolerated by two volunteers. Higher doses should be taken either with more liquid or at intervals of about 20 minutes in order to avoid polymerization of silicic acid in the urine (Baumann, 1960). A single dose of 2.5 g of amorphous polymeric silicon dioxide to volunteers did not significantly raise the SiO_2 excretion in the

イヌ

年令が6ヶ月の純血種のビーグル犬の両性に、4週間、二酸化ケイ素、ケイ酸アルミウム、ケイ酸マグネシウムか或いは三ケイ酸マグネシウムを与えました。使用量は、完成品としての二酸化ケイ素に、大体、相当する量を与えました(0.8 g/kg/day)。グループのサイズは、各性共に、6匹から9匹のイヌでした。ケイ酸ナトリウムと三ケイ酸マグネシウムを与えた数匹の動物で、多渴症や多尿症が見られました。血液や尿に関する全ての臨床的テストは正常の範囲でした。しかしながら、ケイ酸ナトリウム或いは三ケイ酸マグネシウムを与えた全てのイヌで、組織変化の研究では特徴的な腎臓の損傷が明らかになりましたが、他のグループでは見られませんでした。損傷は一匹以外の全てに、全体に見られました(Newberne & Wilson, 1970)。

鶏

生まれて1日の deutectomized 雄のひな鳥を trace element controlled environment に置き、合成の低シリコンの食事を与えました。テストグループの食事は、100 mg/kg のレベルのメタケイ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) で補足しました。114匹のひな鳥がコントロールグループで、114匹のひな鳥がテストグループでした。ひな鳥の成長率と外観を2日から3日の間隔で評価しました。ひな鳥は、25日から35日の後に殺しました。各ひな鳥の器官に関して、病理学的及び組織学的検査を行いました。1から2週間後に、基礎食とシリコンを補足した食物でのひな鳥の間の相違が見られました。研究の23日目に、補足したグループ ($p < 0.02$) の116 gの体重と比較すると、低シリコングループの平均体重は76 gでした。コントロールグループの一日当りの体重の増加は2.57 gであり、テストグループは3.85 g ($p < 0.01$) でした。テストひな鳥と比較すると、基礎食のひな鳥は小さく、全ての器官は相対的に萎縮しているようでした。欠陥のある鳥の足の骨は、短く、外周は小さく、皮質は薄かった。中足骨は柔軟性があり、力がかかると、補足したグループより、大腿骨と脛骨は簡単に骨折しました。従って、骨格の発達にシリコンの影響は骨の形成の初期の段階で重要な役割をしていることを示しています(Carlisle, 1972)。

長期間に亘る研究

ラット

飼育に先立つ2年間、最初の体重が70 gの20匹のオスと20匹のメスのウィスターラットに毎日、非結晶シリカ (>98.3% SiO_2) を含む食事ペレットを与えました。毎日、100 mg/kg bw の一定の消費を確実にするために、ペレットのシリカ量は定期的に調節しました。2年間の終わりに、オスとメスの生存率は100%でした。行動、臨床的兆候や体重の増加に関する悪影響は見られなかった。テストグループの病理学的結果はコントロールグループと同程度でした。発癌性の証拠は得られませんでした。

人間に於ける観察

二人のボランティアは、一回の投与量が50 cm³ 溶液中に50 mg 単量のケイ酸を許容しました。尿中のケイ酸の重合を避けるために、高投与量は溶液と一緒に或いは約20分間隔で与えられました(Baumann, 1960)。ボランティアに一回の投与量が2.5 gの単量の重合した二酸化ケイ素の投与では、尿中の SiO_2 excretion 排泄を顕著に増加させませんでした。このことは、化合物の吸収がよくないことを示しています(Langendorf, 1966)。

urine thus suggesting poor absorption of the compound (Langendorf, 1966).

The mean 24-hour excretion of SiO_2 in five male subjects on regular diet was 16.2 mg. The value varied widely and was related to the amount of SiO_2 in the diet. Urinary silica excretion was increased in healthy subjects when $\text{Mg}_2\text{Si}_3\text{O}_8 \cdot n \text{H}_2\text{O}$ was taken by mouth (Page et al., 1941).

Sixty to 100 g daily for three to four weeks of 12% amorphous silicic acid administered orally to patients suffering from gastritis or enteritis were tolerated without adverse effects. Only one-thousandth of the substance administered was excreted in the urine (Sarre, 1953).

In experiments with two volunteers, it was shown that, after ingestion of 50 mg of monomeric silicic acid in 50 cm³ liquid, the renal excretion of SiO_2 per time unit was not related to the quantity of urine excreted in the same time unit. Maximum excretion appeared

after one to two hours. Even at high concentrations up to more than 700 $\mu\text{g SiO}_2/\text{cm}^3$ urine, the silicic acid was still present in a molybdate reactive form. Silicic acid polymerizes above 100-150 $\gamma\text{SiO}_2/\text{cm}^3$. The speed of polymerization is dependent on pH and concentration. The experiment was designed so as to exclude damage to the urinary tract through precipitation of proteins by polymeric silicic acid formed by polymerization of monomeric silicic acid at high concentrations. If the urine at concentrations in the order of 700 $\gamma\text{SiO}_2/\text{cm}^3$ was taken at longer intervals, such as two hours, the concentration of monomeric silicic acid was below the total SiO_2 concentration, thus suggesting that some polymerization had taken place. There was indication of storage breakdown of reabsorption (Baumann, 1960).

Oral administration of a single dose of 2.5 g of amorphous polymeric silicon dioxide (99.8% SiO_2 content of the water-free compound) to 12 volunteers caused a slight but statistically insignificant increase in the silicon dioxide level of the urine (Langendorf et al., 1966).

Observations in humans indicated that various conditions such as lung diseases, chronic diseases and especially growth retardation in children were associated with silicon deficiency. Therefore he recommended silicon therapy for conditions characterized by under-developed and/or damaged mesenchymal tissues (Monceaux, 1973).

Comments:

The available data on orally administered silica and silicates, including flumed silicon dioxide, appear to substantiate the biological inertness of these compounds. Any silicate absorbed is excreted by the kidneys without evidence of toxic cumulation in the body, except for the reported damage to dog kidney by magnesium trisilicate and sodium silicate. Methods for estimating silica in body tissues have been greatly improved in recent years making some of the earlier data somewhat less valuable. A number of short-term studies in two species are available.

Talc and magnesium silicate are specified free from asbestos-like particles. This stipulation is made while acknowledging the fact that existing methods for estimating asbestos-like particles in talc and magnesium silicate are not yet fully adequate.

5 人の男性の 24 時間の SiO_2 の平均排泄量は 16.2 mg でした。値は幅広く変化し、食物中の SiO_2 の量と関連がありました。 $\text{Mg}_2\text{Si}_3\text{O}_8 \cdot n \text{H}_2\text{O}$ を口から取ると、健康な人で尿中のシリカの排泄が増加しました (Page et al., 1941)。

胃炎或いは腸炎に苦しんでいる患者に、3 週間から 4 週間、毎日、経口投与された 12% の単量のケイ酸の 60 から 100 g は、悪影響無しに許容されました。投与された物質の千分の一が尿中に排泄されました (Sarre, 1953)。

二人のボランティアの実験で、50 cm^3 の溶液中の 50 mg の単量のケイ酸を摂取後に、タイムユニット当たりの SiO_2 の腎臓への排泄は、同じタイムユニット当たり尿中への排泄量と関係がありませんでした。1~2 時間後に、最大排泄が起こりました。700 $\mu\text{g SiO}_2/\text{cm}^3$ urine 以上の高濃度でも、ケイ酸はモリブデン酸塩の反応形で未だ存在していました。ケイ酸は、100-150 $\text{gammaSiO}_2/\text{cm}^3$ 以上を重合します。重合の速度は pH と濃度に依存します。実験は、高濃度での単量のケイ酸の重合により形成された重合ケイ酸によるタンパク質の沈殿を通して、尿管に対する損傷を除外することを意図しました。700 $\text{gammaSiO}_2/\text{cm}^3$ のオーダーでの濃度の尿が 2 時間のような長期間出ると、単量のケイ酸の濃度はトータル SiO_2 濃度以下でした。このことは、ある重合が起きたことを示します。再吸収の貯蔵分解の兆候がありました (Baumann, 1960)。

12 名のボランティアに非結晶の重合したケイ酸 (無水化合物の 99.8% SiO_2 容量) を、一回、2.5 g の量を経口投与すると、尿中の二酸化ケイ素のレベルが少しですが、統計的には重要でない増加を起こしました (Langendorf et al., 1966)。

人間に於ける観測では、肺病、慢性病と特に子供の成長遅延などの種々の状態が、シリコンの不足と関連があることを示していました。従って、彼は、未発達や損傷した間葉組織により特徴付けられる状態に対する治療を奨励していました (Monceaux, 1973)。

評論:

flumed 二酸化ケイ素を含むシリカやケイ酸塩を経口投与した入手出来るデータは、これらの化合物の生物学的不活性を立証しているようです。三ケイ酸マグネシウムやケイ酸ナトリウムによるイヌの腎臓に対する報告されている損傷を除いて、吸収されたケイ酸塩は、体内に毒性蓄積をする証拠が無しに、腎臓により排泄されます。体内組織のシリカを推測する方法は、近年、非常に改良され、初期のデータのあるものは価値のないものしました。二つの種での多数の短期の研究が入手出来ます。

Talc とケイ酸マグネシウムは、アスベストのような粒子がないと特定されています。Talc とケイ酸マグネシウムのアスベストのような粒子を推測する既存の方法は、十分に適切でないという事実を認識しながら、この規約が作られます。

EVALUATION

Estimate of acceptable daily intake for man

(a) Silicon dioxide and certain silicates except magnesium silicate and talc:

Not limited.*

(b) Magnesium silicate and talc:

Temporarily not limited.*

FURTHER WORK OR INFORMATION

Required by June 1976.

(1) For magnesium silicate studies to elucidate the reported kidney damage in dogs. Long-term feeding studies on talc demonstrated to be free from asbestos-like particles.

(2) A satisfactory method for estimating asbestos-like particles in talc and magnesium silicate.

REFERENCES

Anonymous (1964) Unilever Research Laboratory, Report No. CH 64888, dated 21 October 1964

Baumann, H. (1960) Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chemie., 320, 11

Carlisle, E. M. (1972) Silicon: an essential element for the chick, Science, 178, 619

Elsea, J. R. (1958a) Unpublished report, January 8, from Hazleton Laboratories, Inc.

Elsea, J. R. (1958b) Unpublished report, July 11, from Hazleton Laboratories, Inc.

Elsea, J. R. (1958c) Unpublished report, May 6, from Hazleton Laboratories, Inc.

Hanger, R., Kirsch, K. & Standinger, Hj. (1963) Beitr. Silikose Forsch. S-Bd Grundfragen Silikoseforsch Bd, 5, 69

* See relevant paragraph in the seventeenth report (pages 10-11).

Keller, J. G. (1958) Unpublished report to W. R. Grace & Co.

Kimmerle (1968) Unpublished report submitted by Bayer

King, E. J., Stantial, H. & Dolan, M. (1933) Biochem. J., 27, 1002

King, E. J. & McGeorge, M. (1938) Biochem. J., 32, 426

Kirsch, K. (1960) Beitr. Silikose-Forsch. S-Bd. Grundfragen der Silikoseforsch., 4, 33

Klosterkötter (1956) Diskussionsbemerkung, Beitr. Silikose-Forsch. S Bd. Grundfragen Silikoseforsch. Bd., 2, 348

評価

人間に対する一日当りの許容摂取量の推測

- (a) ケイ酸マグネシウムと talc を除く二酸化ケイ素とケイ酸塩:
限定していない。*
- (b) ケイ酸マグネシウムと:
暫定的に限定していない。*

更なる研究或いは情報

1976 年 6 月までに義務付けられている

- (1) (1) 報告されているイヌの腎臓の損傷を解明するためのケイ酸マグネシウムの研究。
アスベストのような粒子がないとなれている talc に関する長期投与の研究。
- (2) talc やケイ酸マグネシウムのアスベストのような粒子を推測するための満足の出来る方法。

REFERENCES

- Anonymous (1964) Unilever Research Laboratory, Report No. CH 64888, dated 21 October 1964
- Baumann, H. (1960) Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chemie., 320, 11
- Carlisle, E. M. (1972) Silicon: an essential element for the chick, Science, 178, 619
- Elsea, J. R. (1958a) Unpublished report, January 8, from Hazleton Laboratories, Inc.
- Elsea, J. R. (1958b) Unpublished report, July 11, from Hazleton Laboratories, Inc.
- Elsea, J. R. (1958c) Unpublished report, May 6, from Hazleton Laboratories, Inc.
- Hanger, R., Kirsch, K. & Standinger, H. (1963) Beitr. Silikose Forsch. S-Bd Grundfragen Silikoseforsch Bd, 5, 69

* 第 17 回の報告 (pages 10-11) で関連する項目を参照して下さい。

- Keller, J. G. (1958) Unpublished report to W. R. Grace & Co.
- Kimmerle (1968) Unpublished report submitted by Bayer
- King, E. J., Stantial, H. & Dolan, M. (1933) Biochem. J., 27, 1002
- King, E. J. & McGeorge, M. (1938) Biochem. J., 32, 426
- Kirsch, K. (1960) Beitr. Silikose-Forsch. S-Bd. Grundfragen der Silikoseforsch., 4, 33
- Klosterkötter (1956) Diskussionsbemerkung, Beitr. Silikose-Forsch. S Bd. Grundfragen Silikoseforsch. Bd., 2, 348

- Kuschinsky, G. (1955) Unpublished summary report submitted by Degussa
- Langendorf, H. von & Lang, K. (1966) Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 8, 27
- Leuschner, F. (1963) Unpublished report submitted by Degussa
- Leuschner, F. (1964) Unpublished report submitted by Degussa
- Leuschner, F. (1965) Unpublished report submitted by Degussa
- Malten, K. E. & Zielhuis, R. L. (1964) Industrial toxicology and dermatology in the production and processing of plastics, Elsevier, p. 204
- Monceaux, R. H. (1973) La silice, problème biologique médical et social de grande actualité, Unpublished report submitted by Degussa, Paris
- Mosinger, M. (1969) Unpublished report submitted by Degussa
- Nadler, S. & Goldfischer, S. (1970) J. Histochem. Cytochem., 18, 368
- Newberne, P. & Wilson, R. B. (1970) Proc. Natl. Acad. Sci., 65, 872
- Page, R. C., Hefner, R. R. & Frey, A. (1941) Amer. J. Digest. Dis., 8, 13
- Reimann, H. A., Imbriglia, J. E. & Ducanes, Th. (1965) Proc. Soc. exp. Biol. Med., 119, 9
- Reimann, H. A., Imbriglia, J. E. & Ducanes, Th. (1966) Amer. J. Cardiol., 17, 269
- Sarre, H. (1953) Unpublished summary report submitted by Degussa
- Thomas, K. (1965) Dtsch. Zeitschr. f. Verdauungs- u. Stoffwechsel Krankheiten, 25, 260

See Also:

Toxicological Abbreviations

- Kuschinsky, G. (1955) Unpublished summary report submitted by Degussa
- Langendorf, H. von & Lang, K. (1966) Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 8, 27
- Leuschner, F. (1963) Unpublished report submitted by Degussa
- Leuschner, F. (1964) Unpublished report submitted by Degussa
- Leuschner, F. (1965) Unpublished report submitted by Degussa
- Malten, K. E. & Zielhuis, R. L. (1964) Industrial toxicology and dermatology in the production and processing of plastics, Elsevier, p. 204
- Monceaux, R. H. (1973) La silice, problème biologique médical et social de grande actualité, Unpublished report submitted by Degussa, Paris
- Mosinger, M. (1969) Unpublished report submitted by Degussa
- Nadler, S. & Goldfischer, S. (1970) J. Histochem. Cytochem., 18, 368
- Newberne, P. & Wilson, R. B. (1970) Proc. Natl. Acad. Sci., 65, 872
- Page, R. C., Hefner, R. R. & Frey, A. (1941) Amer. J. Digest. Dis., 8, 13
- Reimann, H. A., Imbriglia, J. E. & Ducanes, Th. (1965) Proc. Soc. exp. Biol. Med., 119, 9
- Reimann, H. A., Imbriglia, J. E. & Ducanes, Th. (1966) Amer. J. Cardiol., 17, 269
- Sarre, H. (1953) Unpublished summary report submitted by Degussa
- Thomas, K. (1965) Dtsch. Zeitschr. f. Verdauungs- u. Stoffwechsel Krankheiten, 25, 260
- See Also:
- Toxicological Abbreviations

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY

WORLD HEALTH ORGANIZATION

**TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SOME
FOOD COLOURS, EMULSIFIERS, STABILIZERS,
ANTI-CAKING AGENTS AND CERTAIN
OTHER SUBSTANCES**

FAO Nutrition Meetings Report Series
No. 46A WHO/FOOD ADD/70.36

The content of this document is the result of the deliberations of the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Rome,
27 May - 4 June 1969¹

Food and Agriculture Organization of the United Nations

World Health Organization

¹ Thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, in press;
Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., in press.

HYDROXYPROPYL CELLULOSE

Biological Data

Biochemical aspects

¹⁴C-labelled hydroxypropyl cellulose was administered to four rats
in a five per cent. aqueous solution. One male and one female rat
received 0.25 g/kg body weight, the other two rats received 1 g/kg
body weight. Urine, faeces and expired air were collected over the
next 120 h. Then all organs were assayed for residual radioactivity.
No activity (< 0.01 per cent. of the administered dose) was detected
in organs, urine and expired air due to administered material.
Recoveries of activity in the faeces varies from 98.32 to 102.7 per
cent. Hence orally ingested material is not absorbed from the
gastro-intestinal tract of the rat and is excreted quantitatively in
the faeces principally in the first 48 h.

化学品安全性に関する国際プログラム

世界保健機関

食品着色剤、乳化剤、安定剤、固化防止剤、その他の物質の毒物学的評価

国連食糧農業機関栄養会議報告シリーズNo. 46A WHO/FOOD ADD/70.36

この文書の内容は、1969年5月27日から6月4日にローマで開催された食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会の討議の結果に基づいています。

国連食糧農業機関

国連保健機関

1 食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会の第13回報告、国連食糧農業機関会議報告シリーズ、近刊；Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.、近刊。

ヒドロキシプロピルセルロース

生物学的データ

生化学的側面

14匹のラットに5パーセントの水溶液中に¹⁴Cとラベリングしたヒドロキシプロピルセルロースを投与しました。1匹のオスと1匹のメスのラットは、0.25 g/kg body weight、他の2匹のラットは、received 1 g/kg body weightの投与を受けました。120時間後に、尿、便と呼気が収集されました。その後、全ての臓器の残留放射能を測定しました。臓器、尿、呼気の投与した物質による放射能(<投与量の0.01パーセント以下)は検出されませんでした。便中の放射能の回収は、98.32から102.7パーセントの範囲でした。従って、経口的に摂取した金属は、ラットの胃腸管から吸収されず、原則的に、最初の48時間以内に便に排泄されます。

To check on enterohepatic circulation two additional rats with ligated bile ducts were administered 1 g/kg of radio-labelled material. Bile was collected for 72 h but no significant activity was found (Industrial Bio-Test Lab., 1964).

Acute oral toxicity

Animal	Route	LD ₅₀	Reference
		mg/kg body weight	
Rat	Oral	10 200	Industrial Bio-Test Lab., 1962

Short-term studies

Rat. Groups of five male and five female rats received in their diet 0.2 per cent., 1.0 per cent. and 5.0 per cent, of hydroxypropyl cellulose for 90 days. Controls received unmodified cellulose at the same levels. There were no differences observed between tests and controls as regards mortality, growth, food utilization, urinalysis, haematological indices, organ weight, gross pathology and histopathology. At higher dietary levels there was increased food consumption and decreased food utilization consequential to the inertness of the material (Industrial Bio-Test Lab., 1963).

Long-term studies

None available.

Comments

The metabolic study has revealed adequate in vivo evidence of the biochemical inertness of hydroxypropyl cellulose and of its non-absorption during passage through the gastro-intestinal tract. This behaviour parallels that of other modified celluloses considered previously. The material studied had the highest dense of hydroxypropyl substitution likely to be used as food additive. Long-term studies are therefore not necessary.

EVALUATION

Level causing no toxicological effect in the rat

Five per cent. (= 50 000 ppm) in the diet equivalent to 2500 mg/kg body weight/day.

Estimate of acceptable daily intake for man

	<u>mg/kg body weight</u>
Unconditional acceptance	0-30 ¹
Conditional acceptance	Higher levels for dietetic and calory control purposes

REFERENCES

Industrial Bio-Test Laboratories (1962) Unpublished report to Hercules Powder Co.

腸肝循環をチェックするために、胆管を縛った追加のラットに放射ラベルをした1 g/kgの鉍物を投与しました。胆管は72時間、回収しましたが、顕著な放射能は見られませんでした (Industrial Bio-Test Lab., 1964)。

経口投与による急性毒性

動物	経路	LD50 mg/kg body weight	参考資料
ラット	経口	10 200	Industrial Bio-Test Lab., 1962

短期間の研究

ラット。5匹のオスと5匹のメスのラットのグループに、食物中に0.2パーセント、1.0パーセント、5.0パーセントのヒドロキシプロピルセルロースを、90日間、投与しました。コントロールにも、同じレベルの無変性のセルロースを与えました。死亡、成長、食品の利用、尿検査、血液指標、臓器の重量、全体的な病変、組織変化に関して、テスト動物とコントロール動物の間には相違が観測されませんでした。高い食物レベルでは、食品の消費が増え、物質の不活性の結果として起こる食品の利用が低下しました (Industrial Bio-Test Lab., 1963)。

長期間の研究

入手出来ていません。

コメント

代謝研究が、ヒドロキシプロピルセルロースの生化学的不活性と胃腸管を通過中の非吸収の適切な生体的証拠を明らかにしました。この行動は、以前に検討した他の変性したセルロースの行動と同じです。研究した物質は、食品添加物として使用されそうなヒドロキシプロピルの代用品の高密度を持っていました。従って、長期間の研究の必要はありません。

評価

ラットに於ける毒物学的影響を起こさないレベル

2500 mg/kg body weight/dayに相当する食物中の5パーセント (= 50 000 ppm)。

人間の一日当りの許容摂取量の推定

	<u>mg/kg body weight</u>
無条件な許容量	0-301
条件付許容量	栄養的でカロリー制御の目的に対する より高いレベル

REFERENCES

Industrial Bio-Test Laboratories (1962) Unpublished report to Hercules Powder Co.

Industrial Bio-Test Laboratories (1963) Unpublished report to Hercules Powder Co.

Industrial Bio-Test Laboratories (1964) Unpublished report to Hercules Powder Co.

¹ As sum of total cellulose derivatives (see tenth report of the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives, Ref 13 Annex 1).

See Also:

Toxicological Abbreviations

Hydroxypropyl cellulose (JECFA Evaluation)

Industrial Bio-Test Laboratories (1963) Unpublished report to Hercules Powder Co.

Industrial Bio-Test Laboratories (1964) Unpublished report to Hercules Powder Co.

- 1 総セルロース誘導体の合計(食品添加物に関するFAO/ WHO 合同専門委員会の第10回報告、Ref 13 付属文書1)。

下記のものも参照して下さい：ヒドロキシプロピルセルロース

毒物学用略語

ヒドロキシプロピルセルロース (JECFA 評価)

Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents

WHO FOOD ADDITIVES SERIES NO. 5

The evaluations contained in this publication were prepared by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives which met in Geneva, 25 June - 4 July 1973¹

World Health Organization
Geneva
1974

¹ Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539; FAO Nutrition Meetings Report Series, 1974, No. 53.

CALCIUM ACETATE, CHLORIDE, GLUCONATE AND SULFATE

Explanation

These compounds have been evaluated for acceptable daily intake by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (see Annex 1, Ref. No. 7) in 1963.

Since the previous evaluation, no additional data have become available. The previously published monograph is reproduced in its entirety below.

BIOLOGICAL DATA

BIOCHEMICAL ASPECTS

Calcium is an essential nutrient. It is present in large quantities in the body. Its absorption and metabolism are related to vitamin D and phosphorus intake and to the functional activity of the parathyroid glands. It is unlikely that a relatively small addition to the daily calcium intake would have any effects in the body and even larger doses would be likely to cause effects only if vitamin D intake were also increased.

The acetate and chloride moieties of these two compounds can be disregarded from a toxicological point of view. They enter naturally into the metabolism of the body.

固化防止剤、抗菌剤、酸化防止剤、乳化剤、増粘剤を含む食品添加剤の毒物学的評価

WHO 食品添加物シリーズ NO. 5

この発刊物に含まれる評価は、1973¹年6月25日から7月4日にジュネーブで会合した食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門委員会により準備されました。

世界保健機関

ジュネーブ

1974

¹ 食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門委員会の第17回報告、

Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 1974, No. 539;

国連食糧農業機関栄養会議法報告シリーズ, 1974, No. 53.

酢酸カルシウム、塩素化合物、グルコン酸と硫酸塩

説明

これらの化合物は、1963年に食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門委員会により一日当りの許容摂取量を評価しました(付属文書1、Ref. No. 7を参照)。

以前の評価以来、追加のデータはありません。以前に発行したモノグラムは、以下に完全に複製しました。

生物学的データ

生化学的側面

カルシウムは、必須の栄養素です。体内に、多量、存在します。吸収と代謝は、ビタミンDとリンの摂取量、副甲状腺の機能的活動と関係があります。一日当りの摂取量に対して、比較的少量は生体への影響はないようですが、ビタミンDの摂取量が増加すると、多量の影響を与えるようです。

これらの二つの化合物の酢酸塩と塩素の部分、毒物学的見地から無視出来ます。これらは、自然に生体の代謝作用に入ります。

No definitive estimates of the LD₅₀ for calcium acetate or calcium chloride have been found in the literature.

Short-term studies

Nothing was found in the literature concerning the toxicology of calcium acetate or calcium chloride specifically. Acetic acid given to rats in the drinking water at a level of 0.25% caused no toxic symptoms, while 0.5% produced a slight retardation of growth (Sollmann, 1921).

Long-term studies

No animal data have been found in the literature. About 1 g a day of acetic acid, present in vinegar and other items of food and drink, has been consumed by man for centuries, apparently without giving rise to any ill effects.

Comments:

Judging from the report of the Joint FAO/WHO Expert Group on Calcium Requirements (FAO/WHO, 1962), the average daily intake of this element for man may safely extend from about 400 mg up to 2 or even 3 g. The contribution of calcium derived from compounds used as food additives according to present practice is unlikely to increase substantially the total intake. For this reason, no specific figures have been proposed for acceptable daily intakes of these calcium salts except that the acceptable daily intake of calcium gluconate should comply with the limits set for gluconic acid.

EVALUATION

Estimate of acceptable daily intake for man

Not limited.*

REFERENCES

FAO/WHO (1962) FAO Nutrition Meetings Report Series, 1962, No. 30; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 230

Sollmann, T. (1921) J. Pharmacol. exp. Ther., 16, 463

* See relevant paragraph in the seventeenth report, pp. 10-11.

See Also:

Toxicological Abbreviations

酢酸カルシウムや塩化カルシウムに対する LD₅₀ の確定的な予測は、文献の中には見当たりません。

短期間の研究

酢酸カルシウム或いは特に塩化カルシウムの毒物学に関するものは文献では見当たりません。飲料水中の 0.25% レベルをラットに与えると、毒性兆候を起こしませんでした、0.5% は軽い成長の遅延を起こしました (Sollmann, 1921)。

長期間の研究

動物に関するデータは文献では見当たりませんでした。酢や食品や飲み物中の他の品目に存在する酢酸の一日当りの約 1 g が、何世紀間も成人により消費されて来ましたが、明らかに病気への影響に対して増加を示していません。

コメント：

カルシウムの要求事項 (FAO/WHO, 1962) に関する FAO/WHO 合同専門グループの報告から判断すると、人間に対するこの元素の一日当りの平均摂取量は 400 mg から 2 或いは 3 g の範囲で安全です。現在の規範により、食品添加物として使用された化合物から抽出されたカルシウムは、実質的に総摂取量を増加させないようです。この理由のため、グルコン酸カルシウムの一日当りの許容摂取量は、グルコン酸に設定された限界に従うことを除いて、これらのカルシウム塩の一日当りの許容摂取量に対して特別な数字は提案されていません。

評価

人間に対する一日当りの許容摂取量の推測

限定されていない。*

REFERENCES

FAO/WHO (1962) FAO Nutrition Meetings Report Series, 1962, No. 30; Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 230

Sollmann, T. (1921) J. Pharmacol. exp. Ther., 16, 463

* 第 17 回の報告の関連する項目、pp. 10-11 を参照して下さい。

又、次を参照して下さい：

毒物学用略語

WHO FOOD ADDITIVES SERIES 46: CADMIUM

First draft prepared by

D. Bellinger¹, M. Bolger², R. Goyer³, L. Barraj⁴, and J. Baines⁵

¹ Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

² Food and Drug Administration, Washington DC, USA

³ University of Western Ontario, Canada

⁴ Novigen Sciences Inc., Washington DC, USA

⁵ Australia New Zealand Food Authority, Canberra, Australia

Explanation

Biological data

Biochemical aspects

Absorption, distribution, and excretion

Toxicological studies

Acute toxicity

Long-term studies of toxicity and carcinogenicity

Neurodevelopmental and neurobehavioural effects

Developmental toxicity

Observations in humans

Cadmibel Study

Renal function

Blood pressure and cardiovascular disease

Calcium metabolism and bone

Mortality

Neurotoxicity

Dose-response relationships

Estimates of critical renal concentrations

Estimates of the relationship of dietary intake of
cadmium to tubular dysfunction

Estimated dietary intake of cadmium

世界保健機関の食品添加物シリーズ 46 : カドミウム

D. Bellinger¹、M. Bolger²、R. Goyer³、L. Barraj⁴ と J. Baines⁵ による最初の原案、

¹ Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

² Food and Drug Administration, Washington DC, USA

³ University of Western Ontario, Canada

⁴ Novigen Sciences Inc., Washington DC, USA

⁵ Australia New Zealand Food Authority, Canberra, Australia

概説

生物学的データ

生化学的見地

吸収、経路、排泄

毒性研究

急性毒性

毒性と発ガン性の長期に亘る研究

神経発達と神経行動学的影響

発達毒性

人間に於ける観察

Cadmibel 研究

腎機能

血圧と心臓循環疾患

カルシウム代謝と骨

死亡率

神経毒性

用量反応関係

限界腎濃度の推定

血管機能障害に対するカドミニウムの食物摂取の関係の推定

推定されるカドミウム食物摂取量

Residue data

Estimates of national intake

Other estimates

WHO GEMS/Food regional diets

Biomarkers of exposure

Comments

Evaluation

References

1. EXPLANATION

Cadmium was evaluated by the Committee at its sixteenth, thirty-third, and forty-first meetings (Annex 1, references 30, 83, and 107). At its sixteenth meeting, the Committee allocated a provisional tolerable weekly intake (PTWI) of 400–500 µg of cadmium per person. At its thirty-third meeting, the Committee retained this PTWI but expressed it in terms of intake per kilogram of body weight (7 µg/kg bw). In 1992, the International Programme on Chemical Safety published a monograph on cadmium which provided a detailed review of the available information on the health effects of cadmium and a description of the models on which the PTWI was based (WHO, 1992). At its forty-first meeting, the Committee used the monograph as the basis for its evaluation and retained the PTWI of 7 µg/kg bw.

At its forty-first meeting, the Committee identified a number of unresolved issues related to the intake and health effects of cadmium in the general populations of various countries. These issues were the dose–response relationship between the daily or accumulative intake of cadmium and renal dysfunction (*beta*₂-microglobulinuria) in the general population; re-examination of the existing epidemiological information correlating cadmium intake and *beta*₂-microglobulinuria among inhabitants of a cadmium-polluted region; examination of data on cadmium intake and its health effects in the general populations of various countries, including data on cadmium concentrations in foods; evaluation of the critical concentration of cadmium in the renal cortex in two groups exposed to high and low concentrations of cadmium; studies on the chemical identity and bioavailability of cadmium compounds in food; re-examination of mathematical models for estimating the biological half-life of cadmium; and studies on the involvement of the renal glomeruli in long-term intoxication with cadmium. At that meeting, the Committee also reaffirmed that ‘there is only a relatively small safety margin between exposure in the normal diet and exposure that produces deleterious effects’.

At its present meeting, the Committee based its evaluation on the IPCS monograph (WHO, 1992) and on updated information on intake, bioavailability, and health effects.

2. BIOLOGICAL DATA

2.2 Biochemical aspects

2.2.1 Absorption, distribution, and excretion

In mammals, cadmium is virtually absent at birth but accumulates with time, especially in the liver and kidneys. Rapid renal concentration occurs mainly during the early years of life (Henke et al.,

残留データ
国が定める摂取量の推定
他の推定
WHO GEMS/地域的食品
汚染のバイオマーカー
コメント
評価
参考

1. 概説

カドミウムは、第16回、第33回と第41回の会合の委員会 (Annex 1, reference 30, 83 と 107) で評価されました。第16回の会合で委員会は、一人当たりのカドミウムの暫定的な週間許容摂取量 (PTWI) として $400\text{--}500\text{ }\mu\text{g}$ を割り当てました。第33回の会合で、委員会は、この PTWI を保留しましたが、体重 ($7\text{ }\mu\text{g/kg bw}$) キログラム当りの換算で表現しました。1992年、化学的安全性に関する国際プログラムは、カドミウムの健康に対する影響と PTWI に基づいたモデルの記述に関する入手可能な情報の詳細な再検討したカドミウムに関するモノグラムを発行しました。第41回の会合で、委員会は、評価と保留した $7\text{ }\mu\text{g/kg bw}$ の PTWI に対する基礎としてモノグラムを使用しました。

第41回の会合で、委員会は、様々な国の一般住民のカドミウムの摂取量と健康への影響の関連する多数の未解決の問題を特定しました。これらの問題は、一般住民のカドミウムの毎日の摂取量或いは蓄積摂取量と腎機能障害 (*beta2-microglobulinuria*) 間の用量反応関係でした。即ち、カドミウムに汚染された地域の住民のカドミウムの摂取量と *beta2-microglobulinuria* の相関関係の存在する疫学的情報の再検討、食品中のカドミウム濃度に関するデータを含む各国の一般住民のカドミウムの摂取量とその健康への影響に関するデータの検討、カドミウムの高濃度と低濃度で汚染された2つのグループの腎皮質中のカドミウムの限界濃度の評価、食品中のカドミウム合成物の化学的同一性と生体利用効率に関する研究、カドミウムの生物学的半減期を予測するための数学的モデルの再検討、カドミウムの長期に亘る中毒に於ける腎糸球体の進行に関する研究です。その会合では、委員会は、“通常食物による汚染と悪影響を与える汚染の間には比較的少ない安全性マージンしかないこと”も再確認します。

現在の会合では、委員会は、IPCS モノグラム (WHO, 1992) と摂取量、生体利用効率と健康への影響に関する最新の情報についての評価に基づきました。

2. 生物学的データ

2.2 生化学的局面

2.2.1 吸収、経路、排出

哺乳動物では、カドミウムは、事実上、誕生時には存在しませんが、時間が経つにつれて、特に、肝臓と腎臓に蓄積します。急速な腎臓での濃度が人生の初期の段階で増加し (Henke et al., 1970)、総体内蓄積量の50~70%が、これらの二つの器官で発見されます。

1970), and 50–75% of the total body burden is found in these two organs.

(a) Absorption

The factors that affect the absorption of ingested cadmium include the animal species, type of cadmium compound, dose, frequency of administration, age or stage of development, pregnancy and lactation, presence or absence of drugs, nutritional status, and interactions with various nutrients. Studies in experimental animals have shown that 0.5–8% of cadmium nitrate or chloride is absorbed after a single exposure (Friberg et al., 1974). In humans given radioactive cadmium, the average amount absorbed is 5% (Flanagan et al., 1978).

Metallothioneins are metal-binding proteins of low relative molecular mass with a high content of cysteine residues which have a particular affinity for cadmium and can affect its toxicity. The regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins has been reviewed in detail (Nordberg, 1998; Ono & Cherian, 1998; Miles et al., 2000). Those aspects relevant to the absorption, distribution, and metabolism of cadmium are summarized here and in the sections on nephropathy and effects on the nervous system.

Several functions have been assigned to metallothionein. Its synthesis may be induced by the essential metals zinc and copper, and it is involved in the storage of these metals. Zinc–metallothionein can detoxify free radicals. Administration of zinc and induction of metallothionein can inhibit the toxicity of agents such as carbon tetrachloride, ethanol, and ionizing radiation, which act in part through oxidative injury. Metallothionein is also induced by cadmium, and intracellular binding of cadmium to metallothionein protects against the toxicity of cadmium. Cadmium is transported in the plasma as a complex with metallothionein and may be toxic to the kidney when excreted in the glomerular filtrate. Most of the cadmium in urine is bound to metallothionein.

Metallothionein in the gastrointestinal mucosa might play a role in the gastrointestinal transport of cadmium. Its presence in cells of the placenta impairs the transport of cadmium from maternal to fetal blood and across the blood–brain barrier, but only when the concentration of cadmium is low. Newborns are virtually cadmium-free, whereas zinc and copper are readily supplied to the fetus. The concentrations of cadmium–metallothionein in blood are higher in pregnant rats exposed to cadmium than in unexposed rats, suggesting that absorption of cadmium, zinc, and copper from the gastrointestinal tract during pregnancy is increased.

Metallothionein occurs as at least four genetic variants or isomers in humans, I, II, III, and IV. The two major forms, I and II, are ubiquitous in most organs, particularly in liver and kidney but also in brain. The two forms have different isoelectric points but identical arrangements of cystinyl residues. Metallothionein isolated from adult or fetal human livers contained mainly zinc and copper, whereas that from human kidney contained zinc, copper, and cadmium. The metals are bound to the peptide by mercaptide bonds and arranged in two distinct clusters: a four-metal cluster called the *alpha* domain and a three-metal cluster called cluster *beta* at the C terminal of the protein. The *alpha* cluster is an obligate zinc cluster, whereas the zinc in cluster *beta* may be replaced by the essential metal copper or by the toxic metal cadmium. Interaction with metallothionein is the basis for metabolic interactions between these metals.

Metallothionein-III is found in human brain and differs from I and II by having six glutamic acid residues near the terminal part of the protein. Metallothionein-III is thought to be a growth inhibitory factor, and its expression is not regulated by metals; however, it does bind zinc. Its expression is down-regulated in Alzheimer disease. Another proposed role for metallothionein-III is participation in the utilization of zinc as a neuromodulator, since metallothionein-III is present in the neurons that store zinc in their terminal vesicles. Metallothionein-IV occurs during differentiation of stratified squamous epithelium, but it is not known to have a role in the absorption or toxicity of cadmium.

(a)吸収

摂取されたカドミウムの吸収に影響を与える要素には、動物の種類、カドミウム化合物、投与量、投与回数、年齢或いは発達段階、妊娠と授乳、薬物の有無、栄養状態、種々の栄養物との相互作用が含まれます。実験動物での研究では、1回の汚染の後、硝酸カドミウム或いは塩素カドミウムの0.5~8%が吸収されることを示しています (Friberg et al., 1974)。放射性カドミウムを与えた人間では、吸収される平均量は、5%です (Flanagan et al., 1978)。

メタロチネンは、カドミウムに対して特別な親和力があり、毒性に影響を与えるシステイン残基の含有量で、低い相対分子量の金属結合するタンパク質です。哺乳動物のメタロチネンの規制、分解、生物学的重要性は、詳細に再検討しました (Nordberg, 1998; Ono & Cherian, 1998; Miles et al., 2000)。カドミウムの吸収、経路、代謝に関連する状況は、ここと、腎症と神経系への影響に関するセクションで要約します。

種々の機能が、メタロチネンに割り与えられていました。合成は、必須金属の亜鉛と銅により誘発され、これらの金属の貯蔵に関与します。亜鉛-メタロチネンは遊離基を解毒します。亜鉛の投与やメタロチネンの誘発は、四塩化炭素、エタノール、電離放射線のような物質の毒性を抑制します。このことは、一部、酸化損傷を通して行われます。メタロチネンは、また、カドミウムにより誘発され、メタロチネンに対するカドミウムの細胞内結合は、カドミウムの毒性から保護します。カドミウムはメタロチネンと共に錯体として血漿を伝播し、糸球体ろ過液に排出されると、腎臓に対して毒性となります。尿中のカドミウムの大半はメタロチネンと結合します。

胃腸粘膜中のメタロチネンは、カドミウムの胃腸内の運搬に於いて、役割を果たします。胎盤の細胞に存在すると、母親から胎児血液へのカドミウムの運搬に支障を来しますが、カドミウムの濃度が低い時のみです。新生児には、ほとんどカドミウムは存在しませんが、亜鉛と銅は、すでに胎児に供給されています。血中のカドミウム-メタロチネンの濃度は、カドミウムに汚染された妊娠したラットより、カドミウムに汚染された妊娠したラットの方が高くなっています。このことは、妊娠中に、胃腸管からのカドミウム、亜鉛、銅の吸収が増加していることを示しています。

メタロチネンは、最低、四つの遺伝子変異或いは人間のI、II、III、IVに於ける異性体として発生します。二つの主要なフォーム、I、IIは、ほとんどの器官、特に肝臓と腎臓に偏在しますが、脳にも存在します。二つのフォームは、異なる等電位点を持っていますが、同じ配列のシスチル残基を持っています。成人或いは人間の胎児の肝臓から分離したメタロチネンには、主に亜鉛と銅が含まれていましたが、人間の腎臓から分離したメタロチネンには、亜鉛、銅、カドミウムが含まれていました。金属は、メルカプチド結合によりペプチドと結合し、二つの異なる結合に配列されます。即ち、alpha domain と呼ばれる four-metal cluster、タンパク質の C terminal での cluster beta と呼ばれる three-metal cluster です。alpha cluster は、obligate zinc cluster であり、一方、cluster beta は、必須金属の銅、或いは有毒金属のカドミウムと置き換わります。メタロチネンとの相互作用は、これらの金属間での代謝作用の基礎です。

メタロチネン-IIIは、人間の脳の中で発見され、タンパク質の terminal part の近くに6個のグルタミン酸残基を持つことにより、IとIIと異なります。メタロチネン-IIIは、抑制因子と考えられており、発現は、金属により規制されません。しかしながら、亜鉛を拘束します。発現は、アルツハイマー病では、抑制されます。メタロチネン-IIIは、terminal vesicles で亜鉛を蓄積する神経細胞に存在しますので、メタロチネン-IIIのその他の役割は、神経修飾物質として亜鉛の利用に関与することです。メタロチネン-IVは、重層扁平上皮の differentiation 中に発生しますが、吸収に役割やカドミウムの毒性に於ける役割は、知られていません。

Cadmium bound to metallothionein in food does not appear to be absorbed or distributed in the same way as inorganic cadmium compounds (see WHO, 1992). Mice exposed to cadmium-metallothionein had lower concentrations of cadmium in blood and liver but a higher concentration in kidney than mice exposed to the same amount of cadmium chloride (Cherian et al., 1978). Although fishermen with an extremely high intake of cadmium from eating oysters had raised blood and urine cadmium concentrations, the increase was not as great as would have been expected from the amount of cadmium ingested (Sharma et al., 1983).

In mice, the degree of absorption depended on the age of the animal: young mice retained 10%, while adult mice retained only 1% (Matsusaka et al., 1972). A similar difference in absorption with age was found in neonatal mice, which absorbed cadmium to a much greater extent than adult mice (Engstrom & Nordberg, 1979).

Low dietary concentrations of calcium and protein promote absorption of cadmium from the intestinal tract of experimental animals (Friberg et al., 1975). A low iron status in laboratory animals and humans has also been shown to result in greater absorption of cadmium (Hamilton & Valberg, 1974; Flanagan et al., 1978). In particular, women with low body iron stores, as reflected by low serum ferritin concentrations, had an average gastrointestinal absorption rate twice as high as that of a control group of women, of the order of 10%.

Studies in rats showed that iron status is an important predictor of cadmium bioavailability. A high iron status resulted in decreased total and fractional cadmium accumulation from wheat endosperm and bran diets. In rats with reduced iron status, the inclusion of wheat bran in the diet increased cadmium uptake (Wing et al., 1992). Similar effects have been found in other studies of marginal iron status. The bioavailability of cadmium in rats can be increased significantly even in the absence of overt deficiency (Reeves, 2000).

Concomitant administration of zinc (20 mg/kg of diet as zinc sulfate) for 5 days and cadmium (10 mg/L as cadmium chloride in drinking-water) for 12 weeks to male rats did not mitigate the toxicity of cadmium (Flora et al., 1998).

Substitution of a mixed diet with a vegetarian diet for 3 months resulted in a tendency to increased elimination of cadmium in the faeces of 16 persons (Vahter et al., 1992). Cadmium intake and uptake from a vegetarian diet, a high-fibre diet and a normal mixed diet were measured over 4 days in two groups of nonsmoking women aged 20–50. No difference in the intake of nutrients was found, except that the high-fibre diet obviously had a higher fibre content and also a higher concentration of cadmium. No differences in blood or urinary cadmium concentrations were found between the two groups, which suggests that fibre had an inhibitory effect on cadmium absorption. The serum ferritin concentrations of 67% of the study population were below 30 µg/L, indicating reduced body iron stores, which were highly correlated with blood cadmium concentrations. This suggests that cadmium absorption is enhanced when the body iron stores are suboptimal. The blood cadmium concentrations mainly reflected long, light exposure, as the variation in blood cadmium concentration was accounted for by urinary cadmium, serum ferritin, age and fibre intake (Berglund et al. 1994). In a similar study, less cadmium was absorbed from a shellfish diet than from a mixed diet, even though the former containing twice as much cadmium as the latter. In persons on the mixed diet, serum ferritin was negatively correlated with blood cadmium when the serum ferritin concentrations were < 20 µg/L, indicating enhanced absorption when the iron status is suboptimal (Vahter et al., 1996).

The relative bioavailability of cadmium was investigated in female Sprague-Dawley rats which received diets in which rice was polluted with cadmium at a concentration of 0.02, 0.04, 0.12, or 1.1 mg/kg of diet or with cadmium chloride at 5.1, 20, or 40 mg of cadmium per kg of diet for up to 8 months. No cadmium-related toxic effects were observed. The concentrations of cadmium in the liver and kidney and of metallothionein in the liver, kidney, serum, and urine increased in a dose-

食品の中のメタロチネンと結合するカドミウムは、無機カドミウム化合物として同じように吸収されたり、或いは運搬されたりしないようです (WHO, 1992 を参照)。カドミウム-メタロチネンを汚染されたマウスの血液や肝臓中のカドミウムの濃度は、より低かったが、同じ量の塩化カドミウムを照射したマウスより、高い濃度であった (Cherian et al., 1978)。カキを食べることにより、カドミウムを非常に多く摂取する漁夫では、血圧や尿中のカドミウム濃度が増加しましたが、増加は、摂取されたカドミウム量から予測された量ほど多くはありませんでした (Sharma et al., 1983)。

マウスに於いては、吸収の程度は、動物の年齢に依存していました：若いマウスは、10%保留しましたが、成人のマウスは、1%のみ保留しました (Matsusaka et al., 1972)。年齢による吸収に於ける同じような相違が、新生児のマウスに見られました。このことは、大人のマウスより非常に多くの量までカドミウムを吸収しました。(Engstrom & Norberg, 1979)。

カルシウムとタンパク質の食物中の低濃度は、実験動物の腸管からカドミウムの吸収を促進します (Friberg et al., 1975)。実験動物や人間に於ける低鉄分状態も、カドミウムの多量の吸収になることを示していました (Hamilton & Valberg, 1974; Flanagan et al., 1978)。特に、体内鉄の低い女性は、低い血清フェリチン濃度により反映されるように、女性のコントロールグループの二倍の平均胃腸吸収率であり、10%のオーダーでした。

ネズミに於ける研究では、鉄分の状態が、カドミウムの生体利用率の重要な予測判断材料であることを示しました。高い鉄分の状態は、小麦内胚乳や糠食物からカドミウムの総蓄積や部分蓄積を低下させることになりました。低い鉄分状態のネズミでは、食物の中に小麦糠が含有していると、カドミウムの摂取が増加しました (Wing et al., 1992)。同様の影響が、わずかな鉄分状態での他の研究で見られました。ネズミに於けるカドミウムの生体利用率は、明らかな不足が存在していない場合でも、顕著に増加しました (Reeves, 2000)。

オスのネズミに、亜鉛 (硝酸亜鉛として食物に 20 mg/kg) を 5 日間、カドミウム (飲料水中に 10 mg/L) を 12 週間、同時の投与では、カドミウムの毒性を軽減しませんでした (Flora et al., 1998)

三ヶ月間、混合食物を菜食物に代えると、16 名の排泄物中のカドミウムの除去が増加する傾向になりました (Vahter et al., 1992)。カドミウムの摂取量と菜食物の摂取量、高繊維食物と通常の混合食物は、20~50 才の非喫煙者の女性の二つのグループで、4 日間以上測定しました。高繊維食物が、明らかに高繊維内容と高濃度のカドミウムである場合以外は、栄養物の摂取による相違は、認められなかった。この二つのグループに於いて、血中或いは尿中のカドミウム濃度の相違は、認められなかった。このことは、繊維がカドミウム吸収に於いて、抑制効果があったことを示しています。スタディーポピュレーションの 67% の血清 ferritin 濃度は、30 $\mu\text{g/L}$ 以下であった。このことは、減少した体内鉄の蓄積を示し、血中のカドミウム濃度と非常に相関がありました。このことは、体内鉄の蓄積が最適下限であれば、カドミウムの吸収が増進されることを示しています。血中カドミウム濃度が、尿中カドミウム、血清 ferritin、年齢と繊維の摂取によると説明がつけば、血中カドミウム濃度は、主として、長時間の光の照射を反映していました (Berglund et al., 1994)。同様に研究では、貝類の食物が混合食物の二倍のカドミウムを含んでいても混合食物より、貝類の食物からカドミウムが多く吸収されませんでした。混合食物を食べた人々では、血清 ferritin 濃度が、20 $\mu\text{g/L}$ 以下であれば、血清 ferritin は、血中カドミウムと相関関係がありませんでした。このことは、鉄の状態が、最適限界であれば、吸収が増進されることを示しています (Vahter et al., 1996)。

カドミウム濃度が、食物当り、0.02、0.04、0.12、1.1 mg/kg、或いは食物の kg 当り、5.1、20 或いは 40 mg のカドミウムでの塩化カドミウムで汚染された米の食物を 8 ヶ月間、摂取したメスの Sprague-Dawley ネズミについて生体利用効率を調査しました。カドミウムに関連する毒性影響は、観測されませんでした。肝臓や腎臓中のカドミウム濃度や肝臓、腎臓、血清や尿中のメタロチオンは、4 ヶ月と 8 ヶ月の毒性依存では増加しましたが、腸内メタロチオン濃度は、同じ期間、一定でした。肝臓にカドミウムを配布したメズミは、用量と伴に増加しましたが、腎臓内のメタロチオン濃度は、用量と伴に低下しました。この結果は、多分、吸収されたカドミウムの形態と細

dependent manner at 4 and 8 months, but the intestinal metallothionein concentrations remained constant during the same period. The rates of distribution of cadmium in the liver increased with dose, while those in the kidney decreased with dose. This finding probably reflects dose-dependent differences in the form of absorbed cadmium and tissue metallothionein storage capacity (Hiratsuka et al., 1990).

The gastrointestinal absorption and organ distribution of cadmium in mice was determined after 9 weeks of exposure to three fibre-rich foods: wheat bran, sugar-beet fibre, and carrots. The group given wheat bran had significantly less cadmium accumulation in the liver and kidneys than the other groups. The higher concentrations of inositol hexates and phytates and a higher zinc concentration were considered to be responsible for the differential absorption (Lind et al., 1998).

In rats fed sunflower kernels with concentrations of cadmium of 0.2–1.0 mg/kg, those fed marginal concentrations of dietary calcium absorbed 50% more cadmium than rats that were fed adequate concentrations of calcium. Rats given marginal dietary iron absorbed 160% more cadmium than those fed adequate iron. In contrast, the natural concentration of zinc in sunflower seeds which provided 90% of the rats' nutritional requirement, was enough to deter excessive absorption of cadmium (Reeves, 2000).

The pattern of accumulation of cadmium in the liver and kidneys was investigated in female Sprague-Dawley rats fed a diet containing cadmium chloride at 8, 40, 200, or 800 mg/kg for 2 or 4 months. As expected, the cadmium concentrations in the two organs increased with dose; however, the renal concentrations plateaued between the two highest doses. In addition, the ratio of cadmium concentrations in the kidney and liver decreased with dose, suggesting preferential, dose-dependent distribution to the two organs. The parallel shift in the curves illustrating total cadmium intake to renal cadmium concentrations over time indicated that renal accumulation is fairly constant and small (Ando et al., 1998).

The intestinal absorption of cadmium was investigated in groups of 14 female rats which received diets containing 28% purified rice or 72% ordinary rice containing cadmium at 0.02, 0.04, 0.12, or 1.0 mg/kg of diet. At 1, 4, and 8 months, seven animals per group were killed for determination of the cadmium and metallothionein concentrations in the liver and kidneys and of metallothionein in the intestinal mucosa, serum, and urine. The remaining animals were given cadmium-109. No cadmium-related toxic effects were seen. The cadmium concentrations were dose-related, as were those of metallothionein, except in the intestinal mucosa. The rates of distribution to the liver increased with dose, whereas the renal concentrations decreased with dose. From 0.2 to 1% of cadmium-109 was found to have been absorbed (Ando, 2000).

Six groups of 50 Sprague-Dawley rats were given diets containing cadmium-polluted rice or cadmium chloride at concentrations up to 40 mg/kg of diet from 5 weeks of age until 2 years. The only toxic effects seen during the study were changes in mean corpuscular volume and mean corpuscular haemoglobin. As has been observed in other studies, dose-dependent increases in hepatic and renal accumulation of cadmium and metallothionein were noted. The maximum cadmium concentrations were 130 mg/kg in liver and 120 mg/kg in kidneys. The urinary cadmium concentrations became dose-dependent with time (Ando, 2000; Mitsumori & Ando, 2000).

An analysis of the results of studies of bioavailability in rodents indicated that: (1) the bioavailability of cadmium from drinking-water and food is similar; (2) since the presence of cadmium decreases both food and water consumption, its availability must be assessed from the actual doses rather than the concentrations administered; (3) the composition of the diet and gastrointestinal tract status are major determinants of the bioavailability of cadmium; and (4) studies of the effect of the composition of the total diet on bioavailability are more relevant than studies of the medium of exposure (Ruoff et al., 1994).

胞メタロチオン貯蔵能力の用量依存性の相違を反映しています (Hirakawa et al., 1990)。

マウスに於けるカドミウムの胃腸内吸収と臓器分布は、繊維が豊富な三つの食品、即ち、小麦ぬか、sugar-beet fibre、人参を 9 週間、投与した後に測定しました。小麦ぬかを投与されたグループは、他のグループより肝臓や腎臓に非常に少量、カドミウムを蓄積しました。Inositol hexate や phytate の高濃度や亜鉛の高濃度は、吸収比較差に原因があると考えられていました (Lind et al., 1998)

0.2—1.0 mg/kg のカドミウム濃度のひまわりの実を与えられたラットに関して、食物カドミウムの限界濃度を与えられたラットは、カドミウムの適切な濃度を与えられたラットより、50%以上のカドミウムを吸収しました。限界食物鉄を与えられたラットは、適切な鉄を与えられたラットより 160%以上のカドミウムを吸収しました。対照的に、ラットの栄養必要量の 90%を提供するひまわりの実の中の亜鉛の天然の濃度は、カドミウムの過剰な吸収を抑止するのに十分でした。(Reeves, 2000)。

2ヶ月或いは4ヶ月間、8、40、200 或いは 800 mg/kg の塩化カドミウムを含む食物を与えたメスの Sprague-Dawley ラットの肝臓と腎臓での蓄積パターンを調査しました。期待通り、二つの臓器でのカドミウム濃度は、用量と伴に増加しました。しかしながら、腎臓での濃度は、二つの高い投与量の間で頭打ちになっていました。更に、腎臓や肝臓でのカドミウム濃度の比率は、投与量と伴に増加しました。このことは、二つの臓器に対する優先的な用量依存分配を示しています。時間経過に伴う腎臓のカドミウム濃度に対する総カドミウム摂取量を示す曲線での平行移動は、腎臓での蓄積は概ね一定であり、又、少量であることを示していました (Ando et al., 1998)。

カドミウムの腸での吸収について、食物当り、0.02、0.04、0.12、1.0 mg/kg のカドミウムを含む 28%精米した米、或いは 72%の通常の米を含む食物を与えられた 14 匹のメスのラットのグループで調査しました。1ヶ月、4ヶ月、8ヶ月後に、グループの数匹は、肝臓と腎臓中のカドミウムと methalloionein、超粘膜、血清と尿中の methalloionein の測定のために殺されました。残る動物には、cadmium-109 が与えられました。カドミウムに関連する毒性は見られませんでした。カドミウム濃度は、超粘膜を除いて、methalloionein の濃度と同様に、投与量と関連がありました。肝臓に対する分配率は、投与量と伴に増加しましたが、一方、腎臓での濃度は、投与量と伴に低下しました。cadmium-109 の 0.2%から 1%は、吸収されたと見られました (Ando, 2000)。

50 匹の Sprague-Dawley ラットの 6 グループに、濃度のカドミウムで汚染された米、或いは食事当り 40 mg/kg までの塩化カドミウムを 5 週間から 2 歳まで与えました。研究中被見られた毒性の影響は、平均赤血球容積と平均赤血球ヘモグロビンの変化のみでした。他の研究で見られたように、カドミウムの肝臓や腎臓での蓄積に於ける投与量に依存する増加が見られました。カドミウムの最大濃度は、肝臓で 130 mg/kg、腎臓で 120 mg/kg でした。尿中のカドミウム濃度は、時間の経過と伴に投与量に依存していました (Ando, 2000; Mitsumori & Ando 2000)。

齧歯動物に於ける生体利用効率の結果の分析では、(1)飲料水と食物からのカドミウムの生体利用効率は同じである；(2)カドミウムが存在していると食物や水の消費を低下させるので、生体利用効率は、投与した濃度よりむしろ実際の量から分析しなければならない；(3)食物の組成や胃腸管の状態がカドミウムの生体利用効率の主な決定要因である；(4)生体利用効率に関する総食物の組成の影響の研究が、汚染の媒体の研究より関連がある (Ruoff et al., 1994)。

The bioavailability of cadmium was assessed in weanling male rats on two diets: one consisting of a purified rodent diet to which 20% fresh sunflower kernels containing cadmium at 330 or 780 µg/kg was added and the other consisting of a purified diet containing cadmium chloride. After 10 weeks, a test meal containing cadmium-109 was fed in order to assess absorption by whole-body counting techniques. The absorption of cadmium varied from 0.39 to 0.55%, and that from the kernels was 30% less than from the diet containing cadmium chloride. In addition, the concentrations of cadmium in tissues tended to be lower in the animals on the kernel diet (Reeves et al., 1994). In subsequent studies, the protocol was modified to include a sunflower-seed diet that contained a low concentration of cadmium and other diets containing a concentration of 195 mg/kg. The body burden of cadmium was increased twofold in those animals given the diet containing sunflower seeds. Labelling of the sunflowers had no effect on the amount of label detected in the liver and kidneys (Reeves & Vanderpool, 1998).

On the basis of a 7-day food diary, 66 men and women who ate sunflower seeds were divided into two groups: those who ate more and those who ate less than 1 oz (28 g) per week. The dietary intake of cadmium was assessed from dietary surveys; the body burden of cadmium from the concentrations in whole blood, erythrocytes, and urine; and renal function from the presence of *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase and *beta*₂-microglobulin. The whole blood and erythrocyte concentrations of cadmium and urinary cadmium excretion were not affected by increased cadmium intake. The amounts of *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase and *beta*₂-microglobulin in the urine were elevated with increased dietary intake of cadmium when the values were expressed on the basis of volume but not when expressed on the basis of creatinine (Reeves et al., 1997). In subsequent studies, healthy men and women aged 23–59 were divided into three groups of eight or nine persons. One group ate a sunflower-seed diet, the second a sunflower and peanut diet, and the third a peanut diet. The sunflower seed diet, which contained cadmium at 0.52 mg/kg, increased the dietary concentration of cadmium from 100 to 240 µg/week. The peanuts contained cadmium at 0.11 mg/kg. There was no evidence that increased cadmium intake resulted in increased cadmium body burdens or affected renal function, as measured by changes in *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase activity. Faecal cadmium excretion increased as a function of increased sunflower-seed consumption. The concentrations of cadmium in hair did not change with diet (Reeves & Vanderpool, 1997; Reeves, 2000).

Administration of the stable isotope, cadmium-113, to 14 female and four male volunteers aged 30–70 years, given a typical western diet low in cadmium, indicated that the bioavailability of cadmium from sunflower seeds is no different from that from other types of food. Faecal excretion was 15 µg/day. The apparent absorption of cadmium-113 was $11 \pm 4.4\%$ for women and $2.1 \pm 4.3\%$ for men. No significant correlation was found between cadmium absorption and serum ferritin concentration (Vanderpool & Reeves, 2000).

Dietary uptake of cadmium was assessed in 17 nonsmoking women, 20–50 years of age, who ate shellfish at least once a week. A control group of 34 women who ate a mixed diet with little shellfish was used. The shellfish diets, containing a median of 22 µg of cadmium per day, had twice as much cadmium as the control diets. Duplicate diet studies indicated that faecal excretion of cadmium represented 100% and 99% of the intake from the two diets, respectively. The concentrations of cadmium in blood were not statistically significantly different in the two groups, suggesting less absorption of cadmium by persons on the shellfish diet. However, greater absorption could have occurred, because they had a low iron status, as indicated by reduced serum ferritin concentrations. When the iron status was accounted for, the difference in the bioavailability of cadmium between the two groups diminished (Vahter et al., 1996).

(b) Distribution

Once absorbed, cadmium is transported in the blood, mainly in erythrocytes, and is bound intracellularly to protein fractions of low and high relative molecular mass (Nordberg, 1972). The

二種類の食物に関する離乳児のオスのラットのカドミウムの生体利用効率を評価しました：一つは、330 或いは 780 $\mu\text{g/kg}$ のカドミウムを含む 20%の生鮮なひまわりの実に対して精製した齧歯動物用食物からなる食物ともう一つは塩化カドミウムを含む精製した食物からなる食物。10 週間後、whole-body counting techniques で吸収を評価するために、cadmium-109 を含む試験食が与えられました。カドミウムの吸収は、0.39~0.55%と異なり、種子からの吸収は、塩化カドミウムを含む食物からの吸収の 30% 以下でした。更に、組織でのカドミウム濃度は、種子食物に関して動物では、低い傾向でした (Reeves et al., 1994)。その後の研究では、プロトコールは、低濃度のカドミウムを含んだひまわりの実の食べ物と 195 mg/kg の濃度を含む他の食べ物を含むように修正されました。ひまわりの種を含む食物を与えられたこれらの動物では、カドミウムの体内蓄積物は二倍に増加しました。ひまわりのラベリングは、肝臓や腎臓で検出されるラベル量に影響を与えませんでした (Reeves & Vanderpool, 1998)。

7 日間の食物を基にして、ひまわりの種を食べた 66 名の男女を二つのグループ、多く食べた者と一週間に 1 オンス (28g) 食べた者に分けました。カドミウムの食物からの摂取量は、食物調査、即ち、全血、赤血球及び尿中の濃度からのカドミウムの体積蓄積物と N-acetyl-beta-glucosaminidase、beta2-microglobulin の存在による腎臓の機能から評価されました。全血及び赤血球中のカドミウム濃度と尿へのカドミウムの排泄は、カドミウムの摂取量の増加により影響は受けませんでした。値が、クレアチニンに基づいて表現されずに量に基づいて表現されていると、尿中の N-acetyl-beta-glucosaminidase と beta-2microglobulin の量は、カドミウムの食物からの摂取の増加に伴って増加しました (Reeves et al., 1997)。その後の研究で、23~59 才の健康な男女が、8 名或いは 9 名の三つのグループに分けられました。第一のグループは、ひまわりの種子の食物、第二のグループは、ひまわりとピーナツの種子を、第三のグループは、ピーナツの食物を食べました。0.52 mg/kg のカドミウムを含んだひまわりの種子の食物は、食物からのカドミウム濃度を 100~240 $\mu\text{g/week}$ に増加させました。ピーナツは、0.11 mg/kg のカドミウムを含んでいました。N-acetyl-beta-glucosaminidase の活動の変化で測定すると、増加したカドミウムの摂取量が、カドミウムの体積蓄積物の増加、或いは腎臓機能に影響を与えたかの明らかな証拠は有りませんでした。便へのカドミウムの排泄は、ひまわり種子の消費の増加の働きとして増えました。髪の中のカドミウム濃度は、食物により変化しませんでした (Reeves & Vanderpool, 1997; Reeves, 2000)。

カドミウムの低い典型的な西洋食物のを与えた年齢が 30 才~70 才の 14 名の女性と 4 名の男性のボランティアに、安定なアイソトープ、cadmium-113 を投与すると、ひまわりの種子からのカドミウムの生体利用効率は、他のタイプの食物からのそれと差異が無いことを示しました。便からの排泄は、15 $\mu\text{g/day}$ でした。cadmium-113 の明らかな吸収は女性で $11 \pm 4.4\%$ 、男性では $2.1 \pm 4.3\%$ でした。カドミウムと血清 ferritin 濃度の間には、重要な相関関係は見られませんでした (Vanderpool & Reeves, 2000)。

カドミウムの食物からの摂取に関して、一週間に少なくとも一回、甲殻類を食べる 20~50 才の 17 名の非喫煙の女性について評価しました。少しの甲殻類と混合食物を食べた 34 名の女性のコントロールグループが用いられました。二つの食物の研究では、カドミウムの便による排出は、食物からの摂取の各々、100%と 99%であったことを示していました。血中のカドミウム濃度は、二つのグループでは、統計的に重要な差異はありませんでした。このことは、甲殻類の食物に関して、個体によるカドミウムの吸収は少ないことを示しています。しかしながら、血清 ferritin 濃度の低下により示されるように低い鉄分状態であったために、多くの吸収が起こったかも知れません。鉄分の状態を計算に入れると、二つのグループのカドミウムの体内利用効率の相違は、小さくなりました (Vahter et al., 1996)。

(b)流通

一度吸収されると、カドミウムは、血中、主として、赤血球に運ばれ、低相対分子量と高相対分子量のタンパク分画に細胞内で結合します (Nordberg, 1997)。低相対分子量での分画は、metallothionein と似ています。血漿 metallothionein は、カドミウムの運搬では重要な役割を果たします。血漿 metallothionein は、体重当り sulfhydryl グループと結合するカドミウムの 11%まで含むことが出来ます

fraction with a low relative molecular mass is similar to metallothionein. Plasma metallothionein has an important role in the transport of cadmium. It can contain up to 11% of cadmium by weight, bound to sulphhydryl groups (Elinder & Nordberg, 1985), and occurs in large quantities in the liver, particularly after exposure to cadmium. Metallothionein occurs in varying amounts in other tissues, such as the kidneys, and its concentration correlates with that of cadmium in these tissues. The low relative molecular mass of free metallothionein in plasma allows it to filter through the glomeruli and subsequently be reabsorbed in the proximal tubules, which in turn results in selective accumulation of cadmium in the renal cortex (Nordberg, 1972). Transport of cadmium bound to metallothionein from blood to renal tubular cells is rapid and virtually complete, while free cadmium is not taken up by the kidneys to a similar extent (Johnson & Foulkes, 1980).

While cadmium can reach the embryo or fetus early in gestation, little transfer occurs across the fully developed placenta (Ahokas & Dilts, 1979). Cadmium can induce metallothionein in the placenta, and the placenta retains cadmium after exposure to low concentrations. The essential elements zinc and copper are also bound to metallothionein in the placenta but, for reasons not understood, cadmium is retained and the essential metals are transported to the fetus (Goyer, 1995). The concentrations of cadmium in the organs of embryos, fetuses and neonates are three orders of magnitude lower than the corresponding concentrations in adult women (Chaube et al., 1973).

Long-term exposure to cadmium leads to selective accumulation in the liver and renal cortex, such that up to 75% of the total body burden is found in these organs (Friberg et al., 1985). The accumulation of cadmium in the liver and its subsequent redistribution to the kidney is due to efficient metallothionein synthesis in the liver; cadmium-metallothionein is slowly released into the plasma, filtered through the glomeruli and reabsorbed in the proximal tubules. After exposure to normal dietary concentrations of cadmium (10–30 µg/day), about 50% of the body burden is found in kidneys, about 15% in the liver, and about 20% in muscle (Kjellstrom, 1979). Lower concentrations are found in brain, bone, and fat (Sumino et al., 1975; Cherry, 1981). Accumulation in the kidneys continues up to 50–60 years of age and falls thereafter, possibly due to age-related changes in kidney function. The hepatic and renal concentrations may fall subsequent to renal damage and increased leakage of bound cadmium into the urine (Nomiyama et al., 1982). Differences in the population mean concentrations of cadmium in the renal cortex in various countries have been attributed to differences in daily dietary intake (Friberg et al., 1986).

(c) Excretion

Little cadmium is normally excreted in the urine. The rate of excretion increases slowly with increasing body burden, but, as renal dysfunction develops, it increases sharply and the hepatic and renal cadmium concentrations fall (Nordberg & Piscator, 1972; Nomiyama & Nomiyama, 1976). In the general population, the mean urinary cadmium concentration, mainly bound to metallothionein, ranges from < 0.5 to 2.0 pg/L, representing about 0.01% of the body burden, and increases with age (Nordberg & Strangert, 1976; Kowal et al., 1979). Estimates of biliary and gastrointestinal excretion after oral administration of cadmium are somewhat uncertain in that most faecal cadmium is unabsorbed material. The mechanism of faecal excretion may involve both sloughed mucosal cells and excretion in the bile. After an initial rapid phase, biliary excretion represents 0.02–0.04% of the body burden, and most is associated with a fraction of low relative molecular mass (Elinder & Pannone, 1979). After low or moderate doses, the amount excreted in the faeces is about the same as that excreted in urine. Minor routes of excretion include hair, breast milk, and pancreatic fluid, but collectively these routes make little contribution to the total excretion or biological half-time of cadmium. The slow excretion of cadmium results in extremely long biological half-times in animals, lasting from 200 days to 22 years (Friberg et al., 1985). The retention functions are multi-phasic, involving several compartments with different half-times. The half-time of the slowest compartment is usually greater than 20% of the life span of the animal.

2.2 Toxicological studies

(Elinder & Nordber, 1985)。そして、特にカドミウムに対する汚染の後、肝臓の中に多量に発生します。metallothionein は、腎臓などの他の組織の種々の異なる量で発生し、濃度はこれらの組織のカドミウムの濃度と相関があります。血漿中の低 free metallothionein の低相対分子量は糸球体を通してろ過され、その結果、proximal tubules に再吸収されます。このことは、順に、腎皮質中のカドミウムの選択的蓄積となります (Nordber, 1972)。血液から腎尿細管細胞までの metallothionein と結合したカドミウムの運搬は、迅速で、実質的に完全ですが、他方、free Cadmium は、同じような程度まで腎臓により吸収されません (Johnson & Foulkes, 1980)

カドミウムは、胎芽或いは妊娠初期の胎児に到達出来ませんが、十分に発達した運搬は、十分に発達した胎盤を通して殆ど起こりません (Ahokas & Dilts, 1979)。カドミウムは、胎盤中に metallothionein を誘発し、胎盤は、低濃度の汚染の後、カドミウムを保持します。必須元素の亜鉛と銅も、胎盤で metallothionein と結合しますが、理由は理解されていませんが、カドミウムは保持され、胎児に運搬されます (Goyer, 1995)。胎芽、胎児や新生児の組織中のカドミウムの濃度は、成人女性中の相当する濃度より低く、三桁です (Chaube et al., 1973)。

カドミウムに長期間、汚染されると、肝臓や腎皮質の選択的蓄積となり、総体内蓄積物の 75%までがこれらの組織で見つかります (Friberg et al., 1985)。肝臓でのカドミウムの蓄積とその後の腎臓への再流通は、肝臓での有効な metallothionein の合成によります。即ち、cadmium-metallothionein は、血漿中にゆっくりと放出され、glomeruli を通してろ過され、proximal tubules で再吸収されます。通常食物中のカドミウム濃度 ($10-30 \mu\text{g/day}$) に対する汚染の後、体内蓄積物の約 50%は、腎臓で、約 15%は肝臓で、約 20%は筋肉で見られます (Kjellstrom, 1979)。より低濃度は、脳、骨、脂肪の中で見られます (Sumino et al., 1975; Cherry, 1981)。腎臓での蓄積は、50~60 才まで続き、その後、多分、年齢に関連する腎臓機能の変化により低下します。肝臓と腎臓の濃度は、その後の腎臓の損傷と尿への結合したカドミウムの排出の増加により低下するかも知れません (Nomiyama et al., 1982)。各国に於ける腎皮質中のポピュレーションの平均カドミウム濃度の相違は、毎日の食物の摂取の相違に起因していました (Friberg et al., 1986)。

(c)排泄

通常、少量のカドミウムが尿に排泄されます。排泄率は、体内蓄積物の増加と共に徐々に増加しますが、腎機能障害が起きると、急激に増加し、肝臓や腎臓のカドミウム濃度は、低下します (Nordberg & Piscator, 1972; Nomiyama & Nomiyama, 1976)。一般的なポピュレーションでは、主に metallothionein と結合する尿中の平均カドミウム濃度は、0.5 以上から 2.0 pg/L の範囲であり、体内蓄積物の約 0.01%であり、年齢と共に増加します (Nordber & Strangert, 1976; Kowal et al., 1979)。殆どの大便中のカドミウムは、非吸収性の金属ですので、カドミウムを口投与した後の胆管や胃腸管からの排泄を推測することは不確定です。大便への排泄のメカニズムは、剥れた粘膜細胞や胆汁への排泄に含まれます。最初の急激期の後、胆管への排泄は、体内蓄積物の 0.02-0.04%であり、殆どが低相対分子量の一部と関連があります (Elinder & Pannone, 1979)。少量或いは適量の投与の後、大便に排泄される量は尿に排泄される量と殆ど同じです。排泄の数少ないルートには、髪、母乳、唾液が含まれますが、総体的に、これらのルートは総排泄或いはカドミウムの生物学的半減期には貢献しません。カドミウムの遅い排泄は、200 日から 22 年間続く非常に長い動物での生物学的半減期に起因します (Friberg et al., 1985)。残留関数は、異なる半減期の数々のものを含むマルチフェイズです。最も遅いものの半減期は、通常、動物の寿命の 20%以上です。

2.2 毒物学的研究

The toxic effects of cadmium in food are largely related to long-term exposure to low doses. Acute effects may occur after ingestion of very high concentrations. Such effects are reviewed briefly to illustrate the differences in the solubility and absorption of various forms of cadmium, but the major emphasis is on effects of long-term oral intake. The effects of cadmium as documented in Environmental Health Criteria No. 134 (WHO, 1992) and more recent information are summarized below.

2.2.1 Acute toxicity

The LD₅₀ for rats and mice treated orally ranges from about 100 to 300 mg/kg bw after a single gavage dose of cadmium chloride (Table 1, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999). One study (Kostial et al., 1978) suggested that immature mice may be more sensitive than mature mice or rats. Some deaths occurred at doses as low as 15 mg/kg bw administered continually in drinking-water for 10 days. Some of the differences between studies may be due to differences in species.

Table 1. LD₅₀ values for rats and mice given cadmium chloride orally

Strain, sex	Exposure	Dose (mg/kg bw per day)	Effect	Reference
Sprague-Dawley rats, male	Gavage, once/day	220	LD ₅₀ at 14 days	Kotsonis & Klaassen (1977)
Sprague-Dawley rats, male	Water, twice/week	42	7/9 died	Kotsonis & Klaassen (1978)
Rats (strain unspecified), 2-wk-old	Gavage, once	29	LD ₅₀ at 8 days	Kostial et al. (1978)
Sprague-Dawley rats	Gavage, once	15	1/10 males, 1/10 females died	Borzelleca et al. (1989)
	Gavage, once; water, 10 days	15	2/10 males, 1/10 females died	
Sprague-Dawley rats	Gavage, once	330 110	LD ₅₀ at 24 h Fed Fasted	Shimizu & Morita (1990)
CBA/Bom mice, male	Gavage, once	30	2/54 died within 10 days	Anderson et al. (1988)
Swiss-Webster mice, male	Gavage, once	96	LD ₅₀ at 96 h	Baer & Benson (1987)
ICR mice	Gavage, once	110	5/10 died within 8 days	Basinger et al. (1988)

Modified from Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999)

Table 2 shows the LD₅₀ values for different cadmium compounds administered by gavage or in drinking-water. Because the toxicity of cadmium compounds is believed to be attributable to the cadmium ion *per se*, the differences in LD₅₀ values are considered to be due to differences in solubility or rate of dissolution and the availability of the cadmium ion.

食品中のカドミウムの毒の影響は、主として、低用量に長時間、汚染されることと関係があります。急激な影響は、非常に高い濃度を摂取した後に発生します。そのような影響は、主として溶解性の相違やカドミウムの種々の形の吸収を説明するために再検討しますが、非常に重要なことは、長期に亘る経口摂取の影響に関することです。環境衛生基準 No.134 (WHO, 1992) に述べられているカドミウムの影響と更なる最近の情報は、下記に要約します。

2.2.1 急性毒性

口投与により処理されたラットとマウスに対する 50%致死量は、塩化カドミウムの一回のチューブによる投与の後の 100~300 mg/kg bw です (Table 1, Agency for Toxic Substances and Diseases Registry, 1999)。ある研究 (Kostial et al., 1978) では、未成熟のマウスは、成熟したマウス或いはラットより敏感であることを示していました。ある死亡は、10 日間、飲料水に連続的に調製した 15 mg/kg bw の低投与量で発生しました。研究間の相違のあるものは種の相違によるものです。

表 1. 経口投与により塩化カドミウムを与えられたラットとマウスに対する 50%致死量
左表参照

表 2 は、チューブ或いは飲料水により投与された異なるカドミウム化合物に対する 50%致死量値を示します。カドミウム化合物の毒性は、本質的に、カドミウムイオンに起因すると考えられていますので、50%致死量値の相違は、溶解性或いはカドミウムイオンの分解と利用性の割合の相違によると考えられています。

Table 2. LD₅₀ values for cadmium compounds in mice and rats treated by intragastric administration

Compound	Relative molecular mass	LD ₅₀ (confidence interval) (mg/kg bw)	LD ₅₀ for cadmium ion (mg/kg bw)
<i>Mice</i>			
Cadmium	112.4	890 (640–1200)	890
Cadmium oxide	128.4	72 (41–110)	63
Cadmium sulfate	208.5	88 (70–100)	47
Cadmium chloride	183.3	94 (76–110)	57
Cadmium nitrate	236.4	100 (79–120)	48
Cadmium iodide	366.2	170 (140–190)	51
Cadmium caprylate	394.8	300 (200–460)	85
Cadmium carbonate	172.4	310 (220–400)	200
Cadmium stearate	679.4	590 (560–620)	98
Cadmium sulfide	144.5	1200 (1100–1200)	910
Cadmium sulfoselenide	335.8	2400 (2400–2500)	1600
Barium–cadmium stearate	1383.7	3200 (2800–3600)	260
<i>Rats</i>			
Cadmium caprylate	394.8	950 (610–1500)	270
Cadmium stearate	679.4	1200 (880–1600)	200
Barium–cadmium stearate	1383.7	2000 (1700–2200)	160

Modified from WHO (1992)

Pathological effects resulting from a single, high, parenteral dose or a single exposure by inhalation are summarized here only briefly. WHO (1992) pointed out that the most marked effect in experimental animals given a single parenteral dose of cadmium at 2–4 mg/kg bw is testicular necrosis. This effect is probably the result of endothelial damage to small blood vessels followed by increased capillary permeability and haemorrhage. A similar effect occurred in the ovaries of prepubertal rats and in the ovaries of adult rats in persistent estrus.

Acute effects are also seen in other organs after a single high dose. Exposure to cadmium by inhalation at concentrations of 5–20 mg/m³ for 50–120 min caused pulmonary oedema in rats and rabbits. Parenteral administration at doses close to the LD₅₀ had pronounced effects on small blood vessels, including those of the nervous system. Morphological effects were found in the livers of rats given a single parenteral dose of 3.9 mg/kg bw. The systemic effects may be fatal, and oral administration of a high dose of cadmium caused desquamation and necrosis of gastric and intestinal mucosa.

表2 胃内投与されたマウスとラットに於けるカドミウム化合物に対する 50%致死量値
左表参照

一回の非経口による多量の投与或いは吸息による一回の汚染による病理学的影響をここに要約します。WHO(1992)は、2~4 mg/kg bw のカドミウムを一回の非経口投与で与えられた実験動物に於ける最も顕著な影響は精巣の壊死であることを指摘しました。この影響は、多分、増加したキャピラリーの浸透性と出血による小さな血管に対する内皮損傷の結果です。同様の影響は、思春期前のラットの卵巣や連続する発情期の成人ラットの卵巣で起こりました。

急性な影響は、一回の多用量の投与の後、他の臓器でも見られます。5~20 mg/m³ の濃度で 50~120 分間、吸息により、カドミウムを汚染は、ラットやウサギに肺水腫を起こさせました。50%致死量に近い用量を非経口用投与すると、神経系への影響を含んで、小さな血管に顕著な影響がありました。3.9 mg/kg bw を一回の非経口投与したラットの肝臓で、形態的影響が見られました。全身的な影響は、致命的であり、カドミウムの多量の経口投与は、胃腸粘膜の落屑と壊死の原因となりました。

2.2.2 Long-term studies of toxicity and carcinogenicity

(a) Renal effects

The kidney is the critical organ in humans and other mammals exposed for long periods to the relatively small amounts of cadmium that might occur in foods. Many studies in experimental animals have demonstrated an association between morphological and/or functional changes in the kidney and the renal concentration of cadmium. In most of these studies, cadmium was given parenterally rather than in food or water. The many studies of this type performed before 1990 were reported in detail and tabulated by WHO (1992) and are only summarized here.

Long-term exposure to cadmium leads to pathological changes in the kidneys. The morphological changes are initially limited to proximal tubular epithelial cell degeneration, but this is followed by cellular atrophy, interstitial fibrosis, and glomerular sclerosis. The morphological changes are associated with biochemical evidence of renal tubular dysfunction, including the presence of proteins of low relative molecular mass in the urine (*beta*₂-microglobulin and retinol-binding protein), glucosuria, aminoaciduria, hypercalciuria, enzymuria (*N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase), and urinary concentration of cadmium and metallothionein (WHO, 1992; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999). The ultrastructural changes include increased numbers of lysosomes and swelling of mitochondria. In addition to the tubular changes, there have been reports of pathological changes in mesangial cells and increased thickening of the glomerular basement membrane.

Impaired glomerular filtration, seen as increases in serum creatinine and blood urea nitrogen concentrations, is a less sensitive indicator of cadmium-induced nephropathy than tubular dysfunction or injury. Uriu et al. (1998) found a decline in the glomerular filtration rate in rats treated parenterally with cadmium chloride, and the reduced rate was associated with a lowered filtration fraction, although this may be a functional effect of cadmium rather than a morphological effect. Nevertheless, continued exposure to cadmium results in progressive glomerular sclerosis with impairment of glomerular filtration.

Various hypotheses have been proposed to explain the nephrotoxicity of cadmium and particularly the role of the metal-binding protein metallothionein. It has been shown in experimental animals and *in vitro* that metallothionein protects against the toxicity of cadmium by binding to it to form a cadmium–metallothionein complex that is non-toxic when stored within cells. Renal-cell injury occurs when the critical concentration of cadmium is exceeded. The mechanism of this toxicity is unknown, but it has been suggested that an unidentified form of cadmium that is not bound to metallothionein becomes available (Goyer et al., 1989). Parenterally administered cadmium–metallothionein is very toxic to renal epithelial cells (Cherian et al., 1976; Goyer et al., 1984), and it has been suggested that cadmium–metallothionein in the glomerular filtrate injures renal cells as it excreted by the nephron. Hepatic metallothionein may be an important source of plasma metallothionein, and the critical factor in cadmium nephropathy may be the release of cadmium–metallothionein from the liver. Jin et al. (1987) reported that hypercalciuria developed in rats injected with cadmium–metallothionein.

Repeated injections of small amounts of cadmium–metallothionein to rats that had not been exposed to cadmium produced nephrotoxicity similar to that which occurs after long-term ingestion of cadmium (Wang et al., 1993). When the livers of rats exposed to cadmium were transplanted into normal rats, the plasma concentration of cadmium–metallothionein and nephrotoxicity increased in spite of low concentrations of renal cadmium (Chan et al., 1992). The irreversibility of proteinuria after cessation of exposure to cadmium, despite declining renal concentrations, may be due to continued exposure of the kidney to cadmium–metallothionein as it is slowly released from the liver. Inflammatory foci were found in the interstitium of the kidneys of mice with no metallothionein that were exposed to cadmium (Liu et al., 1999), suggesting that cadmium that is not bound to metallothionein might also play a role in cadmium-induced nephropathy.

2.2.2 毒性と発癌性の長期に亘る研究

(a) 腎臓への影響

腎臓は、食品中にあるカドミウムの比較的少量に長期間汚染された人間や他の哺乳類に於いて重要な臓器です。実験動物での多くの研究は、腎臓に於ける形態学的及び機能変化とカドミウムの腎臓での濃度の関連を実証しました。これらの研究の大半は、カドミウムは、食品或いは飲料水よりは非経口で投与されました。1990年以前に行われたこのタイプの多くの研究は詳細に報告され、WHO(1992)で集計されましたので、ここに要約のみを行います。

カドミウムに長期間汚染されると、腎臓の病理学的変化につながります。形態的变化は、最初は近接の尿細管上皮細胞の変質に限られていますが、細胞萎縮、間質の線維化、糸球体硬化へと続きます。形態的变化は、尿中の低相関分子量のタンパク質 (beta2-microglobulin and retinol-binding protein)、糖尿、アミノ酸尿、高カルシウム尿、enzymuria (N-acetyl-beta-glucosaminidase)の存在、カドミウムの尿中濃度と metallothionein を含んで、腎尿細管機能障害の生化学的痕跡と関連があります (WHO, 1992; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999)。超微細形態的变化には、リゾソーム数の増加とミトコンドリアの膨れが含まれます。尿細管の変化に加えて、メサングウム細胞の病理学的変化と糸球体基底膜の濃厚化の増加に関する報告がありました。

血清中のクレアチニンや血中尿素窒素濃度の増加に見られるように、損傷した糸球体ろ過は、尿細管機能障害或いは損傷より、カドミウムにより誘発された腎症の感度のよくない指標になります。Uriu et al (1998)は、非経口で塩化カドミウムを与えたラットに於いて、糸球体ろ過率の低下を発見しました。形態的影響よりはカドミウムの機能の影響ですが、低下率は低くなつたろ過率と関係がありました。それにもかかわらず、カドミウムを継続的に汚染されると、糸球体ろ過の損傷と伴に進行性の糸球体硬化となりました。

カドミウムの腎臓毒性と特に金属と結合するタンパク metallothionein の役割を説明するために、種々の仮説が提案されました。細胞内に貯蔵されると、非毒性である cadmium- metallothionein 複合体を形成するために、metallothionein は、カドミウムと結合することによりカドミウムの毒性に対して保護することは、実験動物や試験管内で明らかにされました。腎臓細胞の損傷は、カドミウムの限界濃度を越えた時に発生します。この毒性のメカニズムは不明ですが、metallothionein と結合していないカドミウムの特定されていない形が利用出来ることが提言されました (Goyer et al., 1989)。非経口で投与された cadmium- metallothionein は、腎臓上皮細胞に対して非常に毒性があり (Cherian et al., 1976; Goyer et al., 1984)、腎単単位で排泄されると、糸球体ろ過液の中の cadmium- metallothionein は、腎細胞を損傷させることが提言されてきました。肝臓 metallothionein は、血漿 metallothionein の重要な源であり、カドミウム腎症の重要なファクターは、肝臓からの cadmium- metallothionein の放出です。Jin et al. (1987)は、カルシウム過剰症は、cadmium- metallothionein を注入したラットで発生することを報告しました。

カドミウムに汚染されていないラットに、cadmium- metallothionein の少量を繰り返し注入すると、カドミウムを長期間摂取した後に起きる腎臓毒性と同様の腎臓毒性を示しました (Wang et al., 1993)。カドミウムに汚染されたラットの肝臓を正常なラットに移植すると、腎臓のカドミウムの低濃度にも関わらず、cadmium- metallothionein の血漿中の濃度と腎臓毒性は増加しました (Chan et al., 1992)。cadmium- metallothionein は、肝臓から徐々に放出されますので、尿中の濃度の低下にもかかわらず、カドミウムの汚染の中止後のタンパク尿の不可逆性は、cadmium- metallothionein に対する腎臓の連続した汚染のためです。炎症の病巣は、カドミウムに汚染された metallothionein が存在しないマウスの腎臓の間質の中に発見されました (Lie et al., 1999)。このことは metallothionein と結合しないカドミウムも、カドミウムに誘発された腎症で重要な役割をすることが示しています。

As mentioned above, the intestinal absorption and potential toxicity of cadmium may be influenced by metabolically related metal ions (WHO, 1992). Diets with low concentrations of calcium and protein enhance the gastrointestinal absorption of cadmium, and iron-deficient animals absorb more cadmium than animals with nutritionally adequate iron. The renal toxicity of cadmium is reduced or abolished by increased intakes of zinc, copper, and selenium (Nordberg, 1978). The preventive effects of pretreatment with zinc and copper have been suggested to be the result of increased production of metallothionein in the liver and renal cortex (Liu et al., 1994).

Studies summarized by WHO (1992) indicate that a concentration of cadmium in the renal cortex of 100–200 µg/g is likely to be the critical concentration for 50% of the population. Measurements of cadmium in human renal cortex *in vivo* suggest that renal tubular damage would be experienced by about 50% of people with a concentration of 200 µg/g in the renal cortex and about 10% of people with a concentration of 300 µg/g. A one-compartment metabolic model (Friberg et al., 1974; Task Group on Metal Toxicity, 1976) has been used to estimate the daily intake of cadmium by a nonsmoker that would be required to attain a renal cortical concentration of 200 µg/g at the age of 50 years.

Studies in animal models are, in general, supportive of the proposed concept of a critical concentration of cadmium in the renal cortex, although the LOAEL may be lower than 200 µg/g. Morphological changes in the renal tubules were reported by Kawai et al. (1976) in rats given cadmium at 10–200 mg/L of drinking-water for 8.5 months. The average renal concentration of cadmium was about 38 µg/g wet weight of kidney, which corresponds to about 50 µg/g in the renal cortex. Aughey et al. (1984) administered cadmium at 50 mg/L of drinking-water to rats for 6 months and also found histological evidence of renal toxicity with a renal cortical cadmium concentration of 50 µg/g. Bernard et al. (1981) produced proteinuria in rats by exposing them to cadmium in drinking-water at a dose of 200 µg/L for up to 11 months. After 8–9 months, there was a 25% prevalence of increased proteinuria, corresponding to a renal cortical concentration of about 200 µg/g. However, evidence of renal tubular injury was seen in some animals with a renal cortical cadmium concentration as low as 40 µg/g, indicating that the critical concentration of cadmium in the renal cortex may be about 50 µg/g for about 10% of the population.

Thus, cadmium produces renal tubular dysfunction in non-human mammalian species that is analogous to the effect in humans of exposure to low concentrations of cadmium. Renal tubular dysfunction induced in animals by low concentrations may progress to interstitial nephropathy with longer exposure. The presence of proteins of low relative molecular mass in the urine is a sensitive biomarker of renal tubular dysfunction, although hypercalciuria may be an equally sensitive biomarker. The critical concentration of cadmium for the induction of nephropathy is 50–200 µg/g of renal cortex.

Limited information was available about the dose–response relationships for renal tubular dysfunction in experimental models. The following selected studies addressed dose–response relationships after oral exposure to cadmium.

Ten male Flemish giant and 10 male New Zealand rabbits were fed commercial lab chow containing cadmium chloride at 160 mg/kg of diet for 200 days, resulting in an average cadmium intake of 15 mg/kg bw per day. The weight of the kidneys and the incidences of glomerular sclerosis, tubular-cell degeneration, and interstitial fibrosis were increased (Stowe et al., 1972).

In male and female rats given cadmium in the drinking-water at a dose of 0, 5, 13, 32, or 50 mg/L to for 92 and 84 weeks, respectively, the kidney weights and the frequency of histological changes in the renal tubules were found to increase with dose (Fingerle et al., 1982).

Wistar rats were given cadmium at 5 or 50 mg/L in drinking-water for up to 2 years. The concentration of metallothionein in urine, measured by radioimmuno-assay, corresponded to the

上記に述べましたように、カドミウムの腸内吸収と潜在的な毒性は、代謝的に関係する金属イオンにより影響を受けます (WHO, 1992)。低濃度のカルシウムやタンパク質の食物は、カドミウムの胃腸内吸収を増進し、鉄分不足の動物は、栄養的に適切な鉄分の動物よりカドミウムを多く吸収します。亜鉛、銅、セレンウムの摂取の増加により、カドミウムの腎臓毒性は、低下或いは根絶されます (Norberg, 1978)。亜鉛や銅による前治療の予防的効果は、肝臓や腎皮質での metallothionein の生産の増加の結果であると推測されました。 (Lie et al., 1994)。

WHO (1992) が要約した研究では、100-200 $\mu\text{g/g}$ の腎皮質中のカドミウム濃度は、ポピュレーションの 50%に対する限界濃度であることを示しています。試験管での人間の腎皮質中のカドミウムの測定では、腎皮質での 200 $\mu\text{g/g}$ の濃度で人々の約 50%が、300 $\mu\text{g/g}$ の濃度で人々の約 10%が、腎尿細管損傷を経験すると推測します。50 歳で 200 $\mu\text{g/g}$ の腎皮質濃度を得るのに必要な非喫煙者のカドミウムの毎日の摂取量を推測するために、one-compartment model (Friberg et al., 1974) が使用されました。

LOAEL は、200 $\mu\text{g/g}$ より低いですが、動物モデルの研究では、一般的に、腎皮質でのカドミウムの限界濃度に関する提案されているコンセプトを支持しています。10~200 mg/L のカドミウム濃度の飲料水を 8.5 ヶ月、与えたラットに於いて、腎細管での形態的变化は、Kawai et al. (1976) により報告されました。カドミウムの平均腎臓濃度は、腎臓の約 38 $\mu\text{g/g}$ wet weight でした。これは、腎皮質での 50 $\mu\text{g/g}$ に相当します。Aughey et al. (1984) は、飲料水の 50 mg/L 濃度のカドミウムを 6 ヶ月間、ラットに投与し、50 $\mu\text{g/g}$ の腎皮質濃度で腎毒性の組織学的証拠を発見しました。Bernard et al. (1981) は、一回、200 $\mu\text{g/L}$ の量の飲料水に含むカドミウムを 11 ヶ月間、ラットに与えてタンパク尿を製造しました。8~9 ヶ月後に、増加したタンパク尿の 25%の患者数となりました。これは、約 200 $\mu\text{g/g}$ の腎皮質濃度に相当します。しかしながら、腎皮質カドミウム濃度が 40 $\mu\text{g/g}$ と低い動物でも、腎細管損傷の証拠が見られました。このことは、腎皮質のカドミウムの限界濃度は、ポピュレーションの約 10%に対して 50 $\mu\text{g/g}$ であることを示しています。

したがって、カドミウムは、カドミウムの低濃度に汚染された人間での影響と類似した人間以外の哺乳類に於ける腎尿細管機能障害を発生させます。低濃度により動物に誘発された腎尿細管機能障害は、長時間の汚染で間質性腎症に発展します。カルシウム過剰尿は、同様に感度のよいバイオマーカーかも知れませんが、尿中の低相対分子量のタンパクの存在は、腎尿細管機能障害の感度のよいバイオマーカーです。腎症の誘発に対するカドミウムの限界濃度は、腎皮質の 50~200 $\mu\text{g/g}$ です。

実験モデルでの腎尿細管機能障害に対する用量反応関係について、限られた情報の入手が可能でした。次の選択された研究では、カドミウムの口投与後の用量反応関係を取扱いました。

10 匹のオスの Flemish giant と 10 匹のオスの New Zealand rabbit に、食物当り、160 mg/kg の塩化カドミウムを含んでいる市販の実験食物を 200 日間、与えました。その結果、一日当りの平均カドミウムの摂取量は、15 mg/kg bw となりました。腎臓の重量、糸球体硬化、細管細胞の変質と間質の線維化が増加しました (Stowe, et al., 1972)。

飲料水に 0、5、13、32、50mg/L の量のカドミウムを与えたオスとメスのラットに於いて、腎臓の重量、尿細管の組織学的変化の周期は、用量と伴に増加することが見られました (Fingerle et al., 1982)。

Wistar rat に、飲料水中の 5 mg/L 或いは 50 mg/L のカドミウムを 2 年間、投与しました。ラジオ

concentration of cadmium in the drinking-water and increased linearly over time. The authors therefore concluded that the urinary metallothionein concentration is a sensitive indicator of oral intake of cadmium. The maximum concentration of cadmium in the renal cortex was 90 mg/kg. No morphological or functional changes were observed in the kidneys (Shaikh et al., 1989).

Female Sprague-Dawley rats were given cadmium in the drinking-water for up to 18 months. From the second month, the animals showed increased albuminuria, which preceded the onset of tubular proteinuria (*beta*₂-microglobulin) by about 6 months. The results suggest that cadmium enhances glomerular filtration by impairing glomerular anion depletion, mainly by loss of sialic acid (Bernard et al., 1992a).

Renal tubular dysfunction was detected in rhesus monkeys exposed to cadmium at 1.2 mg/kg bw per day for 9 years, but not in monkeys exposed to 0.4 mg/kg bw per day (Masaoka et al., 1994).

In a study in which rats received a diet containing cadmium chloride at a concentration of 0, 8, 200, or 600 mg/kg of diet for 2, 4, and 8 months from 5 weeks of age, the rats receiving 600 mg/kg of diet were found to have anaemia, reduction of the femoral bone, periportal liver-cell necrosis, and renal tubular-cell necrosis at 4 months. Rats receiving 200 mg/kg of diet had toxic renal lesions after 2 months, when the renal concentration of cadmium was 104–244 µg/g. No renal lesions were found after 2 months in rats receiving 200 mg/kg of diet for 8 months, when the renal concentration was 91–183 µg/g. The authors suggested that a concentration of cadmium of 40 mg/kg of diet was the NOEL. Also in this study, the hepatic concentration of cadmium increased linearly throughout treatment, whereas the renal concentration in rats at 600 mg/kg of diet plateaued at about 250 µg/g within the first 2 months (Ando et al., 1998; Mitsumori et al., 1998). The authors suggested that the difference in the pattern of distribution of cadmium in the liver and kidneys was due to a difference in the form of absorbed cadmium, i.e. free ion or cadmium–metallothionein complex (Hiratsuba et al., 1999). An alternative explanation is that the lower concentrations in the kidneys at higher doses of cadmium reflect hypercadmiumuria due to renal tubular toxicity.

NOEL and LOEL values from selected studies of animals given cadmium orally are shown in Table 3. Stowe et al. (1972) and Bernard et al. (1992a), studying rabbits and rats, respectively, and using different end-points and sexes, determined the LOEL to be 13–15 mg/kg bw per day. The LOEL for tubular dysfunction in rhesus monkeys was lower, 4.0 mg/kg bw per day (Masaoka et al., 1994), but greater than the concentration reported by Shaikh et al. (1989) for renal tubular dysfunction, 2.6 mg/kg bw per day. An increased concentration of metallothionein in urine may be interpreted as a biomarker of exposure to cadmium and is not a pathological effect. Cloudy swelling of the renal tubular epithelium (Fingerle et al., 1982) is a mild change and its diagnosis is somewhat subjective. These studies suggest an LOEL of 13–15 mg/kg bw per day and a NOEL of 0.8 mg/kg bw per day. Direct extrapolation to humans would require a number of assumptions that are difficult to support, but it is interesting that this NOEL is well above the value for the provisional tolerable weekly intake of 400–500 µg, i.e. 0.007 mg/kg bw per week or 0.001 mg/kg bw per day.

Table 3. NOEL and LOEL values for the renal effects of cadmium chloride in drinking-water

Species, sex	Effect	NOEL	LOEL	Reference
Rabbits, male	Tubular necrosis Interstitial necrosis at 200 days	ND	15	Stowe et al. (1972)
Sprague-Dawley rats	Cloudy swelling of tubular epithelium at 92 weeks (males), 84 weeks (females)	0.8	1.5	Fingerle et al. (1982)
Wistar rats, male	Increased urinary	2.6	ND	Shaikh et al. (1989)

イムノアッセイで測定した尿中の metallothionein の濃度は、飲料水中のカドミウム濃度と一致し、時間と共にリニアに増加しました。従って、著者は、尿中の metallothionein 濃度はカドミウムの経口摂取量の感度のよい指標となると結論付けました。腎皮質中のカドミウムの最大濃度は、90 mg/kg でした。腎臓に於ける形態的或いは機能的変化は観測されませんでした (Shaikh, et al., 1989)。

メスの Sprague-Dawley rat に 18 ヶ月間、飲料水中にカドミウムを投与しました。2 ヶ月目から、動物はタンパク尿の増加を示し、6 ヶ月まで、tubular proteinuria (beta2-microglobulin) の発生が続きました。この結果は、カドミウムは glomerular anion の減少、主として、シアリン酸の損失により糸球体ろ過を増進したことを示します (Bernard et al., 1992a)。

腎尿細管機能障害は、9 年間、1.2 mg/kg bw のカドミウムで汚染された赤毛猿では見られましたが、日に 0.4 mg/kg bw のカドミウムで汚染された猿では見られませんでした (Masaoka et al., 1994)。

生後 5 週間から 2、4、8 ヶ月間、0.8、200 或いは 600 mg/kg 濃度の塩化カドミウムを含む食物を与えたラットでの研究では、食物当り 600 mg/kg を与えられたラットでは、4 ヶ月目に、貧血、femoral bone の萎縮、periportal liver-cell 壊死、renal tubular 壊死の発生が見られました。200 mg/kg の食物を与えられたラットでは、腎臓のカドミウムの濃度が 104~244 $\mu\text{g/g}$ になると、2 ヶ月後に毒性の腎臓壊死になりました。8 ヶ月間、200 mg/kg の食物を与えられたラットでは、腎臓の濃度が 91~183 $\mu\text{g/g}$ の時に、2 ヶ月後、腎臓の壊死は見られませんでした。著者は、40 mg/kg の食物のカドミウム濃度が NOEL であったと推測しています。又、この研究では、カドミウムの肝臓での濃度は、処置中、リニアに増加しましたが、一方、600 mg/kg の食物を与えたラットの腎臓での濃度は、最初の 2 ヶ月以内は約 250 $\mu\text{g/g}$ で頭打ちになりました (Ando et al., 1998; Mitsumori et al., 1998)。肝臓や腎臓でのカドミウムの吸収パターンの相違は吸収されたカドミウムの型の相違によると著者は推測しました。即ち、フリー鉄或いはカドミウム-metallothionein 複合体です (Hiratsuka et al., 1999)。他の説明によると、カドミウムの多量の投与で腎臓での低濃度が、腎細管毒性により hypercadmiumuria に反映します。

カドミウムを口投与した動物の選別した研究による NOEL と LOEL 値は、表 3 Stowe et al. (1972) と (Bernard et al. (1992a) に示されています。これらは、各々、ウサギとラットを研究し、異なる評価項目と性別を使用し、LOEL を一日当り、13~15 mg/kg bw と決定しました (Masaoka et al., 1994) が、腎尿細管機能障害に対する Shaikh et al. (1989) により報告されたより高い濃度は、一日当り、2.6 mg/kg bw でした。尿中の metallothionein 濃度の増加は、カドミウムに対する汚染のバイオマーカーと解釈され、病理学的影響ではありません。腎細管上皮 (Fingerlet et al., 1982) の混濁腫脹は、穏やかな変化であり、その診断は、少し主観的です。これらの研究では、一日当りの LOEL は、13~15 mg/kg bw であり、一日当りの NOEL は、0.8 mg/kg bw であることを示しています。人間に対する直接外挿法では、支持することが困難な多数の推測が必要となりますが、この NOEL は、暫定的な許容週間摂取量の 400~500 μg 、即ち、週間当りの 0.007 mg/kg bw、或いは一日当りの 0.001 mg/kg bw を遥かに超えています。

表 3 飲料水中の塩化カドミウムの腎臓に対する影響の NOEL 値と LOEL 値
左表参照

	metallothionein; no tubular dysfunction			
Sprague-Dawley rats, female	Albuminuria	ND	13	Bernard et al. (1992a)
Rhesus monkeys, male	Tubular dysfunction	0.4	4.0	Masaoka et al. (1994)

ND, not determined

(b) Effects on bone and calcium metabolism

One of the major health effects of excess cadmium in food is a severe bone disease known as itai-itai disease. The populations known to have been affected were exposed to excess cadmium in rice. The disease has characteristics of osteoporosis and osteomalacia and is associated with severe cadmium nephropathy. Women in affected populations may be severely debilitated. Populations with low dietary exposure to cadmium and minimal renal tubular proteinuria have been shown to have hypercalciuria. A potential continuum between the hypercalciuria and itai-itai disease and other more common disorders of the bone such as osteoporosis in the general population is conceptually possible but not established clinically (Goyer et al., 1994).

There is debate about whether the skeletal effects of cadmium are due only to its toxicity or to its toxicity in conjunction with renal disease and nutritional deficiencies, particularly of calcium (Nogawa et Nishijo, 1999). Oral administration of cadmium to rats on a low-protein, low-calcium diet resulted in a negative calcium balance and reduced calcium and zinc contents in bone.

Cadmium in bone may interfere with calcification, decalcification, and bone remodelling. Administration of cadmium to beagle dogs at 25 mg/L in drinking-water for 6 months reduced the bone turnover rate, consistent with calcium deficiency or osteomalacia (Anderson & Danylchuk, 1979). A study *in vitro* suggested that cadmium may have a direct effect on bone and calcium metabolism (Wang & Bhattacharyya, 1993).

A proposed mechanism for the decreased calcium absorption and negative calcium balance seen in rats exposed to cadmium is that this metal inhibits activation of vitamin D in the renal cortex (Feldman & Cousins, 1974). Cadmium inhibits vitamin D-stimulated intestinal calcium transport in rats (Ando et al., 1981; Pleasants, 1993). Renal conversion of 25-hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol in rats is inhibited by a high dietary concentration of cadmium when the dietary concentration of calcium is low, but the effect was not seen in rats given a low-calcium diet (Lorentzon & Larsson, 1977). Nevertheless, there is considerable evidence that a low dietary calcium concentration enhances the effects of cadmium on bone. In a series of studies in Japan, described in detail in WHO (1992), on the effects of dietary cadmium in monkeys, a dose of 30 mg/kg bw was found to worsen osteomalacic changes in the bones of animals fed diets with low concentrations of protein, calcium, and vitamin D.

The effects of cadmium at a dose of 0, 0.25, 5, or 50 mg/kg of diet were studied in female mice bred for six consecutive 42-day cycles of pregnancy and lactation and in non-pregnant controls. The multiparous mice exposed to the highest dose showed significant losses in body weight (3–11%), femur calcium content (15–27%), and the femur calcium to dry weight ratio (5–7%). The authors concluded that the combination of cadmium, calcium loss, and multiparity has a synergistic effect on bone metabolism (Bhattacharyya et al., 1988). Multiparity and ovariectomy further increased the cadmium-related reductions in bone calcium and density, and the effect was further enhanced by dietary calcium deficiency (Whelton et al., 1997).

(b)骨とカルシウム代謝に関する影響

食品中の過剰なカドミウムの主要な健康への影響の一つは、イタイイタイ病のような重度の骨の疾患です。影響を受けたと確認されている住民は、米の中の過剰なカドミウムに汚染されました。疾患は、骨粗しょう症、骨軟化症の特徴があり、重度のカドミウム腎症と関係があります。影響を受けた住民の中の婦人は、非常に衰弱してします。食物中のカドミウムで少し汚染され、少しの腎尿細管 proteinular のある住民は、高カルシウム症のあることを示しました。高カルシウム症やイタイイタイ病と普通の住民に於ける骨粗しょう症などの一般的な骨の不調との間の潜在的な徐々の変化は概念的には可能ですが、臨床的には確立されていません (Goyer et al., 1994)。

カドミウムの骨格への影響は、毒性よるか或いは腎疾病と栄養不良に関連する毒性、特にカルシウムによるのかの議論があります (Nogawa et Nishijo, 1999)。低タンパク質で低カルシウムの食物に関してラットにカドミウムを口投与すると、マイナスのカルシウムのバランスとなり、骨の中のカルシウムと亜鉛量を削減しました。

骨の中のカドミウムは、石灰化、脱石灰化と骨の再形成と妨害します。6ヶ月間、飲料水中に 25 mg/L のカドミウムをビーグル犬に投与すると、カルシウム不足或いは骨軟化症と伴に骨の回転率を低下させました (Andeson & Danylchuk, 1979)。試験管での研究では、カドミウムは、直接、骨とカルシウム代謝に影響をすることを示していました (Wang & Bhattacharyya, 1993)。

カドミウムに汚染されたラットに見られるカルシウムの吸収の低下とマイナスのカルシウムのバランスに対する予想されるメカニズムは、この金属が腎皮質中のビタミンDの活動を抑制することです (Feldman & Cousins, 1974)。カドミウムはラットに於いて、ビタミンDを刺激して腸内カルシウムの移動を抑制します (Ando et al., 1981; Pleasants, 1993)。食物のカルシウム濃度が低いと、ラットに於いて、25-hydroxycholecalciferol を 1,25-dihydroxycholecalciferol に腎臓での変換は、食物中のカドミウムの当濃度により抑制されますが、低カドミウムの食物を与えられているラットでは、影響は見られません (Lorentzon & Larsson, 1977)。それにもかかわらず、食物中の低カルシウム濃度は、骨のカドミウムの影響を増進するとの相当な証拠があります。猿に於ける食物中のカドミウムに関して WHO (1992) で詳細に記述されていますが、日本に於ける一連の研究では、30 mg/kg bw の投与量は、タンパク、カルシウム、ビタミンDの低濃度の食物を与えた動物の骨に於いて、骨軟化の変化を悪化させることが見られました。

妊娠と授乳の連続 42 日の 6 サイクルで飼育したメスのマウスと妊娠をしないようにコントロールしたマウスについて、食物中のカドミウムの 0、0.25、5、50 mg/kg の投与量の影響について研究しました。最も高い投与量に汚染された一度に多数の子供を産むマウスは、体重 (3~11%)、大腿骨の含有量 (15~27%)、乾燥重量比 (5~7%) に於いて堅調な損失を示しました。著者は、カドミウム、カルシウムの損失、multiparity の組み合わせが骨の代謝に相乗効果を与えると結論付けました (Bhattacharyya et al., 1988)。Multiparity と ovariectomy は、更に骨の中のカルシウムと密度に於けるカドミウムに関連した還元を増加し、影響は更に食物中のカルシウム不足を増進しました (Whelton et al., 1997)。

Several studies on the effects of oral administration of cadmium on bone and calcium metabolism showed a decreased calcium content in bone and increased urinary excretion of cadmium. Administration of cadmium at 10 mg/L of drinking-water for 9 months to rats fed a normal diet resulted in decalcification and cortical atrophy in the skeleton, associated with renal cortical concentrations in the order of 50 mg/kg (Kawai et al., 1976).

Rats given cadmium in the drinking-water at 50 mg/L for about 9 months showed reduced calcium and phosphorus absorption from the intestine (Sugawara & Sugawara, 1974).

Cadmium chloride administered in drinking-water to rats at a dose of 1 or 4 mg/kg bw daily for 6 months caused changes in calcium metabolism and bone structure characteristic of osteomalacia (WHO, 1992). In contrast, no significant change in bone calcification was reported after a 24-week exposure to cadmium at 8 mg/kg bw in drinking-water (Kotsonis & Klaassen, 1978), and no significant change in the amount of stable or radiolabelled calcium was found in the tissues of rats given cadmium at 3.8 mg/kg bw per day in drinking-water for 22 days of gestation (Kelman et al., 1978).

(c) Carcinogenicity

Studies in experimental animals treated by injection or inhalation have provided considerable evidence that cadmium is carcinogenic. In rats, cadmium produces a variety of tumours, including malignant tumours at the site of injection and in the lungs after inhalation. Cadmium chloride, oxide, sulfate, and sulfide produced local sarcomas in rats after subcutaneous injection, and cadmium powder and cadmium sulfide produced local sarcomas in rats after intramuscular administration (Environmental Protection Agency, 1984). Cadmium chloride caused a dose-dependent increase in the incidence of lung carcinomas in rats exposed by inhalation and a low incidence (5/100) of prostatic carcinomas after injection into the ventral prostate (Takenaka et al., 1983). Exposure to cadmium chloride by inhalation produced a dose-dependent increase in the incidence of lung carcinomas in rats (Takenaka et al., 1983; Oldiges, 1989).

Tumours can be induced in the ventral lobe of the prostate of rats by oral or parenteral administration and by direct injection. The frequency of proliferative lesions in the prostate was increased in rats fed diets deficient in zinc as compared with that in rats fed diets with adequate zinc; the incidence was lower in rats fed zinc-deficient diets, but with no dose-response relationship. The incidence of benign testicular interstitial tumours was also increased at high doses. The authors concluded that cadmium given orally caused tumours of the prostate, testis, and haematopoietic system in rats and that this effect was inhibited by dietary deficiency of zinc (Waalkes & Rehm, 1994). As the lobular structure of the prostate is absent in humans and the ventral prostate in rats is considered to have no human analogue, tumours of the dorsolateral lobe are more closely comparable to the human disease. Nevertheless, subcutaneous injection of cadmium to a particularly sensitive strain of rat (Noble/Cr) produced proliferative lesions of the dorsolateral prostate, tumours of the testis and pituitary adenomas, and sarcomas at the injection site (Waalkes et al., 1999).

Cadmium has therefore been shown to be carcinogenic in animals after administration orally, by inhalation, or by injection. A dose-dependent increase in the incidence of lung tumours was found in mice and rats after inhalation of cadmium chloride. Oral intake is associated with proliferative lesions of the ventral lobe of the prostate in rats fed diets adequate in zinc, whereas dietary deficiency of zinc appears to inhibit the tumorigenic effect of cadmium. The relevance of these studies to prostate carcinogenesis in humans is questionable because of anatomical differences between the human and rodent prostate.

2.2.3 Neurodevelopmental and neurobehavioural effects

(a) Access of cadmium to the brain

骨やカルシウム代謝に関するカドミウムの経口投与した影響についての種々の研究では、骨の中のカルシウムの減少とカドミウムの尿への排泄の増加を示しました。通常、食物を与えたラットに対して、9ヶ月間、飲料水に10 mg/Lのカドミウムを投与すると骨格に於ける脱化石化と皮層萎縮になり、50 mg/kgのオーダーで腎皮層濃度と関係がありました (Kawai et al., 1976)。

約9ヶ月間、飲料水に50 mg/Lのカドミウムを投与したラットは、腸からのカルシウムとリンの吸収の低下を示しました (Sugawara & Sugawara, 1974)。

6ヶ月間毎日、ラットに飲料水に1 或いは4 mg/kg bwの塩化カドミウムを投与すると、カルシウム代謝や骨軟化症の骨の構造的な特徴の変化を起こさせました (WHO, 1992)。対照的に、24週間、飲料水中の8 mg/kg bwのカドミウムに汚染された後には、骨の化石化の顕著な変化は無かったと報告されていました (Kotsonis & Klaasen, 1978)。又、妊娠期間の22日間、飲料水中に3.8 mg/kg bwのカドミウムを与えたラットの組織では、安定したカルシウム或いは radiolabelled カルシウム量での顕著な変化は見られなかった (Kelman et al., 1978)。

(c)発癌性

注入或いは吸引による実験動物での研究は、カドミウムは発癌性があるとの相当な証拠を提供してきました。ラットに於いては、カドミウムは、注入した箇所や吸入後の肺に悪性腫瘍を含む種々の腫瘍を発生させます。塩化カドミウム、酸化物、硫酸塩、硫化物は、皮下注射後のラットに部分的な肉腫を発生させ、カドミウムパウダー、硫化カドミウムは、筋肉注射後のラットに部分的な肉腫を発生させました (Environmental Protection Agency, 1984)。塩化カドミウムは、吸引後のラットの肺がんの発生に於ける用量依存的増加と腹部前立腺への注射の後の前立腺癌の低発生の原因になりました (Takenaka et al., 1983)。吸引による塩化カドミウムの投与は、ラットの肺がんの発生に於いて用量依存的増加となりました (Takenaka et al., 1983; Oldiges, 1989)。

腫瘍は、経口投与或いは非経口投与により、ラットの前立腺の腹葉に誘発されます。適切な亜鉛を含む食物を与えられたラットと比較すると、前立腺に於ける増殖性損傷の周期は、亜鉛が不足している食物を与えられたラットでは増加しました。亜鉛が不足している食物を与えられたラットでは、発生は低かったが、しかし、用量反応関係はありませんでした。良性の精巣間質腫瘍も、高用量では増加しました。経口的に与えたカドミウムは、ラットの前立腺、睾丸、haematopoietic システムの腫瘍の原因となり、この影響は、食物中の亜鉛の不足により抑えられたと著者は結論付けました (Waalkes & Rehm, 1994)。前立腺の lobular 構造は人間には存在せず、ラットの ventral prostate は人間と同じではないと考えられていますので、dorsolateral lobe の腫瘍は、人間の疾病とより綿密に比較出来ます。それにもかかわらず、特に、ラット (Nobel/Cr) の sensitive strain へのカドミウムの皮下注射は、dorsolateral prostate の増殖性損傷、睾丸や下垂体 adenoma の腫瘍、注射部の肉腫となりました (Waalkes et al., 1999)。

従って、カドミウムは、口経投与、吸引、注射により動物に於ける発ガン性であることを示しました。肺腫瘍の発生に於ける用量依存的な増加は、マウスやラットに於いて塩化カドミウムの吸引後に見られました。経口摂取は、適切な亜鉛を含む食物を与えたラットの前立腺の ventral lobe の増殖性損傷と関係がありますが、一方、亜鉛の不足は、カドミウムの発癌性の影響を抑制します。人間と齧歯動物の前立腺の解剖学的相違のために、人間の前立腺発癌に対するこれらの研究との関連は疑問です。

2.2.3 神経発達及び神経行動学上の影響

(a)脳へのカドミウムのアクセス

The blood–brain barrier and circumventricular epithelial cells with tight junctions limit the entrance of cadmium into the central nervous system. In addition, the choroid plexus epithelium accumulates highly toxic metals from the blood or cerebrospinal fluid (Murphy, 1997). Injected cadmium cannot easily enter the brain as it is blocked not only by the blood–brain barrier and blood cerebrospinal surfaces but also by the ependymal and pial surfaces (Takeda et al., 1999). Studies with radiotracers have shown the greatest concentration of cadmium in circumventricular areas, including the choroid plexus, hypophysis, meninges, pineal gland, and olfactory bulb in rats (Arivison, 1987). In a study of 7–14-day-old mice, the tracer moved from the blood vessels to the brain parenchyma and particularly the granular layer of the cerebellum (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999). In other studies, no radiolabel was found in brain parenchyma or spinal cord, but some was found in sensory ganglia and spinal roots. Therefore, the peripheral nervous system may be particularly sensitive to cadmium (Murphy, 1997).

Metallothionein in glial cells and ependymal cells near circumventricular organs also minimizes the diffusion of cadmium into other parts of the brain. Use of immunohistochemical staining techniques showed different concentrations of metallothionein in rat and mouse brains, but as the concentration appeared to be higher in adult mouse brain than in young or adult rat brain it may be difficult to compare the results of studies in the two species (Nishimura et al., 1992). Cadmium accumulation and expression of mRNA of metallothionein-I, -II, and -III were observed in the brains of adult mice and also during different stages of development. There appeared to be an inverse relationship between expression of metallothionein and cadmium accumulation in the brain (Choudhuri et al., 1996). The effect of metallothionein on the neurotoxicity of cadmium is thus not clear.

(b) Effects

A variety of neurobehavioural and biochemical effects are produced on the nervous system of rodents given repeated doses of cadmium (Murphy, 1997). As cadmium and zinc are metabolically competitive, cadmium may replace zinc in a number of metalloenzymes, proteins, and ion channels. Exposure to cadmium generally increases the concentrations of noradrenaline and dopamine and impairs enzymes involved in the synthesis of neurotransmitters. Serotonin production may be altered, depending on age, brain region, and duration of exposure.

Behavioural effects that are not apparent clinically can be detected in the offspring of animals exposed to small repeated doses of cadmium during pregnancy (Murphy, 1997). The offspring of pregnant rats given 50 mg/L in drinking-water, corresponding to 4–5 mg/kg bw per day, throughout gestation had the same body weight as controls but lower brain weights after 7 and 14 days but not 21 days (Gupta & Chandra, 1991). Brain protein, DNA, and RNA contents were the similar in control and treated rats, although there was a twofold increase in the concentration of cadmium in the tissues. The activities of several enzymes were decreased at various times after birth: succinate dehydrogenase at 7 days, cyclic nucleotide phosphorylase at 14 days, and acetylcholine at 21 days.

When cadmium was given during gestation and lactation at 5–6 mg/kg bw in drinking-water, the brain zinc and DNA contents and DNA synthetase and thymidine kinase activities were reduced. The brains weighed less at 7, 14, and 21 days after birth (Gupta et al., 1993).

Cadmium chloride administered by gavage to female rats on 5 days a week for 5 weeks and then during mating and gestation at a dose of cadmium of 0.04, 0.4, or 4 mg/kg bw per day significantly reduced locomotor activity in offspring tested at 2 months of age (Baranski et al., 1983). Administration of 60 mg/L (corresponding to 5 mg/kg bw per day) in drinking-water during days 1–20 of gestation caused alterations in locomotor activity and behaviour in the open field in adult offspring of each sex. Adult female offspring showed decreased acquisition of avoidance behaviour. The copper content of the brains of 2-week old offspring of each sex and of 16-week-old females was decreased, but the concentration of zinc in brain was decreased only in 16-week-old animals (Baranski, 1986). These results suggest that changes in the concentrations of essential metals may

固く結合している血液脳関門と脳室周囲の上皮細胞は、中央神経系にカドミウムが入るのを制限します。更に、脈絡叢上皮は、血液或いは脳脊髄液からの非常に毒性のある金属を蓄積します (Murphy, 1997)。注入されたカドミウムは、血液脳関門や血液脳脊髄表面だけでなく、上衣表面や軟膜表面で阻止されるので、脳の中には簡単に入れません (Takeda et al., 1999)。放射性追跡子による研究では、ラットの脈絡叢、下垂体、髄膜、松果体、きゅう球を含んで、脳室周囲に於けるカドミウムの非常に高い濃度を示しました (Arivison, 1987)。生後、7~14日のマウスの研究では、トレーサーは、血管から脳実質や特に小脳の顆粒層に移動しました (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999)。他の研究では、radiolabel は、脳実質或いは脊髄では見られませんが、あるものは、知覚神経節や脊髄神経根に見られました。従って、周辺の神経系は、特にカドミウムに鋭敏かも知れません (Murphy, 1997)。

脳室周囲器官付近のグリア細胞や上衣細胞の metallothionein も、脳の他の部分にカドミウムが拡散するのを最小にします。免疫組織化学の染色技術を使用すると、ラットとマウスの脳での metallothionein の異なる濃度を示しました。しかし、濃度は、若い或いは成人のラットの脳より成人マウスの脳で高いようでしたので、この二種類の種での研究結果を比較するのは困難なようです (Nishimura et al., 1992)。カドミウムの蓄積と metallothionein-I、-II、-III の mRNA の発現は、成人のマウスと発達の異なる段階中にも観察されました。脳に於ける Metallothionein の発現とカドミウムの蓄積の間には反比例関係があるようでした (Choudhuri et al., 1996)。従って、カドミウムの神経毒性に於ける metallothionein の影響は明確ではありません。

(b) 影響

種々の神経行動学及び生化学的影響が、カドミウムを繰り返し与えられた齧歯動物の神経系で発生しています (Murphy, 1997)。カドミウムと亜鉛は、代謝的に競合しますので、カドミウムは、亜鉛を多数の金属酵素、タンパク、イオン・チャンネルに置き換えます。一般的にカドミウムを投与すると、ノルアドレサリンやドーパミンの濃度を増加させ、神経伝達物質の合成に関与する酵素を損傷させます。年齢、脳の部分、投与期間に依りますが、セロトニンの生産は変化します。明らかに臨床的でない行動的影響が、妊娠中に繰り返し少量のカドミウムに汚染された動物の子孫で見られました (Murphy, 1997)。妊娠中に毎日、4~5 mg/kg bw に相当する飲料水中に 50 mg/L を与えられた妊娠したラットの子孫は、コントロールラットと同じ体重でしたが、7日と14日後の脳の重量は軽かったが、21日後ではそうでなかった (Gupta & Chandra, 1991)。組織中のカドミウムは二倍に増加しましたが、コントロールラットと処理したラットでは、脳のタンパク、DNA、RNA の含有量は同じでした。数種の酵素の活動は、生後の異なる時期に低下しました。即ち、7日後の succinate dehydrogenase、14日後の cyclic nucleotide phosphorylase、21日後の acetylcholine です。

妊娠と授乳中に、飲料水に 5~6 mg/kg のカドミウムを与えると、脳の亜鉛と DNA の含有量、合成酵素とチミジンキナーゼの活動が低下しました。脳の重さは、生後、7、14、21 日で、軽かった (Gupta et al., 1993)。

5週間、週に5間とその後の交尾と妊娠中に、毎日、0.04、0.4 或いは 4 mg/kg bw のカドミウムをメスのラットにチューブにより投与した塩化カドミウムは、生後2ヶ月で検査した子孫の自発運動を低下させました (Baranki et al., 1983)。妊娠期の1~20日間、飲料水に 60 mg/L (毎日、5 mg/kg bw に相当) を投与すると、各々の性に於ける自発行動と野外での活動に変化をきたしました。成人のメスの子孫は、回避行動の習得の低下を示しました。各々の性の2週間後の子孫とメスの16週間後の子孫の脳の中の銅の含有量は低下しましたが、脳の中の亜鉛の濃度は、16週間後の動物に於いてのみ、低下しました (Baranski, 1986)。これらの結果は、必須金属の濃度の変化は、発達

also play a role in the apparent effects of cadmium during development.

The offspring of rats given cadmium at a dose of 0.20, 0.62, or 2.0 mg/kg bw per day on days 7 and 15 of gestation showed decreased horizontal motor activity, increased immobility after treatment with amphetamine during a 5-min stress swim (at all doses), increased social interactions (at 0.62 and 2.0 mg/kg bw per day), and extended latency of reacquisition (at 0.62 and 2.0 mg/kg bw per day). The weights of these animals at birth and weaning were not different from those of controls, and the dams showed no toxic effects (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Administration of cadmium orally to weanling rats for 30 days caused increased secretion of dopamine, noradrenaline, and serotonin in certain regions of the brain at 1.0 mg/kg bw per day but not at 0.1 mg/kg bw per day; however, locomotor activity was increased in both groups (Babitch, 1988). Neonatal animals given repeated doses of cadmium showed decreased exploration in open fields and inner squares and improved performance in T-mazes.

In male rats given cadmium chloride at 10 mg/L of drinking-water, corresponding to a dose of cadmium of 2 mg/kg bw per day, *ad libitum* for 90 days, the concentration of cadmium in the brain was increased by 76% after 30 days and by 165% after 90 days. The permeability of the blood-brain barrier to fluorescein dye and the concentration of malondialdehyde in brain microvessels were increased at the end of exposure, whereas the activity of superoxide dismutase was decreased. The authors concluded that cadmium-induced dysfunction of the blood-brain barrier may be related to depletion of microvessel antioxidants and increased lipid peroxidation (Shukla et al., 1996).

Cadmium is thus a potential neurotoxin, but some level of protection is provided by metallothionein in the brain. The presence of metallothionein in the placenta protects the fetus when exposure is low. No consistent dose-response relationships were seen in these studies because of differences in species and design.

2.2.4 Developmental toxicity

High doses of cadmium compounds administered to rodents induced severe placental damage and fetal death when given at a late stage of pregnancy. The teratogenic effects induced when cadmium was given in the early stages of pregnancy included exencephaly, hydrocephaly, cleft lip and palate, microphthalmia, micrognathia, club foot, and dysplastic tail. No teratogenic effects were reported after oral intake of low doses (WHO, 1992).

2.3 Observations in humans

Much of the information that has become available since publication of Environmental Health Criteria 134 (WHO, 1992) on the effects of long-term exposure to low doses of cadmium on human health is from a cross-sectional, population-based epidemiological study conducted between 1985 and 1989 in Belgium, known as the Cadmibel, or Cadmium in Belgium, Study (Lauwerys et al., 1990). As this study provides data on a variety of health end-points, it is described in detail. The health effects of cadmium, by organ system, are then described on the basis of the findings of the Cadmibel Study and those of other, recent studies.

2.3.1 Cadmibel Study

(a) Design

The goals of the Cadmibel Study were twofold: (i) to assess the acceptable internal dose of cadmium for the general population from concentrations in blood and urine and (ii) to establish whether environmental exposure induces renal changes or affects blood pressure.

中に明らかなカドミウムの影響に於いて役割を果たすことを示唆しています。

妊娠後の7日間と15日間、毎日、0.20、0.62 或いは 2.0 mg/kg bw のカドミウムを投与したラットの子孫は、平行運動活動の低下、5 分間の強制水泳中にアンフェタミンで処理した後の無動の増加（すべての投与量で）を示し、再度習得するまでの期間が延びました（毎日、0.62 と 2.0 mg/kg bw で）。誕生時と離乳時のこれらの動物の体重は、コントロール動物と比較して相違はありませんでしたが、母親は、毒性の影響を示しませんでした（Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999）。

離乳したラットに30日間、カドミウムを経口投与すると、一日、1.0 mg/kg bw で脳のある部分で、ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンの分泌が増加しましたが、毎日、0.1 mg/kg bw では増加しませんでした。しかしながら、両方のグループとも、自発運動は増加しました（Babitch, 1988）。カドミウムを繰り返し与えられた新生児動物は、野外や屋内広場では、探検が低下し、T-mazes での遂行を改善しました

毎日、カドミウムの 2 mg/kg bw に相当する飲料水中の 10 mg/L の塩化カドミウムと 90 日間、無制限に与えられたオスのラットでは、脳の中のカドミウム濃度は、30 日後に 76%まで、90 日後に 165%まで増加しました。フルオレセセン色素に対する血液脳関門の浸透性と脳微細血管での malondialdehyde の濃度は低下しました。一方、スーパーオキシド・ジスムーゼは低下しました。著者は、血液脳関門のカドミウムにより誘発された機能障害は、微細血管中の酸化防腐剤の枯渇と脂質過酸化反応の増加と関係があると結論付けました。

従って、カドミウムは、潜在的に神経毒素ですが、脳での代謝により、あるレベルの防止は出来ます。汚染が低いと、胎盤中の metallothione の存在により、胎児を保護します。種や構造の相違のために、一貫した関係用量反応関係はこれらの研究では見られませんでした。

2.2.4 発達毒性

妊娠の最終段階に、多量のカドミウム化合物を齧歯動物に投与すると、重度の胎盤損傷や胎児死亡を誘発しました。妊娠の初期の段階にカドミウムが投与されると、脳脱出、水頭、口唇裂や口蓋、小眼球症、小顎症、内反足、異形の爪を含む催奇効果を誘発しました。低用量の経口摂取後では、催奇効果は見られませんでした（WHO, 1992）

2.3 人間に於ける観察

人間の健康に関する長期に亘る低用量のカドミウムの投与の影響についての環境健康基準 134（WHO, 1992）の発行以来、入手が可能になった情報の多くは、Cadmibel 或いはベルギーでのカドミウム、研究（Lauwerys, et al., 1990）として知られているように、ベルギーで1985年と1989年に行われた横断的で、人口に基づく疫学的研究からのものです。この研究は、種々の健康の評価項目に関するデータを提供していますので、詳細に説明されています。臓器系によるカドミウムの健康への影響が、その後、Cadmibel Study と他の最近の研究の結果に基づいて記載されています。

2.3.1 Cadmibel Study

(a) 計画

Cadmibel Study の目標には、二つの要素があります：(i)血液や尿中の濃度から一般住民に対するカドミウムの許容内服量を評価すること(ii)環境的汚染が腎臓の変化を誘発するか或いは血圧に影響するかを確立すること。

研究には、4つの地域の住民が選ばれました。これらは、過去の工業活動のためにカドミウムに

Residents of four areas of Belgium were selected for study. These comprised two areas in which exposure to cadmium was known to be high owing to past industrial activities: Liege (an urban area and the site of a cadmium-producing plant that was closed in 1981) and N-Kempen (a rural area near two non-ferrous smelters), and two less polluted or control areas matched with regard to urbanization and socioeconomic status: Charleroi (an urban area with iron foundries in operation) and Hechtel-Eksel (a rural area).

A target sample size of at least 300 persons in each of the four areas was selected in order to provide sufficient statistical power ($\alpha = 0.05$, $\beta = 0.1$) to detect a 10% difference in protein excretion, a 5% difference in creatinine clearance, a difference of 5 mm Hg in systolic blood pressure, and a difference of 3 mm Hg in diastolic blood pressure. The study subjects within each area were chosen to include equal numbers of men and women and equal numbers of individuals in the age groups 20–39, 40–59, and 60–79 years. Persons who were occupationally exposed to heavy metals (cadmium, zinc, lead, mercury) were excluded.

The household was selected as the sampling unit. In each area, at least 200 households headed by a Belgian citizen were selected randomly. All family members 20–80 years of age were eligible for inclusion in the study if they had lived in the area for at least 8 years, as long as the number of individuals to be included in each sex and age group (50) had not been reached. Of 4532 persons who met the criteria for eligibility, 2327 were enrolled, comprising 78% in the rural districts and 39% in the urban districts.

The field staff consisted of 10 trained nurses and social workers. One team operated in the rural areas and the other in the urban areas. Data were collected during two home visits. At the first visit, five blood pressure readings were taken from the person in a sitting position, and pulse rate (over 1 min), height, and weight were recorded. A container was provided for collection of a 24-h urine sample, and a questionnaire covering medical history, occupational history, smoking, alcohol, diet, water, and drug intake was left to be completed. At the second home visit, the same staff member repeated the set of measurements and collected the urine sample and completed questionnaire. At one of the home visits (preferably the first), a spot urine sample was collected. Within a week of the urine collection, a physician collected a 20-mL venous blood sample.

A series of biomarkers were analysed in the samples. Blood was tested for cadmium, lead, zinc, protoporphyrin, and selenium. Serum was analysed for creatinine, alkaline phosphatase, *gamma*-glutamyltranspeptidase, total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, calcium, magnesium, zinc, ferritin, and *beta*₂-microglobulin. The 24-h urine sample was tested for creatinine, cadmium, calcium, sodium, potassium, copper, total amino acids, total protein, *beta*₂-microglobulin, retinol-binding protein, albumin, and *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase, and the spot urine sample was tested for creatinine, cadmium, and *beta*₂-microglobulin. Reagent strip analyses were performed on both urine samples.

For the purposes of a follow-up study conducted in 1991–94, a random sample of 1419 members of the original study population was selected, of whom 1104 were enrolled.

(b) Evaluation

The Cadmibel Study has several noteworthy features that make it a valuable source of data on the health effects of exposure of populations to cadmium. First, in contrast to studies in which the exposure of individuals was classified only on the basis of the area of residence, data on exposure to cadmium were available for each individual from the measurements of biological markers in urine and blood. Second, early biological effects were selected as health indicators, rather than the clinical entities that are the late stages in the expression of pathological processes, the expression of which may be affected by many factors. The effects of such factors can be reduced by studying biological

非常に汚染された二つの地域：Liege（都市部で 1981 年に閉鎖したカドミウムを生産していた場所）と N-Kempen（二つの非鉄シュルターの近くの農村地域）、と二つの汚染されていない或いは都市化や社会経済状態に適合したコントロール地域：Charleroi（稼動中の鉄鑄造工場の都市部）と Hechel-Eksel（農村部）から構成されていました。

タンパクの排泄に於ける 10%の相違、クレアチニンクリアランスに於ける 5%の相違、最高血圧の 5mm Hg の相違、最低血圧の 3 mm Hg の相違を検出するための十分な統計的検出力 ($\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.1$) 提供するために、各 4 つの地域に於ける最低 300 名の目標サンプルが選ばれました。各地域の研究対象には、20～39 歳、40～59 歳、60～79 歳の年齢グループに於ける同数の男女と個人を含むように選ばれました。職業的に重金属（カドミウム、亜鉛、鉛、水銀）に汚染された人々は除外しました。

サンプリング単位として、世帯が選ばれました。各地域では、ベルギー市民による最低 200 世帯が、ランダムに選ばれました。各性別と年齢グループ（50）に含まれる個人数が到達しなかった場合に限り、その地域に最低 8 年間居住していれば、すべての家族の 20 歳～80 歳は有資格として研究に含めました。4542 人中、資格基準を満たした 2327 人が登録され、農村地域では 78%、都市部では 39%となりました。

現場スタッフは、訓練された看護婦とソーシャルワーカーで構成されました。1つのチームは農村地域で、他は都市部で作業しました。データは 2 回の家庭訪問中に収集しました。最初の訪問では、座った状態で 5 回の血圧を測定し、脈拍（1 分以上）、身長、体重が記録されました。24 時間の尿のサンプルを収集するための容器を提供し、医療暦、職業暦、喫煙、アルコール、食事、水、薬の服用を含む質問票を置きました。2 回目の訪問では、同じスタッフが一連の測定をし、尿のサンプルを回収し、質問票を完成しました。訪問時（最初が好ましい）に、その場で尿のサンプルを収集しました。尿の収集後、1 週間以内に、医者が 20 mL の静脈血を採取しました。サンプルに於いて、一連のバイオマーカーを分析しました。血液のカドミウム、鉛、亜鉛、プロトポルフィン、セレンウムをテストしました。血清のクレチアニン、アルカリ・ホスファターゼ、gamma-glutamyl transpeptidase、総コレステロール、高密度リポタンパク・コレステロール、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、フェリチン、beta2-microglobulin を分析しました。24 時間の尿サンプルのクレアチニン、カドミウム、カルシウム、ナトリウム、カリウム、銅、総アミノ酸、総タンパク、beta2-microglobulin、レチノール結合タンパク、カドミウム、N-acetyl-beta-glucosaminidase をテストし、スポットの尿サンプルのクレアチニン、カドミウム、beta2-microglobulin をテストしました。Reagent strip 分析を両方の尿サンプルについて行いました。

1991～94 年に行われたフォローアップ研究の目的のために、最初の研究の人口の 1419 名の中からランダムに選択し、1104 名が登録されました。

(b) 評価

Cadmibel Study には、カドミウムに汚染された人口の健康への影響に関する貴重なデータソースとなる数々の注目に値する特徴があります。第一に、各個人の汚染が居住地域のみに基づいて分類された研究と対照的に、尿や血液中の生物学的マーカーの測定から、各個人に対するカドミウムの汚染に関するデータが入手出来たことでした。第二に、多くにファクターで影響を受ける病理学的過程の発現の最終段階である臨床的単位としてよりは、初期の生物学的影響が健康指標として選択されました。汚染されている時間と緊密に発生し、汚染と影響との関連を予測するための強力な基盤を提供する生物学的影響を研究することにより、そのようなファクターの影響は削減出来ます。

effects that occur closer in time to exposure and thus provide a stronger basis for estimating the association between exposure and effect.

The use of early indicators also reduces the likelihood of selection bias due to migration out of the area by ill people who attribute their illness to local pollution. One important limitation of studying early biological effects is uncertainty about their significance. For instance, a decline in tubular reabsorptive capacity from 99.9% to 99.0% will result a 10-fold increase in the amount of *beta*₂-microglobulin excreted in the urine (Jarup et al., 1998a). Some other markers of tubular damage are equally or more sensitive than *beta*₂-microglobulin (e.g. retinol-binding protein, *alpha*₁-microglobulin, *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase, Clara cell protein).

Use of the household as the unit of sampling has several strengths. First, it reduces the cost and logistics of field visits by allowing the home visitor to collect data on several people at once. Second, the likelihood that an eligible individual will participate in the study may be increased if other family members have agreed to participate. Third, blood pressure readings may be more accurate when performed in the familiar setting of the home. Fourth, it allows familial aggregation of certain measures (e.g. blood pressure) and environmental factors related to exposure to cadmium (e.g. consumption of well water). This potential does not appear to have been fully exploited, however, and studying multiple family members introduces a possible problem in terms of lack of statistical independence of the observations.

Another noteworthy feature of the Cadmibel Study was the use of detailed protocols for training home visitors and for maintaining the quality of blood pressure measurements (Staessen et al., 1991) and the analysis of the biological samples (Claeys et al., 1992). In addition, detailed information was collected on potential confounding exposures, including other chemicals (e.g. lead, arsenic) and those related to life style (e.g. smoking, alcohol use).

The low rate of participation of eligible individuals in the two regions with low exposure (39%) is a potential weakness, particularly in light of the 78% participation rate of persons in the regions of high exposure. This would reduce the relevance of the findings if the participants in the control areas were not representative of the total population of eligible controls, and would have produced a selection bias if the likelihood of participation was systematically related to either exposure or disease status. There is little evidence that such a bias was present, however.

(c) Major findings with regard to exposure to cadmium

The main findings of the Cadmibel Study with regard to exposure are: (1) the body burden of cadmium increases with age, at least until 60 years; (2) higher alcohol consumption is associated with less excretion of cadmium in urine; (3) smokers have a higher burden of cadmium than do nonsmokers; (4) premenopausal women have a higher burden of cadmium than do similarly aged men (at least among nonsmokers); (5) urinary excretion of cadmium increases in women after the menopause; and (6) residence in areas where there is heavy environmental pollution with cadmium is associated with higher body burdens, including a 30% greater urinary excretion (Lauwerys et al., 1991; Sartor et al., 1992a,b).

2.3.2 Renal function

In 1699 persons in the Cadmibel Study, the urinary concentration of cadmium was significantly associated with five biomarkers of renal function: urinary excretion of retinol-binding protein, *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase activity, *beta*₂-microglobulin, amino acids, and calcium (Buchet et al., 1990). In multivariate models in which adjustments were made for blood lead, zinc protoporphyrin, age, sex, smoking habits, diuresis, presence of diabetes or urinary-tract disorders, consumption of analgesics, place of residence, and first-order interaction terms involving cadmium concentration in

初期の指標を使用することは、疾病が地域の汚染に起因する病気の人々の地域からの移住による選択の可能性も削減します。初期の生物学的影響の研究の重要な制約の一つは、影響の重要性について不確実なことです。例えば、99.9%から99.0%に尿細管の再受容能力が低下すると、尿中に排泄される beta2-microglobulin 量は10倍に増加します (Jarup et al., 1998a)。尿細管損傷の他のあるマーカーは、beta2-microglobulin と同程度か或いはそれ以上に敏感です (例えば、retinol-binding protein, alpha1-microglobulin, N-acetyl-beta-glucosaminidase, Clara cell protein)。

サンプリングの単位として世帯を使用することは、数々の長所があります。第一に、家庭への訪問者が一度に数人のデータを採取することを可能にするので、現地訪問の費用と業務を削減します。第二に、他の家族が参加することに同意すれば、研究に参加する資格のある個人の可能性が増加します。第三に、同じような家庭環境で行うと、血圧測定値は更に正確になります。第四に、ある測定 (例えば、血圧) とカドミウムの汚染 (例えば、井戸水の消費) に関連する環境的ファクターの家族集積性を可能にします。しかしながら、この潜在性は、十分に利用されてこなかったようで、複数の家族のメンバーを研究することは観測の統計学的依存の欠陥という点で問題を起こす可能性があります。

Cadmibel Study のもう一つの注目すべき特徴は、家庭訪問者を教育と血圧測定 (Staessen et al., 1991) の品質の維持に対する詳細なプロトコールと生物学的サンプル (Claeys et al., 1992) の分析を使用でした。更に、他の化学物質 (例えば、鉛、砒素) やライフスタイル (例えば、喫煙、アルコールの使用) に関連する汚染を含む問題となる潜在的な汚染に関する詳細なデータが収集されました。

特に高い汚染地域の人々の78%の人々の参加率を考えると、低い汚染 (39%) の二つの地域での有資格者の参加の低い割合は潜在的に弱い。このことは、コントロール地域での参加者が有資格者のコントロール地域の総人口を表していなかったならば、結果の妥当性が低くし、参加の可能性が汚染或いは病気の状態と系統的に関連があれば、選択の偏りとなったでしょう。しかしながら、そのような偏りが存在していた証拠は殆どありません。

(c) カドミウムの汚染に関する主要な結果

汚染に関する Cadmibel Study の主な結果は、(1)カドミウムの体内蓄積は、最低60才まで年令と共に増加する；(2)高いアルコール消費は、尿へのカドミウムの少ない排泄と関連がある；(3)喫煙者は、非喫煙者よりカドミウムの体内蓄積が高い；(4)更年期前の女性は、同年代の男性よりカドミウムの蓄積が高い (最低非喫煙者の間では)；(5)更年期後の女性では、カドミウムの尿への排泄は増加する；(6)カドミウムで非常に環境的に汚染された地域での住民は、30%多い尿への排泄を含んで、高い体内蓄積と関連がある (Lauwerys et al., 1991; Sartor et al., 1992a,b)。

2.3.2 腎臓の機能

Cadmibel Study の1699名では、カドミウムの尿での濃度は、腎臓機能の5つのバイオマーカーと非常に関連がありあました。即ち retinol-binding protein、N-acetyl-beta-glucosaminidase、beta2-microglobulin、アミノ酸、カルシウムの尿中への排泄 (Buchet et al., 1990)。血液中の鉛、亜鉛プロトポルフィン、年齢、性別、喫煙の習慣、利尿、糖尿或いは尿管疾患の存在、鎮静剤の消費、住居の場所と血液或いは尿中のカドミウム濃度を含む一次相互作用期間を調整した多変数量のモデルでは、beta2-microglobulin を除くすべての変数も24時間の尿サンプル中のカドミウム濃度と関連がありました。用量反応関係が認められました。カドミウムとカルシウムの尿への排泄の間に見られた明らかな関係では、カドミウムの汚染の増加は、カルシウムの尿への排泄と関連

blood or urine, all of the variables except *beta*₂-microglobulin were also associated with the concentration of cadmium in the 24-h urine sample. Dose-response relationships were found. A positive association seen between urinary excretion of cadmium and calcium suggests that increased exposure to cadmium may be associated with increased renal wasting of calcium. For two biomarkers, *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase and *beta*₂-microglobulin, the interaction between a diagnosis of diabetes and urinary excretion of cadmium in the 24-h sample was statistically significant, suggesting that individuals with diabetes may be particularly vulnerable to the adverse renal effects of cadmium. The blood cadmium concentration was not significantly associated with any of the five biomarkers of renal function.

Additional logistic regression analyses were carried out to estimate the rates of excretion of cadmium associated with a 10% prevalence of abnormal values for the five biomarkers. The rates were 2.9 µg/24 h for retinol-binding protein, 2.7 µg/24 h for *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase, 3.0 µg/24 h for *beta*₂-microglobulin, 4.3 µg/24 h for amino acids, and 1.9 µg/24 h for calcium. Jung et al. (1993) reported similar findings, a mean urinary cadmium excretion of 5.4 µg/g creatinine being associated with a 11–22% prevalence of abnormalities in renal markers such as *alpha*₁-microglobulin, retinol-binding protein, and *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase in urine.

These findings suggest that an increased body burden of cadmium, estimated from 24-h urinary excretion, is associated with changes in proximal tubular function but not with changes in glomerular function. Blood cadmium concentration, which reflects more recent exposures than does urinary cadmium excretion, was not associated with changes in renal function. The dose-response analyses suggested that these changes occurred largely when urinary excretion exceeded 2 µg/24 h (or 0.5–2 µg/g of creatinine), a rate that is considered to reflect a renal cortical concentration of 10–40 mg/kg (Jarup et al., 1998a). It was estimated that 10% of the general population of Belgium has a body burden of cadmium that would be associated with an excretion rate of 2 µg/24 h and are thus at increased risk for the observed renal changes. Specifically, at a urinary cadmium concentration of 2–4 µg/24 h, the prevalence of tubular proteinuria would be 10%, whereas the background prevalence is 5%. In a comprehensive review of the literature on this topic, Jarup et al. (1998b) related renal cortical and urinary concentrations of cadmium with the percentage of the general population that can be expected to have renal dysfunction (Table 4). The findings are somewhat at variance with those obtained in studies of adult male workers, in whom the NOEL is considerably higher, the rate of excretion of cadmium being about 10 µg/g of creatinine. This value is likely to reflect a 'healthy worker effect', i.e. a reduced representation among workers of individuals susceptible to nephrotoxicity (Lauwerys et al., 1995).

Table 4. Prevalence of tubular effects in the general population in relation to concentration of cadmium in the renal cortex and urine, on the basis of all data published up to mid-1997

Cadmium in renal cortex (mg/kg)	Cadmium in urine (µg/g)	Prevalence of effect (%)
< 50	< 2.5	0
51–60	2.75	1
61–70	3.25	2
71–80	3.75	3
81–90	4.25	4

があることを示しています。N-acetyl-beta-glucosaminidase と beta2-microglobulin の2つのバイオマーカーに対して、糖尿病の診断と24時間サンプルのカドミウムの尿への排出の相互作用は統計的に重要であり、このことは糖尿病の人は、特に、カドミウムの腎臓への悪影響を受け易いことを示していました。血中のカドミウム濃度は、腎臓の機能の5つのバイオマーカーのどれとも特に関連はありませんでした。

5つのバイオマーカーに対する異常値の10%の有病率と関連するカドミウムの排泄率を予測するために、追加のロジスティック回帰分析が行われました。比率は、retinol-binding protein に対して $2.9 \mu\text{g}/24\text{h}$ 、N-acetyl-beta-glucosaminidase に対して $2.7 \mu\text{g}/24\text{h}$ 、beta2-microglobulin に対して $3.0 \mu\text{g}/24\text{h}$ 、アミノ酸に対して $4.3 \mu\text{g}/24\text{h}$ 、カルシウムに対して $1.9 \mu\text{g}/24\text{h}$ でした。Jung et al. (1993) は、同様の結果、即ち尿中の alpha1-microglobulin、retinol-binding protein、N-acetyl-beta-glucosaminidase のような腎臓のマーカーの異常の11~22%の有病率と関連する $5.5 \mu\text{g}/\text{g}$ のクレアチンの尿への平均カドミウムの排泄を報告しました。

これらの結果は、24時間の尿の排泄から予測されるカドミウムの体内蓄積の増加は近接の尿細管機能の変化と関係があり、糸球体機能の変化と関係がないことを示唆しています。血中のカドミウム濃度は、尿へのカドミウムの排泄より最近の汚染を反映しますが、腎臓機能の変化と関係がありませんでした。用量反応分析では、これらの変化は、尿への排泄が $2 \mu\text{g}/24\text{h}$ (或いはクレアチニンの $0.5\sim2 \mu\text{g}/\text{g}$) を超えると、非常に起きると示唆していました。10~40 mg/kg の腎臓皮質濃度を反映すると考えられている比率です (Jarup et al., 1998a)。ベルギーの一般住民の10%は、 $2 \mu\text{g}/24\text{h}$ の排泄比率と関連あり、その結果、観測された腎臓の変化を増大するリスクとなるカドミウムの体内蓄積があることを示唆していました。特に、 $2\sim4 \mu\text{g}/24\text{h}$ の尿中のカドミウム濃度で、tubular proteinuria の有病率が10%となり、一方、background prevalence は5%です。このトピックに関する文献を総合的に検討して、Jarup et al. (1998b) は、カドミウムの腎臓皮質と尿中の濃度と腎臓機能障害があると思われる一般住民のパーセントを関連付けました (表4)。結果は、NOEL が非常に高く、カドミウムの排泄比率が約 $10 \mu\text{g}/\text{g}$ のクレアチニンである成人男性労働者の研究で得られたものとは少し異なります。この値は、“健康な労働者の影響”、言い換えれば、腎臓毒性になり易い個々の労働者間での低下した説明を反映しているようです (Lauwerys et al., 1995)。

表4 1997年中旬までに発刊されたすべてのデータに基づいた腎臓皮質と尿中のカドミウム濃度に関連する一般住民の尿細管の影響の有病率

左表参照

91–100	4.75	5
101–110	5.25	6
111–120	5.75	8
121–130	6.25	10
131–140	6.75	12
141–150	7.25	14
151–160	7.75	17
161–170	8.25	20
171–180	8.75	23
181–190	9.25	26
191–200	9.75	30
> 200	> 10.25	> 35

A follow-up investigation of 703 of 1107 randomly selected Cadmibel participants (Staessen et al., 1994) confirmed the association between the body burden of cadmium and changes in biomarkers of proximal tubular function. In this study, however, more direct indicators of glomerular function were also measured, which were serum creatinine, β_2 -microglobulin, and creatinine clearance. These markers tended to be altered adversely in more heavily cadmium-polluted regions, although the associations were much weaker when tested in relation to 24-h urinary excretion of cadmium, which is a biomarker of individual exposure. This indicates that the ecological association might reflect confounding by unmeasured differences between regions.

In order to evaluate the possibility that increased urinary excretion of cadmium is the result, rather than the cause, of tubular dysfunction, Bernard et al. (1992b) studied 114 pregnant women, some of whom had reversible tubular proteinuria unrelated to cadmium. Urinary excretion of cadmium was not related to excretion of the two renal markers measured, retinol-binding protein and β_2 -microglobulin, suggesting that tubular dysfunction does not necessarily increase urinary cadmium excretion. The tubular dysfunction identified in the Cadmibel Study population is therefore likely to be attributable to increased exposure to cadmium.

Additional evidence that tubular dysfunction is associated with environmental exposure to cadmium was provided by Jarup et al. (1995a) in a study of 72 adults living near a nickel–cadmium battery plant that had been shut down. In this study, the urinary cadmium concentrations were greater than those of controls and decreased with distance of the residence from the plant. The urinary concentrations of cadmium (0.12–3.2 nmol/mmol of creatinine) were positively correlated with the activity of *N*-acetyl- β -glucosaminidase in a dose–response manner, with no evidence of a threshold.

The health significance of the changes in renal function is uncertain. Cadmium-induced proteinuria is considered to be irreversible, but the level of exposure to cadmium that is required to place an individual at increased risk for progressive alterations in renal function is not known. Roels et al. (1989) studied a group of 23 workers who had been removed from jobs involving exposure to

Cadmibel 研究の参加者 (Staessen et al., 1994) をランダムに選んだ 1107 名中の 703 名のフォローアップ調査では、カドミウムの体内蓄積と近接の尿細管機能のバイオマーカーの変化との関連を確認しました。しかしながら、この研究では、glomerular 機能の更なる直接的な指標である血清クレアチニン、beta2microglobulin、クレアチニン・クリアランスも測定しました。個々の汚染のマーカーであるカドミウムの 24 時間の尿への排泄との関連をテストした時、関連は非常に弱かったけれども、これらのマーカーは更にカドミウムに汚染された地域では逆に変化する傾向がありました。このことは、生態学的関係は、地域間での計り知れない相違による混同を反映しているかも知れないことを示しています。

カドミウムの尿への排泄の増加は、tubular の機能障害の原因より結果であることの可能性を評価するために、Bernard et al. (1992b) は、カドミウムとは関係がない回復が可能な tubular proteinuria の 114 名の妊婦を調べました。カドミウムの尿への排泄は、測定した 2 つの腎臓のマーカー、retinol-binding protein と beta2-microglobulin の排泄と関係はありませんでした。このことは、tubular の機能障害が、必ずしも尿中へのカドミウムの排泄を増加させないことを示唆しています。従って、Cadmibel Study の住民で特定された尿細管機能障害は、カドミウムの汚染の増加に起因しているようです。

Jarup et al. (1995a) により、閉鎖されたニッケル-カドミウム電池工場の近くに住んでいる 72 名の成人の研究で、尿細管機能障害は、カドミウムの環境的汚染に関連があるとの追加の証拠が提出されました。この研究では、カドミウムの尿中の濃度はコントロール地域より高く、工場からの住居が離れるに従って低下していました。カドミウムの尿中の濃度 (クレアチニンの $0.12 \sim 3.2$ nmol/nmol) は、スレッショホルドの証拠はありませんが、用量反応様式で、N-acetyly-beta-glucosaminidase の活動と非常に相関がありました。

腎臓機能に於ける変化の健康への重大さは、不確実です。カドミウムにより誘発されたタンパク尿は、元に戻らないと考えられていますが、個々人を腎臓機能の進行性変質に対するリスクの増加に必要なカドミウムの汚染レベルは分かっていません。Roels et al. (1989) は、尿中の beta2-microglobulin ($>300 \mu\text{g/L}$) と retinol-binding protein ($>300 \mu\text{g/L}$) の排泄と $22.2 \mu\text{g/L}$ の基準での尿中のカドミウムの平均濃度の結果から、カドミウムによる汚染の仕事から離れた 23 名の労働者のグループについて研究を行いました。5 年間の追跡後、腎臓のパラメーターは正常に戻りませんでした。更に、汚染が停止していたにもかかわらず、血清中のクレアチニンと beta2-microglobulin のパラメーターは、この期間、非常に増加しました。このことは、尿細管の影響とは無関係に糸球体機能の進行障害を示唆しています。これらの労働者の糸球体ろ過率の推定される低下は、正常な老化と考えられる約 5 倍でした。これらの結果は、職業によるカドミウム汚染に関連する血漿タンパクの尿中への排泄の増加は悪影響であると考えらるべきであることを明らかに示唆しています。男性、179 名の研究では、カドミウムの汚染がタンパク量 (保持ろ過能力) に反応して起きる糸球体ろ過率の過渡的な増加を低下させ、カドミウムにより誘発された

cadmium because of the finding of increased urinary excretion of *beta*₂-microglobulin (> 300 µg/L) and/or retinol-binding protein (> 300 µ/L) and a mean urinary concentration of cadmium at baseline of 22.2 µg/L. At follow-up 5 years later, none of the renal parameters had returned to normal. Furthermore, those of creatinine and *beta*₂-microglobulin in serum had increased significantly over this period even though exposure had been discontinued, suggesting progressive impairment of glomerular function independent of the tubular effects. The estimated decline in glomerular filtration rate among these workers was approximately five times that expected as the result of normal ageing. These findings clearly suggest that the increased urinary excretion of plasma proteins associated with occupational exposure to cadmium should be considered an adverse effect. A study of 179 men confirmed the observation that exposure to cadmium reduces the transient increase in glomerular filtration rate that occurs in response to a protein load (reserve filtration capacity) and accelerates the age-related decline in glomerular filtration rate, but only in the presence of cadmium-induced microproteinuria (Roels et al., 1991). Additional evidence for this conclusion has been reported (Jarup et al., 1993, 1995b, 1997). Jarup et al. (1995b) reported that 7/13 workers with blood concentrations of cadmium exceeding 50 nmol/L showed evidence of glomerular lesions (glomerular filtration rates < 80% of the reference value). Jarup et al. (1997) concluded that *alpha*₁-microglobulin is a more sensitive biomarker of early tubular dysfunction than is *beta*₂-microglobulin. An increased risk for kidney stones has also been reported among workers exposed to cadmium (Jarup & Elinder, 1993; Jarup et al., 1997), the incidence rate ratio increasing substantially in the presence of tubular proteinuria.

The prognosis of the renal effects seen at normal levels of exposure to cadmium appears to be good. In a 5-year follow-up study of 593 participants in the Cadmibel Study, Hotz et al. (1999) found no evidence of progressive renal damage. In men, the mean urinary excretion of cadmium at follow-up was 7.5 nmol/24 h (a decline of 16% from baseline), while in women, the mean value was 7.6 nmol/24 h (a decline of 14% from baseline). The investigators concluded that the renal effects due to cadmium in this population were weak, stable, or even reversible after the introduction of measures to reduce exposure. They also concluded that the tubular effects were not necessarily associated with a subsequent deterioration in glomerular function. In studies of workers in cadmium smelters (Bernard et al., 1995; Nortier et al., 1997), however, urinary excretion of the B isozyme of the lysosomal enzyme *N*-acetylgluco-saminidase was dose-related even among individuals with a rate of urinary excretion of cadmium of 2 µg/g of creatinine. Thus, excretion of the lesional form of this enzyme was related to the concentration of cadmium, without clear evidence of a threshold. The investigators speculated that cadmium-induced apoptosis might account for this association.

In reviewing the literature on exposure to cadmium and renal dysfunction, Jarup et al. (1998b) concluded that in order to prevent renal tubular damage that can proceed to clinical disease and perhaps contribute to early death, the concentration of cadmium in the kidneys should be maintained below 50 mg/kg and that in the urine below 2.5 µg/g of creatinine.

2.3.3 Blood pressure and cardiovascular disease

In the Cadmibel study population, the association between exposure to cadmium and cardiovascular disease was evaluated in a subsample of 2086 persons of a mean age of 48 years (range, 20–88 years). The mean concentration of cadmium in blood was 11 nmol/L in the areas of heavy exposure and 8.5 nmol/L in the control areas, and the concentrations in the 24-h urine samples were 8.7 nmol and 7.2 nmol, respectively. Systolic blood pressure was significantly higher (5 mm Hg) in the urban area of heavy exposure than in the urban control area (Staessen et al., 1991a, 2000), but the difference remained when adjustments were made for cadmium concentrations in blood, suggesting that cadmium was not causal in this association. Other factors that were controlled in the analyses were age, body mass index, smoking, and alcohol intake. Diastolic blood pressure was negatively correlated with both blood and urinary cadmium concentrations. No differences in blood pressure were found in the two rural areas. The prevalences of hypertension (systolic blood pressure > 140 or

microproteinuria の存在のみで糸球体ろ過率の年令による低下を加速させることを確認しました (Roels et al., 1991)。この結論に対する追加の証拠が発表されました (Jarup et al., 1993, 1995b, 1997)。Jarup et al.は、カドミウムの血中濃度が 50 nmol/L を超える労働者の 13 名中、7 名が糸球体損傷 (糸球体ろ過率 < 基準値の 80% の証拠を示したと報告しました。初期の tubular 機能障害に対して、alpha1-microglobulin は beta2-gulobulin より感度のよいバイオマーカーであると Jarup et al. (1997) は結論付けしました。カドミウムに汚染された労働者の腎臓結石に対するリスクの増加、即ち、tubular proteinuria の存在による相当な発生率の割合の増加も報告されました (Jarup & Elinder, 1993; Jarup et al., 1997)。

カドミウムの正常な汚染レベルに見られる予後診断は、正常のようです。Cadmibel Study の 593 名の参加者の 5 年間のフォローアップ研究では、Hotz et al. (1999)、進行性の腎臓障害の証拠を発見しませんでした。男性では、フォローアップでのカドミウムの尿への平均排泄は、7.5 nmol/24 h (基準値からの 16% の減少) でした。一方、女性では、平均値は、7.6 nmol/24 h (基準値からの 14% の減少) でした。調査員は、この母集団でのカドミウムによる腎臓への影響は、弱く、安定しており、或いは基準の導入後は可逆的でさえあるとの結論を出しました。又、調査員は、tubular の影響は、糸球体機能のその後の劣化と必ずしも関連がないとの結論を出しました。しかしながら、カドミウム精錬所の労働者の研究では (Bernard et al.,; Nortier et al., 1997)、リゾソーム酵素 N-acetylgluco-saminidase の B イソザイムの尿への排泄は、カドミウムの尿への排泄率が 2 μ g/g のクレアチンである人々間でさえも用量と関係がありました。従って、スレッシホウルドの明確な証拠はありませんが、この酵素の変形の排泄は、カドミウム濃度と関係しました。調査員は、カドミウムに誘発されたアポトーシスに関連していると推測しました。

カドミウムの汚染と腎臓機能障害に関する文献を調べて、Jarup et al. (1998b) は、臨床的疾患に進み、多分、早期死亡となる腎臓 tubular 損傷を防ぐために、腎臓のカドミウム濃度は、50 mg/kg 以下に、尿中ではクレアチンを 2.5 μ g/g 以下に維持すべきであると結論を下しました。

2.3.3 血圧と心臓疾患

Cadmibel のスタディーポピュレーションに於いて、カドミウムの汚染と心臓疾患との関連を、2086 名で、平均年齢が 48 歳 (範囲、20 歳~88 歳) の副標本で評価しました。血中のカドミウム平均濃度は、非常に汚染された地域では 11 nmol/L であり、コントロール地域では 8.5 nmol/L であり、24 時間の尿サンプルの濃度は、各々、8.7 nmol と 7.2 nmol でした。収縮期血圧は、都市のコントロール地域より非常に汚染された都市地域では大変高かった (5 mm Hg) (Staessen et al., 1991a, 2000) が、血中のカドミウム濃度を調整しても相違が残りました。このことは、この関連に於いて無関係でないことを示唆しています。分析でコントロールした他のファクターは、年令、肥満度指数、喫煙、アルコール摂取量でした。拡張期血圧は、血中及び尿中のカドミウム濃度と殆ど相関は有りませんでした。血圧の相違は、2つの都市地域では見られませんでした。高血圧 (収縮期血圧 > 140 或いは拡張期血圧 > 90 mm Hg、或いは両方、或いは高血圧治療) と自己報告された ischaemic 心臓病は、重度の汚染と低度の汚染、或いは血中のカドミウム濃度との間には差異はありませんでした。

diastolic blood pressure > 90 mm Hg or both, or being on anti-hypertensive treatment) and self-reported ischaemic heart disease did not differ between the areas of heavy and low exposure or with the concentration of cadmium in blood.

Whittemore et al. (1991) used data on 951 adult men and women with no occupational exposure to cadmium who were participating in a cross-sectional health survey in the United States. Although significant positive associations were found between the urinary concentration of cadmium and both systolic and diastolic blood pressure after adjustment for age, sex, race, body weight, smoking, and use of hypertensive medication, the associations were highly unstable when examined in subgroups defined on the basis of sex and smoking status. Among current smokers, the positive association between urinary cadmium and systolic and diastolic blood pressure remained among women and that with diastolic blood pressure among men. No association was found in former smokers or lifelong nonsmokers of either sex. When persons being treated for hypertension were excluded from the analyses, no significant associations were found. The associations between urinary cadmium concentration and blood pressure among current smokers may therefore be the result of the increased urinary excretion of cadmium associated with anti-hypertensive medications.

Among individuals residing in Shipham, England, an area in which the soil is contaminated by cadmium from old zinc mines, blood pressure was not significantly associated with urinary or blood concentrations of cadmium (Morgan & Simms, 1988). A volunteer bias may have distorted these results insofar as the participation rate was much lower among long-time residents, who presumably had had longer exposure to cadmium. Given the similarity of these results to those obtained in the Cadmibel and United States studies, however, the effect of this bias is likely to have been small.

2.3.4 Calcium metabolism and bone

In the Cadmibel Study, 24-h urinary excretion of cadmium was associated with three biomarkers of calcium metabolism. Serum alkaline phosphatase activity increased with increasing excretion of cadmium after adjustment for age, body mass index, alcohol, use of diuretics, use of contraceptives, and menopausal status. A doubling in the excretion of cadmium was associated with a rise of 3–4% in serum alkaline phosphatase activity (Staessen et al., 1991b). Urinary calcium excretion (calciuria) was also positively related to urinary cadmium excretion. The total calcium concentration in serum was negatively associated with urinary cadmium excretion, but this association was significant only for men. Adjustment for alcohol intake and *gamma*-glutamyltranspeptidase activity enabled the investigators to eliminate liver dysfunction as an explanation for these associations. Although the changes were statistically significant, the amount of variation accounted for by cadmium excretion was quite small (1–2%), and the clinical significance of the changes is uncertain. Nevertheless, no threshold was apparent for the associations, contradicting the view that cadmium affects calcium metabolism only at very high concentrations. The inferences are limited, moreover, by the fact that neither calcium-regulating hormones nor direct indices of bone metabolism were measured.

Very heavy exposure to cadmium is known to be associated with osteoporosis and osteomalacia (itai-itai disease). The risk for clinically significant effects on bone at lower levels of exposure has been clarified in recent studies. Jarup et al. (1998b) and Alfven et al. (2000) measured mineral density in the bones of the forearm, lumbar spine, and hip by dual-energy X-ray absorptiometry in 43 persons with occupational exposure to cadmium. For all three bones, the covariate-adjusted mineral density was inversely and significantly associated with cadmium concentrations in both blood and urine. A dose–effect relationship was seen only for the forearm, however. A dose–response relationship was suggested for osteoporosis (*z* score for bone mineral density, less than –2.0). These data suggest that cadmium causes adverse effects on bone in persons with urinary cadmium concentrations up to about 8 nmol/mmol of creatinine and blood cadmium concentrations up to about 89 nmol/L.

In the follow-up to the Cadmibel Study, 506 participants underwent measurements of forearm bone

Whittemore et al. (1991) は、米国で横断的健康調査に参加した職業的にカドミウムに汚染されていない 951 名の男女のデータを使用しました。年齢、性別、体重、喫煙、高血圧の治療を調整後の尿中のカドミウム濃度と収縮期血圧及び拡張期血圧の間に、明らかに重要な関係は見られませんでした。性別と喫煙状態を基に定義したサブグループを調べた時に、関連は非常に不安定でした。現在喫煙している人の間で、女性では尿中のカドミウムと収縮期血圧及び拡張期血圧の間には関連があり、男性では拡張期血圧と関連がありました。男女共に、以前喫煙をしていた人や一生喫煙をしていない人の間では、関連が認められませんでした。高血圧症の治療を受けている人は、分析より除外しましたので、顕著な関連は見られませんでした。従って、現在喫煙している人の尿中のカドミウム濃度と血圧の関連は、抗高血圧治療に関連するカドミウムの尿中への排泄の増加となります。

英国の Shipham、土壌が古い亜鉛鉱山からのカドミウムにより汚染されていた地域、に住んでいる人々の間では、血圧は、カドミウムの尿中或いは血中濃度と顕著な関連は有りませんでした (Morgan & Simms, 1988)。ボランティア的偏見は、カドミウムの長期間汚染されたと思われる長期に亘る住民では、参加者率が非常に少ない範囲ではこれらの結果を誤らせます。しかしながら、同様のこれらの結果を Cadmibel や米国での研究に当てはめると、この偏見の結果は、小さかったようです。

2.3.4 カルシウムの代謝と骨

Cadmibel の研究では、カドミウムの 24 時間の尿中への排泄はカルシウム代謝の 3 つのバイオマーカーと関連がありました。血清アルカリ・ホスファターゼ活動は、年齢、肥満度指数、アルコール、利尿剤の使用、避妊薬の使用、更年期状態を調整した後のカドミウムの排泄の増加と関連がありました。カドミウムの排泄の 2 倍増は、血清アルカリ・ホスファターゼ活動の 3~4% の増加と関連がありました (Staessen et al., 1991b)。尿中へのカルシウムの排泄 (Calciuria) も、尿中へのカドミウムの排泄と非常に関連がありました。血清中のカルシウムの総濃度は、尿中のカドミウムの排泄と殆ど関連は有りませんでした。この関連は男性にのみ顕著でした。これらの関連の説明として、アルコールの摂取、と gamma-glutamyltranspeptidase を調整すると、調査員に肝臓の機能障害を除去することを可能にしました。変化統計的に重要ですが、カドミウムの排泄による変化量は、非常に小さく (1~2%) で、変化の臨床的重要さは不明です。それにもかかわらず、カドミウムは非常に高い濃度でのみカルシウムの代謝に影響するという見解を否定しても、関連するスレッシュホールドは明らかでは有りませんでした。更に、カルシウムを規制するホルモンも骨の代謝の直接的な指標も測定されなかった事実により、干渉は制限されます。

カドミウムの非常に重度の汚染は、骨粗鬆症と骨軟化症と関連があることは知られています (イタイイタイ病)。最近の研究で、カドミウムの低レベルの汚染で骨に臨床的に重要な影響を与えるリスクが分類されました。Jarup et al. (1998b) と Alfvén et al. (2000) は、カドミウムに職業的に汚染された 43 名について、dual-energy X-ray 吸光光度分析法で前腕、腰椎、腰の骨の鉱物密度を測定しました。3 つのすべての骨に対して、共変量を調整した鉱物密度は、血中と尿中のカドミウム濃度と逆に非常に関連がありました。しかしながら、用量と影響の関係は、前腕にのみ見られました。用量と反応の関係は、骨粗鬆症 (骨の鉱物密度に対する z score、-2.0 以下) を示していました。これらのデータは、カドミウムは、約 8 nmol/mmol までクレアチニンに対する尿中のカドミウム濃度と約 89 nmol/L までの血中のカドミウムの濃度の人の骨に悪影響をすることを示しています。

Cadmibel 研究の追跡では、506 名が single photon 吸光光度分析法で前腕の骨の密度の測定を受け (Staessen et al., 1999)、環境レベルの汚染での関連のデータを提供しました。参加者は、医療記録から

density by single photon absorptiometry (Staessen et al., 1999), providing data on the association at environmental levels of exposure. The participants also gave information on fractures, which was verified from medical records. In post-menopausal women, proximal and distal bone densities decreased by nearly 0.01 g/cm^2 with a doubling of 24-h urinary cadmium excretion over that at baseline (median, 6.6 years earlier). Similarly, a doubling of cadmium excretion at baseline was associated with a 73% increase in the risk for fractures in women, corresponding to a population attributable risk of 29% for women with rates of excretion of cadmium above the age-adjusted median value in the cohort. In men, bone density decreased with age and with increased calcium excretion at baseline, but was not associated with the urinary cadmium concentration. It is noteworthy that the mean urinary cadmium excretion in the study sample was approximately $1 \text{ } \mu\text{g/g}$ of creatinine. These findings suggest that environmental exposure to cadmium is associated with decreased bone density and an increased risk for fractures in women, possibly due to increasing calcium loss and bone resorption. The reasons for the apparent increase in the vulnerability of women might be related to depleted iron stores, resulting in increased gastrointestinal cadmium absorption, and to the reduction in estrogen concentrations associated with the menopause.

The mechanism by which cadmium induces bone damage is not clear. It may be mediated by renal tubular damage and specifically by reduced activation of vitamin D3 to 1,25-dihydroxycalcitriol, resulting in reduced calcium absorption (Aoshima & Kasuya, 1991). Tsuritani et al. (1992) reported that the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D was positively associated with the rate of clearance of creatinine and tubular resorption of phosphate, and inversely related to serum concentrations of creatinine, β_2 -microglobulin, and parathyroid hormone, although only in women.

2.3.5 Mortality

A follow-up study of 3178 residents of a cadmium-polluted area of Japan suggested higher rates of premature death (Nishijo et al., 1994, 1995, 1999). The age-adjusted standardized mortality ratios were higher among persons with high urinary concentrations of β_2 -microglobulin, protein, and amino acids than among individuals without such increases or among the general Japanese population. Urinary protein was the biomarker most strongly related to risk for death. In a study conducted in another cadmium-exposed population in Japan, Iwata et al. (1992) found that people with signs of tubular dysfunction (increased urinary concentrations of β_2 -microglobulin or total amino nitrogen) were at significantly increased risk of dying during the follow-up period. For example, in a Cox proportional hazard model, the hazard ratio in women associated with a 10-fold increase in urinary β_2 -microglobulin was 1.4 (95% CI, 1.0–2.0). In neither of these studies were cause-specific mortality rates examined, but such analyses were carried out as part of a long-term follow-up study of the mortality rates of residents of Shipham, England (Elliott et al., 2000). Although the overall mortality rate was lower than expected, the standardized incidence ratio for cancer was elevated (1.7; 95% CI, 1.1–2.5). The standardized mortality ratios for cancers of the genitourinary tract, and particularly of the prostate (2.6; 95% CI, 1.5–4.5) and ovary (2.6; 95% CI, 1.1–6.2), were elevated. The ratio for hypertension, cerebrovascular disease, and nephritis and nephrosis was also elevated, but the lower confidence bound fell just below 1.0 (1.3; 95% CI, 0.99–1.6). Both these studies were ecological in design, and exposure status was inferred from area of residence rather than from measurements of the body burden of cadmium.

Although associations have been reported between exposure to cadmium and increased rates of cancers of the lung, kidney, breast, and prostate, other studies did not confirm these associations. The studies that did have been faulted on methodological grounds, including failure to adjust for confounding by known risk factors.

2.3.6 Neurotoxicity

確証された骨折に関する情報も提供しました。月経閉止後の女性では、近接部と抹消部の骨の密度は、ベースラインで24時間の尿中へのカドミウムの倍の排泄の0.01 g/cm²近くまで低下しました(中央値、6.6年より早く)。同様に、ベースラインでのカドミウムの倍の排泄は、女性の骨折のリスクの73%の増加と関連がありました。これは、年令を調整した仲間の中央値を超えるカドミウムの排泄率の女性に対する29%のリスクに起因する人口に相当します。男性では、骨の密度は、年令とベースラインでのカドミウムの排泄の増加と共に低下しましたが、尿中のカドミウム濃度とは関連がありませんでした。研究サンプルでの尿へのカドミウムの平均排泄は、約1 µg/gのクレアチニンであったことは注目すべきことです。これらの結果は、カドミウムに対する環境的汚染は、多分、カルシウムの損失と骨の吸収の増加により、骨の密度の低下と女性の骨折のリスクの増大と関連があります。女性の脆弱性の明らかな増加の理由は、枯渇した鉄の貯蔵と関連しており、胃腸でのカドミウムの吸収の増加と閉経に関連するエストゲンの低下となります。

どのカドミウムが骨の損傷を誘発するかのメカニズムは、明らかではありません。腎臓細管の損傷と特に1,25-dihydroxycalcitriolに対するビタミンD3の活性化の低下より仲介され、カルシウムの吸収の低下となります(Aoshima & Kasuya, 1991)。Tsurita et al. (1992)は、1,25-dihydroxyvitaminDはクレアチニンのクリアランス率とリン酸塩のtubularでの吸収と非常に関連があり、女性のみですが、クレアチニン、beta2-microglobulin、parathyroid hormone、の血清濃度と逆の関連があると報告しました。

2.3.5 死亡率

日本で、カドミウムに汚染された地域の3178名の住民の追跡調査では、早死に非常に高い率を示していました(Nishijo et al., 1994, 1995, 1999)。beta2-microglobulin、タンパク質、アミノ酸の尿中の増加の無い人或いは一般の日本時より、beta2-microglobulin、タンパク質、アミノ酸の尿中濃度の高い人では、年令を調整した標準時死亡率は高かった。尿中のタンパク質は、死亡のリスクに最も密接に関連するバイオマーカーであった。他のカドミウムに汚染された住民について日本で行われた研究で、Iwata et al. (1992)は、tubularの機能障害(beta2-microglobulin或いは総アミノ窒素の尿中濃度の増加)の兆候のある人は、追跡期間中に死亡のリスクが非常に増大したことを発見した。例えば、Cox 比例ハザードモデルでは、尿中のbeta2-microglobulinの10倍の増加に関連する女性の危険率は、1.4 (95%CI, 1.0~2.0)でした。これらの研究では、原因が特別な死亡率は調査されませんでした、そのような分析は、英国のShiphamsの住民の死亡率の長期の追跡研究の一部として行われました(Elliott et al., 2000)。全体的な死亡率は、予想より低かったが、ガンの標準的な死亡率は、増加しました(1.7; 95%CI, 1.1~4.5)。尿生殖路、特に、前立腺(2.6; 95%CI, 1.5~4.5)と卵巣(2.6; 95%CI, 1.1~6.2)のガンに対する標準的死亡率は増加しました。高血圧、脳血管疾患、腎炎、腎症の率も増加しましたが、信頼下限は、丁度、1.0 (1.3; 95%CI, 0.99~1.6)以下でした。これらの両方の研究は、立案では生態学的であり、汚染状況は、カドミウムの体内蓄積の測定より住民に地域から推察されました。

カドミウムの汚染と肺、腎臓、胸、前立腺のガンとの関連は報告されていますが、他の研究では、これらの関係の真偽は認めませんでした。行った研究は、既知のファクターによる混同の調整の失敗も含めて、方法論的基礎を誤っておりました。

2.3.6 神経毒性

The nervous system has not received as much attention as a potential target organ for cadmium as have the kidney and the skeletal system, possibly because cadmium does not cross the blood–brain barrier, at least in adults, and any neurotoxic effect must be secondary to its other effects, such as interference with zinc metabolism and the expression of metallothionein-III (Jin et al., 1998). Several studies of workers exposed to cadmium showed increased frequencies of subjective symptoms such as fatigue, headache, sleep disturbances, disturbances of sensory and motor functions, anorexia, and anosmia (Murphy, 1997). A case report of two individuals exposed to cadmium during a fire suggested that it had caused persistent neurophysiological deficits (e.g. slowed reaction times, abnormal balance, constricted visual fields, decreased vibration sensitivity) and persistent neuropsychological deficits (e.g. delayed recall, dexterity, coordination, decision-making) (Kilburn & McKinley, 1996). No controls were included in this investigation, nor could the deficits be ascribed solely to cadmium, as exposure to other potentially neurotoxic agents was involved.

The association between exposure to cadmium and peripheral neuropathy was investigated in 13 retired workers who had been exposed to cadmium (and lead) for 12–36 years, ending 1–24 years prior to the study. They were matched on age to unexposed controls. At the time of the examination, the mean urinary cadmium concentration of the exposed men was 8.8 µg/g of creatinine, and the mean blood concentration was 0.6 µg/dL. Peripheral neuropathy was diagnosed if two of four criteria were met: (i) self-reported complaint of polyneuropathy; (ii) neurophysiological findings including sympathetic skin response and changes in motor nerve conduction velocity, sensory nerve conduction velocity, and a needle electromyograph; (iii) distal symmetrical areflexia; and (4) distal symmetrical anaesthesia for vibration sense, temperature, or blunt–sharp discrimination. The prevalence of peripheral neuropathy was significantly higher in the exposed (53%) than in the unexposed group (11%), with an odds ratio of 9.9 (95% CI, 1.6–62). Multiple logistic regression analyses suggested a dose–response relationship between the risk for peripheral neuropathy and both urinary and blood cadmium concentrations. The investigators speculated that these findings might reflect a combination of cadmium-induced demyelination and axonal damage. No differences were found between the two groups in a standard clinical neurological examination.

Hart et al. (1993) investigated the potential neurobehavioural effects of occupational exposure to cadmium in 31 workers with a mean duration of exposure of 14 years. The workers were classified by the concentration of cadmium in a 24-h urine sample as low (mean, 6.0; range, 1–11 [units not stated]) and high (mean, 43; range, 25–110). No group of unexposed persons was included. Efforts were made to assess the potential confounding effects of exposure to known neurotoxicants. The group with high cadmium concentrations achieved significantly lower scores for attention, psychomotor speed (symbol–digit modalities, digit symbol) and memory (paired-associate learning, digit symbol incidental recall) but not in measures of general intelligence, vigilance, conceptual reasoning, mental flexibility, motor speed, or mood state. The three persons with high β_2 -microglobulin concentrations tended to perform less well in the neurobehavioural tests than those with normal concentrations.

The only well-controlled epidemiological study of adult exposure to cadmium and neurobehavioural effects was reported by Viaene et al. (2000). A sample of 42 workers with a mean of 12.6 years of exposure to cadmium and 47 controls were given a questionnaire (the neurotoxicity symptom checklist-60), a standard neurological examination, and computer-administered neurobehavioural tests of visuomotor performance, memory, and concentration. The statistical analyses were adjusted for a variety of potential confounders, including age, reported alcohol consumption, smoking habits, exposures to other neurotoxicants such as lead and organic solvents, education, and use of hypnotic medications. The exposure indices were the maximum concentration of cadmium measured in urine during each person's work years (mean, 13 µg/g of creatinine) and the urinary concentration at the time of the examination (mean, 4.6 µg/g of creatinine). The exposed workers reported significantly more signs and symptoms of peripheral neuropathy, particularly in the categories of sensorimotor ability, equilibrium, and concentration. The only finding in the neurological examination that was related to exposure to cadmium was a higher frequency of a positive forehead reflex. In the

カドミウムは、最低、成人に於いて、血液脳関門を越えず、神経毒素の影響は、亜鉛の代謝や metallothionein-III の出現のように、他の影響に対しては二次的であるために、神経系は、腎臓や骨格系のようにカドミウムに対する潜在的ターゲット器官として関心を受けて来ませんでした (Jin et al., 1998)。カドミウムに汚染された労働者に関する種々の研究で、疲労、頭痛、睡眠障害、感覚機能と運動機能の障害、食欲不振、臭覚障害などの自覚症状の多発を示しました (Murphy, 1997)。火災中にカドミウムに汚染された二人の症例研究では、火災が持続する神経生理学的欠陥 (例えば、遅い反応時間、平行異常、狭い視野、低下した振動感覚) と持続する神経心理学的欠陥 (例えば、遅くなった回想力、機敏さ、協調、意思決定) (Kilburn & McKinley, 1996) の原因であったことを示唆しました。この調査には、コントロールが含まれていませんでしたし、他の潜在的に神経有毒な物質の汚染は含まれていませんでしたので、欠陥は、単にカドミウムに起因することはありませんでした。

カドミウム汚染と末梢神経障害との関連は、カドミウム (と鉛) に 12~36 年間汚染され、研究に先立つ 1~24 年前に終わった 13 名のリタイアした労働者について調査しました。彼らは、汚染されていない実験対象者と同じ年連でした。検査時には、汚染された男性の尿中の平均カドミウム濃度は、 $8.8 \mu\text{g/g}$ のクレアチニンであり、平均血中濃度は、 $0.6 \mu\text{g/dL}$ でした。4つの基準: (i) 多発神経障害の自己報告による不満、(ii) 交感神経性皮膚反応麻痺と運動神経伝導速度、感覚神経伝導速度、針筋電計の変化を含んだ神経生理学的結果、(iii) distal symmetrical areflexia、(4) 振動感覚、温度或いは blunt-sharp discrimination に対する distal symmetrical areflexia の中で2つを満たせば末梢神経障害と診断されました。末梢神経障害の患者数は、9.9 (95%CI, 1.6~62) のオッズ比で、汚染されていないグループ (11%) より汚染されているグループの方が非常に多かった。多重ロジスティック回帰分析により末梢神経障害と尿中及び血中のカドミウム濃度との用量反応関係を推測しました。これらの結果は、カドミウムにより誘発された demyelination と axonal damage をもたらしっていると調査者は推測していました。標準の臨床検査では、この2つのグループの相違は見られませんでした。

Hart et al. (1993) は、14 年間の汚染の平均期間では、31 名の労働者の職業による汚染の潜在的な神経行動的な影響を調査しました。労働者は、24 時間のサンプルのカドミウム濃度により低濃度 (平均、6.0; 範囲、1~11 [単位不明]) と高濃度 (平均、43; 範囲、25~110) に分類されました。汚染されていない人は含まれていませんでした。既知の神経有毒物質による汚染の潜在的な混同する影響を評価するために行いました。カドミウムの高濃度のグループは、注意、神経運動速度 (symbol-digit modalities, digit system) と記憶 (paired-associate learning, digit symbol incidental recall) に対して、低いスコアでしたが、一般的知識、警戒、概念的推理、心の柔軟性、運動速度或いは心の状態ではそのようなことは有りませんでした。beta2-microglobulin の高濃度の人、正常な濃度の人より神経行動テストでの結果はよくない傾向でした。

カドミウムに汚染された成人と神経行動的影響のよくコントロールされた疫学的研究が Viaene et al. (2000) により報告されました。カドミウムに平均 12.6 年間、汚染された 42 名の労働者のサンプルに、調査票 (神経毒性兆候のチェックリスト-60)、標準神経検査、視覚能力、記憶、集中力のコンピュータによる神経行動テストを行いました。統計分析では、年齢、報告されたアルコール消費量、喫煙の習慣、鉛や有機溶媒などの他の神経毒性剤の汚染、教育、睡眠薬の使用を含む潜在的な種々の影響するものを調整しました。汚染の指標としては、各人の作業年数中の尿で測定したカドミウムの最大濃度 (平均、クレアチニンの $13 \mu\text{g/g}$) と検査を行った時の尿中の濃度 (平均、クレアチニンの $4.6 \mu\text{g/g}$) でした。汚染された労働者は、特に感覚運動能力、平衡、集中のカテゴリーに於ける末梢神経障害の顕著な兆候を報告していました。カドミウムの汚染と関連する神経学的検査での唯一の結果は、顕著な forehead reflex の高い頻度でした。神経行動テストでは、汚染された労働者は、簡単な反応時間での顕著な遅延と symbol-digit substitution test での非常に悪いスコアを示しました。2つのテストでのスコアも、尿中のカドミウムの最大濃度と非常に関連がありました。これらの神経学的影響は、microproteinuria の労働者に見られました。このことは、神経系の影響は、腎臓機能に関するカドミウムの影響に対して二次的ではないようです。

neurobehavioral tests, the exposed workers showed significant slowing of simple reaction time and significantly worse scores in the symbol-digit substitution test. The scores in the two tests were also significantly related to the maximum urinary concentration of cadmium. These neurological effects were seen in workers without microproteinuria, suggesting that the effects on the nervous system are unlikely to be secondary to the effects of cadmium on renal function.

The neurotoxicity of cadmium in children was investigated in several studies in the 1970s and 1980s, but has received little attention since. In most of these studies, the biomarker of exposure was the concentration of cadmium in hair. In case-control studies in which the hair concentration of cadmium of a clinically defined group was compared with that of a reference group, higher concentrations were reported in mentally retarded children (Marlowe et al., 1983; Jiang, et al., 1990) and in children with learning difficulties or dyslexia (Pihl & Parkes, 1977; Capel et al., 1981) but not in children with autism (Shearer et al., 1982; Wecker et al., 1985) or with any of several neuropsychiatric diagnoses (motor, perceptual, speech, or attention disorders) (Gillberg et al., 1982). In cohort studies, Thatcher et al. (1982, 1984) reported that the concentration of cadmium in hair was significantly inversely related to covariate-adjusted scores in the revised Wechsler intelligence scale for children, particularly verbal intelligence quotient, and to scores for visual evoked potentials. Bonithon-Kopp et al. (1986) and Marlowe and colleagues (Stellern et al., 1983; Marlowe et al., 1985a) reported associations between increased hair concentrations of cadmium and children's performance in visual-motor tasks. Marlowe et al. (1985b) also reported that lead and cadmium acted synergistically to impair children's classroom behaviour. Lewis et al. (1992) combined the concentrations of seven metals (including cadmium) in amniotic fluid into a 'prenatal toxic risk' factor and reported that children with higher factor scores had significantly lower adjusted scores in the McCarthy scales of children's abilities. The strong correlations among the concentrations of the various metals precluded an evaluation of their individual contributions to the children's outcomes. No population-based studies of the neurotoxicity of cadmium have been conducted in children with validated biomarkers of exposure.

2.4 Dose-response relationships

2.4.1 Estimates of critical renal concentrations

The kidney is the critical organ for the long-term effects of cadmium, and the critical effect is renal tubular dysfunction, which is most often manifested as the presence of proteins of low relative molecular mass in the urine. Studies in experimental animals indicate that histological changes occur in the renal tubules at a dose lower than that required to produce this proteinuria. In experimental animals, tubular lesions are usually seen histologically when the renal cortical concentration of cadmium is 200–300 mg/kg of wet weight. There is some evidence that the average critical concentration is as high as 300–400 mg/kg for more severe signs of renal damage.

The critical renal cortical concentrations at which a small but significant proportion of an exposed human population will have effects can be estimated. Data from human autopsies or biopsies are usually cross-sectional, i.e. the renal cadmium concentration and the effects were measured more or less simultaneously. They are difficult to interpret with regard to critical concentrations, as the cases with the most severe cadmium-induced renal dysfunction had the lowest renal concentrations of cadmium, since cadmium is lost from the kidney as the damage progresses.

Renal cadmium concentrations are disproportionately low when those in the liver are high and renal effects have developed. The average critical renal concentration in groups of exposed workers varied from 200 to 320 µg/g of tissue. The dose required to achieve a critical renal cortical concentration can be estimated on the basis of certain assumptions (e.g. one-quarter to one-third of the body burden of cadmium is in the kidney) on bioavailability, a specific critical renal cortical concentration, and a toxicokinetics model (e.g. one compartment). On the basis of a single-compartment model, the daily intake that would give rise to a concentration of 200 µg/g of wet weight in the renal cortex in a

子供に於けるカドミウムの神経毒性は、1970年代と1980年代に種々の研究で調査されましたが、それ以来、殆ど関心が示されませんでした。これらの研究の大半に於いて、汚染のバイオマーカーは、髪の中のカドミウム濃度でした。臨床的に確定したグループの髪のカドミウム濃度を参考グループと比較したケースコントロール研究では、高い濃度が知恵の遅れた子供 (Marlowe et al., 1983; Jiang, et al., 1981) と学習に困難がある或いは失読症 (Pilhl & Parkes, 1977; Capel et al., 1981) の子供に報告されましたが、自閉症 (Sherer et al., 1982; Wecker et al., 1985) 或いは種々の神経精神学的診断 (運動、知覚、言語、或いは注意障害) のあるものがある子供では見られませんでした (Gillberg et al., 1982)。コホート研究で、Thatcher et al. (1982, 1984) は、髪の中のカドミウム濃度は、子供用の改定された Wechsler 知能尺度、特に言語知能尺度、での covariate-adjusted スコアと視覚誘発反応のスコアとは顕著に逆関係にあることを報告しました。Bonithon-Kopp et al. (1986) と Marlowe とその同僚 (Stellern et al., 1983; Marlowe et al., 1985a) は、髪の中のカドミウム濃度の増加と視覚—運動での子供の行動との間の関連を報告しました。Marlowe et al. (1985b) も、鉛とカドミウムは、相助的に作用して子供のクラスでの行動を損なうことを報告しました。Lewis et al. (1992) は、羊水中の7つの金属 (カドミウムを含む) の濃度と“胎児の毒性リスク”要素を結びつけ、高い要素のスコアの子供は、子供の能力の McCathy スケールでスコアを非常に低い方に調整したと報告しました。種々の金属の濃度間での強い相関は、子供の成果に対する個々の貢献の評価を不可能しました。汚染の有効なバイオマーカーでの子供に関して、カドミウムの神経毒性の地域住民を基にした研究は行われていません。

2.4 用量—反応関係

2.4.1 腎臓の限界濃度の推定

腎臓はカドミウムの長期に亘る影響に対して重要な器官あり、危機的な影響は、尿中に比較的低分子量のタンパク質の存在として最も表される腎尿細管機能障害です。実験動物での研究では、組織学的変化が、タンパク尿を作るのに必要な量より少ない量で腎臓尿細管で起こることを示しています。実験動物では、カドミウムの腎臓皮質濃度が wet weight の 200~300 mg/Kg である時に、細管損傷が、通常、組織学的に見られます。平均の限界濃度は、腎臓の損傷の最も重度な兆候として 300~400 mg/kg であるとの証拠があります。汚染された人間の人口の少数ではあるが重要な割合で影響をする限界腎臓皮質濃度は、予測することが出来ます。人間の病理解剖或いは生検からのデータは、一般的に、横断的です。即ち、腎臓のカドミウム濃度と影響は、多かれ少なかれ、同時に測定されました。カドミウムは損傷の過程として腎臓から失われますので、カドミウムにより誘発された最も重度の腎臓機能障害のケースがカドミウムの腎臓の最低濃度でありましたから、データは、限界濃度として解釈することは困難です。

肝臓のカドミウム濃度が高いと、腎臓のカドミウム濃度は非比例的に低くなり、腎臓への影響が発生します。汚染された労働者のグループの腎臓の平均限界濃度は、組織の 200 μ g/g から 320 μ g/g まで変化しました。限界皮質濃度を達成するのに必要な用量は、生体利用効率、特別な腎臓皮質濃度、トキシコキネティクスモデル (例えば、one compartment) に関するある推定 (例えば、カドミウムの体内蓄積の 1/4 から 1/3 は腎臓です) を基に推測が出来ます。Single-compartment model に基づいて、年令が 50 歳の人の腎臓皮質に於ける wt weight の 200 μ g/g の濃度まで増加する 1 日の摂取量は、260~480 μ g/day になるでしょう。この予測は、推定される 5%の胃腸での吸収、種々の生物学的半減期、腎臓に於ける体内蓄積物の異なる比例に基づいています。10%の吸収率と仮定すれば、相当する摂取量は、140~260 μ g/day となります。

person aged 50 would be 260–480 µg/day. This prediction is based on an assumed gastrointestinal absorption of 5%, various biological half-times, and various proportions of the body burden in the kidneys. If a 10% absorption rate is assumed, the corresponding intake would be 140–260 µg/day (WHO, 1992).

2.4.2 Estimates of the relationship of dietary intake of cadmium to tubular dysfunction

The dose–response relationship can be estimated from epidemiological data derived from population studies of the associations between exposure and response. Analysis of new population-based data indicates that the early renal effects of cadmium are prevalent after lower intakes than those indicated by the model used to establish the PTWI. That model is based on the assumption that at a renal cortical concentration of cadmium of about 200 µg/g, about 10% of the population would have renal tubular dysfunction.

In the recent meta-analysis of data from several studies of workers and environmentally exposed populations, an estimate was made of the prevalence of cadmium-induced tubular proteinuria that would be expected to occur in individuals with specific urinary concentrations of cadmium. This estimate suggests that the risk for tubular dysfunction begins to increase when urinary excretion of cadmium exceeds 2.5 µg/g of creatinine.

Information in the literature indicates an empirical relationship between the concentrations of cadmium in the diet and in the urine. This relationship is a function of age, as both variables increase with advancing years. Furthermore, diets are made up of a mixture of foods with various cadmium contents, and some foods with high concentrations of cadmium, such as shellfish and some grains, have low bioavailability. The estimates of dietary intake were derived from data for Japan, Sweden, and the USA. The mean dietary intake of cadmium by nonsmoking women in many areas of Japan was 26 µg/day (range, 19–51 µg/day), and the mean urinary excretion of cadmium was 4.4 µg/g of creatinine (range, 3.6–7.0). These results indicate that the ratio of dietary cadmium intake to urinary cadmium excretion is 6 (range, 3–15). Among Swedish nonsmoking women, the rate of cadmium excretion in the urine was 0.15 µg/g of creatinine and the median dietary intake was 10 µg/day (range, 5.7–26). The estimated ratio of dietary cadmium intake to urinary cadmium excretion ranged from 40 to 175 (Jarup et al., 1998b).

The relationship between urinary excretion of cadmium and predicted dietary intake can be derived from a theoretical model. The dietary intakes can be predicted by assuming values for creatinine excretion, bioavailability, and the amount of absorbed cadmium excreted in the urine. It is also assumed that there are no significant changes in dietary intake of cadmium over time. By choosing a set of assumptions, a table can be constructed relating dietary intake to urinary excretion (Table 5). The three scenarios shown are reasonable, as they are based on the toxicokinetics of cadmium. This table can be used to predict a range of dietary intakes for various urinary concentrations of cadmium, which depend on the assumed values for bioavailability and for the percentage of absorbed cadmium that is excreted in urine. Table 5 also shows the links between predicted cadmium intakes and the prevalence rates of renal tubular dysfunction. For population groups for whom it is reasonable to assume that 10% of their dietary cadmium is bioavailable and that 100% of the absorbed cadmium is excreted in urine, the model predicts that dietary intakes of cadmium greater than 0.5 µg/kg bw per day would result in an increased prevalence of renal tubular dysfunction.

Table 5. Relationship between predicted cadmium intake, urinary cadmium excretion at steady state, and predicted excess prevalence of renal tubular dysfunction

Scenario	Urinary excretion of	Predicted intake of cadmium ^b	Predicted excess prevalence of

2.4.2 尿細管機能障害に対する毎日のカドミウムの摂取量の関係の予測

用量反応関係は、汚染と反応間の関連の人工分布研究から取った疫学的データから予測出来ます。新しい人口分布に基づくデータの分析では、カドミウムの腎臓への初期の影響は、PTWI を確立するために使用したモデルで示された摂取量より低い摂取量の後に認められていることを示しています。そのモデルは、約 $200 \mu\text{g/g}$ のカドミウムの腎臓での限界濃度で、人口の約 10% が腎臓尿細管機能障害であるという推測に基づいています。

労働者や環境的に汚染された人々の種々の研究からのデータの最近のメタ分析では、カドミウムの尿中の特別な濃度の人々に発生すると予測されるカドミウムにより誘発される tubular proteinuria の流行に関する予測が行われました。この予測は、カドミウムの尿中への排泄がクレアチニンの $2.5 \mu\text{g/g}$ を超えると尿細管機能障害のリスクが増加し始めることを示唆しています。

文献による情報では、食物中と尿中のカドミウム濃度の間の実験に基づいて関係を示しています。この関係は、年令の増加に伴う種々の増加として年令による機能です。更に、食物は、種々のカドミウム濃度の食品の混合、貝やある穀物のようなカドミウムの高濃度の食品から出来ており、生体利用効率は低い。食物からの摂取量は、日本、スウェーデン、米国のデータから取りました。日本の多数の地域の非喫煙の女性の食物からの平均摂取量の推定は、 $26 \mu\text{g/day}$ (範囲、 $19\sim 51 \mu\text{g/day}$) で、カドミウムの尿中への平均排泄量は、 $4.4 \mu\text{g/g}$ のクレアチン (範囲、 $3.6\sim 7.0$) でした。これらの結果は、尿中へのカドミウムの排泄に対する食物のカドミウムの摂取の比率は、6 (範囲、 $3\sim 15$) であることを示しています。スウェーデンの非喫煙女性に於いては、尿中のカドミウムの排泄比率は、 $0.15 \mu\text{g/g}$ のクレチニンであり、食物からの平均摂取量は、 $10 \mu\text{g/day}$ (範囲、 $5.7\sim 26$) でした。尿中のカドミウムの排泄に対する食物からのカドミウムの摂取量の推定比率は、 $40\sim 175$ でした (Jarup et al., 1998b)。

カドミウムの尿への排泄と予測された食物からの摂取量の関係は、理論的モデルから取ることが出来ます。食物からの摂取量は、クレアチニンの排泄量、生体利用率、尿に排泄された吸収されたカドミウム量を推定することにより予測することが出来ます。時間の経過に伴うカドミウムの食物からの摂取量の顕著な変化がないことも推測されます。一連の消費を選択することにより、尿中への排泄に対する食物からの摂取量に関する表が作成することが出来ます (表 5)。示された 3 つのシナリオは、カドミウムのトキシコキネティクスに基づいていますので、妥当性があります。この表は、生体利用率を推定した値に依存するカドミウムの尿中の種々の濃度と尿中に排泄される吸収されたカドミウムのパーセントに対する食物からの摂取量の範囲を推測するために使用出来ます。表 5 は、予測されたカドミウムの摂取量と腎尿細管機能障害の有病率の関係も示しています。食物のカドミウムの 10% が生体利用が可能であり、吸収されたカドミウムの 100% が尿に排泄されると推測することが妥当である人口のグループに対して、モデルは一日当り、 $0.5 \mu\text{g/kg bw}$ 以上のカドミウムの食物からの摂取は腎尿細管機能障害の有病率の増加になることを予測しています。

表 5 予測されるカドミウムの摂取量、定常状態での尿中へのカドミウムの排泄、予測される腎尿細管機能障害の異常な有病率の間の関係

左表参照

	cadmium (µg/g creatinine) ^a	µg/day	µg/ kg bw per day ^c	renal tubular dysfunction in population (%)
Ratio of dietary cadmium intake to urinary excretion, 12 Bioavailability of cadmium in diet, 10% Absorbed cadmium excreted in urine, 100%	2.5	30	0.5	0
	4.2	50	0.8	4
	8.2	100	1.7	20
Ratio of dietary cadmium intake to urinary excretion, 24 Bioavailability of cadmium in diet, 10% Absorbed cadmium excreted in urine, 50%	2.5	60	1.0	0
	4.2	100	1.7	4
	8.2	200	3.3	20
Ratio of dietary cadmium intake to urinary excretion, 48 Bioavailability of cadmium in diet, 5% Absorbed cadmium excreted in urine, 50%	2.5	120	2.0	0
	4.2	200	3.3	4
	8.2	400	6.7	20

Assuming no significant change in cadmium intake over time

^a Derived mainly from studies of occupational exposure to cadmium

^b Predicted dietary intake =
$$\frac{\mu\text{g cadmium per g creatinine} \times 1.2 \text{ g creatinine per day}}{\text{fractional bioavailability} \times \text{fractional absorption of cadmium excreted in urine}}$$

^c Body weight of 60 kg assumed. The PTWI corresponds to a daily intake of 1 µg/kg bw.

The estimates of excess prevalence (Table 5) are based on studies of large, heterogeneous populations. The confidence intervals for the point estimates used are unknown and may be wide. Therefore, the estimates themselves may be conservative, in that they may be overestimates of the risks associated with dietary intake of cadmium, especially at lower concentrations. In addition, the variation in the ratios of intake to excretion in these studies may be due in part to differences in the ages of individuals in each study population. In the data set used for the United States population (Paschal et al., 2000), dietary intake of cadmium was found to be highest in early life and to decrease gradually with age, whereas urinary excretion is relatively low early in life and increases gradually with age, approaching critical concentrations at over 40 to 50 years of age.

3. Estimated dietary intake of cadmium

Exposure to cadmium can occur from food, water, smoking, or at work. The assessment reported here is limited to food. Cadmium is found in food as a result of contamination of soil with cadmium.

左表参照

異常な有病率（5）の予測は、種々の人口分布の研究に基づいています。使用した推定値に対する信頼区間は、不明であり、広いかも知れません。従って、特に低い濃度でのカドミウムの食物からの摂取に関連するリスクを過剰に予測するかも知れないという推測は少ない。更に、これらの研究では、排泄量に対する摂取量の比率の変化は、一部、各研究の人口分布に於ける年令の相違によるかも知れません。米国での人口分布（Paschal et al., 2000）に使用されたデータから、カドミウムの食物からの摂取量は、若い時は高く、年令と共に徐々に増加することが認められましたが、一方、尿への排泄量は、若い時は比較的少なく、年令と共に徐々に増加し、40才～50才で限界濃度に近づきます。

3. 予測される食物からのカドミウムの摂取量

カドミウムの汚染は、食品、水、喫煙から或いは職場で発生します。ここで報告された評価は、食品に限ります。カドミウムは、カドミウムによる土壌の汚染の結果、食品の中に見られます。カドミウムは、コントロールされた或いは予測できる農業或いは製造過程を通して食品に辿り着

Estimation of the intake of cadmium, like most contaminants, is complicated by the skewed distribution of residues, as it does not reach foods through controlled or predictable agricultural or manufacturing processes. In addition, crops vary widely with respect to the degree of absorption from soil, depending on soil type and salinity, and to the bioavailability of the cadmium. Estimation of the potential risks associated with intake of cadmium is further complicated by the fact that its absorption by the intestines is increased under conditions of iron, zinc, and/or calcium deficiency (Chaney et al., 1996).

Australia, China, and the USA submitted data for evaluation, and additional data were available from a review prepared in Denmark for the Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC, 1998, based, in part, on national data) and a review prepared by the European Commission. Information was also obtained from government publications and the general literature. The data covered 22 countries in Asia, Europe, North America, and Oceania.

A discussion paper prepared in Denmark (Codex Alimentarius Commission, 1998) identified leafy vegetables and cereals as the most significant sources of cadmium in the diet. Other sources include offal, since cadmium accumulates in the kidney and liver of animals. Oilseeds, crustaceans, and molluscs may also absorb large amounts of cadmium. In view of the relatively low consumption of these foods, however, their contribution to total cadmium intake is generally negligible.

Five regional diets were designed within the WHO Global Environment Monitoring System—Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food) to describe food consumption patterns in a wide variety of the world's populations on the basis of data from food balance sheets. These diets were used with the available data on cadmium residues to estimate typical cadmium intakes. In addition, the assessments of individual countries based on national consumption and residue data were summarized when available.

3.1 Residue data

3.1.1 Australia

The Australia New Zealand Food Authority (2000) submitted estimates of cadmium intake and detailed data on residues, the latter from the Australian market basket survey, in which composite samples are collected randomly throughout Australia, and other surveys. Food is sampled according to categories of staple, national, and regional foods. Each sample represents a composite of three to four samples. The number of samples analysed varies from six to 28, depending on the food. The study is repeated every 2 years. All foods are analysed in the state in which they would be consumed. Samples are taken of foods in 14 major groups: cereal and cereal products, meat and poultry, seafood, eggs, fats and oils, dairy products, vegetables, fruit, nuts and seeds, beverages, snack foods, sugar and confectionery, condiments, and foods for infants. Cadmium concentrations were available for samples collected between 1992 and 1998.

Data were also submitted to the Australia New Zealand Food Authority from surveillance surveys, typically in response to calls for data. Targeted surveys or surveys in which fewer than five samples were taken were not used. Data from studies conducted from 1985 onwards were used, but most were carried out after 1990.

The highest median concentrations of cadmium were found in shellfish and other seafood, organ meats, cocoa beans, potato products, peanuts, and various oilseeds.

3.1.2 Canada

Foods bought at the retail level in five Canadian cities during the period 1986–88 as part of a total

きませんので、大半の汚染物質と同様に、カドミウムの摂取量の予測は、残留物の傾斜分布より複雑になります。更に、作物は、土壌のタイプと塩分による土壌からの吸収度合い、カドミウムの生体利用率に関して非常に異なります。カドミウムの摂取量に関連する潜在的リスクの予測は、腸による吸収は、鉄、亜鉛、カルシウムの不足の状態が増加するという事実により、更に複雑になります (Chaney et al., 1996)。

評価のためにオーストラリア、中国、米国が送付したデータと追加のデータは、食品の添加物と汚染物質 (CCFAC, 1998、一部、国のデータに基づく) に関する Codex Committee 用にデンマークで準備された調査と欧州委員会で準備された調査から入手出来ました。情報は、政府の刊行物や一般的な文献からも入手しました。データは、アジア、ヨーロッパ、北アメリカ、オセアニアの 22 ヶ国をカバーしました。

デンマーク (国際食品規格委員会、1998) 準備された討議資料は、食物中のカドミウムの最も重要な源として、葉野菜と穀物を特定しました。カドミウムは、動物の腎臓や肝臓に蓄積されますので、他の源としては、臓器を含めます。油料種子、甲殻類、軟体動物も多少のカドミウムを吸収します。しかしながら、これらの食品の比較的少ない消費を考えると、カドミウムの総摂取量に対する影響は、一般的に無視出来ます。

WHO の世界的環境監視システム—汚染監視と評価プログラム (GEMS/Food) に於いて、食品のバランスシートからのデータに基づいて、世界人口の多種多様の食品消費パターンを記述するために、5つの地域での食物が計画されました。これらの食物は、典型的なカドミウムの摂取量を推定するために、カドミウムの残留に関する入手出来るデータと一緒に使用しました。更に、国内消費と残留データに基づく個々の国の評価を要約しました。

3.1 残留データ

3.1.1 オーストラリア

オーストラリアとニュージーランドの食品当局 (2000) は、カドミウムの摂取と残留に関する詳細なデータを提出しました。後者はオーストラリアの生計費からであり、種々のサンプルは、オーストラリア中からと他の調査からランダムに集めました。食品は、主食、国内的食品、地域的食品のカテゴリーに従ってサンプリングします。各サンプルは、3~4のサンプルの組成を代表します。分析されるサンプル数は、食品により 6~28 と異なります。研究は、2年毎に繰り返します。すべての食品は、消費される州で分析します。サンプルは主要な 14 グループ、穀物と穀物製品、獣鳥肉、海産物、卵、脂肪と油、酪農製品、野菜、果物、木の実と種子、清涼飲料水、スナック食品、砂糖と菓子類、香辛料、幼児用食品の中から選びます。カドミウム濃度は、1992年~1998年の間に集められたサンプルから入手出来ました。

データは、一般的には、要求に応じて監視調査からオーストラリアとニュージーランドの食品当局にも提出しました。目的を絞った調査或いは5つのサンプル以下の調査は使用しませんでした。1985年以降に行われた研究からのデータを使用しましたが、殆ど1990年以後に行いました。カドミウムの高い濃度の中央値は、貝類と他の海産物、臓物、カカオ豆、トテト製品、ピーナッツ、種々の油料種子に見られました。

3.1.2 カナダ

トータル食物調査の一部として、1986年~1988年の期間に、カナダの5つの都市での小売段階で

diet survey were prepared for consumption and combined into 113 composite samples. The concentrations of residues of cadmium in these foods were summarized by Dabeka and McKenzie (1995). The median concentrations were highest in bakery goods, cereals, and vegetables.

3.1.3 China

The 1990 total diet study in China consisted of four market basket surveys covering 12 provinces. Each market basket contained 13 composite samples. Summary data from this study and on the concentrations of cadmium in 634 raw food samples collected at local markets in Beijing, Shanghai, Jiangsu, Sichuan, and Guandong in 1992 were available (Yang et al., 1994). The highest mean cadmium concentrations were observed in rice, wheat, vegetables, and aquatic foods.

3.1.4 Czech Republic

In the 1995 total diet study in the Czech Republic, 12 'consumer baskets of foods', each consisting of 160 foodstuffs, were collected five times during the year and prepared according to standard recipes (National Institute of Public Health, 1996). The cadmium concentrations were not given in the summary report, but the levels of food consumption and cadmium intakes were used to calculate the median cadmium concentration in each food. The highest median concentrations were calculated for bread and rolls, leafy vegetables, and potatoes.

3.1.5 Germany

The cadmium contents of 117 foods typical of the German diet and bought between 1988 and 1991 were analysed for cadmium in 1506 samples (Muller et al., 1996). The mean concentrations of most foods were generally low, few foods having average residue concentrations greater than 5 µg/kg. Potatoes, carrots, lettuce, herbs, pulses, organ meats, flour and farinaceous products, and cocoa and products had the highest values.

3.1.6 Greece

Tsombaris and Tsoukali-Papadopoulou (1994a) reported the cadmium concentrations in food samples collected in Thessaloniki over 3 years. The highest mean values were reported for lamb and beef liver, vegetables, and pasta.

3.1.7 New Zealand

The 1997–98 total diet study in New Zealand (Vanoort et al., 2000) was carried out by the Institute of Environmental Science and Research Ltd, the New Zealand Institute for Crop and Food Research Ltd, and health protection officers. Samples were collected of 114 foods, comprising 66 national and 48 regional foods. The samples were collected at two dates to provide a measure of seasonal variation and were combined to provide 532 food samples for analysis. Data on cadmium concentrations were available in summary form. The highest mean concentrations were found in oysters and mussels, organ meats, potato crisps, and peanut butter.

3.1.8 Sweden

Jorhem and Sundstrom (1993) presented summary data on the cadmium contents of foods collected in Swedish markets between 1983 and 1990. Between one to 893 samples were collected and analysed. The highest mean concentrations were reported in beef and pork kidney, various seeds, wheat bran, and dark chocolate.

3.1.9 United Kingdom

購入した食品が消費用として準備され、113 種類のサンプルとなりました。これらの食品中のカドミウムの残留濃度は、Dabeka と McKenzie (1995) により要約されました。濃度の中央値は、パン製品、穀類、野菜で非常に高かった。

3.1.3 中国

中国での 1990 年のトータル食物研究では、12 省をカバーする 4 つの生計費調査から構成されていました。各生計費調査は 13 種類のサンプルを含んでいました。この研究と 1992 年に北京、上海、江蘇省、四川省、広東省の地域マーケットで収集した 13 種類の生食品のカドミウムの濃度に関する要約したデータが利用出来ました (Yang et al., 1994)。カドミウムの最も高い平均濃度は、米、小麦、野菜、水産食品に観測されました。

3.1.4 チェコ共和国

チェコ共和国に於ける 1995 年のトータル食物研究では、各バスケットが 16 の食材からなる食品の消費バスケットが、その年に 5 回、収集され、標準のレシピに従って準備されました (National Institute of Public Health, 1996)。カドミウム濃度は、要約した報告では示されていませんが、食品の消費レベルとカドミウムの摂取量が、各食品の中央値のカドミウム濃度を計算するために使用されました。最も高い中央値の濃度が、パン類、葉野菜、ポテトについて計算されました。

3.1.5 ドイツ

1988 年から 1991 年の間に購入された典型的なドイツの食物の 117 食品のカドミウム量が、1506 個のサンプル中のカドミウムを分析しました (Muller et al., 1996)。殆どの食品の平均濃度は、一般的に低く、 $5 \mu\text{g/kg}$ 以上の平均残留濃度の食物もありました。ポテト、人参、レタス、ハーブ、豆類、臓器肉、粉と穀粉製品、ココアとその製品が高い値でした。

3.1.6 ギリシャ

Tsombaris と Tsombaris-Papadopoulou (1994a) は、3 年以上、Thessaloniki で収集した食品のサンプルのカドミウム濃度について報告しました。ラムと牛の肉、野菜、パスタの高い平均値が報告されました。

3.1.6 ニュージーランド

ニュージーランドに於いて、1997 年から 1998 年にトータル食物研究が、Institute of Environment Science and Research Ltd.、New Zealand Institute for Crop and Food Research Ltd. と健康予防官により行われました。全国的な 66 と地域的な 48 の食品からなる 114 の食品が収集されました。サンプルは季節的变化の測定をするために 2 回、収集され、532 の食品が分析用に提供されました。カドミウム濃度に関するデータは、要約の形で入手出来ました。最も高い平均濃度は、カキとイガイ、臓器の肉、ポテトチップ、ピーナツバータで見られました。

3.1.8 スウェーデン

Jorhem と Sundstrom (1993) は、1983 年から 1990 年にスウェーデンのマーケットで収集した食品のカドミウム量に関するデータの要約を提出しました。1 から 893 のサンプルが収集され、分析されました。牛と豚の腎臓、数種の種子、wheat bran、dark chocolate に於いて、高い平均濃度が報告されました。

3.1.9 イギリス

The concentrations of cadmium and other metals in foods collected for the 1997 total diet study were reported by the Ministry for Agriculture, Fisheries and Food (1999a). Samples of foods in 20 groups were obtained from 20 towns in the United Kingdom. The mean concentrations were highest in offal, nuts, bread and cereals, potatoes, and green vegetables.

3.1.10 United States

A total diet study is conducted yearly in the USA by the Food and Drug Administration to provide information on the concentrations of pesticides, contaminants, and nutrients in the food supply and in the diets of several subgroups defined by age and sex. More than 200 foods are collected and analysed for contaminants and nutrients. The samples are collected in supermarkets in various areas three or four times a year. Foods that require cooking are prepared according to specified instructions or recipes. Foods from each collection that are ready for the table are combined and homogenized to produce a composite representing a specified region. Aliquots are analysed for organic contaminants, elements (including cadmium), and moisture (Pennington et al., 1996; Food & Drug Administration, 2000). Data on cadmium concentrations were available for samples collected between 1991 and 1999. The highest average concentrations were found in spinach, beef liver, potato products, and peanuts. Additional data on residues of cadmium in poultry and livestock are available in the published literature (Coleman et al., 1992).

3.1.11 European Union

Data on residues of cadmium in countries of the European Union were available in a report prepared by the European Commission (1996). The objective of the report was to provide a scientific basis for evaluating and managing risks to public health due to dietary exposure to cadmium. The report provided the concentrations of cadmium in 15 countries (Austria, Belgium, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Ireland, Italy, the Netherlands, Norway, Portugal, Spain, Sweden, and the United Kingdom). The data on 16 main food groups (milk, cheese, milk products, fats and oils, fruits, leafy vegetables, other vegetables, cereals and products, meat and products, organs and offal, equine products, fish and products, molluscs and crustaceans, eggs and products, alcoholic beverages, and non-alcoholic beverages) were grouped. The data on the concentrations in other foods groups (including breast milk) were combined into 13 additional categories. Both the occurrence and the concentrations of cadmium were provided, when applicable. The largest numbers of samples were of fruit, vegetables, cereals, meat, organ meat, and molluscs and crustaceans. The highest mean cadmium concentrations were found in organ meats and offal, meat and meat by-products, molluscs and crustaceans, seeds, and mushrooms.

3.1.12 Report prepared by Denmark for CCFAC

Summary data compiled in Denmark on the proposed maximum limits on cadmium in foods and discussed in CCFAC were also available. These data will form part of a paper that Denmark has been asked to prepare for the Thirty-third Session of CCFAC in 2001, as a contribution for the risk management of cadmium. Data from various European countries, Australia, Canada, China, Japan, Taiwan, and the USA were compiled either from written comments submitted by the various countries or from the published literature.

3.1.13 Other countries

Data on cadmium residues in selected foods were available from the published literature for several other countries including Finland (Tahvonen & Kumpulainen, 1994a,b), Japan (Watanabe et al., 1992), the Netherlands (Kreis et al., 1992), Pakistan (Ahmad et al., 1994), and Slovakia (Ursinyova & Hladikova, 1997). Although information on residues of cadmium are available in other publications, it was decided, in the interests of time, to limit the assessment to the data listed above.

1997年にトータル食物研究用に収集された食品中のカドミウムと他の金属の濃度が、Ministry for Agriculture, Fisheries and Foodにより報告されました(1999a)。20のグループの食品のサンプルが、イギリスの20都市から入手しました。平均濃度は、臓物、ナッツ、パンと穀物、ポテト、青野菜で非常に高かった。

3.1.10 米国

殺虫剤、汚染物質、食品や年齢と性別で定義された数種類のサブグループの食物中の栄養物質の濃度に関する情報を提供するために、米国では毎年、FDAによりトータル食物研究が行われます。200以上の食品が収集され、汚染物質と栄養物質について分析されます。料理を必要とする食品は、指定した指示或いはレシピに従って準備します。各々の収集から、直に食卓に上る食品は、特定の地域を表す組成を造るために、一まとめにし、均一化します。有機汚染物質、要素(カドミウムを含む)、湿気(Pennington et al., 1996; Food & Drug Administration, 2000)に対するアリコートが分析されます。カドミウム濃度に関するデータは、1991年から1999年の間に収集したサンプルから入手出来ました。高い平均濃度は、ハウレンソウ、牛の肝臓、ポテト製品、ピーナッツに見られました。鶏肉や家畜のカドミウムの残留物に関する追加のデータは、発刊されている文献(Coleman et al., 1992)から入手出来ます。

3.1.11 欧州連合

EUの国々に於けるカドミウムの残留に関するデータは、欧州委員会により準備された報告で入手可能でした(1996)。報告の目的は、カドミウムの食物の汚染による公衆衛生に対するリスクを評価・管理するための科学的基礎を提供することでした。報告では、15ヶ国(オーストリア、ベルギー、デンマーク、フィンランド、フランス、ドイツ、ギリシャ、アイスランド、イタリア、オランダ、ノルウェー、ポルトガル、スペイン、スウェーデン、イギリス)でのカドミウムの濃度を提供しました。16の主な食品のグループ(ミルク、チーズ、ミルク製品、脂肪と油、果物、葉野菜、他の野菜、穀物とその製品、肉とその製品、臓器と臓物、馬の製品、魚とその製品、軟体動物と甲殻類、卵とその製品、アルコール飲料、非アルコール飲料)に関するデータが分類されました。他の食品グループの濃度に関するデータは、追加の13のカテゴリーに統合されました。適用できる場合には、発生とカドミウム濃度が、提供されました。サンプル数の最も多いものは、果物、野菜、穀物、肉、臓物、軟体動物と甲殻類でした。カドミウムの最も高い平均濃度は、ホルモンや臓物、肉や肉の副製品、軟体動物や甲殻類に見られました。

3.1.12 CCFAC用にデンマークで作成された報告

食品中のカドミウムの提案された最大限界に関してデンマークで編纂し、CCFACで討議された要約のデータも入手出来ました。これらのデータは、カドミウムのリスク管理用の貢献として、デンマークが2001年にCCFACの第33回会合用に準備を求められていた資料の一部となります。ヨーロッパ諸国、オーストラリア、カナダ、中国、日本、台湾、米国からのデータは、様々な国により文書によるコメント或いは発行された文献より編纂されました。

3.1.13 その他の国々

選択した食品中のカドミウムの残留に関するデータは、フィンランド(Tahvonon & Kumpulainen, 1994a,b)、日本(Watanabe et al., 1992)、オランダ(Kreis et al., 1992)、パキスタン(Ahmad et al., 1994)、スロバニア(Ursinyova & Hladikova, 1997)を含む数々の他の国々で発行された文献から入手出来

3.2 Estimates of national intake

Estimates of the intake of cadmium were available for the populations of 14 countries and are summarized below and in Table 6. Most of the estimates were based on total diet studies. The Australian and Dutch estimates were based on data on consumption from national nutrition surveys, while the Japanese estimates and one set of Swedish estimates were based on studies of duplicate diets. Differences in cadmium intakes between these populations reflect differences in cadmium concentrations and food intakes and in the sources of data on consumption.

Table 6. Estimates of national cadmium intake

Country	Type of data on consumption	Estimated average Intake (µg/kg bw per day)
Austria ^a	Disappearance	0.15
Australia	National nutrition survey	0.1
Belgium ^a	Household purchases, 24-h records, and FAO food balance sheets	0.39
Canada	Total diet study	0.22
China	Total diet studies	Adult males: 0.21–0.51 Adult females: 0.13
Czech Republic	Total diet study	0.26
Denmark ^a	National consumption survey	0.28
Finland ^a	Not specified	0.16
France ^a	Household consumption survey	0.22
Germany	Total diet study	0.18
	Food consumption survey ^a	Males: 0.19 Females: 0.16
Greece	Total diet study	0.74, 0.94 ^a
Italy ^a	National consumption survey	0.33
Japan	Duplicate diet study	Adult males: 0.36 Adult females: 0.31
Netherlands	Food consumption survey	Males 16–70 years: 0.33–0.40 Females 16–70 years: 0.31–0.38
New Zealand	Total diet study (including /excluding oysters)	Young males: 0.40/0.24 ^b Adult males: 0.33/0.19 ^b Females: 0.33/0.16 ^b Vegetarian females: 0.24/0.24
Norway ^a		0.14
Portugal ^a	National consumption survey and	0.26

ました。カドミウムの残留に関する情報は、他の発刊物から入手出来ますが、時間の関係で、上記のデータに対して評価をすることが決定されました。

3.2 国民の摂取量の予測

14 カ国での人口に対するカドミウムの摂取量の予測が入手でき、下記の表 6 に要約します。推定の大半は、トータル食物研究に基づきました。オーストラリアとドイツの予測は、国の栄養調査からの消費に関するデータに基づきましたが、日本の予測とスウェーデンの予測は、二重の食物の研究に基づきました。これらの人口間でのカドミウムの摂取量の相違は、カドミウム濃度と食品の摂取、消費に関するデータ源の相違を反映しています。

表 6 国民のカドミウムの摂取量の予測

左表参照

	household budget data	
Spain ^a	Not specified	0.30
Sweden ^a	Not specified	Males: 0.12 Females: 0.13
United Kingdom	Total diet study	0.17
	National nutrition survey	0.20
United States	Total diet study	Adult males: 0.14–0.15 Adult females: 0.13–0.14

^a From European Commission

^b Intake from all foods / intake when the consumption of oysters is excluded

3.2.1 Australia

The estimates of intake of cadmium by the Australian population are based on the median concentrations in food samples collected in the Australian market basket survey, on the maximum concentrations specified in the Australian Food Standards Code, and on data on consumption from the 1995 national nutrition survey. Estimates based on maximum concentrations were also presented in the summary report prepared by the Australia New Zealand Food Authority. The estimated average intake based on the maximum concentrations was 0.6 µg/kg bw per day, while the 95th percentile of the intake distribution derived from the maximum concentrations was 1 µg/kg bw per day. More realistic estimates were derived from survey data, in which the estimated average intake of cadmium was 0.1 µg/kg bw per day and the 95th percentile was 0.4 µg/kg bw per day. Six foods (potatoes, milk, wheat flour, carrots, cocoa beans, and meat) contributed more than 50% of the total cadmium intake.

3.2.2 Canada

The estimated average intake of cadmium in 1986–88 by the Canadian population was 0.22 µg/kg bw per day. Bakery goods and cereals and vegetables contributed more than 75% of the total intake (Dabeka & McKenzie, 1995).

3.2.3 China

Estimates of the average intake of cadmium by Chinese men ranged from 0.21 to 0.51 µg/kg bw per day (assuming 60 kg body weight), cereals and vegetables contributing more than 70% of the total cadmium intake. Average estimates were also derived for other population subgroups.

3.2.4 Czech Republic

The estimated average intake of cadmium, derived from median cadmium concentrations, was 0.26 µg/kg bw per day. Potatoes, bread, and rolls contributed more than 60% of the total cadmium intake. The estimate based on maximum concentrations was 0.51 µg/kg bw per day.

3.2.5 Germany

The average intakes of cadmium by men and women in Germany were derived for 1988 and 1991

3.2.1 オーストラリア

オーストラリアの人口によるカドミウムの摂取量の予測は、オーストラリアの、market basket survey で収集した食品のサンプル中の濃度の中央値、オーストラリア食品標準規則で指定されている最大濃度、1995 年の国内の栄養調査からの消費に関するデータに基づいています。最大濃度に基づいた予測は、オーストラリア・ニュージーランドの食品当局により編纂された要約報告でも報告されていました。最大濃度に基づいた予測される平均摂取量は、一日当り、 $0.6 \mu\text{g/kg bw}$ でしたが、最大濃度から取った摂取量分布の 95th percile は、一日当り、 $1 \mu\text{g/kg bw}$ でした。より現実的な予測は、カドミウムの予測される平均摂取量は、一日当り、 $0.1 \mu\text{g/kg bw}$ であり、95th percile は、一日当り、 $10.4 \mu\text{g/kg bw}$ であった調査データから取りました。6 種類の食品（ポテト、ミルク、小麦粉、人参、カカオの実、肉）が、カドミウムの総摂取量の 50%以上を占めました。

3.2.2 カナダ

1986 年から 1988 年に於けるカナダの人口によるカドミウムの予測された平均摂取量は、一日当り、 $0.22 \mu\text{g/kg bw}$ でした。パン製品、穀物、野菜が総摂取量の 75%を占めました (Dabeka & McKenzie, 1995)。

3.2.3 中国

中国男性のカドミウムの平均摂取量の予測は、一日当り、 0.1 から $0.51 \mu\text{g/kg bw}$ (60 kg の体重と推測する) の範囲で、穀物と野菜が、カドミウムの総摂取量の 70%を占めました平均予測は、他の人口のサブグループからも取りました。

3.2.4 チェコ共和国

カドミウム濃度の中央値から取ったカドミウムの予測される平均摂取量は、一日当り、 $0.26 \mu\text{g/kg bw}$ でした。ポテト、パン、ロールパンが、総カドミウム摂取量の 60%を占めました。最大濃度に基づいて予測は、一日当り、一日当り、 $0.1 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.5 ドイツ

ドイツの男女のカドミウムの平均摂取量は、1988 年と 1991 年から取りました (Muller et al., 1998)。カドミウムの総摂取量は、両期間共に、同じようでしたが、種々の食品の占める割合は異なっていました。このことは、パン、ケーキ、ペストリーの消費の低下などの食べ物の習慣の変化を反映しています。これらは、野菜中のカドミウムの増加を含むカドミウム濃度の変化も反映してい

(Muller et al., 1998). The total cadmium intake was similar in both periods (0.14 µg/day for men and 0.10 and 0.11 µg/day for women in the two periods, respectively), but the contributions of various foods differed, reflecting changes in dietary habits such as decreased consumption of breads, cakes, and pastries. They also reflected a change in cadmium concentrations, including an increase in that in vegetables. The intake of cadmium ranged from 0.16 µg/kg bw per day for women in 1988 to 0.19 µg/kg bw per day for men in the same year. The value for both men and women in 1991 was 0.18 µg/kg bw per day.

3.2.6 Greece

The daily intakes of cadmium from common foods were estimated by Tsoumbaris and Tsoukali-Papadopoulou (1994b). The concentrations in samples collected in Thessaloniki and data on consumption were derived from three sources: answers to questionnaires, data from the Agricultural Bank of Greece, and WHO. The estimated average intakes derived with each of these sources were 0.74 µg/kg bw per day, 0.94 µg/kg bw per day, and 0.80 µg/kg bw per day, respectively.

3.2.7 Japan

Estimates of the intake of cadmium by Japanese men and women aged 30–69 were derived from analysis of duplicate diets collected twice in the same village in north-eastern Japan, once in 1976–77 and once in 1989 (Watanabe et al., 1992). The daily intake of cadmium was assumed to follow a log-normal distribution. The estimated intake decreased from 0.47 µg/kg bw per day for men and 0.46 µg/kg bw per day for women in 1976–77 to 0.36 µg/kg bw per day for men and 0.31 µg/kg bw per day for women in 1989. The apparent decline in intake was attributed in part to a decline in cadmium concentrations in cooked rice.

3.2.8 The Netherlands

Estimates of lifetime accumulated cadmium intake from foods and of average daily cadmium intake were derived for three populations who (a) do not grow their own vegetables and (b) grow their own vegetables in soils not necessarily contaminated with cadmium and (c) persons living in an area in which the soil was known to be heavily contaminated with cadmium and who grow and eat their own vegetables (Kreis et al., 1992). The estimated cadmium intake of adults ranged from 0.31 to 0.40 µg/kg bw per day.

3.2.9 New Zealand

The intake of cadmium was calculated for six population subgroups in the total diet study. The values were 0.40 µg/kg bw per day for men aged 19–24, 0.33 µg/kg bw per day for men aged 25 or more, and 0.33 µg/kg bw per day for women aged 25 or more. High concentrations of cadmium residues in oysters contributed 39%, 43%, and 52%, respectively, of the total intake of cadmium of these three subgroups.

3.2.10 Sweden

Vahter et al. (1990), Berglund et al. (1991), and Jorhem et al. (1998) reported estimates of the intakes of cadmium by 15 nonsmoking women. The estimates were based on analyses of duplicate diets collected over 7 days. The cadmium intakes ranged from 0.10 to 0.22 µg/kg bw per day, with an average of 0.12 µg/kg bw per day for males and 0.13 µg/kg bw for females.

Jorhem and Sundstrom (1993) presented summary data on the cadmium contents of foods and the associated estimated cadmium intakes of the Swedish population. Total cadmium intake was estimated to be 0.20 µg/kg bw per day. Wheat flour and potatoes contributed most to the total

ます。カドミウムの摂取量は、1988年、女性は、一日当り、一日当り、 0.1 、 $6 \mu\text{g/kg bw}$ で、同じ年の男性は、一日当り、 $0.19 \mu\text{g/kg bw}$ でした。1991年の男女の値は両方共に、一日当り、 $0.18 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.6 ギリシャ

一般的な食品からの日々の摂取量は、Tsombaris と Tsoukali-Papadopoulou (1994b) により予測されました。Thessaloniki で収集したサンプルの濃度と消費のデータは、3つの出所、質問票の回答、ギリシャの農業銀行からのデータ、WHO からとりました。これらの出所からの予測された平均摂取量は、各々、一日当り、 $0.74 \mu\text{g/kg bw}$ 、 $0.94 \mu\text{g/kg bw}$ 、 $0.80 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.7 日本

年齢が30才から69才までの日本人の男女のカドミウムの摂取量の予測は、日本の北東の同じ村で、2回、一度は1976年から1977年、もう一度は1989年に採取した duplicate 食物の分析から取りました (Watanabe et al., 1992)。カドミウムの毎日の摂取量は、対数正規分布に従うと想定されました。予測した摂取量は、1976年から1977年では、男性での一日当り、 $0.47 \mu\text{g/kg bw}$ 、女性では $0.46 \mu\text{g/kg bw}$ に、1989年では、男性での一日当り、 $0.36 \mu\text{g/kg bw}$ 、女性では $0.31 \mu\text{g/kg bw}$ に低下しました。摂取量の明らかな低下は、一部には、料理した米の中のカドミウム濃度の低下に起因していました。

3.2.8 オランダ

食物からの一生涯に蓄積されたカドミウムの摂取量と毎日の平均カドミウム摂取量の予測は、次の3種類の人口分布から取りました。1. 自分自身の野菜を栽培していない人口。2. カドミウムに必ずしも汚染されていない土壌で自分自身の野菜を栽培している人口。3. 土壌がカドミウムで非常に汚染されていることが知られている地域に住み、自分自身の野菜を栽培し、食べている人口 (Kreis et al., 1992)。成人のカドミウムの予測された摂取量は、一日当り、 $0.31 \mu\text{g/kg bw}$ から $0.40 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.9 ニュージーランド

カドミウムの摂取量は、トータル食物研究での6種類の人口サブグループに対して計算しました。値は、19才から24才までの男性は、一日当り $0.40 \mu\text{g/kg bw}$ 、25才以上の男性は、一日当り $0.33 \mu\text{g/kg bw}$ であり、25才以上の女性は、一日当り、 $0.33 \mu\text{g/kg bw}$ でした。カキ中の高濃度のカドミウム残留は、これらの3種類のサブグループのカドミウムの総摂取量の39%、43%、52%を占めました。

3.2.10 スウェーデン

Vahte et al. (1990)、Berglund et al. (1991)、Jorhem et al. (1998) は、15名の非喫煙の女性のカドミウムの摂取量の予測を報告しました。予測は、7日間以上、収集した duplicate 食物の分析に基づきました。カドミウムの摂取量は、一日当り、 $0.10 \mu\text{g/kg bw}$ から $0.22 \mu\text{g/kg bw}$ であり、男性は平均で $0.12 \mu\text{g/kg bw}$ 、女性は平均で $0.13 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

Jorhem と Sundstrom (1993) は、食品のカドミウム量とスウェーデンの人口の関連するカドミウムの摂取量に関する要約したデータを発表しました。総カドミウムの摂取量は、一日当り、 $0.20 \mu\text{g/kg bw}$ と予測しました。小麦粉とポテトが、総カドミウムの摂取量に対して殆どを占めました(一

cadmium intake (0.11 µg/kg bw per day).

3.2.11 United Kingdom

Estimates of the cadmium intake of the population of the United Kingdom and of adult consumers were derived from data on residues of cadmium from the total diet study of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food and data on consumption from the national food survey and the dietary and nutritional survey of British adults. The cadmium concentrations were assumed to be equal to the upper bound of the mean concentrations in the 20 groups of foods included in the total diet survey. The estimated cadmium intake of the total population was 0.20 µg/kg bw per day, and that of the 97.5th percentile of the distribution of intake by adult consumers was 0.23 µg/kg bw per day.

3.2.12 United States

Estimates of the cadmium intake of the population of the USA and 14 subpopulations were derived from the sources described earlier. The values for groups subdivided by age and sex ranged from 0.13 to 0.20 µg/kg bw per day.

3.2.13 European Union

The intakes of 15 major food groups (cheese and milk products were combined) were estimated for each country that submitted data on consumption and cadmium concentrations. When the data were available, estimates of both high and average intakes were provided. The most important sources of cadmium were cereals, vegetables, fruits, and molluscs. While cereals, vegetables, and fruits have lower concentrations of cadmium than molluscs, they are eaten much more frequently. Estimates of total intake were also derived for each country and varied from 0.12 µg/kg bw per day for the female population of Sweden to 0.94 µg/kg bw per day in Greece.

3.3 Other estimates

The intake of cadmium from wheat flour in Pakistan was 0.89 µg/kg bw per day. The concentrations were measured in samples of wheat and wheat by-products collected from local markets in three cities (Ahmad et al., 1994).

In Slovakia, 35 samples of breast milk, eight samples of infant formula, and 12 samples of pasteurized cows' milk were analysed. The median daily intakes of cadmium from these sources by a 5-kg infant, assuming a daily intake of 800 g of milk, were 0.08 µg/kg bw from breast milk, 0.1 µg/kg bw from infant formula, and 0.29 µg/kg bw from cows' milk (Ursinyova & Hladikova, 1997).

The Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1999b) in the United Kingdom estimated the average daily intakes of cadmium from infant foods to be 0.1 µg/kg bw for 0–6-month-old infants and 0.16 µg/kg bw for 6–12-month-old infants. The maximum intake for infants aged 0–6 months was 0.43 µg/kg bw per day, and the 97.5th percentile intake for those aged 6–12 months was 0.41 µg/kg bw per day. In another study, the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food estimated the intakes of cadmium from 101 samples of vegetarian diets, each representing a 7-day diet, to be 5–25 µg/day, with an average of 15 µg/day.

3.4 WHO GEMS/Food regional diets

The data on cadmium residues summarized above were used to assess the cadmium intakes in the five GEMS/Food regional diets. To simplify the assessment, the data on residues were grouped for

日当り、 $0.11 \mu\text{g/kg bw}$ 。

3.2.11 英国

英国の人口と成人の消費者のカドミウムの摂取量の予測は、Ministry of Agriculture, Fisheries and Foodのトータル食物研究からのカドミウムの残留に関するデータと国の食品調査と英国成人の食物と栄養の調査からの消費に関するデータから取りました。カドミウム濃度は、トータル食物調査に含まれた食品の20のグループの平均濃度の上限と等しいと推測しました。総人口の予測されたカドミウムの摂取量は、一日あたり、 $0.20 \mu\text{g/kg bw}$ であり、成人の消費者の摂取の分布の97.5th percentilesは一日当り、 $0.23 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.12 米国

米国の人口と14の小集団のカドミウムの摂取量の予測は、既に述べた情報源から取りました。年齢や性別で細分化したグループの値は、一日当り、 $0.13 \mu\text{g/kg bw}$ から $0.20 \mu\text{g/kg bw}$ でした。

3.2.13 欧州連合

主な15の食品グループ（チーズとミルク製品は一緒にしました）の予測は、消費とカドミウム濃度に関するデータを提出した各国に対して予測しました。データが入手出来た時に、高摂取量と平均摂取量を提供しました。カドミウムの最も重要な源は、穀物、野菜、果物、軟体動物でした。穀物、野菜、果物は、軟体動物よりカドミウムの濃度は低いが、非常に頻度多く食べられます。総摂取量の予測は、各国からも取りました。スウェーデンの女性の、一日当り、 $0.12 \mu\text{g/kg bw}$ からギリシャでの一日当り、 $0.94 \mu\text{g/kg bw}$ まで変化がありました。

3.3 他の予測

パキスタンでの小麦粉からのカドミウムの予測は、一日当り、 $0.89 \mu\text{g/kg bw}$ でした。3つの都市の地域の市場から収集した小麦と小麦の副製品のサンプルの濃度を測定しました (Ahmad et al., 1994)。

スロバキアでは、母乳の35サンプル、特殊調整粉乳の8サンプル、低温殺菌した牛のミルクの12サンプルが分析されました。毎日、800gのミルクを摂取すると思われる5-kgの幼児のカドミウムの日々の摂取量の中央値は、母乳からは $0.08 \mu\text{g/kg bw}$ 、特殊調整粉乳からは $0.1 \mu\text{g/kg bw}$ 、牛のミルクからは $0.29 \mu\text{g/kg bw}$ でした (Ursinyova & Hladikova, 1997)。

英国のMinistry of Agriculture, Fisheries and Food (1999b) は、幼児食品からのカドミウムの毎日の平均摂取量は、0から6ヶ月の幼児は $0.1 \mu\text{g/kg bw}$ 、6から12ヶ月の幼児は $0.16 \mu\text{g/kg bw}$ と予測しました。0から6ヶ月の幼児の最大摂取量は、一日当り量は、 $0.43 \mu\text{g/kg bw}$ であり、6から12ヶ月の幼児の97.5th percentile 摂取量は $0.41 \mu\text{g/kg bw}$ でした。その他の研究では、Ministry of Agriculture, Fisheries and Food は、菜食主義者の食物の101のサンプルからのカドミウムの摂取量を予測しました。7日間で $5 \mu\text{g/day}$ ～ $0.25 \mu\text{g/day}$ 、平均 $15 \mu\text{g/day}$ でした。

3.4 WHO GEMS/Food 地域食品

上記に要約したカドミウムの残留に関するデータは、5つのGEMS/Food 地域食品でのカドミウムの摂取量を評価するために使用しました。評価を簡素化するために、残留に関するデータは、地域食品を主な食品のグループに細分化しました。各食品のグループ内やデータが入手出来た各国に対して、可能な場合に（でなければ、平均残留値を使用しました）残留濃度の中央値をカドミウ

the major food groups in the regional diets. Within each food group, and for each country for which data were available, the median residue concentrations were derived for foods with similar patterns of cadmium residues, where possible (otherwise, mean residues were used), and these values were combined with the total consumption of these foods within each diet. Thus, for instance, since cadmium residues have been shown to occur at higher concentrations in leafy vegetables than in other vegetables, the foods in the 'Vegetables' category were combined into three groups: leafy vegetables, mushrooms, and all other vegetables. If no data were available on some foods in a region, surrogate data on similar food groups or other regions were used. Since no data were available for the African and Latin American regions, the European data on residues were used. Note that the 'European' regional diet does not represent only that of Europe, since it also includes those of Australia, Canada, New Zealand, and the United States. The concentrations of cadmium used in the assessment are summarized in Table 7, and the resulting estimates of cadmium intake from the five regional diets are summarized in Table 8.

Table 7. Concentrations of cadmium derived^a from various surveys^b (mg/kg)

Code	Commodity	Middle Eastern	Far Eastern	European
	<i>Cereals</i>			
GC 649	Rice	0.010	0.048	0.010
GC 654	Wheat	0.048	0.023	0.028
	Othere	0.016	0.016	0.016
VR 75	<i>All roots and tubers</i>	0.027	0.011	0.027
	<i>Pulses</i>			
VD 541	Soya beans	0.012	0.015	0.012
	Other	0.008	0.015	0.008
	<i>All sugar and honey</i>	0.003	0.000	0.003
	<i>Nuts and oilseeds</i>			
SO 697	Groundnuts, shelled	0.049	0.049	0.049
SO 702	Sunflower seeds	0.220	0.220	0.220
	Other oilseeds	0.148	0.148	0.148
	<i>Vegetable oils and fats</i>			
OR 541	Soya bean oil	0.003	0.003	0.003
OR 702	Sunflower seed oil	0.003	0.003	0.003
OR 172	Other vegetable oils	0.002	0.002	0.002
	<i>Stimulants</i>			
SB 715	Cocoa beans	0.120	0.120	0.120

ムの残留の同じようなパターンに対して取りました。そして、これらの値は、各食物内のこれらの食品の総消費量と結びつけました。従って、例えば、カドミウムの残留量は、他の野菜より葉野菜でより高い濃度で発生すること示しましたので、“野菜”のカテゴリーでの食品は、3つのグループ、葉野菜、キノコと全ての他の野菜に結びつけました。ある地域のある食品に関するデータが入手出来なかった場合には、同じような食品グループ或いは他の地域の代わりのデータを使用しました。アフリカやラテンアメリカ地域でのデータは入手出来ませんでしたので、残留に関するヨーロッパのデータを使用しました。“ヨーロッパ”地域の食物は、オーストラリア、カナダ、ニュージーランド、米国のものも含んでいますので、“ヨーロッパ”地域の食物は、ヨーロッパの食物のみを表さないことに注意して下さい。評価に使用したカドミウムの濃度は、表7に5つの地域食物からのカドミウムの摂取量の結果の予測は表8に要約します。

表7 種々の調査から取ったカドミウムの濃度

左表参照

	Other	0.002	0.002	0.002
HS 93	<i>All spices</i>	0.000	0.000	0.000
	<i>Vegetables</i>			
VL 53	Leafy vegetables	0.074	0.023	0.016
VO 450	Mushrooms	0.009	0.023	0.009
	Other	0.038	0.023	0.009
	<i>Fish and seafood</i>			
IM 151	Molluscs, except cephalopods, fresh	1.360	0.124	1.360
IM 150	Molluscs, canned	1.360	0.124	1.360
	Other	0.048	0.012	0.010
PE 112	<i>All eggs</i>	0.001	0.006	0.001
	<i>All fruit</i>	0.016	0.011	0.003
	<i>Milk and milk products</i>			
ML 106	Milk	0.001	0.004	0.001
	Milk products	0.005	0.004	0.001
	<i>Meat and offal</i>			
MO 1280	Cattle kidney	0.146	0.156	0.154
MO 1281	Cattle liver	0.146	0.378	0.077
MM 816	Horsemeat	0.270	0.626	0.270
MO 97	Edible offal of cattle, pigs, sheep	0.146	0.012	0.041
PM 110	Poultry meat	0.025	0.009	0.002
PO 111	Edible offal of poultry	0.025	0.019	0.005
PF 111	Poultry fat	0.025	0.009	0.003
PO 113	Poultry skin	0.025	0.009	0.003
	Other meat	0.053	0.009	0.003
	<i>All animals oils and fats</i>	0.001	0.001	0.001

^a Arithmetic average of median concentrations (when possible, otherwise mean residue concentration) for each country

^b When concentrations were not available for a particular food group, the European average was used.

左表参照

Table 8. Estimates of cadmium intake ($\mu\text{g/kg bw}$ per day, assuming body weight of 60 kg) in the WHO GEMS/Food regional diets

Code	Commodity	Middle Eastern	Far Eastern	African	Latin American	European
	<i>Cereals</i>					
GC 649	Rice	0.008	0.224	0.017	0.014	0.002
GC 654	Wheat	0.264	0.044	0.013	0.055	0.084
	Other	0.015	0.016	0.050	0.013	0.010
GC 80	All	0.287	0.283	0.080	0.082	0.095
VR 75	<i>All roots and tubers</i>	0.028	0.020	0.146	0.072	0.110
	<i>Pulses</i>					
VD 541	Soya beans	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000
	Other	0.003	0.004	0.002	0.003	0.002
VD 70	All	0.004	0.005	0.002	0.003	0.002
	<i>All sugar and honey</i>	0.004	0.000	0.002	0.005	0.005
	<i>Nuts and oilseeds</i>					
SO 697	Groundnuts, shelled	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002
SO 702	Sunflower seeds	0.004	0.000	0.002	0.000	0.000
	Other oilseeds	0.028	0.123	0.077	0.141	0.067
	All	0.032	0.123	0.081	0.142	0.069
	<i>Vegetable oils and fats</i>					
OR 541	Soya bean oil	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
OR 702	Sunflower seed oil	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
OR 172	Other vegetable oils	0.001	0.000	0.001	0.000	0.001
	All	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001
	<i>Stimulants</i>					
SB 715	Cocoa beans	0.001	0.000	0.000	0.003	0.006
	Other	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	All	0.001	0.000	0.000	0.003	0.007
HS 93	<i>All spices</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 8 WHO GEMS/Food 地域食物中のカドミウムの摂取量の予測 ($\mu\text{g/kg bw}$ 、60 kg の体重と予測)

左表参照

	<i>Vegetables</i>					
VL 53	Leafy vegetables	0.010	0.004	0.000	0.005	0.014
VO 450	Mushrooms	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
	Other	0.142	0.065	0.012	0.020	0.048
	All	0.152	0.069	0.012	0.025	0.063
	<i>Fish and seafood</i>					
IM 151	Molluscs, excluding cephalopods, fresh	0.000	0.008	0.011	0.018	0.188
IM 150	Molluscs, canned	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018
	Other	0.010	0.006	0.006	0.007	0.006
	All	0.010	0.014	0.017	0.026	0.212
PE 112	<i>All eggs</i>	0.000	0.001	0.000	0.000	0.001
	<i>All fruit</i>	0.055	0.016	0.005	0.014	0.011
	<i>Milk and milk products</i>					
ML 106	Milk	0.002	0.002	0.001	0.003	0.006
	Milk products	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001
AO 31	All	0.004	0.002	0.001	0.003	0.007
	<i>Meat and offal</i>					
MO 1280	Cattle kidney	0.000	0.000	0.000	0.001	0.001
MO 1281	Cattle liver	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
MM 816	Horsemeat	0.000	0.000	0.001	0.000	0.004
MO 97	Edible offal of cattle, pigs, and sheep	0.009	0.000	0.002	0.004	0.008
PM 110	Poultry meat	0.013	0.002	0.000	0.001	0.002
PO 111	Edible offal of poultry	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PF 111	Poultry fat	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
PO 113	Poultry skin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	Other meat	0.029	0.004	0.001	0.002	0.006
	All	0.053	0.007	0.004	0.008	0.021
	<i>Animals oils and fats</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

左表参照

Total diet ($\mu\text{g/kg bw}$ per day)	0.632	0.541	0.352	0.383	0.603
--	-------	-------	-------	-------	-------

The mean intake for a 60-kg person varied from 0.35 to 0.63 $\mu\text{g/kg bw}$ per day. It should be noted that these might be overestimates, since the GEMS/Food diets represent conservative estimates of consumption. Furthermore, the estimates derived for the African and Latin American diets might not be representative of exposure in these two regions.

Cadmium concentrations vary from food to food, higher values being observed in organ meats, molluscs, wheat, rice, leafy vegetables, potatoes, carrots, and oilseeds. In addition, the concentrations in specific foods show some variation between countries and within countries by region or season. The relative contribution of the various foods to the total intake of cadmium depends only partly on the cadmium concentration in these foods, as for most contaminants and food additives. The amounts consumed also play a significant role in the intake of cadmium. Consumption patterns differ among countries and among subpopulations within a country. Nevertheless, the same general patterns of cadmium intake were observed for most of the populations considered.

3.5 Biomarkers of exposure

In a recent national health survey in the United States, the urinary concentration of cadmium was measured in 22 162 participants. Both the uncorrected concentration and that corrected for creatinine increased with age and with amount of smoking. The arithmetic mean urinary cadmium concentration was 0.57 $\mu\text{g/L}$ or 0.48 $\mu\text{g/g}$ of creatinine. About 2.3% of the subjects had concentrations greater than 2 $\mu\text{g/g}$ of creatinine, and only 0.2% had concentrations that exceeded those consistent with the PTWI (Paschal et al., 2000).

In another analysis in which the urinary concentrations from the above study were used to verify those predicted, it was demonstrated that women excrete twice as much cadmium as males. The predictions were derived with the 'cadmium dietary exposure model' in which data on cadmium concentrations in food are derived from national surveys (the total diet study) and food consumption patterns are used to estimate dietary intake. The model was linked to a modification of the cadmium biokinetics model of Kjellstrom and Nordberg (WHO, 1992) to derive estimates of renal cortical concentrations and urinary cadmium concentrations. The peak renal cortical concentration in males was 15 $\mu\text{g/g}$ of wet cortex, while that in females was 29 $\mu\text{g/g}$ of wet cortex (Diamond et al., 2000).

Watanabe et al. (2000) also studied the dietary intake of cadmium by the Japanese population and at the same time measured biomarkers. Peripheral blood, urine, and duplicate food samples over 24 h were collected from 399 nonsmoking women in 1977–81 and from 588 nonsmoking women in 1991–97 at 27 survey sites throughout Japan. The average cadmium concentration in Japanese diets was 38 ± 2.0 $\mu\text{g/day}$ in 1977–81 and 26 ± 2.1 $\mu\text{g/day}$ in 1991–97. The changes in cadmium intake were attributed mainly to reduced consumption of rice. The current concentration is still high, however, when compared with international values.

Ikeda et al. (2000) reported the results of a nationwide survey in which cadmium was measured in 24-h duplicate food samples, blood, and urine. Analyses for 607 nonsmoking women showed that the concentrations of α_1 -microglobulin and possibly β_2 -microglobulin increased as a function of the cadmium concentrations in these three media. The geometric mean concentrations were 25 $\mu\text{g/L}$ in food, 1.8 $\mu\text{g/L}$ in blood, and 3.9 $\mu\text{g/g}$ of creatinine. The evidence for renal dysfunction was of borderline significance.

4. COMMENTS

60-kg の人の平均摂取量は、一日当り、 $0.35 \sim 0.63 \mu\text{g/kg bw}$ でした。GEMS/Food の食物は、控えめな消費予測を表しますので、これらは、過剰に予測されているかも知れないことに注意すべきです。更に、アフリカやラテンアメリカの食物から取られた予測は、これらの2つの地域での汚染を表していません。

カドミウム濃度は、食品から食品で異なります。より高い値は、臓器の肉、臓物、小麦、米、葉野菜、ポテト、人参、油種子で見られます。更に、特定の食品の濃度は、国家間と国内の地域或いは季節より変化を示します。殆どの汚染物質や食品添加物に関しては、カドミウムの総摂取量に対する種々の食品の相対的寄与率は、これらの食品中のカドミウムの濃度の一部分にのみ依存します。消費された量も、カドミウムの摂取量に重要な役割をします。しかしながら、カドミウムの摂取量の同じで一般的なパターンは、考慮した人口の大半で観測されました。

3.5 汚染のバイオマーカー

米国での最近の国民健康調査では、カドミウムの尿中の濃度を 22162 名の参加者について測定しました。クレチニンに対して無修正の濃度と修正した濃度は、年令と喫煙量により増加しました。尿中のカドミウムの算術的平均濃度は、 $0.57 \mu\text{g/L}$ 或いはクレアチニンの $0.48 \mu\text{g/g}$ でした。対象の 2.3% は、クレアチニンの $2 \mu\text{g/g}$ より濃度が高く、0.2% が、PTWI と一致する濃度を超えた濃度であった (Paschal et al., 2000)。

上記の研究から、尿中の濃度を予測した濃度を検証するために用いた他の分析では、女性は、男性の二倍のカドミウムを排泄することを示していました。予測は、食品中のカドミウムの濃度に関するデータが国民調査（トータル食物研究）より取られた“カドミウムの食物からの汚染”より取りました。そして、食品の消費パターンは、食物からの摂取量を予測するのに使用されます。モデルは、腎臓皮質濃度と尿中のカドミウム濃度の予測をするために、Kjellstrom と Nordberg (WHO, 1992) のカドミウムの生物動力学モデルの改良とリンクしていました。男性の腎臓皮質濃度のピークは、wet cortex の $15 \mu\text{g/g}$ であり、一方、女性は腎臓皮質濃度のピークは、wet cortex の $29 \mu\text{g/g}$ であった (Diamond et al., 2000)。

Watanabe et al. (2000) も、日本の人口によるカドミウムの食物からの摂取量を研究し、同時にバイオマーカーを測定しました。末梢血、尿、24 時間に亘る duplicate 食品サンプルを、1977 年から 1981 年に非喫煙の 399 名の女性、1991 年から 1997 年に日本国中の 27 の調査地点で非喫煙の 588 名の女性から収集しました。日本の食物中の平均カドミウム濃度は、1977 年から 1981 年では $38 \pm 2.0 \mu\text{g/day}$ で、1991 年から 1997 年では $26 \pm 2.1 \mu\text{g/day}$ でした。カドミウムの摂取量の変化は、主として、米の消費量の低下に起因していました。しかしながら、国際的な値と比較すると、現在の濃度は、未だ高い。

Ikeda et al. (2000) は、24 時間の duplicate 食品サンプル、血液、尿のカドミウムを測定した全国的規模の調査結果を報告しました。非喫煙の 607 名の女性に対する分析では、3つの分野に於けるカドミウム濃度の機能として、alpha1-microglobulin と beta2-microglobulin の濃度が増加したことを示しました。幾何平均濃度は、食品では $25 \mu\text{g/L}$ 、血液では $1.8 \mu\text{g/L}$ であり、クレアチニンの $3.9 \mu\text{g/g}$ であった。腎臓機能異常に対する確証は、境界線の重要性です。

4. コメント

4.1 Bioavailability

The bioavailability of cadmium can be affected markedly by nutritional factors. Low iron status, as determined from serum ferritin levels, which is prevalent among women, increases the uptake of cadmium from the gastrointestinal tract. Furthermore, the bioavailability of cadmium from some grains or seeds and foods in which it is bound to phytates, metallothionein, and other proteins may be reduced. The Committee examined the information on bioavailability that had become available since its forty-first meeting and concluded that it did not significantly differ from that considered previously. While information suggesting altered bioavailability due to dietary and nutritional factors exists, the bulk of the evidence indicates that the overall point estimate of 5% for bioavailability that was used in previous models of the relationship between cadmium intake and critical effects is appropriate. For specific populations, such as people with iron deficiency, the bioavailability of cadmium may range from 5 to 10%. Studies in which experimental animals were given parenteral injections of cadmium do not address the question of the bioavailability of ingested cadmium.

4.2 Health effects

Cadmium has an extremely long biological half-life in mammals (estimated to be 17 years or longer in humans) and accumulates in the liver and kidney. The presence of cadmium in food can result in long-term intake of low concentrations. The toxic effects of this metal on the kidneys (e.g. tubular dysfunction) are the most sensitive for use in evaluating its health effects. While cadmium can affect organs other than the kidneys, it generally does so at doses higher than those associated with renal effects. Acute effects can occur after ingestion of very high concentrations, and these may be fatal, owing to widespread systemic distribution. Such outcomes do not arise from typical dietary concentrations.

Non-renal effects

Neurodevelopmental and neurobehavioural effects have been demonstrated in experimental animals given repeated doses of cadmium by gavage. Studies in which cadmium was administered by injection showed that it cannot easily enter the brain, its entry being blocked by the blood-brain barrier. Cadmium can replace zinc in a number of metallo-enzymes, proteins, and ion channels, generally increases the brain concentrations of noradrenaline and dopamine, and impairs enzymes required for the production of neurotransmitters. The peripheral nervous system may also be susceptible to long-term exposure to cadmium, but the investigations of these effects were limited. Studies of occupationally exposed adults have shown increased prevalences of peripheral neuropathies and neurobehavioural deficits in specific domains (e.g. attention, psychomotor speed, memory). No population-based studies of neurotoxicity after environmental exposure of adults or children to cadmium were available in which validated biomarkers of exposure were used.

Experimental studies have shown that cadmium can induce metallothionein synthesis in the placenta and that cadmium is retained in the placenta after exposure to low concentrations. Large doses of cadmium compounds administered parenterally to several rodent species at a late stage of gestation induced severe placental damage and fetal deaths, whereas similar doses given parenterally in the early stages of gestation had teratogenic effects. Teratogenic effects have not been reported after oral intake of cadmium by animals or humans.

Cadmium is carcinogenic in experimental animals when given by injection or inhalation, and exposure of workers by inhalation has been shown to result in pulmonary cancer. There was no evidence that cadmium is carcinogenic to humans exposed by the oral route.

Large, population-based studies provided little evidence that changes in blood pressure or in the prevalence of ischaemic heart disease are related to blood or urinary cadmium concentrations.

4.1 生体利用効率

カドミウムの生体利用効率は、栄養素により顕著に影響を受けます。血清フェラチンレベルから測定されたように、女性の間に多い低鉄分は、胃腸管からのカドミウムの摂取を増加させました。更に、フィチン酸塩、金属結合性タンパク質、他のタンパク質と結合するある種の穀物或いは種子と食品からのカドミウムの生体利用効率は低下します。第41回の委員会以来入手出来た生体利用効率に関する情報を調べ、以前に検討したものと顕著に相違がないと結論付けました。食物や栄養のファクターによる生体利用効率の変化を示す情報が存在しますが、大半の証拠は、カドミウムと臨界効果の関係の以前のモデルで使った生体利用効率に対する5%の総合的予測は適正であることを示しています。鉄分不足の人などの特別な母集団では、カドミウムの生体利用効率は5~10%の範囲です。実験動物にカドミウムを非経口投与した研究では、摂取したカドミウムの生体利用効率の問題に取り組んでいません。

4.2 健康への影響

カドミウムは、動物では非常に長い生物学的半減期（17年間或いは人間より長いと推測される）を持っており、肝臓や腎臓に蓄積します。腎臓（即ち、尿細管機能障害）へのこの金属の毒性効果は、健康への影響を評価する際に使用する最も敏感なものです。カドミウムは、腎臓より他の臓器に影響を与えますが、カドミウムは、一般的に、腎臓への影響に関連する投与量より多い投与量で臓器に影響を与えます。急性な影響は、非常に高い濃度の摂取後に発生し、広範囲に亘る全身への拡散により致命的になります。そのような結果は、典型的な食物中の濃度からは起こりません。

腎臓以外の影響

神経発達と神経行動への影響は、チューブにより繰り返しカドミウムを与えた実験動物で実証されました。注射によりカドミウムを投与した研究では、カドミウムは、血液脳関門で阻止されて簡単に脳に到達しません。カドミウムは亜鉛を多数のノルアドレナリン、ドーパミン、イオンチャンネルに置き換え、神経伝達物質の生産に必要な酵素を損傷させます。抹消神経系も、カドミウムの長期に亘る汚染を受け易いですが、これらの影響に関する調査は限られていました。職業的にカドミウムに汚染された成人に関する研究では、末梢神経障害や特定の分野（即ち、注意、精神運動速度、記憶）での神経行動的欠陥の患者の増加を示していました。成人或いは子供が環境的に汚染された後に、汚染の有効なバイオマーカーを使用しての神経毒性の住民をベースにした研究は入手出来ませんでした。

実験的研究では、カドミウムは胎児の金属結合性タンパク質の合成を誘発し、低濃度の汚染の後に胎児に残ることを示していました。妊娠の最終段階で、数種の齧歯動物に非経口で投与した多量のカドミウム化合物は、数々の胎児損傷と胎児死亡を誘発しましたが、一方で、妊娠の初期に非経口で同様の投与量を与えると、催奇形効果が発生しました。催奇形効果は、動物或いは人間によるカドミウムの経口投与による摂取の後には報告されていません。

カドミウムは、注入或いは吸息すると、実験動物では発癌性となり、吸息により汚染した労働者は、肺がんになることを示していました。カドミウムは、経口ルートにより汚染した人間に対して発癌性となるとの確証は有りません。

多数の地域住民に基づく研究では、血圧の変化或いは ischaemic 心臓病患者の変化は、血中或いは尿中のカドミウム濃度と関係するとの確証は殆ど有りませんでした。

尿へのカドミウムの排泄は少量ですが、尿中のカドミウム濃度の増加と顕著に関連があり、血清

Excretion of cadmium in the urine is weakly but significantly associated with elevated urinary calcium concentrations and increased serum alkaline phosphatase activity. Studies of occupationally exposed persons suggest that high urinary and blood cadmium concentrations are associated with low bone mineral density. In environmentally exposed post-menopausal women, higher urinary cadmium excretion was associated with hypercalciuria, osteoporosis, reduced bone density, and an increased risk for fractures. The relationship between the effect of cadmium on calcium metabolism and osteoporosis should be investigated further in so far as the effects on bone might be a more sensitive indicator of the toxicity of cadmium than the renal effects.

Renal effects

The kidney is the critical target organ in mammals, including humans, exposed for long periods to small amounts of cadmium. Cadmium produces renal tubular dysfunction characterized by hypercalciuria and increased excretion of several low-molecular-mass proteins. In particular, *beta*₂-microglobulin has served as a biomarker of toxicity and may complement urinary cadmium as a biomarker of intake from various foods.

The renal tubular dysfunction seen in non-human mammalian species exposed to low dietary concentrations of cadmium is analogous to that produced in humans; in animals, this may progress to interstitial nephropathy and glomerulopathy with longer exposure. The critical renal concentration of cadmium that is associated with cadmium-induced nephropathy in animals is 50–200 µg/g of renal cortex, which is consistent with the results of studies of humans. Recent studies in various species indicate that when the concentration of cadmium in the renal cortex exceeds 250 µg/g, continued exposure results in further increases in the concentration in the liver but no further increase in that in the renal cortex. This effect has been suggested to reflect increased loss of cadmium in the urine owing to tubular dysfunction. Experimental studies have shown that impaired glomerular filtration (i.e. increased serum creatinine and blood urea nitrogen concentrations) is a less sensitive indicator of cadmium-induced nephropathy than are indicators of tubular dysfunction or injury.

Many reports from Japan and a large population-based study of environmental exposure to cadmium in Belgium confirm that the major risk factors for cadmium-induced renal effects in humans exposed other than occupationally include increasing age, higher alcohol consumption, cigarette smoking, and residence in a cadmium-contaminated region. In these studies, renal effects were investigated by using urinary biomarkers of renal dysfunction. Several markers of proximal tubular function, including *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase activity and the concentrations of retinol-binding protein, *beta*₂-microglobulin, amino acids, and calcium, are related to the urinary cadmium concentrations of environmentally exposed individuals. No threshold was found for the relationship between *N*-acetyl-*beta*-glucosaminidase activity and urinary cadmium concentration. A 10% prevalence of abnormal values for these markers was found when urinary cadmium concentrations exceeded 2–4 µg/24 h or the estimated concentration in the renal cortex was > 50 µg/g. Estimates of the relationship between urinary cadmium concentration and abnormal values for these markers were considerably lower in studies of environmental exposure than in studies of occupational exposure; however, past exposure would be underestimated in areas where cadmium concentrations in the environment had been reduced prior to the time the study was conducted. Certain individuals, such as patients with diabetes or pre-existing renal disorders, appear to be at increased risk for cadmium-related renal dysfunction.

Follow-up studies of workers with cadmium-related renal dysfunction suggest that many of the changes are irreversible, with continued declines in glomerular function for decades after cessation of heavy exposure. The low-molecular-mass proteinuria associated with long-term exposure to cadmium is deemed to be irreversible. This assumption is borne out by the observation in studies of occupational and environmental exposure that renal tubular function in people who excrete > 1000 µg of *beta*₂-microglobulin in the urine per 24 h does not improve or even worsens within 5 years of reduction of exposure to cadmium. The prognosis appears to be more favourable for individuals with

中のアルカリ・ホスファターゼの活動を促進しました。職業的に汚染された人々の研究では、尿中や血中のカドミウムの高濃度は、骨の低鉱物密度と関連があることを示しています。環境的に汚染された閉経後の婦人では、尿中への高濃度のカドミウムの排泄は、高カルシウム症、骨粗しょう症と関連があり、骨の密度を低下させ、骨折のリスクを増大させました。骨に関する影響は、腎臓への影響よりカドミウムの毒性の感度のよい指標になることだけに限って言えば、カルシウム代謝に関するカドミウムの影響と骨粗しょう症との関連は、更に調査しなければなりません。

腎臓への影響

腎臓は、少量のカドミウムの少量で長期間に亘り汚染された人間を含む哺乳動物の重要な標的臓器です。カドミウムは、高カルシウム症と数々の低分子量のタンパク質の排泄の増加に特徴される腎尿細管機能障害を起こします。特に、beta2-microglobulin は、毒性のバイオマーカーとしての役割を果たし、種々の食品からの摂取のバイオマーカーとして尿中のカドミウムを補完します。カドミウムの食物からの低濃度で汚染された人間以外の哺乳動物に見られる腎尿細管機能障害は、人間に発生したカドミウムと類似です。即ち、動物では、間質性腎症や糸球体腎症に進みます。動物で、カドミウムにより誘発される腎症に関連するカドミウムの腎臓中の限界濃度は、腎皮質の 50 から 200 $\mu\text{g/g}$ であり、このことは、人間の研究結果と一致します。種々の種に於ける最近の研究では、腎皮質のカドミウム濃度が 250 $\mu\text{g/g}$ を超えて、汚染され続けると、肝臓での濃度は更に増加しますが、腎皮質での濃度は更に増加しないことを示しています。この影響は、尿細管機能障害により、尿中のカドミウムの損失の増加を反映していることを示していました。実験的研究では、損傷した糸球体ろ過（即ち、血清クレアチニンと血中尿素窒素の濃度の増加）は、尿細管機能障害或いは損傷の指標であるほど、カドミウムにより誘発された腎症の感度のよい指標にならない。

日本からの多数の報告やベルギーでカドミウムに環境的に汚染された多数の居住者に基づいた研究では、職業的以外に汚染された人間に於いて、カドミウムにより誘発された腎臓への影響に対する主なリスク要因には、年齢の増加、多量のアルコール消費、喫煙、カドミウムによる汚染地域での居住が含まれることを確認しています。これらの研究では、腎臓への影響は、腎臓機能障害の尿のバイオマーカーを使用して調査しました。N-acetyl-beta-glucosaminidase 活動とレチノ結合タンパク質、beta2-microglobulin、アミノ酸、カルシウムを含んで、近接尿細管機能の種々のマーカーが、環境的に汚染された人々の尿中のカドミウム濃度と関連があります。N-acetyl-beta-glucosaminidase の活動と尿中のカドミウム濃度の関係に対するスレッショールドは見られなかった。尿中のカドミウム濃度が 2-4 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ を超えるか、或いは腎皮質の予測される濃度が 50 $\mu\text{g/g}$ 以上である時は、これらのマーカーに対する異常値の 10% の重病率が見られた。尿中のカドミウム濃度とこれらのマーカーに対する異常値の間の関連の予測は、職業的汚染より環境的汚染の研究の方が非常に低かった。しかしながら、過去の汚染は、環境に於けるカドミウム濃度が研究を行う以前に低下してしまった地域で過少に見積もられたのでしょう。糖尿病や既存の腎臓機能障害のある患者のような人々は、カドミウムに関連する腎臓機能障害のリスクを増大しているようである。

カドミウムに関連する腎臓機能障害のある労働者の追跡研究では、変化の多くは元に戻らず、酷い汚染の中止後数十年間、glomerular 機能は継続して低下したままであることを示しています。カドミウムの長期間の汚染と関連する低分子量のタンパク尿は、元に戻らないようです。この推定は、24 時間当りの尿中の beta2-microglobulin が 1000 μg を超える人の腎尿細管機能は改善されないか、或いはカドミウムの汚染の低下から 5 年以内は悪化するとの職業的と環境的の汚染の研究での観測で論証されます。低い体内蓄積の人々に対する予後診断は、良好のようであります。ベルギーの研究では、参加者が研究に入った時に見られた複雑な尿細管への影響のあるものは、追跡時にはもはや明らかではなく、或いは少なくとも、当座の間、glomerular 機能の低下と関連があ

lower body burdens. In the Belgian study, some of the subtle tubular effects seen at the time the participants entered the study were no longer apparent at follow-up or, at least, were not associated with a decline in glomerular function in the interim.

A comprehensive meta-analysis of the relevant epidemiological studies and a risk assessment suggested that the risk for renal dysfunction and progression to clinical disease could be lowered if exposure to cadmium were reduced such that the concentrations of cadmium in the kidney and urine were maintained below 50 µg/g of renal cortex and 2.5 µg/g of creatinine, respectively.

4.3 Dietary intake

The diet is the major route of human exposure to cadmium. Contamination of foods with cadmium results from its presence in soil and water. Estimation of the intake of cadmium, like that of most contaminants, is complicated by the skewed distributions of residues, since cadmium does not reach foods through controlled or predictable agricultural or manufacturing processes. In addition, crops differ widely with respect to their absorption of cadmium from soil, depending on soil type and salinity, and in the bioavailability of cadmium. The cadmium concentrations in food samples vary widely, but the highest average concentrations are detected in molluscs, kidney, liver, cereals, cocoa, and leafy vegetables. Estimates of mean cadmium intake from national food surveys and total diet studies generally ranged from 0.1 to 0.5 µg/kg bw per day. The estimates derived from the WHO regional diets, based on food balance sheets, ranged from 0.35 to 0.63 µg/kg bw per day.

4.4 Estimates of the relationship between dietary intake of cadmium and tubular dysfunction

Analysis of new data from population-based studies indicates that the early renal effects of cadmium are prevalent at lower intakes than those indicated by the model used by the Committee to confirm the PTWI at its forty-first meeting. That model was based on the assumption that about 10% of a population with a concentration of cadmium in the renal cortex of about 200 µg/g would experience renal tubular dysfunction.

In a recent meta-analysis of data from several studies of workers and general populations exposed to cadmium, the prevalence of cadmium-induced tubular proteinuria that would be expected to occur in individuals with specific urinary concentrations of cadmium was estimated. This analysis suggests that the risk for tubular dysfunction begins to increase when the urinary excretion of cadmium exceeds 2.5 µg/g of creatinine. The Committee considered this value to represent no excess prevalence of renal tubular dysfunction.

The Committee used data in the literature to investigate the empirical relationship between the concentration of cadmium in the diet and urinary concentrations. This relationship is a function of increasing cadmium concentration in the renal cortex and increasing urinary excretion with age. Furthermore, diets are made up of a mixture of foods with different cadmium contents, and its bioavailability from some of the foods that contain high concentrations, such as shellfish and some grains, is low. The estimates were derived from data from Japan, Sweden, and the USA. The mean dietary intake of cadmium by nonsmoking women in many areas of Japan was 26 µg/day (range, 19–51 µg/day), and the mean urinary excretion of cadmium was 4.4 µg/g of creatinine (range, 3.6–7.0 µg/g of creatinine). These data indicate a ratio of dietary cadmium to urinary cadmium excretion of 6 (range, 3–15). The data from Sweden indicate that female nonsmokers have a urinary cadmium excretion of 0.15 µg/g of creatinine and a median dietary intake of 10 µg/day (range, 5.7–26 µg/day). The estimated ratio of dietary cadmium to urinary cadmium excretion ranged from 40 to 175. The mean dietary intake of cadmium in a total diet study in the USA was 5.5 µg/day, and the mean value for urinary excretion of cadmium obtained independently in a national survey of health and nutrition in the USA was 0.5 µg/g of creatinine, resulting in a ratio of dietary cadmium to urinary cadmium

りませんでした。

関連する疫学研究やリスク評価の総合的なメタ分析では、腎臓や尿中のカドミウム濃度がそれぞれ、腎皮質の $50 \mu\text{g/g}$ とクレアチニンの $2.5 \mu\text{g/g}$ 以下に維持されるように、カドミウムの汚染が削減されていると、腎臓機能障害のリスクや臨床的疾患への進行は低下すると推測しています。

4.3 食物からの摂取

食物は、カドミウムの人間への汚染の主要なルートです。カドミウムでの食品の汚染は、土壌や水の中に存在している結果です。カドミウムは、コントロールされた或いは予測可能な農業的或いは製造過程を通して食品に到達しませんので、殆どの汚染物質のように、カドミウムの摂取量の推定は、残留物の傾斜分布により複雑になります。更に、作物は、土壌のタイプや塩分、カドミウムの生体利用効率により、土壌からの吸収が非常に異なります。食品サンプル中のカドミウム濃度は、広範に亘りますが、平均高濃度は、軟体動物、腎臓、肝臓、穀物、カカオ、葉野菜に見られます。国民食品調査やトータル食物研究によるカドミウムの平均摂取量の予測は、一般的に、一日当たり、 0.1 から $0.5 \mu\text{g/kg}$ の範囲でした。食品のバランスシートに基づいた WHO の地域食物から取った予測は、一日当たり、 0.35 から $0.63 \mu\text{g/kg bw}$ の範囲でした。

4.4 カドミウムの食品からの摂取量と尿細管機能障害の関連の予測

地域住民に基づいた研究の新しいデータの分析では、カドミウムの腎臓への初期の影響は、第 4 1 回の会合で PTWI を確認するために委員会が使用したモデルにより示された摂取量より低い摂取量が多いことを示しています。そのモデルは、腎皮質の約 $200 \mu\text{g/g}$ のカドミウム濃度の住民の約 10% は腎尿細管機能障害を経験しているだろうという推測に基づいていました。

カドミウムに汚染した労働者や一般住民に関する種々の研究からのデータの最近のメタ分析では、カドミウムの特定の尿中濃度の人々に起きると予測されるカドミウムにより誘発された腎尿細管機能障害の流行が予測された。この分析では、カドミウムの尿中への排泄がクレアチニンの $2.5 \mu\text{g/g}$ を超えると、尿細管機能障害のリスクが増加し始めることを予測しています。委員会は、この値は腎尿細管機能障害の異常な流行を表していないと考えました。

委員会は、食物中のカドミウム濃度と尿中の濃度の間の経験による関連を調査する文献からのデータを使用しました。この関連は、腎皮質中のカドミウム濃度の増加と年令に伴う尿への排泄の増加の役割です。更に、食物は異なるカドミウム濃度の食品の混合で成り立っており、甲殻類やある穀物のような高濃度を含むある食品からの生体利用効率は低い。予測は、日本、スウェーデン、米国から取りました。日本の多くの地域での非喫煙女性のカドミウムの食物中の平均摂取量は、 $26 \mu\text{g/day}$ (範囲、 $19 \sim 51 \mu\text{g/day}$) であり、カドミウムの尿中の平均排泄量は、クレアチニンの $4.4 \mu\text{g/g}$ (範囲、クレアチニンの $3.6 \sim 7.0 \mu\text{g/g}$) でした。これらのデータは、尿中へのカドミウムの排泄に対する食物中のカドミウムの比率が 6 (範囲、 $3 \sim 15$) であることを示しています。スウェーデンのデータでは、女性の非喫煙者は尿中への排泄はクレアチニンの $0.15 \mu\text{g/g}$ であり、食物からの摂取量の中央値は $10 \mu\text{g/day}$ (範囲、 $5.7 \sim 26 \mu\text{g/day}$) であることを示しています。尿中へのカドミウムの排泄に対する食物中のカドミウムの推測される比率は 40 から 175 でした。米国でのトータル食物研究に於けるカドミウムの食物からの平均摂取量は $5.5 \mu\text{g/day}$ であり、米国での健康と栄養に関する国民調査で独立して得られたカドミウムの尿中への排泄の平均値はクレアチニンの $0.5 \mu\text{g/g}$ でした。これは、尿中のカドミウムに対する食物中のカドミウム比率が 11 の結果でした。

尿中へのカドミウムの排泄量とカドミウムの食物からの摂取量の関係は、理論モデルから予測出来ます。時間に対するカドミウムの食物からの摂取量の顕著な変化が無ければ、食物からの摂取量は尿中に排泄された量から予測出来ます。推測の条件を選択されると、尿中へのカドミウムの排泄に対する食物からの摂取量に関連する表を作成することが出来ます (表 5)。3 つの選択したシナリオはカドミ

excretion of 11.

The relationship between urinary cadmium excretion and dietary intake of cadmium can be predicted from a theoretical model. Possible dietary intakes can be predicted from the amount of cadmium excreted in the urine if it is assumed that there are no significant changes in the dietary intake of cadmium over time. Once a set of assumptions has been chosen, a table can be constructed, relating dietary intake to urinary cadmium excretion (Table 5). The three selected scenarios are reasonable, as they are based on data for the toxicokinetics of cadmium. This table can be used to predict a range of dietary intakes for different urinary cadmium concentrations, which depend on the assumed values for bioavailability and for the percentage of absorbed cadmium that is excreted in urine. Table 5 also links the predicted cadmium intakes to prevalence rates of renal tubular dysfunction. For population groups in which it is reasonable to assume that 10% of dietary cadmium is bioavailable and that 100% of the absorbed cadmium is excreted in urine, the model predicts that dietary intakes of cadmium $> 0.5 \mu\text{g/kg bw}$ per day would result in an increased prevalence of renal tubular dysfunction.

The estimates of excess prevalence (Table 5) were derived from studies of large, heterogeneous populations. As the confidence intervals for the point estimates are unknown, and may be wide, the estimates may be conservative in that they may be overestimates of the risks associated with dietary intake of cadmium, especially at lower levels. The Committee concluded that the incidences of renal tubular dysfunction in populations with various dietary intakes of cadmium can serve as a reasonable basis for risk assessment if the assumptions made when applying the predictive model are scientifically based and clearly described.

5. EVALUATION

Even though new information indicates that a proportion of the general population may be at increased risk for tubular dysfunction when exposed at the current PTWI of $7 \mu\text{g/kg bw}$, the Committee maintained this value because the risk estimates that can be made at present are imprecise. The range of predicted dietary intakes that may be associated with an excess prevalence of renal tubular dysfunction (Table 5) can be used to indicate risk at various levels of intake by potentially sensitive groups within a population.

The Committee recommended that seven areas be investigated in order to increase confidence in the estimates of excess prevalence of renal tubular dysfunction.

1. The toxicokinetics of cadmium should be investigated in controlled experimental studies in humans of the relationship between dietary intake and urinary excretion of cadmium by the general population and by groups at high risk, such as people with iron deficiency, renal disease, or diabetes mellitus.
2. Surveys should be conducted in which individual records of the food consumption of specific population subgroups are kept.
3. Studies should be conducted of the bioavailability of cadmium from specific foods and of the factors that affect bioavailability, such as age, health status, and dietary nutrients.
4. The relationship between biomarkers of renal tubular dysfunction and biomarkers of exposure should be elucidated.
5. The relationship between renal tubular dysfunction (as determined by specific biomarkers), clinical disease, and mortality should be studied.

ウムのトキシコキネティクスに基づいていますので、妥当性があります。この表は、尿中のカドミウム濃度に対する食物からの摂取量の範囲を予測するのに使用出来ます。これは、生体利用効率と尿中に排泄される吸収されたカドミウムのパーセントの推測値に依存します。表5は、腎尿細管機能障害の有病率に対する予測されるカドミウムの摂取量にもリンクします。食物からの摂取量の10%は生体利用が可能であり、吸収されたカドミウムの100%は、尿に排泄されると推測することは妥当である人口グループに対して、モデルは、一日当たり、0.5 $\mu\text{g/kg bw}$ 以上の食物からの摂取は腎尿細管機能障害の増加になると予測します。

異常な有病率（表5）の予測は、大規模で、異種の分布の研究から取りました。推定値に対する信頼区間は不明であり、広範囲になりますから、推定値が特に低いレベルでは、カドミウムの食物からの摂取量と関連するリスクの過剰推測になるために推測するのに慎重になります。予測されるモデルが、科学的に基づいており、明確に説明されている時に推測が行われていれば、カドミウムの種々の食物からの摂取する人々に於ける腎尿細管機能障害の発生は、リスク評価に対する妥当な基礎として役立つと、委員会は結論付けました。

5 評価

新しい情報は、7 $\mu\text{g/kg bw}$ の現在のPTWIで汚染されると、一般的な分布の割合は腎尿細管機能障害のリスクの増大になることを示していますが、現在、行うことが出来るリスク予測は不明確ですから、委員会はこの値を維持しています。腎尿細管機能障害（表5）の有病率に関連する食物からの予測摂取量の範囲は、分布内の潜在的に敏感なグループによる種々の摂取量レベルでのリスクを示すのに使用出来ます。

委員会は、腎尿細管機能障害の異常な有病率の予測の信頼性を増すために7つの分野を調査することを推奨しました。

1. カドミウムのトキシコキネティクスについて、一般的な分布と鉄分不足、腎臓病或いは糖尿病などの高リスクのグループの食物からの摂取量とカドミウムの尿中への排泄量の間の関係の人間に於けるコントロールした実験研究を行うべきである。
2. 調査は、特定の分布のサブグループの食品の消費に関する個々の記録が残されているもので行わなければならない。
3. 調査は、特定の食品からのカドミウムの生体利用効率と年齢、健康状態、食物中の栄養素などの生体利用効率に影響を与える要素について行わなければならない。
4. 腎尿細管機能障害のバイオマーカーと汚染のバイオマーカーの関係を解明しなければならない。
5. 腎尿細管機能障害（特定のバイオマーカーで測定されたように）、臨床的疾患、死亡の関係を研究しなければならない。

6. The influence of cadmium on calcium metabolism and osteoporosis requires clarification.
7. Studies should be conducted to determine the effect of exposure to cadmium (integrated over a lifetime) on the development of osteoporosis later in life.

6. REFERENCES

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999) *Draft Toxicological Profile for Arsenic*, Washington DC, US Public Health Service, US Department of Health and Human Services.

Ahmad, S., Waheed, S., Mannan, A., Fatima, I. & Qureishi, I.H. (1994) Evaluation of trace elements in wheat and wheat by-products. *J. AOAC Int.*, **77**, 11–18.

Ahokas, R. & Dilts, P. (1979) Cadmium uptake by the rat embryo as a function of gestational age. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **135**, 219–222.

Alfven, T., Elinder, C.-G., Carlsson, M., Grubb, A., Hellstrom, L., Persson, B., Pettersson, C., Spang, G., Schutz, A. & Jarup, L. (2000) Low level cadmium exposure and osteoporosis. *J. Bone Min. Res.* (in press).

Anderson, C. & Danylchuk, K.D. (1979) Plasma levels of immunoreactive parathyroid hormone in dogs chronically exposed to low levels of cadmium chloride. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **2**, 1151–1159.

Anderson, O., Nielsen, J.B. & Svendsen, P. (1988) Oral cadmium chloride intoxication in mice: Effects of dose on tissue damage, intestinal absorption and relative organ distribution. *Toxicology*, **48**, 225–236.

Ando, M. (2000) Study on the intestinal absorption of cadmium in rats given minimum amounts of cadmium chloride or cadmium-polluted rice for 8 months.

Ando, M., Shimizu, M., Sayato, Y., Tanimura, A. & Tobe, M. (1981) The inhibition of vitamin D-stimulated intestinal calcium transport in rats after continuous oral administration of cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **61**, 297–301.

Ando, M., Hiratsuka, H., Nakagawa, J., Sato, S., Hayashi, Y. & Mitsumori, K. (1998) Cadmium accumulation in rats treated orally with cadmium chloride for 8 months. *J. Toxicol. Sci.*, **23**, 243–248.

Aoshima, K. & Kasuya, M. (1991) Preliminary study on serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and 25-hydroxyvitamin D in cadmium-induced renal tubular dysfunction. *Toxicol. Lett.*, **57**, 91–99.

Arivison, B. (1980) Regional differences in the severity of cadmium-induced lesions in the peripheral nervous system in mice. *Acta Neuropathol.*, **49**, 213–224.

Aughey, E., Fell, G., Scott, R. & Black, M. (1984) Histopathology of early effects of oral cadmium in the rat kidney. *Environ. Health Perspectives*, **54**, 153–161.

Australia/New Zealand Food Authority (2000) Dietary exposure assessment for cadmium. Submitted to WHO.

Baer, K.N. & Benson, W.H. (1987) Influence of chemical and environmental stressors on acute cadmium toxicity. *J. Toxicol. Environ. Health*, **22**, 35–44.

6. カルシウムの代謝と骨粗そう症に関するカドミウムの影響は、分類が必要である。
7. 人生の後半での骨粗そう症の進行に関するカドミウム（生涯に亘り蓄積された）の汚染の影響を測定するための研究を行わなければならない。

6 参考文献

左頁参照

- Baranski, B. (1986) Effect of maternal cadmium exposure on postnatal development and tissue cadmium, copper and zinc concentrations in rats. *Toxicology*, **58**, 255–260.
- Baranski, B., Stetkiewicz, I., Sitarek, K. & Szymczak, W. (1983) Effects of oral, subchronic cadmium administration on fertility, prenatal and postnatal progeny development in rats. *Arch. Toxicol.*, **54**, 297–302.
- Basinger, M., Jones, M. & Holscher, M. (1988) Antagonists for acute oral cadmium chloride intoxication. *J. Toxicol. Environ. Health*, **23**, 77–89.
- Bergland, M., Akesson, A., Nermell, B. & Vahter, M. (1994) Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake. *Environ. Health Perspectives*, **102**, 1058–1066.
- Berglund, M., Vahter, M. & Slorach, S. (1991) Determination of human exposure to lead and cadmium: A WHO/UNEP pilot study. *Chem. Spec. Bioavailability*, **3**, 69–72.
- Bernard, A., Lauwerys, R. & Gengoux, P. (1981) Characterization of the proteinuria induced by prolonged oral administration of cadmium in female rats. *Toxicology*, **20**, 345–357.
- Bernard, A., Lauwerys, R. & Gengoux, P. (1981) Characterization of the proteinuria induced by prolonged oral administration of cadmium in female rats. *Toxicology*, **20**, 345–357.
- Bernard, A., Lauwerys, R. & Amor, A.O. (1992a) Loss of glomerular polyanion correlated with albuminuria in experimental cadmium nephropathy. *Arch. Pathol.*, **66**, 272–278.
- Bernard, A., Roels, H., Thielemans, N., Van Lierde, M. & Lauwerys, R. (1992b) Assessment of the causality of the cadmium–protein relationships in the urine of the general population with reference to the Cadmibel Study. In: Nordberg, G.F., Herber, R.F.M. & Alessio, L., eds, *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity*, Lyon: IARC Press, pp. 341–346.
- Bernard, A., Thielemans, N., Roels, H. & Lauwerys, R. (1995) Association between NAG-B and cadmium in urine with no evidence of a threshold. *Occup. Environ. Med.*, **52**, 177–180.
- Bhattacharyya, M., Whelton, B., Peterson, D., Carnes, B., Moretti, E., Toomey, J. & Williams, L. (1988) Skeletal changes in multiparous mice fed nutrient-sufficient diet containing cadmium. *Toxicology*, **50**, 193–204.
- Bonithon-Kopp, C., Huel, G., Moreau, T. & Wendling, R. (1986) Prenatal exposure to lead and cadmium and psychomotor development of the child at 6 years. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.*, **8**, 307–310.
- Borzelleca, J.F., Clarke, E.C. & Condrie, L.W., Jr (1989) Short-term toxicity (1 and 10 days) of cadmium chloride in male and female rats: Gavage and drinking water. *J. Am. Coll. Toxicol.*, **8**, 377–404.
- Buchet, J.P., Lauwerys, R., Roels, H., Bernard, A., Bruaux, P., Claeys, F., Ducifre, G., De Plaen, P., Staessen, J., Amery, A., Lijnen, P., Phijls, L., Rondia, D., Sartor, F., Saint Remy, A. & Nick, L. (1990) Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet*, **336**, 699–702.
- Capel, I.D., Pinnock, M.H., Dorrell, H.M., Williams, D.C. & Grant, E.C.G. (1981) Comparison of concentrations of some trace, bulk, and toxic metals in the hair of normal and dyslexic children. *Clin. Chem.*, **27**, 879–891.

左頁参照

- Chan, H.M., Zhu, L., Zhong, R., Grant, D., Goyer, R.A. & Cherian, M.G. (1993) Nephrotoxicity in rats following liver transplantation from cadmium-exposed rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **123**, 89–96.
- Chaney, R.L., Ryan, J.A., Li, Y.M., Welch, R.M., Reeves, P.G., Brown, S.L. & Green, C.E. (1996) *Sources of Cadmium in the Environment*, Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Chaube, S., Nishimura, H. & Swinyard, C. (1973) Zinc and cadmium in normal human embryos and fetuses. *Arch. Environ. Health*, **26**, 237–240.
- Cherian, M.G., Goyer, R.A. & Delaquerriere-Richardson, L. (1976) Cadmium metallothionein induced nephropathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **38**, 399–408.
- Cherian, M.G., Goyer, R.A. & Valberg, L. (1978) Gastrointestinal absorption and organ distribution of oral cadmium chloride and cadmium metallothionein in mice. *J. Toxicol. Environ. Health*, **4**, 861–868.
- Cherry, W. (1981) Distribution of cadmium in human tissues. In: Nriagu, J., ed., *Cadmium in the Environment*, Vol. II, Chichester, John Wiley, pp. 111–122.
- Choudhuri, S., Liu, W.L., Berman, N.E. & Klaassen, C.D. (1996) Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stages of development. *Toxicol. Lett.*, **84**, 127–133.
- Claeys, F., Ducoffre, G., Sartor, F. & Roels, H. (1992) Analytical quality control of cadmium and lead in blood and cadmium in urine: Results of its implementation during a five-year epidemiological study. In: Nordberg, G.F., Herber, R.F.M. & Alessio, L., eds, *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity*, Lyon: IARC Press, pp. 83–92.
- Codex Alimentarius Commission (1999) Discussion paper on cadmium prepared by Denmark (CX/FAC 99/21), Joint FAO/WHO Foods Standards Programme, Codex Committee on Food Additives and Contaminants.
- Coleman, M.E., Elder, R.S. & Basu, P. (1992) Trace metals in edible tissues of livestock and poultry. *J. AOAC Int.*, **75**, 615–625.
- Dabeka, R.W. & McKenzie, A.D. (1995) Survey of lead, cadmium, fluoride, nickel, and cobalt in food composites and estimation of dietary intakes of these elements by Canadians in 1986–88. *J. AOAC Int.*, **78**, 897–909.
- Diamond, G., Thayer, W., Choudry, H., Lockwood, T., Stitele, W., Goodrum, P. & Hassett, J. (2000) Development of the cadmium dietary exposure model. Presentation at the annual meeting of the Society of Toxicology.
- Elinder, C.-G. & Nordberg, M. (1985) In: Friberg, L., Elinder, C.-G., Kjellstrom, T. & Nordberg, G.F. eds, *Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal*, Boca Raton, FL: CRC Press.
- Elinder, C.-G. & Pannone, M. (1979) Biliary excretion of cadmium. *Environ. Health Perspectives*, **28**, 123–126.
- Elliott, P., Arnold, R., Cockins, S., Eaton, N., Jarup, L., Jones, J., Quinn, M., Rosato, M., Thornton, I., Toledano, M., Tristan, E. & Wakefield, J. (2000) Risk of mortality, cancer incidence, and stroke

左頁参照

in a population potentially exposed to cadmium. *Occup. Environ. Med.*, **57**, 94–97.

Engstrom, B. & Nordberg, G. (1979) Factors influencing absorption and retention of oral Cd in mice: Age, pretreatment, and subsequent pretreatment with non-radioactive cadmium. *Acta pharmacol. Toxicology*, **45**, 315–324.

Environmental Protection Agency (1984) Updated mutagenicity and carcinogenicity assessment of cadmium (addendum to the health assessment for cadmium May, 1981; EPA-600/8-81-023), Washington DC.

European Commission (1996) *Dietary Exposure to Cadmium, Report on Tasks for Scientific Cooperation* (Report of experts participating in Task 3.2.4), Brussels: Food Science and Technology.

Feldman, S. & Cousins, R. (1973) Influence of cadmium on the metabolism of 25-hydroxycholecalciferol in chicks. *Nutr. Rep. Int.*, **8**, 251–259

Fingerle, H., Fischer, G. & Classen, H.G. (1982) Failure to produce hypertension in rats by chronic exposure to cadmium. *Food Chem. Toxicol.*, **20**, 301–306.

Flanagan, P., McLellan, J., Haist, J., Cherian, M., Chamberlain, M. & Valberg, L. (1978) Increased dietary cadmium absorption in mice and human subjects with iron deficiency. *Gastroenterology*, **74**, 841–846.

Flora, S., Gubrelay, U., Kannan, M. & Ramesh, M. (1998) Effects of zinc supplementation during chelating agent administration in cadmium intoxication in rats. *J. Appl. Toxicol.*, **18**, 357–362.

Food and Drug Administration (2000) Total Diet Study. <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/tds-toc.html>.

Friberg, L., Piscator, M., Nordberg, G. & Kjellstrom, T. (1974) *Cadmium in the Environment*, 2nd Ed., Cleveland, Ohio, CRC Press.

Friberg, L., Kjellstrom, T., Nordberg, G. & Piscator, M. (1975) *Cadmium in the Environment*, Vol. II, *A Toxicological and Epidemiological Appraisal*, Washington DC, US Environmental Protection Agency.

Friberg, L., Elinder, C., Kjellstrom, T. & Nordberg, G. (1985) *Cadmium and Health, A Toxicological and Epidemiological Appraisal*, Vol. I, *Exposure, Dose and Metabolism*, Cleveland, OH, CRC Press.

Gillberg, C., Noren, J.G., Wahlstrom, J. & Rasmussen, P. (1982) Heavy metals and neuropsychiatric disorders in six-year-old children. *Acta Paedopsychiatr.*, **48**, 253–263.

Goyer, R.A. (1995) Transplacental transfer of lead and cadmium. In: Goyer, R.A. & Cherian, M.G., eds, *Toxicology of Metals: Biochemical Aspects*, Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 1–13.

Goyer, R.A., Cherian, M.G. & Delaquerriere-Richardson, L. (1984) Correlation of parameters of cadmium exposure with onset of cadmium-induced nephropathy in rat. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **5**, 89–100.

Goyer, R.A., Miller, C.R., Zhu, S. & Victory, W. (1989) Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **101**, 232–244.

Goyer, R.A., Epstein, S., Bhattacharyya, M. & Pounds, J. (1994) Environmental risk factors for osteoporosis. *Environ. Health Perspectives*, **102**, 390–394.

左頁参照

- Gupta, A., Murthy, R., Thakur, S., Dubey, M. & Chandra, S. (1993) Neurochemical changes in developing rat brain after pre- and postnatal cadmium exposure. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **51**, 12–17.
- Hamilton, D. & Valberg, L. (1974) Relationship between cadmium and iron absorption. *Am. J. Physiol.*, **227**, 1033–1037.
- Hart, R.P., Rose, C.S. & Hamer, R.M. (1989) Neuropsychological effects of occupational exposure to cadmium. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, **11**, 933–943.
- Henke, G., Sachs, H. & Bohn, G. (1970) Cadmium determination by neutron activation analysis of liver and kidneys from children and young people. *Arch. Toxikol.*, **26**, 8–16.(in German).
- Hiratsuka, H., Satoh, S., Satoh, M., Nishijima, M., Katsuki, Y., Suzuki, J., Nakagawa, J., Sumiyoshi, M., Shibutani, M., Mitsumori, K., Tanaka-Kagawa, T. & Ando, M. (1999) Tissue distribution of cadmium in rats given minimum amounts of cadmium-polluted rice or cadmium chloride for 8 months. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **160**, 183–191.
- Hotz, P., Buchet, J.P., Bernard, A., Lison, D. & Lauwerys, R. (1989) Renal effects of low-level environmental cadmium exposure: 5-year follow-up of a subcohort from the Cadmibel Study. *Lancet*, **354**, 1508–
- Ikeda, M., Zang, Z.-W., Moon, C.-S., Shimbo, S., Watanabe, T., Nakatsuka, H., Matsuda-Inoguchi, N. & Higashikawa, K. (2000) Possible effects of environmental cadmium exposure on kidney function in the Japanese general population. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **73**, 15–25.
- Iwata, K., Saito, H., Moryama, M. & Nakano, A. (1992) Follow up study of renal tubular dysfunction and mortality in residents of an area polluted with cadmium. *Br. J. Ind. Med.*, **49**, 736–737.
- Jarup, L. & Elinder, C.G. (1993) Incidence of renal stones among cadmium exposed battery workers. *Br. J. Ind. Med.*, **50**, 598–602.
- Jarup, L., Persson, B., Edling, C. & Elinder, C.G. (1993) Renal function impairment in workers previously exposed to cadmium. *Nephron*, **64**, 75–81.
- Jarup, L., Carlsson, M.D., Elinder, C.G., Hellstrom, L., Persson, B. & Schutz, A. (1995a) Enzymuria in a population living near a cadmium battery plant. *Occup. Environ. Med.*, **52**, 770–772.
- Jarup, L., Persson, B. & Elinder, C.G. (1995b) Decreased glomerular filtration rate in solderers exposed to cadmium. *Occup. Environ. Med.*, **52**, 818–822.
- Jarup, L., Persson, B. & Elinder, C.G. (1997) Blood cadmium as an indicator of dose in a long-term follow-up of workers previously exposed to cadmium. *Scand. J. Work Environ. Health*, **23**, 31–36.
- Jarup, L., Alfven, T., Persson, B., Toss, G. & Elinder, C.G. (1998a) Cadmium may be a risk factor for osteoporosis. *Occup. Environ. Med.*, **55**, 435–439.
- Jarup, K., Berglund, M., Elinder, C., Nordberg, G. & Vahter, M. (1998b) Health effects of cadmium exposure—A review of the literature and a risk estimate. *Scand. J. Work Environ. Health*, **24** (Suppl. 1).
- Jiang, H.M., Guo, H. & Zhu, H. (1990) Clinical significance of hair cadmium content in the diagnosis of mental retardation of children. *Chin. Med. J.*, **103**, 331–334.

左頁参照

- Jin, T., Nordberg, G.F. & Nordberg, M. (1987) Resistance to acute nephrotoxicity induced by cadmium–metallothionein dependence on pretreatment with cadmium chloride. *Pharmacol. Toxicol.*, **61**, 89–93.
- Jin, T., Lu, J. & Nordberg, M. (1998) Toxicokinetics and biochemistry of cadmium with special emphasis on the role of metallothionein. *Neurotoxicology*, **19**, 529–535.
- Johnson, D. & Foulkes, E. (1980) On the proposed role of metallothionein in the transport of cadmium. *Environ. Res.*, **21**, 360–365.
- Jorhem, L. & Sundstrom, B. (1993) Levels of lead, cadmium, zinc, copper, nickel, chromium, manganese, and cobalt in foods on the Swedish market, 1983–1990. *J. Food Compos. Anal.*, **6**, 223–241.
- Jorhem, L., Becker, W. & Slorach, S. (1998) Intake of 17 elements by Swedish women, determined by a 234-h duplicate portion study. *J. Food Compos. Anal.*, **11**, 32–46.
- Jung, K., Pergrande, M., Graubaum, H.-C., Fels, L.M., Endl, U. & Stolte, H. (1993) Urinary proteins and enzymes as early indicators of renal dysfunction in chronic exposure to cadmium. *Clin. Chem.*, **39**, 757–765.
- Kawai, K., Fukuda, K. & Kimura, M. (1976) Morphological alterations in experimental cadmium exposure with special reference to the onset of renal lesion. In: Nordberg, G.F., ed., *Effects and Dose–Response Relationships of Toxic Metals*, Amsterdam: Elsevier Scientific, pp. 359–370.
- Kelman, B.J., Walter, B.K. & Jarboe, G.E. (1978) Effect of dietary cadmium on calcium metabolism in the rat during gestation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **158**, 614–617.
- Kilburn, K.H. & McKinley, K.L. (1996) Persistent neurotoxicity from a battery fire: Is cadmium the culprit? *South. Med. J.*, **89**, 693–698.
- Kostial, K., Kello, D., Jugo, S., Rabar, I. & Maljkovic, T. (1978) Influence of age on metal metabolism and toxicity. *Environ. Health Perspectives*, **25**, 81–86.
- Kotsonis, F.N. & Klaassen, C.D. (1977) Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **41**, 667–680.
- Kotsonis, F.N. & Klaassen, C.D. (1978) The relationship of metallothionein to the toxicity of cadmium after prolonged administration to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **46**, 39–54.
- Kowal, N., Johnson, D., Kraemer, D. & Pahren, H. (1979) Normal levels of cadmium in diet, urine, blood and tissues of inhabitants of the United States. *J. Toxicol. Environ. Health*, **5**, 995–1014.
- Kreis, I.A., Wijga, A. & van Wijnen, J.H. (1992). Assessment of the lifetime accumulated cadmium intake from food in Kempenland. *Sci. Total Environ.*, **127**, 281–292.
- Lauwerys, R., Amery, A., Bernard, A., Bruax, P., Buchet, J.-P., Claeys, F., De Plaen, P., Ducoffre, G., Fagard, R., Lijnen, P., Nick, L., Roels, H., Rondia, D., Saint-Remy, A., Sartor, F. & Staessen, J. (1990) Health effects of environmental exposure to cadmium: Objectives, design and organization of the Cadmibel Study: A cross-sectional morbidity study carried out in Belgium from 1985 to 1989. *Environ. Health Perspectives*, **87**, 283–289.
- Lauwerys, R., Bernard, A., Buchet, J.P., et al. (1991) Does environmental exposure to cadmium represent a health risk? Conclusions from the Cadmibel Study. *Acta Clin. Belg.*, **46**, 219–225.

左頁参照

- Lauwerys, R.R., Bernard, A., Roels, H. & Buchet, J.-P. (1995) Health risk assessment of long-term exposure to non-genotoxic chemicals: Application of biological indices. *Toxicol. Lett.*, **77**, 39–44.
- Lehotzky, K., Ungvary, G. & Polinak, D. (1990) Behavioral deficits due to prenatal exposure to cadmium chloride in CFY rat pups. *Neurotox. Teratol.*, **12**, 169–172.
- Lewis, M., Worobey, J., Ramsey, D.S. & McCormack, M.K. (1992) Prenatal exposure to heavy metals: Effect on childhood cognitive skills and health status. *Pediatrics*, **89**, 1010–1015.
- Lind, X., Jin, T., Nirdberg, G., /sjostrom, M. & Zhou, Y. (1994) Influence of zinc and copper administration on metal disposition in rats with cadmium–metallothione induced nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **126**, 84–90.
- Lind, Y., Engman, J., Jorhem, L. & Glynn, A. (1998) Accumulation of cadmium from wheat bran, sugar-beet fibre, carrots and cadmium in the liver and kidneys of mice. *Br. J. Nutr.*, **80**, 205–211.
- Liu, J.L., & Klaassen, C.D. (1994) Nephrotoxicity of CdCl₂ and Cd-metallothionein in cultured rat kidney proximal tubules and LLC-PK1 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **128**, 264–270.
- Liu, Y., Liu, J., Habeebu, S. & Klaassen, C. (1999) Metallothionein protects against the nephrotoxicity produced by chronic CdMT exposure. *Toxicol. Sci.*, **50**, 221–227.
- Lorentzon, R. & Larsson, S.E. (1977) Vitamin D metabolism in adult rats at low and normal calcium intake and the effect of cadmium exposure. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **53**, 439–446.
- Marlowe, M., Errera, J. & Jacobs, J. (1983) Increased lead and cadmium burdens among mentally retarded children and children with borderline intelligence. *Am. J. Ment. Defic.*, **87**, 477–483.
- Marlowe, M., Stellern, J., Errera, J. & Moon, C. (1985a) Main and interaction effects of metal pollutants on visual–motor performance. *Arch. Environ. Health*, **40**, 221–225.
- Marlowe, M., Cossairt, A., Moon, C., Errera, J., MacNeel, A., Peak, R., Ray, J. & Schroeder, C. (1985b) Main and interaction effects of metallic toxins on classroom behavior. *J. Abnorm. Child Psychol.*, **13**, 185–198.
- Masaoka, T., Akaori, F. & Arai, S. (1994) A nine year chronic toxicity study of cadmium ingestion in monkeys. I. Effects of dietary cadmium on the general health of monkeys. *Vet. Hum. Toxicol.*, **36**, 189–194.
- Matsusaka, N., Tananka, M., Nishmura, Y., Yuyama, A. & Kobayashi, H. (1972) Whole body retention and intestinal absorption of Cd in young and adult mice. *Med. Biol.*, **85**, 275–279 (in Japanese).
- Miles, A.T., Hawksworth, G.M., Beattie, J.H. & Rodilla, V. (2000) Induction, regulation, degradation and biological significance of mammalian metallothioneins (Abstract). *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **35**, 35–75.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1999a) *Metals and Other Elements in Infant Foods* (Food Surveillance Information Sheet Number 190), London.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1999b) *1997 Total Diet Study—Aluminium, Arsenic, Cadmium, Chromium, Copper, Lead, Mercury, Nickel, Selenium, Tin and Zinc* (Food Surveillance Information Sheet Number 191), London.

左頁参照

- Mitsumori, K. & Ando, M. (2000) Study of the relationship between the development of toxicities and cadmium accumulation in rats given minimum amounts of cadmium or cadmium-polluted rice for two years. (in press).
- Mitsumori, K., Shibutani, M., Sato, S., Onodera, N., Nakagawa, J., Hayashi, Y. & Ando, M. (1998) Relationship between the development of hepato-renal toxicity and cadmium accumulation in rats given minimum to large amounts of cadmium chloride in the long-term: Preliminary study. *Arch. Toxicol.*, **72**, 545–552.
- Morgan, H. & Simms, D. (1988) Discussion and conclusions. *Sci. Total Environ.*, **7**, 135–143.
- Muller, M., Anke, M., Hartmann, E. & Illing-Gunther, H. (1996) Oral cadmium exposure of adults in Germany. 1: Cadmium content of foodstuffs and beverages. *Food Addit. Contam.*, **13**, 359–378.
- Muller, M., Anke, M., Illing-Gunther, H. & Thiel, C. (1998) Oral cadmium exposure of adults in Germany. 2: Market basket calculations. *Food Addit. Contam.*, **15**, 135–141.
- Murphy, V.A. (1997) Cadmium: Acute and chronic neurological disorders. In: Yasui M, Strong M, Ota K, Verity MA (Eds.) *Mineral and Metal Neurotoxicology*. Boca Raton, FL: CRC press, pp. 229–240.
- Murphy, V. (2000) Cadmium: Acute and chronic neurological disorders. In: Yasui, M., Strong, M., Ota, K. & Verity, M.A., eds, *Mineral and Metal Neurotoxicology*, Boca Raton, FL: CRC Press, pp 229–240.
- National Institute of Public Health (1996) *The Health Risk Assessment of Dietary Exposure to Selected Chemical Substances*, Prague: Division for Hygiene of Food Chains in Brno.
- Nishijo, M., Nakagawa, H., Morikawa, Y., Tabata, M., Senma, M., Kitagawa, Y., Kawano, S., Ishizaki, M., Sugita, N., Nishi, M., Kido, T. & Nogawa, K. (1994) Prognostic factors of renal dysfunction induced by environmental cadmium pollution. *Environ. Res.*, **64**, 112–121.
- Nishijo, M., Nakagawa, H., Morikawa, Y., Tabata, M., Senma, M., Miura, K., Takahara, H., Kawano, S., Nishi, M., Mizukoshi, K., Kido, T. & Nogawa, K. (1995) Mortality of inhabitants in an area polluted by cadmium: 15 year follow up. *Occup. Environ. Med.*, **52**, 181–184.
- Nishijo, M., Nakagawa, H., Morikawa, Y., Tabata, M., Miura, T., Senma, M., Miura, K., Yoshita, K., Higashiguchi, K., Seto, T., Kido, T., Nogawa K., Mizukoshi, K. & Nishi, M. (1999) Relationship between urinary cadmium and mortality among inhabitants living in a cadmium polluted area in Japan. *Toxicol. Lett.*, **108**, 321–327.
- Nishimura, N., Nishimura, H., Ghaffar, A. & Tohyama, C. (1992) Localization of metallothionein in the brain of rat and mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, **40**, 309–315.
- Nogawa, H. & Nishijo, M. (1999) Dose–response relationship and mortality in inhabitants of cadmium-polluted areas. In: Nogawa, K., Kurachi, M. & Kasuya, M., eds, *Advances in the Prevention of Environmental Cadmium Pollution and Countermeasures*, Kanazawa, Eiko Laboratory, pp. 110–115.
- Nomiyama, K. & Nomiyama, H. (1976) Mechanisms of urinary excretion of cadmium: Experimental studies in rabbits. In: Noordberg, G., ed., *Effects and Dose–Response Relationships of Toxic Metals*, Amsterdam, Elsevier Science, pp. 371–379.
- Nordberg, G. (1972) Cadmium metabolims and toxicity. *Environ. Physiol. Biochem.*, **2**, 7–36.

左頁参照

- Nordberg, G. (1978) Studies on metallothionein and cadmium. *Environ. Res.*, **15**, 381–404.
- Nordberg, M. (1998) Metallothioneins: Historical review and state of knowledge. *Talanta*, **46**, 243–254.
- Nordberg, G. & Piscator, M. (1972) Influence of long-term cadmium exposure on urinary excretion of protein and cadmium in mice. *Environ. Physiol. Biochem.*, **2**, 37–49.
- Nordberg, G.F. & Strangert, P. (1976) In: Nordberg, G.F., ed., *Effects and Dose-Response Relationships of Toxic Metals*, Amsterdam: Elsevier, pp. 273–282. .
- Nortier, J., Bernard, A., Roels, H., Deschodt-Lanckman, M., Gueuning, C. & Lauwerys, R. (1997) Urinary neutral endopeptidase in workers exposed to cadmium: Interaction with cigarette smoking. *Occup. Environ. Med.*, **54**, 432–436.
- Oldiges, H., Hochrainer, D. & Glaser, U. (1989) Long-term inhalation study with Wistar rats and four cadmium compounds. *Toxicol. Environ. Chem.*, **19**, 217–222.
- Ono, S. & Cherian, M.G. (1998) Changes in brain metallothionein and zinc during development in transgenic mice. *Biol. Trace Elem. Res.*, **61**, 41–49.
- Paschal, D., Burt, V., Caufrill, S., Gunter, E., Pirkle, J., Sampson, E., Miller, D. & Jackson, R. (2000) Exposure of the US population aged 6 years and older to cadmium: 1988–1994. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **38**, 377–383.
- Pennington, J.A.T., Capar, S.G. & Parfitt, C.H. (1996) History of the Food and Drug Administration's Total Diet Study (Part II), 1987–1993. *J. AOAC Int.*, **79**, 163–170.
- Pihl, R.O. & Parkes, M. (1977) Hair element content in learning disabled children. *Science*, **198**, 204–206.
- Pleasant, W., Waslien, C. & Naughton, B. (1993) Dietary modulation of the symptoms of cadmium toxicity in rats: effects of vitamins A, C, D, DD hormone and fluoride. *Nutrit. Res.*, **13**, 839–850.
- Reeves, P. (2000) Mineral nutrient status affects the absorption of cadmium from sunflower kernels in rats. (in press).
- Reeves, P. & Vanderpool, R. (1997) Cadmium burden of men and women who report regular consumption of confectionary sunflower kernels containing a natural abundance of cadmium. *Environ. Health Perspectives*, **105**, 1098–1104.
- Reeves, P. & Vanderpool, R. (1998) Organ content and fecal excretion of cadmium in male and female rats consuming variable amounts of naturally occurring sunflower kernels (*Helianthus annuus* L.). *J. Nutr. Biochem.*, **9**, 636–644.
- Reeves, P., Johnson, P. & Rossow, K. (1994) Absorption and organ content of cadmium from the kernels of confectionary sunflowers (*Helianthus annuus*) fed to male rats. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2836–2843.
- Reeves, P., Nielsen, E., O'Brien-Nimons, C. & Vanderpool, R. (2000) Cadmium consumption and its availability from sunflower kernels: A study with human volunteers. (in press).
- Roels, H.A., Lauwerys, R.R., Buchet, J.P., Bernard, A.M., Vos, A. & Oversteyns, M. (1989) Health significance of cadmium induced renal dysfunction: A five year follow up. *Br. J. Ind. Med.*, **46**, 755–

左頁参照

- Roels, H.A., Lauwerys, R.R., Bernard, A.M., Buchet, J.P., Vos, A. & Oversteens, M. (1991) Assessment of the filtration reserve capacity of the kidney in workers exposed to cadmium. *Br. J. Ind. Med.*, **48**, 365–374.
- Ruoff, W., Diamond, G., Valazquez, S., Stitele, W. & Gefell, D. (1994) Bioavailability of cadmium in food and water: A case study on the derivation of relative bioavailability factors for inorganics and their relevance to the reference dose. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **20**, 139–160.
- Sartor, F., Rondia, D., Claeys, F., Buchet, J.P., Ducoffre, G., Lauwerys, R., Staessen, J. & Amery, A. (1992a) Factors influencing the cadmium body burden in a population study. In: Nordberg, G.F., Herber, R.F.M. & Alessio, L., eds, *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity*, Lyon: IARC Press, pp. 101–106.
- Sartor, F.A., Rondia, D.J., Claeys, F.D., Staessen, J.A., Lauwerys, R.R., Bernard, A.M., Buchet, J.P., Roels, H.A., Bruaux, P.J., Ducoffre, G.M., Lijnen, P.J., Thijs, L.B. & Amery, A.K. (1992b) Impact of environmental cadmium pollution on cadmium exposure and body burden. *Arch. Environ. Health*, **47**, 347–353.
- Shaikh, Z.A., Harnett, K.M. & Perlin, S.A. (1989) Chronic cadmium intake results in dose-related excretion of metallothionein in urine. *Experimentia*, **45**, 146–148.
- Sharma, R., Kjellstrom, T. & McKenszie, J. (1983) Cadmium in blood and urine among smokers and non-smokers with high cadmium intake via food. *Toxicology*, **29**, 163–171.
- Shearer, T.R., Larson, K., Neuschwander, J. & Gedney, B. (1982) Minerals in the hair and nutrient intake of autistic children. *J. Autism Dev. Disord.*, **12**, 25–34.
- Shimizo, M. & Morita, S. (1990) Effects of fasting on cadmium toxicity, glutathione metabolism and metallothionein synthesis in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **103**, 28–39.
- Shukla, A., Shukla, G.S. & Srimal, R.C. (1996) Cadmium-induced alterations in blood–brain barrier permeability and its possible correlation with decreased microvessel antioxidant potential in rat. *Hum. Exp. Toxicol.*, **15**, 400–405.
- Staessen, J., Amery, A., Bernard, A., Bruax, P., Buchet, P., Bulpitt, C., Claeys, F., De Plaen, P., Ducoffre, G., Fagard, R., Lauwerys, R., Lijnen, P., Nick, L., Saint Remy, A., Roels, H., Rondia, D., Sartor, F. & Thijs, L. (1991a) Blood pressure, the prevalence of cardiovascular diseases and exposure to cadmium: A population study. *Am. J. Epidemiol.*, **134**, 257–267.
- Staessen, J., Amery, A., Bernard, A., Bruax, P., Buchet, J.P., Claeys, F., De Plaen, P., Ducoffre, G., Fagard, R., Lauwerys, R.R., Lijnen, P., Nick, L., Saint Remy, A., Roels, H., Rondia, D., Sartor, F. & Thijs, L. (1991b) Effects of exposure to cadmium on calcium metabolism: A population study. *Br. J. Ind. Med.*, **48**, 710–714.
- Staessen, J.A., Lauwerys, R.R., Ide, G., Roels, H., Vyncke, G. & Amery, A. (1994) Renal function and historical environmental cadmium pollution from zinc smelters. *Lancet*, **343**, 1523–1527.
- Staessen, J.A., Roels, H.A., Emelianov, D., Kuznetsova, T., Thijs, L., Vangronsveld, J. & Fagard, R. (1999) Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: Prospective population study. *Lancet*, **353**, 1140–1144.
- Staessen, J., Kuznetsova, T., Roels, H., Emelianov, D. & Fagard, R. (2000) Exposure to cadmium

左頁参照

- and conventional and ambulatory blood pressures in a prospective population. *Am. J. Hypertension*, **113**, 146–156.
- Stellern, J., Marlowe, M., Cossairt, A. & Errera, J. (1983) Low lead and cadmium levels and childhood visual-perception development. *Percept. Motor Skills*, **56**, 539–544.
- Stowe, H.D., Wilson, M. & Goyer, R.A. (1972) Clinical and morphological effects of oral cadmium toxicity in rabbits. *Arch. Pathol.*, **94**, 389–405.
- Sugawara, C. & Sugawara, N. (1974) Cadmium toxicity for rat intestine, especially on the absorption of calcium and phosphorus. *Jpn. J. Hyg.*, **28**, 511–516.
- Sumino, K., Hayakawa, K., Shibata, T. & Kitamura, S. (1975) Heavy metals in normal Japanese tissues. *Arch. Environ. Health*, **30**, 487–494.
- Tahvonen, R. & Kumpulainen, J. (1994a) Lead and cadmium contents in pork, beef and chicken, and in pig and cow liver in Finland during 1991. *Food Addit. Contam.*, **11**, 415–426.
- Tahvonen, R. & Kumpulainen, J. (1994b) Lead and cadmium contents in Finnish breads. *Food Addit. Contam.*, **11**, 621–631.
- Takeda, A., Takefuta, S., Ijiro, H., Okada, S. & Oku, N. (1999) 109-Cadmium transport in rat brain. *Brain Res. Bull.*, **49**, 453–457.
- Takenaka, S., Oldiges, H., Konig, H., Hochrainer, D. & Oberdorster, G. (1983) Carcinogenicity of cadmium chloride aerosols in W rats. *J. Natl Cancer Inst.*, **70**, 367–373.
- Task Group on Metal Toxicity (1976) Conceptual considerations: Critical organ, critical concentration in cells and organs, critical effect, subcritical effect, dose–response relationships. In: Nordberg, G., ed., *Effects and Dose–Response of Toxic Metals*, Amsterdam, Elsevier Science, pp. 10...13.
- Thatcher, R.W., Lester, M.L., McAlaster, R. & Horst, R. (1982) Effects of low levels of cadmium and lead on cognitive functioning in children. *Arch. Environ. Health*, **37**, 159–166.
- Thatcher, R.W., McAlaster, R. & Lester, M.L. (1984) Evoked potentials related to hair cadmium and lead in children. *Ann. NY Acad. Sci.*, **425**, 384–390.
- Tsoumbaris, P. & Tsoukali–Papadopoulou, H. (1994a) Heavy metals in common foodstuff: Quantitative analysis. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **53**, 61–66.
- Tsoumbaris, P. & Tsoukali–Papadopoulou, H. (1994b) Heavy metals in common foodstuff: Daily intake. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **53**, 67–70.
- Tsuritani, I., Honda, R., Ishizaki, M., Yamada, Y., Kido, T. & Nogawa, K. (1992) Impairment of vitamin D metabolism due to environmental cadmium exposure, and possible relevance to sex-related differences in vulnerability to the bone damage. *J. Toxicol. Environ. Health*, **37**, 519–533.
- Uriu, K., Kaizu, K., Komine, N., Ikeda, M., Qie, Y.L., Hashimoto, O., Matsuoka, A. & Eto, S. (1998) Renal hemodynamics in rats with cadmium-induced nephropathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **150**, 76–85.
- Ursinyova, M. & Hladikova, V. (1997) The intake of selected toxic elements from milk in infants. *Fresenius Environ. Bull.*, **6**, 627–632.

左頁参照

- Vahter, M., Berglund, M., Friberg, L., Jorhem, L., Lind, B., Slorach, S. & Akesson, A. (1990) Dietary intake of lead and cadmium in Sweden. *Var. Foda*, **44** (Suppl. 2).
- Vahter, M., Johansson, G., Akesson, A. & Rahnster, B. (1992) Faecal elimination of lead and cadmium in subjects on a mixed and lacto-vegetarian. *Food Chem. Toxicol.*, **30**, 281–287.
- Vahter, M., Berglund, M., Nermell, B. & Akesson, A. (1996) Bioavailability of cadmium from shellfish and mixed diet in women. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **136**, 332–341.
- Vanderpool, R. & Reeves, P. (2000) Cadmium absorption in humans fed confectionary sunflower kernels (*Helianthus annuus* L.) labeled with a stable isotope of cadmium. (in press).
- Vanoort, R., Cressey, P. & Silvers, K. (2000) 1997/98 New Zealand Total Diet Survey. Part 2: Elements. Report prepared for the Ministry of Health.
- Viaene, M.K., Masschelein, R., Leenders, J., De Groof, M., Swerts, L.J.V.C. & Roels, H.A. (2000) Neurobehavioral effects of occupational exposure to cadmium: A cross sectional epidemiological study. *Occup. Environ. Med.*, **57**, 19–27.
- Waalkes, M.P. & Rehm, S. (1994) Cadmium and prostate cancer. *J. Toxicol. Environ. Health*, **43**, 251–269.
- Waalkes, M.P., Anver, M. & Diwan, B.A. (1999) Carcinogenic effects of cadmium in the Noble (NBL/Cr) rat: Induction of pituitary, testicular, and injection site tumors and intraepithelial proliferative lesions of the dorsolateral prostate. *Toxicol. Sci.*, **52**, 154–161.
- Wang, C. & Bhattacharyya, M. (1993) Effect of cadmium on bone calcium and ⁴⁵Ca in onopregnant mice on a calcium-deficient diet: Evidence of direct effect of cadmium on bone. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **120**, 228–239.
- Wang, X., Chan, H.N., Goyer, R.A. & Cherian, M.G. (1993) Nephrotoxicity of repeated injections of cadmium–metallothionein in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **119**, 11–16.
- Watanabe, T., Nakatsuka, H., Satoh, H., Yamamoto, R. & Ikeda, M. (1992). Reduced dietary cadmium intake in past 12 years in a rural area in Japan. *Sci. Total Environ.*, **119**, 43–50.
- Watanabe, T., Zhang, Z.-W., Moon, C.-S., Shimbo, S., Nakatsuka, H., Matsuda-Inoguchi, N., Higashikawa, K. & Ikeda, M. (2000) Cadmium exposure of women in general populations in Japan during 1991–1997 compared with 1977–1981. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **73**, ???–???
- Wecker, L., Miller, S.B., Cochran, S.R., Dugger, D.L. & Johnson, W.D. (1985) Trace element concentrations in hair from autistic children. *J. Ment. Defic. Res.*, **29**, 15–22..
- Whelton, B., Peterson, D., Moretti, E., Mauser, R. & Bhattacharyya, M.H. (1997) Hepatic levels of cadmium, zinc, and copper in multiparous, nulliparous and ovariectomized mice fed either a nutrient-sufficient or -deficient diet containing cadmium. *Toxicology*, **119**, 141–153.
- Whittemore, A.S., DiCiccio, Y. & Provenzano, G. (1991) Urinary cadmium and blood pressure: Results from the NHANES II survey. *Environ. Health Perspectives*, **91**, 133–140.
- WHO (1992) *Cadmium* (Environmental Health Criteria 134), Geneva.
- Wing, A., Wing, K., Tidehag, P., Hallmans, G. & Sjostrom, R. (1992) Cadmium accumulation from diets in rats with different iron status. *Nutr. Res.*, **12**, 1205–1215.

左頁参照

Yang, H.F., Luo, X.Y., Shen, W., Zhou, Z.F., Jin, C.Y., Yu, F. & Liang, C.S. (1994) National food contamination monitoring programmes. *Biomed. Environ. Sci.*, 7, 362–368.

See Also:

Toxicological Abbreviations

左頁参照