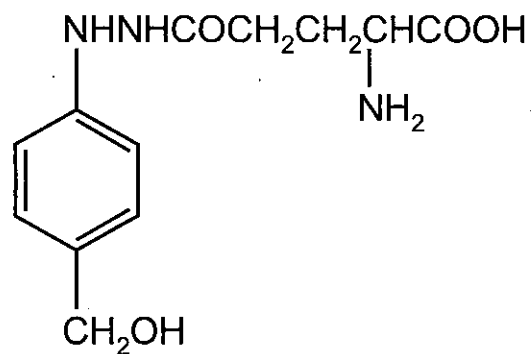


# 参 考 資 料

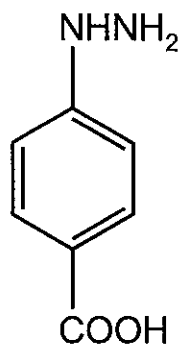
— 食品安全委員会(第131回会合:平成18年2月16日開催)提出 —

# 資料1 アガリチンとその代謝物の構造式



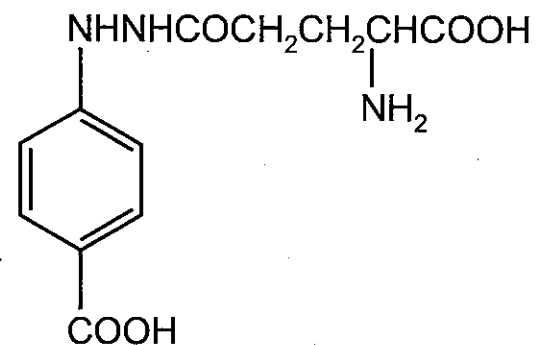
**Agaritine**

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-glutamyl]-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine



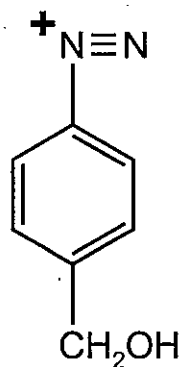
**CPH**

4-hydrazonbenzoic acid



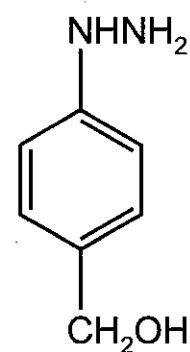
**GCPH**

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-glutamyl]-4-(carboxy)-phenylhydrazine



**HMBD**

4-(hydroxymethyl)benzene diazonium ion

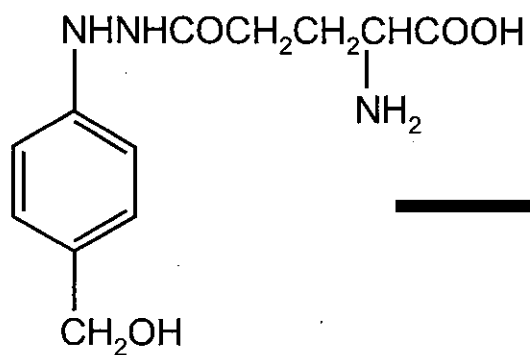


**HMBH**

4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine

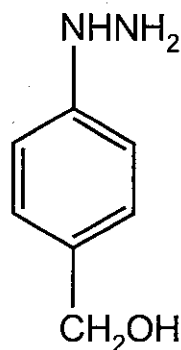
# 資料 2-1 推定されているアガリチンの生物活性化経路

## Postulated bioactivation pathway



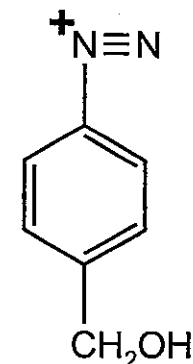
**Agaritine**

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-glutamyl]-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine



**HMBH**

4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine



**HMBD**

4-(hydroxymethyl)benzene diazonium ion



**No increase in tumours**

Dose: 100 mg/kg body weight/day in drinking water over lifetime



**Tumours in lung and blood vessels**

Dose: 200 mg/kg body weight/day in drinking water over lifetime



**Gastric tumours**

Single oral dose: 400 mg/kg body weight

**Tumours at site of application**

26 weekly subcutaneous doses: 50 mg/kg body weight

## 資料2-2 HMBD のDNA損傷メカニズム

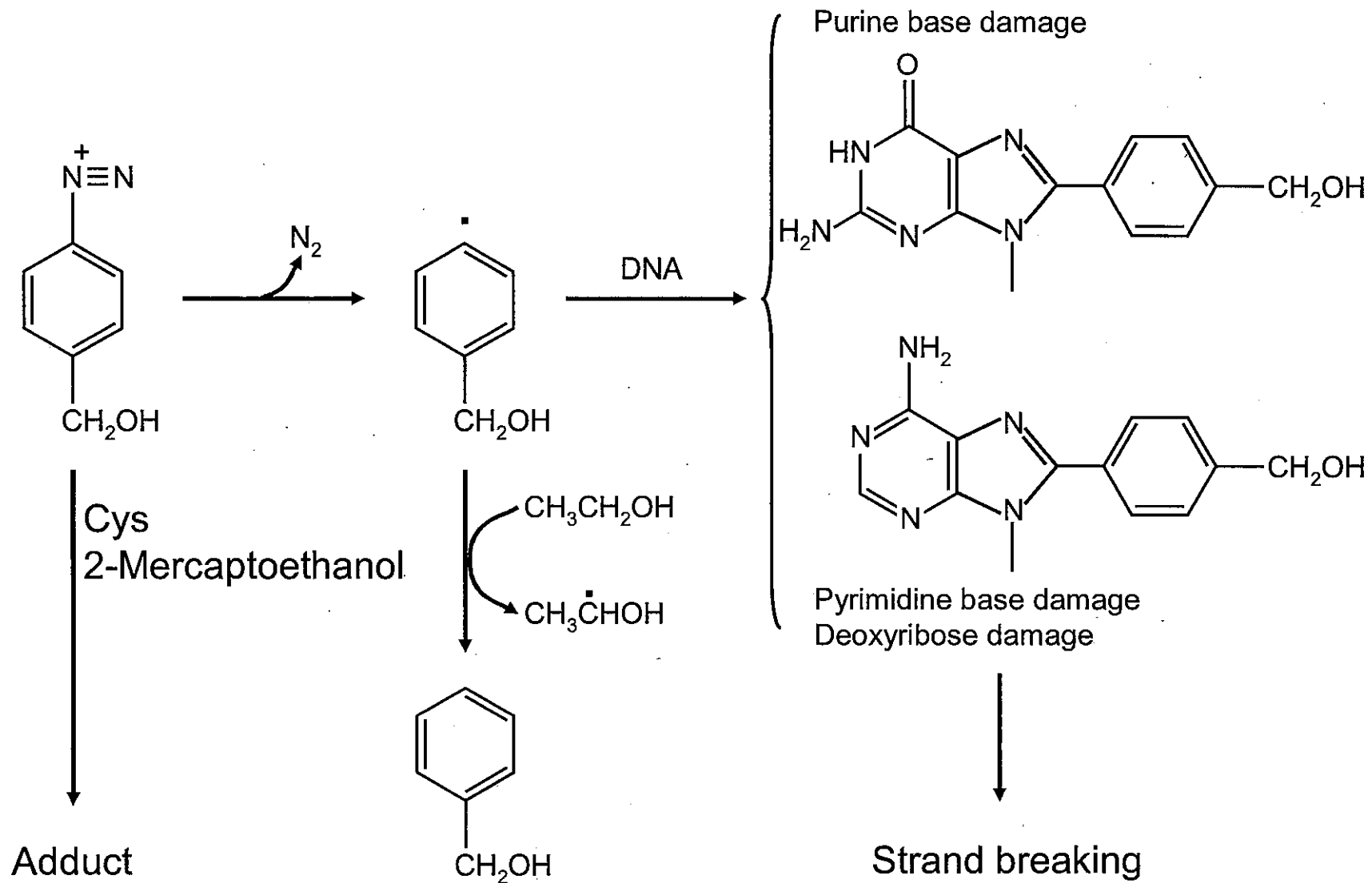


Fig. 9 Mechanism of 4-(hydroxymethyl)benzediazonium ion (HMBD)-induced DNA damage.

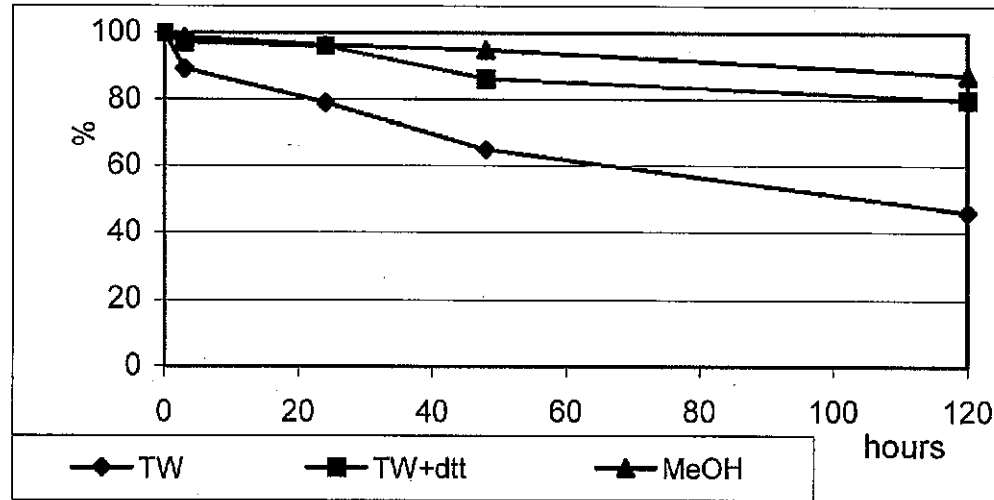
### 資料3 アガリクス乾燥製品のアガリチン含有量

検体	製品	実測値(μg/g dry)	
製品B	1 乾燥品, 顆粒	1348	キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒
	2 乾燥品, 粉末	1437	
	3 乾燥品, キノコ形	2017	
	4 菌糸体培養物, 顆粒	N.D.	
	5 健康食品(栄養補助成分添加)	0.13	
製品A	6 健康食品(栄養補助成分添加)	408	仙生露顆粒ゴールド
	7 健康食品(栄養補助成分添加)	1.13	
	8 健康食品(栄養補助成分添加)	1.28	
	9 健康食品(栄養補助成分添加)	0.20	
製品C	10 菌糸体培養物, 顆粒	N.D.	アガリクスK <sub>2</sub> ABPC細粒

平成15年度厚生労働科学研究の「担子菌類中の有害物質の評価に関する研究」報告書  
及び平成17年度調査速報値

# 資料4

a) closed vials



b) open vials

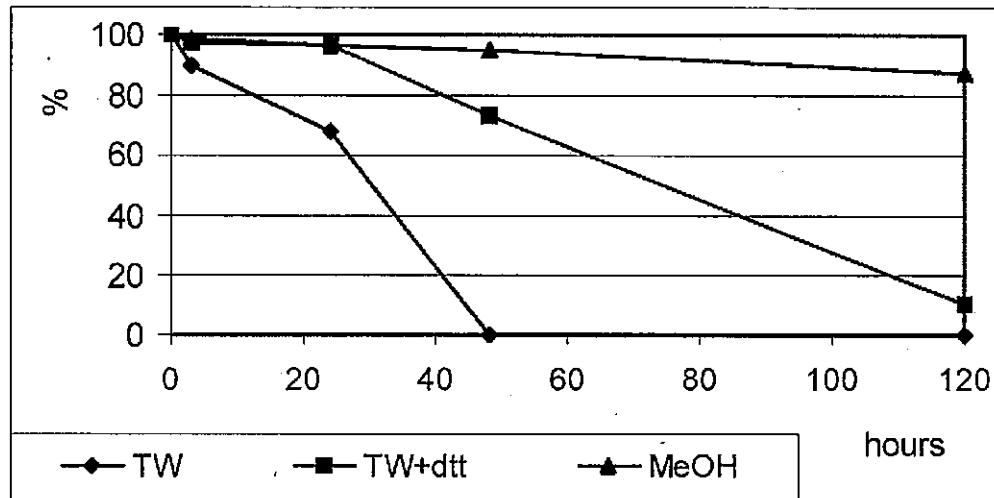


Fig. 4. Degradation of agaritine (0.3 mg/ml) in various media (TW, tap water; dt, 2 mM dithiotreitol in TW; MeOH, methanol) in (a) closed vials and (b) open vials.

## 資料 5

Type of product	Agaritine content (mg/kg fresh weight)	Reference
Frozen mushrooms	330	Ross et al., 1982b
Mushrooms sautéed in olive oil at 300°C(7 min.)	300	Ross et al., 1982b
Sliced mushrooms and mushroom powder used as ingredients for dehydrated soups	100-250*	Stijve et al., 1986
Pasta sauce (n=4)	1.6-15.3	Andersson et al., 1999
Mushroom soup	0	Ross et al., 1982b
Mushroom soup	<5	Sharman et al., 1990
Mushroom soup (n=3)	1.8-62.8	Andersson et al., 1999
Mushroom sauce	3.9	Andersson et al., 1999

\* recalculated, assuming 90% water in mushroom Sharman and co-workers (1990)

# 資料6 Agaricus bisporusの抽出物のAmes試験

Table 13. Mutagenicity of extracts of *Agaricus bisporus* in various strains of *Salmonella typhimurium* in the absence or presence of a metabolising system (S9) obtained from the liver of aroclor 1254-treated rats (if not otherwise stated).

Solvent for extract	Strain TA97 -S9 +S9	Strain TA98 -S9 +S9	Strain TA100 -S9 +S9	Strain TA102 -S9 +S9	Strain TA104 -S9 +S9	Strain TA1535 -S9 +S9	Strain TA1537 -S9 +S9	Strain TA1538 -S9 +S9	Strain TA2637 -S9 +S9	Strain TA1530 -S9 +S9	Strain TM677 -S9 +S9	Reference
water (a)		(+)	(+)						(+)			Sterner et al., 1982
water (a, b, c)		-	(+)	(+)		(+)	-	-	-	-		von Wright et al., 1982
water (a, d)		(+)	(+)	-	(+)							Morales et al., 1990a
water (a, e)		-	-	-	-							Morales et al., 1990b
water (f)						+	+	+	+			Toth et al., 1992
water (f, g)						+	+	+	+			
water	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)						Andersson et al., 1998
water (a, h)		-	-									Keliman and Berstein, 1978
ethanol (a)		-	(+)									
acetone (a)		-	-	-				-				
ether (b)		-	-	-								
DMSO (a, h)		-	+		(+)		+	+				
methanol (a)			-	-								De Flora et al., 1979
ethanol	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)				Pool-Zobel et al., 1990
ethanol (a)	(+)	(+)	-	(+)	(+)	(+)	+	(+)	-	(+)	(+)	Papaparaskeva et al., 1991
ethanol (a, i)			(+)	(+)			(+)	(+)				
ethanol (a, j, k)							+	+				
ethanol (a)	(+)		(+)		(+)		+		(+)	-		Papaparaskeva-Petrides et al., 1993
ethanol (a, f)			-	-	-	-						Uejima et al., 1986
ethanol (l)											(+)	Grüter et al., 1991
ethanol (m)						+	+				(+)	Walton et al., 1997
ethanol (a, g, m)						+	+				(+)	Walton et al., 1998
ethanol (a, n, m)						+	+					

- = no mutagenic activity; (+) = borderline mutagenic activity - less than doubling in mutation frequency but statistically significant; + = mutagenic activity; (a) no control for histidine; (b) mushrooms stored frozen at -20°C before analysis; (c) metabolising system from phenobarbital-induced mouse liver; (d) metabolising system from phenobarbital-induced rat liver; (e) extract from canned mushrooms; (f) preincubation assay instead of plate incorporation assay; (g) extract from dry-baked mushrooms; (h) boiled; (i) metabolising system from mouse liver; (j) mushrooms with various agaritine contents; (k) metabolising system from aroclor-induced hamster liver; (l) mushrooms purchased on a market were put in plastic bags sealed under vacuum and frozen - subsequently extract was prepared from freeze dried material; (m) metabolising system from homogenised rat kidney; (n) extract from freeze-dried mushrooms



# 資料7 Agaritineとその誘導体のAmes試験

Table 15. Comparative mutagenicity of the hydrazine derivatives occurring in *Agaricus bisporus* in various strains of *Salmonella typhimurium* in the absence or presence of a metabolising system (S9) obtained from the liver of aroclor 1254-treated rats.

Tested hydrazine derivatives were  $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-glutamyl)-4-hydroxymethylphenylhydrazine (agaritine), 4-(carboxy)phenylhydrazine (CPH), 4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine (HMPH), N'-acetyl-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine (AHMPH) and 4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion (HMBD).

Compound tested	Strain TA97		Strain TA98		Strain TA100		Strain TA102		Strain TA104		Strain TA1535		Strain TA1537		Strain TA1538		Strain TA2637		Type of assay	Reference
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9		
Agaritine (a)			-	-	(+)	(+)													spottest	De Flora et al., 1979
Agaritine (a)											(+)	(+)	+	(+)					preincubation	Rogan et al., 1982
Agaritine (a)		(+)		-		-		(+)	(+)	(+)		-		(+)		-			plate incorporation	Papaparaskeva-Petrides et al., 1993
Agaritine (b)			-	-	-	-										(+)	-		plate incorporation	Sterner et al., 1982
Agaritine (c)			(+)	(+)	(+)	(+)													preincubation	Ueijma et al., 1986
Agaritine (d)	+		-		-		-					(+)	-						preincubation	Friederich et al., 1986
Agaritine (i)									(+)										plate incorporation	Walton et al., 1997b
Agaritine (d) + $\gamma$ -GT	+		(+)		+		+				-		+	+					preincubation	Friederich et al., 1986
CPH															-	-			preincubation	Malca-Mor and Stark, 1982
CPH	+		-		-		-				-		-	-					preincubation	Friederich et al., 1986
CPH	++	+	-*	(+)	-*	(+)													plate incorporation	Andersson et al., 1998
CPH									(+)										plate incorporation	Walton et al., 1997b
HMPH (e)			-		(+)							+	(+)						preincubation	Friederich et al., 1986
AHMPH (f)											-	-	+	-					preincubation	Rogan et al., 1982
AHMPH (j)									(+)										plate incorporation	Walton et al., 1997b
HMBD (g)											(+)*	+							preincubation	Rogan et al., 1982
HMBD (h)	+		+		+		+				-	+	+						preincubation	Friederich et al., 1986
HMBD							+												plate incorporation	Lawson et al., 1995
HMBD (i)									+										plate incorporation	Walton et al., 1997b

- = no mutagenic activity; (+) = borderline mutagenic activity - less than doubling in mutation frequency but statistically significant; ++ = mutagenic activity (a) agaritine synthesised by Toth and colleagues (>98 % pure); (b) agaritine purified from mushrooms; (c) origin of agaritine unknown; (d) isolated from *A. bisporus*, 76.5 % pure; (e) gift from Hoechst; (f) AHMPH synthesised by Toth and colleagues (>98 % pure); (g) HMBD synthesised by Toth and colleagues (>98 % pure); (h) synthesized; (i) agaritine synthesised by Walton and colleagues (91 % pure); (j) AHMPH synthesised by Walton and colleagues (97 % pure); \* pronounced cytotoxicity

# 資料8-1. *Agaricus bisporus*の慢性毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
<i>Agaricus bisporus</i> uncooked	p.o.	3 days per week	lifelong	31 (62%)**	20 (40%)	lung	17 (38%)	13 (26%)	Toth and Erickson, 1986
				18	9	adenomas	8	6	
				13	11	adenocarcinomas	9	7	
				6 (12%)	4 (8%)	liver	1 (2%)	0 (0%)	
				6	4	benign hepatomas	1	0	
				14 (28%)**	19 (38%)***	forestomach	2 (4%)	0 (0%)	
				11	16	squamous cell papillomas	2	0	
				3	3	squamous cell carcinomas	0	0	
				8 (16%)**	8 (16%)**	bone	0 (0%)	0 (0%)	
				5	6	osteomas	0	0	
				3	2	osteosarcomas	0	0	
<i>Agaricus bisporus</i> dry-baked	p.o.	3 days per week	lifelong	8 (16%)***	10 (20%)**	forestomach	0 (0%)	0 (0%)	Toth et al., 1997a
				7	9	squamous cell papillomas	0	0	
				1	0	leiomyocarcomas	0	0	
				0	1	squamous cell carcinomas	0	0	
				10 (20%)***	6 (12%)*	glandular stomach	0 (0%)	0 (0%)	
				0	1	polypoid adenomas	0	0	
				10	5	adenocarcinomas	0	0	
				2 (4%)	7 (14%)*	duodenum	0 (0%)	0 (0%)	
				2	7	adenocarcinomas	0	0	
					6(12%)*	ovaries		1 (2%)	
					5	adenomas		0	
	1	adenocarcinomas		1					

Table 17A. Tumourigenicity of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in randomly bred Swiss albino mice.

資料8-2. *Agaricus bisporus*の慢性毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
<i>Agaricus bisporus</i> lyophilized	p.o.	10% of feed	lifelong	30 (60%)*	13 (26%)	lung	19 (38%)	14 (28%)	
				20	12	adenomas	11	9	
				10	1	adenocarcinomas	8	5	
				3 (6%)	0 (0%)	forestomach	0 (0%)	0 (0%)	
				2	0	squamous cell papillomas	0	0	
				1	0	squamous cell carcinomas	0	0	
				1 (2%)	1 (2%)	glandular stomach	0 (0%)	0 (0%)	
				1	1	adenocarcinomas	0	0	
					11 (22%)**	ovaries		1 (2%)	
					3	adenomas		0	
		8	adenocarcinomas		1				

Table 17A cont. Tumourigenicity of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in randomly bred Swiss albino mice.

### 資料8-3. *Agaricus bisporus*の慢性毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
<i>Agaricus bisporus</i> lyophilized	p.o.	2.5% in feed	lifelong	23 (46%)*	17 (34%)	lung	19 (38%)	14 (28%)	Toth et al., 1998
				16	12	adenomas	11	9	
				7	5	adenocarcinomas	8	5	
				5 (10%)*	5 (10%)*	forestomach	0 (0%)	0 (0%)	
				3	5	squamous cell papillomas	0	0	
				2	0	squamous cell carcinomas	0	0	
				2 (4%)	3 (6%)	glandular stomach	0 (0%)	0 (0%)	
				2	3	adenocarcinomas	0	0	
					1 (2%)	ovaries		1 (2%)	
<i>Agaricus bisporus</i> dry-baked	p.o.	12 h a day for 5 days per week	lifelong	26 (52%)	17 (34%)	lung	19 (38%)	14 (28%)	Toth et al., 1997b
				17	8	adenomas	11	9	
				9	9	adenocarcinomas	8	5	
				4 (8%)	12 (24%)	blood vessels	3 (6%)	7 (14%)	
				2	3	hemangiomas	2	5	
				2	12	hemangiosarcomas	1	2	
				9 (18%)	6 (12%)	cecum	4 (8%)	4 (8%)	
				9	6	polypoid adenomas	?	?	
				3 (6%)	1 (2%)	colon	0 (0%)	0 (0%)	
				2	1	polypoid adenomas	0	0	
				1	0	adenocarcinomas	0	0	

Table 17A cont. Tumourigenicity of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in randomly bred Swiss albino mice.

# 資料9-1. Agaritineの慢性毒性試験(経口投与)

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
Agaritine	p.o.	0.0625 %	lifelong	6 (12%)	13 (26%)	lung	19 (19%)	29 (29%)	Toth et al., 1981a
				4	9	adenomas	10	15	
				2	4	adenocarcinomas	9	14	
				2 (4%)	2 (4%)	blood vessels	5 (5%)	7 (7%)	
				20	0	angiomas	2	4	
				2	2	angiosarcomas	3	2	
				1 (2%)	6 (12%)	Malignant lymphomas	10 (10%)	15 (15%)	
	p.o.	0.03125 % (males only)	lifelong	8 (16%)		lung	19 (19%)		
				7		adenomas	10		
				1		adenocarcinomas	9		
				5 (10%)		blood vessels	5 (5%)		
				2		angiomas	2		
				3		angiosarcomas	3		
				1 (2%)		Malignant lymphomas	10 (10%)		

Table 17B. Tumourigenicity of the phenylhydrazines and related compounds occurring in the mushroom in randomly bred Swiss albino mice.

## 資料9-2. Agaritineの毒性試験(S.C.)と誘導体の毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
Agaritine	s.c.	100 mg/kg	5 weekly	12 (24%)	13 (26%)	lung	19 (19%)	29 (29%)	Tothand Sornson, 1984
				7	8	adenomas	10	15	
				5	5	adenocarcinomas	9	14	
				3 (6%)	9 (18%)	blood vessels	5 (5%)	7 (7%)	
				1	7	angiomas	2	4	
				2	2	angiosarcomas	3	2	
				3(6%)	10 (29%)	Malignant lymphomas	10 (10%)	15 (15%)	
	s.c.	100 mg/kg to females, 50 mg/kg to males	single	9 (18%)	12 (24%)	lung	19 (19%)	29 (29%)	
				4	9	adenomas	10	15	
				5	3	adenocarcinomas	9	14	
				1 (2%)	5 (10%)	blood vessels	5 (5%)	7 (7%)	
				1	3	angiomas	2	4	
				0	2	angiosarcomas	3	2	
				3 (6%)	14 (28%)	Malignant lymphomas	10 (10%)	15 (15%)	
N'-acetyl-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine [N'-acetyl HMBH]	p.o.	0.0625 %	lifelong	24 (48%)***	17 (34%)**	lung	22 (22%)	15 (15%)	Toth et al., 1978
				16	10	adenomas	?	?	
				8	7	adenocarcinomas	?	?	
				15 (39%)***	16 (32%)***	blood vessels	5 (5%)	8 (8%)	
				7	9	angiomas	?	?	
				8	7	angiosarcomas	?	?	
	s.c.	500 mg/kg	26 weekly	2 (4%)	0 (0%)	soft tissue tumours	2 (4%)	0 (0%)	Toth and Nagel, 1981
				1	0	fibrosarcomas	2	0	
				1	0	angiosarcomas	0	0	

Table 17B cont. Tumourigenicity of the phenylhydrazines and-related compounds occurring in the mushroom in randomly bred Swiss albino mice.

### 資料9-3. Agaritine誘導体の慢性毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium tetrafluoroborate [HMBD]	p.o.	400 mg/kg	single	16 (32%)***	15 (30%)***	glandular stomach	0 (0%)	0 (0%)	Toth et al., 1982
				9	3	polypoid adenomas	0	0	
				7	12	adenocarcinomas	0	0	
	s.c.	50 mg/kg	26 weekly	9 (18%)***	11 (22%)*	subcutaneous tissue	3 (6%)	3 (6%)	Toth, 1987
				0	0	fibroma	1	0	
				5	10	fibrosarcomas	2	3	
				2	0	rhabdomyosarcomas	0	0	
				2	1	angiosarcomas	0	0	
				3 (6%)	9 (18%)**	skin	0 (0%)	0 (0%)	
				2	4	squamous cell papillomas	0	0	
1	5	squamous cell carcinomas	0	0					
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium sulfate [HMBD]	s.c.	50 mg/kg	26 weekly	20 (40%)***	16 (32%)***	subcutaneous tissue	2 (4%)	0 (0%)	Toth, 1987
				19	13	fibrosarcomas	2	0	
				0	2	rhabdomyosarcomas	0	0	
				1	1	angiosarcomas	0	0	
				2 (4%)	7 (14%)*	skin	0 (0%)	1 (2%)	
				0	2	squamous cell papillomas	0	1	
				2	5	squamous cell carcinomas	0	0	

Table 17B cont. Tumourigenicity of the phenylhydrazines and related compounds occurring in the mushroom in randomly bred Swiss albino mice.

## 資料9-4. Agaritine誘導体の慢性毒性試験

Compound tested	Route of administration	Dose	Exposure	Effect of treatment					Reference
				treated animals			control animals		
				males	females		males	females	
				(50/group)	(50/group)		(100/group)	(100/group)	
4-(carboxy)-phenylhydrazine [CPH]	p.o.	0.125 %	lifelong	21 (42%)*	7 (14%)*	aorta and large arteries	2 (4%)	0 (0%)	McManus et al., 1987
				6	3	leiomyoma	0	0	
				15	4	leiomyosarcomas	2	0	
N <sup>2</sup> -[γ-L(+)-glutamyl]-4-(carboxy)-phenylhydrazine [GCPH]	p.o.	1.4 g/kg	52 weekly	13 (26%)*	1 (2%)	subcutaneous tissue	0 (0%)	3 (6%)	Toth, 1986a
				0	0	fibroma	0	1	
				13	0	fibrosarcomas	0	2	
				0	1	myxosarcomas	0	0	

Table 17B cont. Tumourigenicity of the phenylhydrazines and related compounds occurring in the mushroom in randomly bred Swiss albino mice.



# 資料10. Swiss mice等の毒性実験のまとめ

Parameter	Material or compound tested in the cancer study (reference)					
	Fresh raw mushroom (Toth and Ericson, 1986)	Dry-baked mushroom (Toth et al., 1997a)	Freeze-dried mushroom (Toth et al., 1998)	CPH (McManus et al., 1987)	GCPH (Toth, 1986a)	HMBD (Toth et al., 1982)
Daily exposure per mouse	4.7 g	5.57 g	1.25 g*	1250 mg/l drinking water for life	1400 mg/kg body weight /l day weekly for 52 weeks	Single dose 400 mg/kg body weight
Fraction of tumour-bearing animals with the highest increase of a specific tumour (type of tumour)	38% (forestomach in males)	20% (forestomach in females, glandular stomach in males)	22% (lung in males)	38% (aorta and large arteries in males)	26% (subcutaneous tissue in males)	32% (glandular stomach in males)

Table 18. Fraction of treated animals with the most pronounced increase of a specific tumour.

# 資料11. *Agaricus bisporus*及び関連毒性物質のリスク評価

Parameter	Material or compound tested in the cancer study (reference)					
	Fresh raw mushroom (Toth and Ericson, 1986)	Dry-baked mushroom (Toth et al., 1997a)	Freeze-dried mushroom (Toth et al., 1998)	CPH (McManus et al., 1987)	GCPH (Toth, 1986a)	HMBD (Toth et al., 1982)
Daily exposure per mouse	4.7 g	5.57 g (males)	1.25 g*	1250 mg/l drinking water for life	1400 mg/kg body weight /l day weekly for 52 weeks	Single dose 400 mg/kg body weight
Daily exposure per kg body weight (mouse)	189 g	229 g	50 g	204 g	149 g	0.82 mg
Daily human intake of mushroom per kg body weight	0.1 g (0.025 g)	0.1 g (0.025 g)	0.1 g (0.025 g)	0.1 g (0.025 g) (containing 10-11 mg CPH/kg)	0.1 g (0.025 g) (containing 16-42 mg GCPH/kg)	0.1 g (0.025 g) (containing 0.6-4 mg HMBD/kg)
Human cancer risk due to lifelong exposure	193 x 10 <sup>-6</sup> (52x10 <sup>-6</sup> )	86 x 10 <sup>-6</sup> (23x10 <sup>-6</sup> )	211 x 10 <sup>-6</sup> (56x10 <sup>-6</sup> )	1.8-2.0 x 10 <sup>-6</sup> (0.5x10 <sup>-6</sup> )	2.7-7.0 x 10 <sup>-6</sup> (0.7-1.9x10 <sup>-6</sup> )	23-150 x 10 <sup>-6</sup> (6-40x10 <sup>-6</sup> )

\* 1.25 g freeze-dried mushroom approximately corresponds to 12.5 g raw mushroom

Table 19. Estimated life-time human cancer risk from the intake of *Agaricus bisporus* in the Nordic countries (average of intakes in Denmark, Iceland, Norway and Sweden). (Finnish figures within brackets.)

厚生科学研究費補助金

生活安全総合研究事業

「食品中の有害物質等の評価に関する研究」

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所

合田幸広

分担研究者

国立医薬品食品衛生研究所

豊田正武

国立医薬品食品衛生研究所

米谷民雄

財団法人食品薬品安全センター

内山貞夫

国立医薬品食品衛生研究所

関田清司

平成 13 (2001) 年 4 月

「アガリクス茸」による健康影響に関する調査研究

分担研究者 関田清司  
研究協力者 井上 達

【研究要旨】キノコの菌糸体、子実体、菌糸体培養液等を製品化した商品が「健康食品」として販売されている。特に免疫機能亢進や抗癌作用が話題となっているキノコに「アガリクス茸」がある<sup>注)</sup>、一方、キノコの分類学上 *Agaricus* 属（和名ハラタケ属）に属するキノコにヒドラジン誘導体が含まれていることから健康への影響を危惧する声がある。本研究では、「アガリクス茸」の安全性の観点から、*Agaricus* 属のキノコ及びこの分野での研究が比較的進んでいる *Gyromitra esculenta*（アミガサタケ）におけるヒドラジン誘導体の含有、含有が確認された誘導体に関する一般毒性、発癌性、催奇形性について文献調査した。また、*Agaricus blazei* Murill（ヒメマツタケ）の生物活性の面から文献調査した。結果、*Agaricus* 属のキノコ 27 種と *Gyromitra esculenta* にヒドラジン誘導体の存在が明らかとなった。キノコの成分として確認されている一部のヒドラジン誘導体に関する発癌性を含む毒性が明らかにされていた。また、*Agaricus bisporus*（ツクリタケ、通称：マッシュルーム）及び *Gyromitra esculenta* で動物実験により発癌作用が確認されていた。しかし、キノコの摂取を介したヒドラジン誘導体のヒトの健康への影響は明らかとなっていなかった。一方「アガリクス茸」*Agaricus blazei* Murill に関しては、ヒドラジン誘導体の存在、あるいは発癌性を含む毒性に関する報告は見あたらなかった。逆に抗癌（腫瘍）作用に関する文献が多数見られた。これは、「アガリクス茸」が誘導体を含まないあるいは毒性がない事を意味するものではなく、この分野での研究が行われていない事を意味するものと考えられた。更に今日、健康食品として販売されている「アガリクス茸」は菌糸体の培養液、菌糸体の濃縮液、乾燥粉末であったり、通常のキノコの摂取方法とは異なる方法で摂取されており、大量摂取も視野に入れ、その安全性について考えなければならない。これらの事情を考えれば、「アガリクス茸」のヒドラジン誘導体の分析あるいは動物実験による「アガリクス茸」の長期摂取による健康への影響について検討するなどの必要があると考えられる。併せてその実施に当たっては、キノコそのものを対象に実施するか、健康食品としての「アガリクス茸」について行うのか、商品としては形状や成分が異なる多数の製品のいずれから、どのような考え方で選定するのか等の問題点も存在する。

A. 研究目的

「健康食品」として販売され、免疫機能亢進や抗癌作用が話題を呼んでいるキノコに「アガリクス茸」*Agaricus blazei* Murillがある。一方、キノコの分類学上 *Agaricus* 属（和名ハラタケ属）に属する多数のキノコにはヒドラジン誘導体の含有が確認されており、ヒドラジン誘導体の毒性との関連から健康障害を危惧する声がある。本研究では、「アガリクス茸」の健康影響及び安全性、あるべき今後の研究課題を明らかにする目的で、*Agaricus*

属キノコのヒドラジン誘導体含有の有無、含有が確認された誘導体に関する発癌性や催奇形性を含む毒性情報に関する文献を調査整理した。

注) 「アガリクス茸」はキノコ名としては存在しない。アガリクス (*Agaricus*) はキノコの属名で、「アガリクス茸」と称されているキノコは、学術的にはハラタケ科 (*Agricaceae*) ハラタケ属 (*Agaricus*) の *Agaricus blazei* Murill のことである。和名はヒメマツタケ。

## B. 実験方法

キノコとヒドラジン誘導体の毒性関係の論文を多数発表している University of Nebraska Medical Center の Toth 博士による以下の六つの総説を対象に、*Agaricus* 属のキノコ及びこの分野での研究が比較的進んでいる *Gyromitra esculenta* (アミガサタケ) におけるヒドラジン誘導体の含有、含有が確認された誘導体に関する一般毒性、発癌性、催奇形性の部分について要約し、「アガリクス茸」との関連性を検討した。さらに総説に引用されていた関連文献について収集した。また、MEDLINE 検索により「アガリクス茸」の生物活性に関する文献調査を行い、安全性の面から検討した。

1) Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. *In vivo* 14: 299-320, 2000.

2) Toth B. Toxicities of hydrazines: A review. *In vivo* 2: 209-242, 1998.

3) Toth B. Mushroom toxins and cancer (review): *International Journal of Oncology* 6:137-145, 1995.

4) Toth B. A review of cancer risk associated with human exposure to hydrazines. *International Journal of Oncology* 4:231-239, 1994.

5) Toth B. Teratogenic hydrazines: A review. *In vivo* 7: 101-110, 1993.

6) Toth B. A review of the antineoplastic action of certain hydrazines and hydrazine-containing natural products. *In vivo* 10:65-96, 1996.

## C. 結果

1) Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. *In vivo* 14: 299-320, 2000. (発がん性ヒドラジン及びその関連物質の天然物での存在、人工合成物質及び消費に関する総説)

本総説では、ヒドラジン及び誘導体の自然界での存在、人工合成物質及び消費について検討が加えられている。キノコに関しては *Agaricus bisporus* (ツクリタケ) と *Gyromitra esculenta* の 2 種類、その他のキノコとして 35 種類について記述されている。この内の 26 種類は *Agaricus* 属のキノコに関するものであった。以下に *Agaricus* 属の 27 種類と

*Gyromitra esculenta* に関する部分を要約した。

(1) *Agaricus* 属のキノコ

① *Agaricus bisporus* (ツクリタケ、いわゆるマッシュルーム)

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine (別名 Agaritine)

含有量: 約 0.08% マッシュルームに含まれている (文献 9-14)。凍結乾燥と生では 0.08% (0.033~0.173%) であった (15)。抽出物では 0.4~0.7 mg/g、調理物 (ソテー) では 0.3 mg/kg、冷凍物では 0.033 mg/kg (18)。新鮮物で 94~629  $\mu$ g/g、缶詰では 1~55  $\mu$ g/g、缶詰液体部分では 3~103 mg/l、乾燥物では 2,110~6,905  $\mu$ g/g であった (21)。新鮮物では 0.065% (23)、生では 100~250  $\mu$ g/g と 80~190  $\mu$ g/g、缶詰では 6~33  $\mu$ g/g (24)。乾燥物では 6520  $\mu$ g/g、菌糸体では 0.5 mM (=135 mg/l)、胞子体では 0.6~1.2 mM (7.5-15  $\mu$ mol g<sup>-1</sup>)/cell solution (25)。

4-(Hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量: 0.06 ppm (34)。確認 (33, 35)。

4-Hydrazinobenzoic acid.

含有量: フレッシュマッシュルームでは 10.7  $\mu$ g/g (36)、検出できず、この物質は一時的な前駆体で、不安定であると考えられている (23)。

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine

含有量: 湿重量で 42  $\mu$ g/g (37)。検出できなかった (23)。

4-(Hydroxymethyl)phenylhydrazine

*Agaricus bisporus* は  $\gamma$ -glutamyltransferase を含んでいる。この酵素は agaritine を L-glutamate と 4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine とに加水分解する反応を触媒する (13)。さらに *Agaricus bisporus* がこの化合物を成長期間中恒常的に作り続けることには疑いがないとしている (23)。しかしながら、この物質はこれまでのところ、マッシュルームの抽出物からは確認されていない。

*Agaricus bisporus* の消費量

アメリカ (1998 年から 1999 年までの年間消費量) 4 億 5 千万 kg (38)、ヨーロッパ (1995

年生産量とその処理量) 10億2200万kg (39)、アジア、アフリカその他の国々でも生産され、食用にされている。中国と台湾は、このキノコの相当量の輸出国である。

② *Agaricus xanthodermus* (シロモリノカサ)。

4-Hydroxybenzenediazonium ion (sulfonate)  
含有量：含有量は不明だが、4-hydroxybenzenediazonium ionを含む (70)。

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費：アガリクス属では、食中毒を引き起こす数少ない種類の一つ、感受性により、こん睡や嘔吐、下痢等を引き起こすことがある (69)。通常口にされない。

③ *Agaricus pattersonii*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費量：食べられるが、一般的には口にされない。

④ *Agaricus argentatus*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費量：食べられるが、あまり口にされない。

⑤ *Agaricus campestris* (ハラタケ)  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

4-(Hydroxymethyl) benzenediazonium ion

含有量：量不明、報告あり (85)。

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -Glutamyl]-4-formylphenylhydrazine : (Agarital)  
含有量：抽出物で確認 (71)。

消費量：「meadow mushroom」或いは「pink button」と呼ばれる。北米やヨーロッパの草地に普通に見られる、野生のおいしいきのこである (7)。日本でも食べられている。

⑥ *Agaricus comptulius* (コハラタケ)  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine:ag : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)

消費量：食用にできるが、あまり口にされない。

⑦ *Agaricus crocodilinus*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費量：食用となるが、あまり食べられていない。

⑧ *Agaricus edulis*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費量：おいし食用キノコとして知られているが、その消費量は不明である。

⑨ *Agaricus hortensis*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine : (Agaritrine)。  
含有量：担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07%含まれる (12)。

消費量：食用となるが、その消費量は不明である。

⑩ *agaricus micromegathus*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-

methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 担孢子体の煮沸絞り汁煮には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07% 含まれる (12) .

消費量 : 食用であるか否か、不明.

⑪ *Agaricus perrarus*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 担孢子体の煮沸絞り汁には、*Agaricus bisporus* と同程度 0.07% 含まれる (12). 乾燥物では 1.25% (23) .

4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion

含有量 : その量は不明だがこの物質が含まれていた (35) .

消費量 : 食用であるか否か、不明.

⑫ *Agaricus sylvicolus*

4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion

含有量 : その量は不明だがこの物質が含まれていた (35) .

消費量 : 食用であるか否か、不明.

⑬ *Agaricus campester*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine) .

含有量 : 野生種では、乾燥重量で 0.26% (0.02-0.1%) (23) .

消費量 : 食用であるか否か、不明.

⑭ *Agaricus arvensis* (シロオオハラタケ、オオハラタケ)

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine) .

含有量 : 野生種の抽出物には、乾燥重量にして、0.02-1.85% の範囲で、平均 0.65% のアガリチンが含まれていた (23) .

4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion

含有量 : その量は不明だが、この物質が含まれていた (35) .

消費量 : 「horse mushroom」とも呼ばれ (73) 、すばらしくおいしいが、その消費量は不明である.

⑮ *Agaricus excellens*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine) .

含有量 : 野生種では、乾燥重量で 0.46% (0.03-0.9%) (23) .

消費量 : 食用に適するか否か、不明.

⑯ *Agaricus macropus*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine) .

含有量 : 野生種では、乾燥重量で 0.86% (0.07-2.50%) (23) .

消費量 : 食用に適するか否か、不明.

⑰ *Agaricus vaporarius*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine) .

含有量 : 乾燥重量で 0.10% (23) .

消費量 : 味はよい. 消費量不明.

⑱ *Agaricus subperonatus*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 乾燥重量で 0.25% (23) .

消費量 : 食用に適するか否か、不明.

⑲ *Agaricus silvicola* (シロモリノカサ)

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 乾燥重量で 0.25% (0.05~1.2%) (23) .

消費量 : このキノコは、「wood mushroom」とも呼ばれる (73) . 消費量不明.

⑳ *Agaricus bitorquis*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 野生種では、乾燥重量で 0.71% (0.05-2.0%) (23) .

4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion

含有量 : 検出したされたが、量不明 (35) .  
消費量 : 「spring agaricus」と呼ばれている (74) . 味は良いが消費量不明.

㉑ *Agaricus augustus*

$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : (Agaritine)

含有量 : 野生種では、乾燥重量で 0.80% (0.10-2.20%) (23) .

消費量 : 一般名は、「prince」であり (73) 味がよいが、消費量不明.

22 *Agaricus niveolutescens*  
 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-  
methylphenylhydrazine : (Agaritrine)  
含有量 : 野生種では、乾燥重量で平均 0.40%  
(23) .

消費量 : 味は良いが、消費量不明.

23 *Agaricus nivescens*  
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量 : 検出されたが、量不明 (35)  
消費量 : 食味や消費量不明

24 *Agaricus pequini*  
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量 : 検出されたが、量不明 (35)  
消費量 : 食味や消費量不明

25 *Agaricus phaeolepidotus*  
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量 : 検出されたが、量不明 (35)  
消費量 : 食味や消費量不明

26 *Agaricus praeclaresquamosus v terricolor*  
(ナカグロモリノカサ?)  
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量 : 検出されたが、量不明 (35)  
消費量 : 食味や消費量不明

27 *Agaricus pratensis*  
4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion  
含有量 : 検出されたが、量不明 (35)  
消費量 : 食味や消費量不明.

(2) *Gyromitra esculenta* (アミガサタケ)  
Acetaldehyde methylformylhydrazone :  
(Gyromitrin)  
含有量 : 凍結乾燥品では 0.1~0.3% (47) .  
0.9% (48,49) . 9 種類 の揮発性  
methylformylhydrazone を確認、長期乾燥後  
と煮沸により減少 (50-53) . 新鮮な物での 9  
種類の揮発性 methylformylhydrazone 量は 57  
 $\mu$  g/g 、この内 Acetaldehyde  
methylformylhydrazone は 49.9  $\mu$  g/g であつ  
た (54, 55) . 菌糸体では 60~320  $\mu$  g/g (59) .

Pentanal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.1% を確認 (48, 49) 、0.8  
 $\mu$  g/g (54,55) .

3-Methylbutanal methylformylhydrazone

含有量 : 3.3% (48,49) 、2.2  $\mu$  g/g (54, 55)

Hexanal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.6% (48,49) 、1.4  $\mu$  g/g (54, 55)

Propanal methylformylhydrazone  
含有量 : 1  $\mu$  g/g (54, 55) .

Butanal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.6  $\mu$  g/g (54, 55) .

Octanal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.2  $\mu$  g/g (54, 55) .

trans-2-Octenal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.6  $\mu$  g/g (54, 55) .

cis-2-Octenal methylformylhydrazone  
含有量 : 0.3  $\mu$  g/g (54, 55) .

N-Methyl-N-formylhydrazine  
含有量 : 乾燥物では 250-600  $\mu$  g/g (47) 、  
200  $\mu$  g/g (57) .

Methylhydrazine  
含有量 : 新鮮な物では 124.5  $\mu$  g/g 、また  
傘に比べ柄では濃度が高いことを示した (61,  
62) . 標高 900m と 2200m でのキノコ、200-350  
 $\mu$  g/g と 50-60  $\mu$  g/g と差が見られた (63) .  
缶詰では 5-65  $\mu$  g/g (64, 65) .

消費量 : 1971 年、おそらく世界で毎年 100  
万人が食べている (66) .

### (3) 小括

*Agaricus* 属のキノコ 27 種で 7 種類のヒド  
ラジン誘導体あるいはその関連化合物の含有  
が確認された (表 1) . 特に、 $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-  
(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenyl-  
hydrazine : (Agaritrine) 及び 4-  
(hydroxymethyl)benzenediazonium ion は多  
くの *Agaricus* 属のキノコでその存在が確認  
されていた。しかし、*Agaricus blazei* Murill  
に関してはの記述はなかった。また *Gyromitra*  
*esculenta* で、11 のヒドラジン誘導体の含有  
が明らかにされていた (表 2) . 化学構造式  
を図 1 に示した。比較的良く研究されている  
*Agaricus bisporus* と *Gyromitra esculenta* で、  
それぞれ 5 あるいは 6 種類のヒドラジン誘導  
体あるいはその関連化合物が確認されている



ことから、*Agaricus blazei*にもヒドラジン誘導体が成分として含有されている可能性が大きく、*Agaricus blazei*のヒドラジン誘導体に関する分析が必要と考えられた。また分析に当たっては、含有量が栽培法、キノコの部位、収穫後の処置法などにより異なることから、これらのことも考慮する必要があると考えられる。なお、本論文には、各化合物に関する毒性の記載はなかった。(番号)で示した文献のリストを参考資料1として添付した。

2) Toth B. Toxicities of hydrazines: A review. In vivo 2: 209-242, 1998. (ヒドラジン化合物の毒性)

本論文では、ヒドラジン、ヒドラジン誘導体及びその関連化合物のヒトあるいは動物実験から得られた毒性影響について 22 物質の項目を起し、記述してある。また文献提示の形で 38 物質が記載されている。これらの物質の内から前項の文献 (Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. In vivo 14: 299-320, 2000) から *Agaricus* 属のキノコで存在が明らかとなった 7 化合物と *Gyromitra esculenta* に存在が明らかとなった 11 化合物を対象に検討を行った。その結果、本論文には文献提示の形を含め 6 物質について述べられていた。

(1) *Agaricus* 属のキノコで含有が確認された物質。

① p-hydrazinobenzoic acid.

ヒト：データなし。

イヌ：0.3~2.2mg/kg、皮下投与、重篤な肝臓障害なし (156)。

ウサギ：皮下投与、赤血球崩壊(80)。

モルモット：1/15 または 1/30 molar 溶液、1.5 cc/kg、7 日皮下組織投与、赤血球数、ヘモグロビン量軽度減少 (173)。

②  $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine.

ヒト：データなし。

マウス：1.4 mg/g、1/週、52 週間経口投与、観察生涯、線維腫、線維肉腫発生増加 (58)。

(2) *Cyromitra esculenta* で含有が確認された物質。

① Actaldehyde methylformylhydrazone.

ヒト：毒性データなし。

ウサギ：0.05, 0.5 及び 5.0 mg/kg/day, 90 日間飲水投与。体重及び肝臓重量の減少、血清 GOT, GPT 増加、腎尿細管上皮の変性、中度の蛋白尿など (72)。

ウサギ：65, 70 及び 75 mg/kg, 単回経口投与、持続性強直痙攣、過敏、尿検査値の異常、血清 GOT, GPT の増加、肝臓の脂肪変性など、死亡例も見られた (73)。

ラット：200, 250, 300, 325, 350 mg/kg, 単回経口投与、持続性強直痙攣、過敏、尿検査値の異常、肝臓の脂肪変性など、死亡例あり (73)。

ラット：200mg/kg, 単回経口投与、ヘキソバルビタール誘発睡眠時間の延長、チトクローム P-450 の減少 (74)。

ラット：50, 100, 200mg/kg, 単回経口投与、尿量増加、尿中ナトリウムとカリウム増加 (75)。

マウス：1.5, 3.0, 6.0, 12 mmol/kg, 単回経口投与、神経性障害、肝臓と腎臓の退色、変性、局所壊死及び炎症、腎臓皮質の出血、心筋の変性など、死亡例も見られた (76)。

マウス：400 mg/kg 単回経口投与、神経性障害、肝臓及び腎臓の変性、死亡例あり、ビタミン B6, C,  $\gamma$ -aminobutylic acide の投与により、毒性抑制 (77)。

ニワトリ：0.005, 0.5, 5.0 mg/kg/day, 飲水 90 日間投与、肝臓重量の減少、血清 GPT の増加、肝臓、心筋、腎尿細管細胞の退行性変化など (72)。

ニワトリ：50, 100, 200, 400 mg/kg, 経口単回投与、明らかな変化なし (73)。

② N-Methyl-N-formylhydrazine.

ヒト：毒性データなし。

ラット：150mg/kg, 単回経口投与、尿中へのカリウム排出増加 (75)。

ラット：150mg/kg, 単回経口投与、ヘキソバルビタール誘発睡眠時間の延長、チトクローム P-450 の減少 (74)。

マウス：雌 500  $\mu$ g/g, 雄に 300  $\mu$ g/g, 単回経口投与、全ての被験動物が死亡、痙攣は見られなかった、肝臓、腎臓、肺に組織変化 (87)。

マウス：0.38 m mole/kg, 0.76 m mole/kg, 1.52 m mole/kg, 3.04 m mole/kg, 単回経口投与、神経性障害、肝臓と腎臓の退色と壊死、腎皮質の出血、心筋の変性、膀胱と腸での出血、数例の死亡 (76)。

③ Methylhydrazine.

ヒト：50ppm、70ppm、90ppm、10分吸入曝露、涙眼、赤眼、鼻の軽いむず痒さ、不快感、ハインツ小体の出現、呼吸器感染(268)。

アカゲザル：2.5~10mg/kg、23日間腹腔投与、嘔吐、痙攣、流涎、数例死亡(269)。

アカゲザル：2.5mg/kg、5.0mg/kg、2回投与、臨床症状発現の前に、行動抑制(270)。

アカゲザル：2.5mg/kg、5.0mg/kg、5日腹腔内投与、行動、食欲、聴覚、視覚等に影響、嘔吐、肝臓小葉中心性壊死(271)。

アカゲザル：2.5mg/kg、5.0mg/kg、7.5mg/kg、単回あるは14日間反復腹腔内投与、摂餌抑制、体重減少、嘔吐、痙攣等とミトコンドリアへ影響等(272)。

アカゲザルとリスザル：82、145、162、340ppm、15、30、60分間吸入曝露、目の刺激、流涎、舐ずり、嘔吐、痙攣等と溶血、ヘマトクリット減少、網赤血球増加等、と数例の死亡(273)。

アカゲザル：0.5mg、1.0mg、2.0mg、4.0mg/kg、5日間×2回(9日休止)、腹腔内投与、行動障害(274)。

アカゲザルとリスザル：各種濃度、15分、30分、60分単回吸入曝露、眼刺激、流涎、運動障害、中枢神経障害、赤血球障害、死亡例あり(275)。

リスザル：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日/週、6ヶ月吸入曝露、変化なし(276)。

アカゲザル：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日/週、6ヶ月吸入曝露、赤血球数減少、ハインツ小体出現と溶血(277)。

アカゲザル：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、10ppm、90日間吸入曝露、病理学的変化なし(278)。

ビーグル：複数の濃度、単回4時間吸入曝露、流涎、嘔吐、呼吸困難、痙攣、興奮、体温上昇、赤血球数減少等と肺出血、数例死亡(105)。

雑種犬：(279)、(106)、(109)、(281)(283)。

ビーグル：96ppm、195ppm、390ppm、15分、30分、60分吸入曝露、目の刺激、流涎、舐ずり、嘔吐、瞳孔拡大、運動失調等と赤血球に影響、数例死亡(273)。

ビーグル：5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、

15mg/kg、20mg/kg、30mg/kg、単回腹腔内投与、赤血球と腎障害(284)。

ビーグル：吸入曝露あるいは15mg/kg注射、血尿、血色素尿、乏尿、腎障害(282)。

ビーグル：96ppm、195ppm、390ppm、15分、30分、60分吸入曝露、目の刺激、流涎、舐めずり、嘔吐、運動機能障害、赤血球系障害(273)。

ビーグル：5mg、7.5mg、10mg、15mg、20mg、30mg/kg、単回腹腔内投与、赤血球障害、痙攣等、死亡例(284)。

ビーグル：3.7mM/kg 経皮投与、角膜浮腫(215)。

ビーグル：各種濃度、15分、30分、60分単回吸入曝露、眼刺激、流涎、嘔吐、下痢等、赤血球障害、運動障害、肺と肝臓鬱血、クモ膜下出血等、死亡例(275)。

ビーグル：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日間/週、6ヶ月、吸入曝露、肝臓、腎臓障害(276)。

ビーグル：0.2ppm、1ppm、2ppm、5ppm、6時間/日、5日間/週、6ヶ月、吸入曝露、赤血球障害、骨髓細胞減少、血清ビリルビン、アルカリフォスファターゼ、無機リン上昇(277)。

ビーグル：0.04ppm、0.1ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、10.0ppm、90日間吸入曝露、血清リンとアルカリフォスファターゼ増加、溶血、肝臓充血(278)。

ビーグル：0.5mg/kg、1.0mg/kg、1.5mg/kg、2日皮下投与、赤血球障害、減少、クッパー細胞、腎臓曲部尿管、脾臓マクロファージの色素沈着(285)。

ウサギ：0.11mmole/kg、0.22mmole/kg、0.33mmole/kg、0.44mmole/kg、0.54mmole/kg、単回静脈内投与、メトヘモグロビン血症、数例死亡(286)。

モルモット：0.11mmole/kg、0.22mmole/kg、0.40mmole/kg、0.47mmole/kg、0.54mmole/kg、単回心臓内投与、メトヘモグロビン血症、数例死亡(286)。

ラット：数段階の濃度、4時間、単回吸入曝露、不安、呼吸困難、痙攣、眼球突出、数例死亡(105)。

ラット：単回静脈内、腹腔内、経口投与、LD<sub>50</sub>は、それぞれ、33mg/kg、32mg/kg、32mg/kg(106,279)。

ラット：10~100mg/kg、単回腹腔内投与、痙攣、立毛(119)。

ラット：0.11mmole/kg、0.22mmole/kg、0.33mmole/kg、0.43mmole/kg、0.54mmole/kg、単回静脈内投与、メトヘモグロビン血症 (286)。

ラット：15.6mg/kg、単回腹腔内投与、血液凝固系障害 (278)。

ラット：78ppm、127ppm、244ppm、427ppm、30分、60分、240分、吸入曝露、鼻と目の刺激、下痢、呼吸困難、立毛、自発運動亢進、死亡例等 (273) (275)。

ラット：硝酸塩の形、単回経皮、経口、腹腔、静脈内投与、LD<sub>50</sub>は、それぞれ、285mg/kg、133mg/kg、43mg/kg、38mg/kg (288)。

ラット：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日/週、6ヶ月、吸入曝露、病理学的障害なし (276)。

ラット：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日/週、6ヶ月、吸入曝露、成長率低下 (277)。

ラット：0.04ppm、0.1ppm、1.0ppm、90日間吸入曝露、成長率低下、溶血作用 (278)。

ハムスター：単回経皮、経口、腹腔内投与、痙攣、肺出血、LD<sub>50</sub>は、それぞれ325mg/kg、72mg/kg、44mg/kg (288)。

マウス：複数段階の濃度、単回4時間吸入曝露、不安、呼吸困難、痙攣、数例死亡 (105)。

マウス：28mg/kg、33mg/kg、60mg/kgのMHが、単回経口、静脈、腹腔内投与、痙攣と死亡 (279)。

マウス：単回静脈、腹腔、経口投与、LD<sub>50</sub>は、それぞれ、33mg/kg、32mg/kg、33mg/kg (106)。

マウス：82mg/kg、単回腹腔内投与、痙攣、数例死亡 (129)。

マウス：5mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、20mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、単回腹腔内投与、痙攣、死亡例 (130)。

マウス：65ppm、92ppm、122ppm、272ppm、30分、60分、120分、240分、吸入曝露、鼻と目刺激、下痢、呼吸困難、警戒、立毛、自発運動亢進、痙攣等、死亡例 (273、275)。

マウス：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/1日、5日/週、6ヶ月、吸入曝露、肝臓障害血鉄症、肝臓、脾臓、腎臓のヘモジデリン沈着 (276)。

マウス：0.2ppm、1.0ppm、2.0ppm、5.0ppm、6時間/日、5日/週、6ヶ月、吸入曝露、2.0ppm、5.0ppm死亡 (277)。

マウス：40μg/kg、単回皮下投与、痙攣、死亡、肝細胞と腎臓尿管細胞空胞化、肺鬱血 (87)。

マウス：0.38mmole/kg、0.76mmole/kg、1.52mmole/kg、3.04mmole/kg、単回経口投与、神経性障害、肝臓と腎臓障害、心筋変性、数例死亡 (76)。

ヒキガエル (*Zenopus laevis*)：胚、3mg/l、5mg/l、10mg/l、15mg/lの濃度で水中、小頭症、単眼症、胴体短小化、脊索異常、胚死亡例 (132)。

ヒキガエル (*Zenopus laevis*)：胚、1.0mg/l、10.0mg/l、100.0mg/lの濃度で水中、3日間、1.0mg/l未滴影響なし、10.0mg/l以上致命的影響 (133)。

#### ④ pentanal methylfromylhydrazone.

ヒト：データなし

マウス：50μg/g、1/週、52週間経口投与、観察生涯、肺、肝臓、包皮腺で腫瘍発生、それぞれ雌で72、16、0%、雄で60、2、12%、対照群では、雌で26、0、0%、雄で22、0、0% (59)。

#### (3) 小括

ヒト、サル、ウサギ、ラット、ニワトリ、カエルなどに対して、消化器系、呼吸器系、神経系、造血系、生殖系など多器官に及ぼす毒性が明らかとなった。論文の著者もヒドラジン誘導体の器官非特異性の毒性について指摘していた。残念ながら、広く *Agaricus* 属で確認された β-N-[γ-L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy-methylphenylhydrazine : Agaritine や 4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion についての記述はみられなかった。(番号)で示した文献のリストを参考資料 2 として添付した。

#### 3) Toth B. Mushroom toxins and cancer( review): International Journal of Oncology 6:137-145,1995. (マッシュルームの毒性と癌 (総説))

本論文では、さまざまな角度からキノコの摂取と発がん性の問題について触れられている。この内、発癌実験成績に関するものとして、*Agaricus bisporus*、*Agaricus xanthoderumus* あるいは *Gyromitra*

*asculenta* の含有成分として確認されているヒドラジン誘導體及びその関連物質計 11 種と *Agaricus bisporus* 及び *Gyromitra asculenta* そのものについてまとめられていた。日本の新鮮な栽培椎茸から少量の Agaritine を見つけたとの報告 (27) も記載されていた。以下に要約を記した。

動物種は全てマウスである。

(1) *Agaricus bisporus*

① N<sup>2</sup>-Acetyl-4(hydroxymethyl)phenylhydrazine (33)

腫瘍発生部位：肺、血管

② 4-(Hydroxymethyl)benzenediazonium sulfate (30,35,41)

腫瘍発生部位：腺胃、皮膚、皮下組織

③ β-N-(γ-L(+)-Glutamyl-4-carboxyphenylhydrazine (37)

腫瘍発生部位：皮下組織

④ p-hydrazinobenzoic acid hydrochloride (40)

腫瘍発生部位：大動脈

⑤ *Agaricus bisporus* (38)

腫瘍発生部位：骨組織、前胃、肺、肝臓

(2) *Agaricus xanthodermus*

① 4-Hydroxybenzenediazonium sulfate (42)

腫瘍発生部位：皮下組織

(3) *Gyromitra esculenta*

① Methylhydrazine (31)

腫瘍発生部位：肺

② N-Methyl-N-formylhydrazine (32,34)

腫瘍発生部位：肝臓、肺、胆のう、胆管、血管、包皮腺

③ Acetaldehyde methylformylhydrazone (36)

腫瘍発生部位：肺、包皮腺、前胃、陰核腺

④ Pentanal methylformylhydrazon (39)

腫瘍発生部位：肺、肝臓、包皮腺

⑤ Hexanal methylformylhydrazon (44)

腫瘍発生部位：肺、肝臓、包皮腺

⑥ 3-Methylbutanal methylformylhydrazon (43)

腫瘍発生部位：肺、包皮腺、肝臓、胆のう、甲状腺

⑦ *Gyromitra esculenta* (45)

腫瘍発生部位：肺、鼻腔、血管、前胃、腺胃、盲腸、肝臓

### (3) 小括

本論文からは実験条件が不明であったので、引用文献(参考資料 3)より、投与条件を調べ表 3 まとめた。3 種のきのこ (*Agaricus bisporus*, *Agaricus xanthodermus*, *Gyromitra esculenta*) とその成分であるヒドラジン誘導體はマウスの 16 の器官及び組織に癌発生を誘発した。発生部位は、前胃部、腺胃部、盲腸、肝臓、胆管、胆のう等の消化器系が含まれていた。論文の著者はこれらのことから、少なくともこれらの物質のいくつかは、消化器系に特異的に働くと考えしている。これらの物質のほとんどが経口で投与されたことから、癌発生がこれらの器官で見られたことは当然ともいえる。また、マウスの多くの系統で、肺は多くの発癌性化学物質の標的となるとしても、鼻腔や肺といった呼吸器系での癌の発現は、予想されなかったものであった。大動脈を含めた血管の発癌は hydrazine 分子と血管細胞の特別な結合能力を強く示唆した。皮膚と皮下組織での癌の誘発は、化学物質の反応性が高いことから、適用部位での局所的な障害による。最後に、包皮腺、陰核腺、骨、甲状腺などでの癌の発現は現在のところ、説明できない。また、将来的課題として調理したキノコが発癌性を有するか実験的に確かめる事、キノコの消費量と癌発生の疫学的調査、分子レベルでの研究が急がれると提言している。一方、キノコの摂取を止めるべきかとの問いには確かな情報が得られるまで答える事はできない。現時点では世間を混乱させるような根拠はない。とも述べている。

4) Toth B. Teratogenic hydrazines: A review. *In vivo* 7: 101-110, 1993. (ヒドラジン誘導體の催奇形性)

本総説では、30物質のヒドラジンとヒドラジン誘導体の催奇形性に関する情報が提供されていた。この内 *Agaricus* 属のキノコと *Gyromitra esculenta* の成分として今回の調査で明らかとなった物質に関する部分の記載を、引用文献を参考に要約した。

(1) *Agaricus bisporus*

① P-Hydrazinobenzonic

ニワトリ：96時間孵卵したの初期胚に 0~5.0mg/egg, 1回接種、14日胎児クチパシ短小化及び歪み、足根中足骨と脛足根骨彎曲(17)

(2) *Gyromitra esculenta*

① 1-Methyl-1-formylhydrazine

ラット：妊娠13日、100, 200, 300, 400 mg/kg, 1回注射、新生児に頭頂骨延長、顎骨短小、中枢神経系の異常、前肢及び四肢先端欠損(26)。

② Methylhydrazine

カエル：胚、3mg/l, 5mg/l, 10mg/l, 15mg/lの濃度で水中、尾のねじれ、小頭症、単眼症、胴体延長化、脊索異常(23)。

カエル：胚、1.0mg/l, 10.0mg/l, 100.0mg/lの濃度で水中、10.0mg/l以上致命的影響(24)。

ラット：妊娠6-15日、2.5, 5, 10 mg/kg、腹腔内投与、母親動物の体重増加抑制、中、高用量では、吸収胚と胎児異常の有意差を伴わない増加(25)。

ラット：妊娠6-13日、1.0, 2.5, 3.5, 5.0, 7.5, 11.0 mg/kg、浸透圧ポンプによる連続投与、着床数の減少と吸収胚の増加、胎児異常は認められない(60)。

(3) 小括

キノコの成分に含まれるヒドラジン誘導体3種の物質と動物種3種で催奇形性の情報が得られた。(番号)で示した文献のリストを参考資料3として添付した。

5) Toth B. A review of cancer risk associated with human exposure to hydrazines. *International Journal of Oncology* 4:231-239, 1994. (ヒトへのヒドラジン化合物の暴露に関する発癌リスク)

本論文では、Hydrazine, 1-hydrazinophthalazine HCl, isonicotinic acid hydrazide, N-isopropyl- $\alpha$ -(2-methylhydrazino)- $\rho$ -toluamide HCl,  $\beta$ -phenylethylhydrazine の5つの hydrazines

について述べられているが、*Agaricus* 属や *Gyromitra esculenta* で認められたヒドラジン誘導体に関する記述はなかった。ここで記述された化合物はいずれも人工合成の化合物で、Hydrazineを除いては、治療目的とした薬剤として投与されており、併用した薬剤や放射線などの影響を排除できないことから、ヒドラジン誘導体のヒトへの発癌リスクを判断するのは難しいとしている。また Hydrazine については、観察された範囲では発癌性に関しては関連性が低いとの結論であった。

6) Toth B. A review of the antineoplastic action of certain hydrazines and hydrazine-containing natural products. *In vivo* 10:65-96.1996 (ヒドラジン化合物およびヒドラジン含有天然物の抗ガン作用について)

本論文では、79のヒドラジン誘導体及びその関連化合物、*Agaricus bisporus* と *Lentinus edodes* の2種類のキノコの抗癌(腫瘍)作用について述べられていた。今回の調査目的に関連する *Agaricus bisporus* の項について記載する。

(1) *Agaricus bisporus*

マウス：雄 C3H 及び CDF<sub>1</sub> マウスに MM-46 あるいは IMC 癌細胞を接種、*Agaricus bisporus* の子実体 10, 20, 30% 含有飼料摂取、30日後の癌細胞の転移阻害率は C3H で 58.8, 66.8, 76.2%, CDF<sub>1</sub> で 32.6, 45.3, 55.4% で、癌細胞を抑制した。また、抗癌作用の解明のために、スーパーオキシドアニオン生成やキラー細胞の活性なども検討(32)。

(2) 小括

*Agaricus bisporus* と *Lentinus edodes* の二つのキノコで抗癌作用を示したが、これらの作用がヒドラジン誘導体含有によるものである証拠はない。むしろ、この作用はその他の成分(ある種の多糖類、糖タンパク複合体など)の作用による。また、ヒドラジン化合物の抗癌作用の機序は明らかでないが、可能性としては、細胞傷害性、解糖系への干渉、重金属代謝の阻害、細胞分裂の抑制、染色体や DNA の切断などによる細胞毒性が挙げられる。これらのいくつかは、発癌作用の機序を説明するものと共通の機序である。著者は「ヒドラジン化合物は、細胞の成長に影響することが知られており、この影響が、特定に条件では

抑制（抗癌）に、別の条件では増殖（癌）へと細胞を導く」としている。

#### 7) *Agaricus blazei murill*

今日、免疫機能亢進や抗発ガン作用が話題になっていて、いわゆる「アガリクス茸」として販売されている *Agaricus blazei* Murill についてインターネットを利用した MEDLINE で *Agaricus blazei* の物質名を指定して検索した。その結果 11 の文献の存在が明らかとなった。この内 9 文献が成分の抗癌作用と抗腫瘍作用に関するものであった (1-5, 7, 8, 10, 11)。残りの文献は栽培と高血圧、アトピー性皮膚炎、糖尿病の改善 (6) と抗変異原性と抗菌物質 (9) に関するものであった(表 4)。また、成分について見ると、ヒドラジン化合物が記述されたものはなく、多糖類、糖タンパク複合体、レクチン等が成分として記載されていた。(番号)で示した文献のリストを参考資料 3 として添付した。また、この他に、Chemical Abstract(CA on CD 1999 年度版)でも検索を行ったが、*Agaricus blazei* の検索で得られた 21 件の情報には、ヒドラジン化合物に関するものはなかった。ここでもやはり、多糖類、糖タンパク複合体に関する報告が中心で、その作用は、抗癌、加齢抑制、抗炎症、免疫調整作用等であった。

#### D 考察及び結語

「アガリクス茸」の安全性の観点から、*Agaricus* (ハラタケ) 属のキノコ及び *Gyromitra esculenta* (アミガサタケ) のヒドラジン含有、催奇形性、発癌性、一般毒性、ヒトへの毒性について、また、*Agaricus* 属キノコあるいは *Gyromitra esculenta* に含有されているヒドラジン誘導体についても催奇形性、発癌性、一般毒性、ヒトへの毒性について文献的に調査した。さらに今日話題となっているいわゆる「アガリクス茸」(*Agaricus blazei murill*, ヒメマツタケ) についても調査した。その結果、*Agaricus* 属に含まれるいくつかのヒドラジン誘導体及び *Agaricus* 属の 1 種 *Agaricus bisporus* (ツクリタケ、通称: マッシュルーム) 及び *Gyromitra esculenta* で動物実験より発癌作用確認されていた。また含有が確認された一部のヒドラジン誘導体で催奇形性も確認されていた。しかし、ヒトでのキノコ摂取によるヒドラジン誘導体の影響

は明らかでなかった。一方「アガリクス茸」に関しては、ヒドラジン誘導体に関する報告、あるいは発癌性を含む毒性に関する報告は見あたらなかった。逆に抗癌(腫瘍)作用に関する文献が多数見られた。これは、「アガリクス茸」がヒドラジン誘導体を含まない、あるいは毒性がない事を意味するものではなく、この分野での実験が行われていない事を意味するものと考えられた。更に、今日、健康食品として販売されている「アガリクス茸」は菌糸体の培養液、菌糸体、濃縮体であったり、通常のキノコの摂取方法とは異なる方法で摂取されており、大量摂取も視野に入れ、その安全性について考えなければならない。これらの事を考えれば、「アガリクス茸」のヒドラジン誘導体の分析、あるいは動物実験による「アガリクス茸」の長期摂取による健康への影響についての検討なども必要があると考えられる。そして、その実施に当たっては、キノコそのものを対象に実施するか、健康食品としての「アガリクス茸」について行うのか、商品としては形状や成分が異なる多数の製品のいずれから、どのような考え方で選定するか等の問題点も存在する。

表1 *Agaricus* 属キノコに含まれるヒドラジン誘導体およびその関連化合物

(文献: Toth B: A Review of the Natural Occurrence, Synthetic Production and Use of Carcinogenic Hydrazines and Related Chemicals. In Vivo 14: 299-320, 2000. のまとめ)

キノコの種類	ヒドラジン誘導体及びその関連化合物						
	GHM PH	HMB D	HBA	GCPH	HMP H	HBD	GFPH
<i>Agaricus bisporus</i>	○ <sub>8,15-32</sub>	○ <sub>33-35</sub>	○ <sub>23,38</sub>	○ <sub>23,37</sub>	○ <sub>18,23</sub>		
<i>Agaricus xanthodermus</i>	○ <sub>12</sub>					○ <sub>70</sub>	
<i>Agaricus pattersonii</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus argentatus</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus campestris</i>	○ <sub>12</sub>	○ <sub>35</sub>					○ <sub>71,72</sub>
<i>Agaricus comptulis</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus crocodilinus</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus edulis</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus hortensis</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus micromegathus</i>	○ <sub>12</sub>						
<i>Agaricus perrarus</i>	○ <sub>12,28</sub>	○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus sylviculus</i>		○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus campester</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus arvensis</i>	○ <sub>23</sub>	○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus excellens</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus macropus</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus vaporarius</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus subperonatus</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus silvicola</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus bitorquis</i>	○ <sub>23</sub>	○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus augustus</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus niveolutescens</i>	○ <sub>23</sub>						
<i>Agaricus nivescens</i>		○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus pequinii</i>		○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus phaeolepidotus</i>		○ <sub>35</sub>					
<i>A. praeclaresquamosus</i>		○ <sub>35</sub>					
<i>Agaricus pratensis</i>		○ <sub>35</sub>					

○は、成分として認められたもの。数字は文献番号 (参考資料1に対応)。

GHMPH :  $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine

HMBD : 4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion

HBA : 4-Hydrazinobenzoic acid

GCPH :  $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine

HMPH : 4-(Hydroxymethyl)phenylhydrazine

HBD : 4-Hydroxybenzenediazonium ion

GFPH :  $\beta$ -N-[ $\gamma$ -Glutamyl]-4-formylphenylhydrazine

表2 *Gyromitra esculenta* に含まれるヒドラジン誘導体  
 (Toth B: A Review of the Natural Occurrence, Synthetic Production and  
 Use of Carcinogenic Hydrazines and Related Chemicals. In Vivo 14:  
 299-320, 2000.のまとめ)

ヒドラジン誘導体	文献番号
Acetaldehyde methylformylhydrazone	42-59
Pentanal methylformylhydrazone	48,49,54,55
3-Methylbutanal methylformylhydrazone	48,49,54,55,58
Hexanal methylformylhydrazone	48,49,54,55
Propanal methylformylhydrazone	54,55
Butanal methylformylhydrazone	54,55
Octanal methylformylhydrazone	54,55
trans-2-octenal methylformylhydrazone	54,55
cis-2-octenal methylformylhydrazone	54,55
N-Methyl-N-formylhydrazine	47,57
Methylhydrazine	44,45,60-65

文献番号は参考資料1と対応





表3 キノコの成分として認められているヒドラジン誘導体、*A.bisporus*及び*G.esculenta*に関する発癌性試験成績  
(Toth B: Mushroom toxins and cancer(Review). Intern J Oncol 6:137-145,1995.のまとめ)

ヒドラジン誘導体	投与条件 (動物:マウス)			発生部位*	文献番号
	経路	用量	頻度		
AHMPH	飲水	0.0625%溶液	生涯	肺、血管	33
HMBD	経口	400 $\mu$ g/g	単回	腺胃	30
	皮下	50 $\mu$ g/g	1/週、26週	皮膚、皮下	35
	皮下	50 $\mu$ g/g	1/週、26週	皮膚、皮下	41
GCPH	経口	1.4mg/g	1/週、52週	皮下	37
HBA	飲水	0.13%	生涯	大動脈	40
<i>A.bisporus</i>	経口	キノコ摂取	3日/週、生涯	骨、前胃、肺、肝臓	38
HBD	皮下	2 $\mu$ g/g	1/週、36週	皮下	42
MH	飲水	0.01%溶液	生涯	肺	31
MFH	飲水	0.0078%溶液	生涯	肝臓、肺、胆嚢、輸胆管、	32
	皮下	100-180 $\mu$ g/g	単回	肺、包皮腺、血管	34
AMFH	経口	100 $\mu$ g/g	1/週、52週	肺、包皮腺、前胃、陰核腺	36
PMFH	経口	50 $\mu$ g/g	1/週、52週	肺、肝臓、包皮腺	39
HMFH	経口	50・100 $\mu$ g/g	1/週、52週	肺、肝臓、包皮腺	44
MBMFH	経口	50 $\mu$ g/g	1/週、52週	肺、包皮腺、肝臓、胆嚢、甲状腺	43
<i>G.esculenta</i>	経口	キノコ摂取	3日/週、生涯	肺、鼻腔、血管、腺胃、盲腸、肝臓	45

\* 観察期間は生涯。文献番号は参考資料3と対応。

AHMPH :N'-Acetyl-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine

HMBD :4-(hydroxymethyl)benzediazonium ion

GCPH : $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-Glutamyl)-4-carboxyphenylhydrazine

HBA :p-Hydrazinobenzoic acid

HBD :4-Hydroxybenzediazonium ion

MH :Methylhydrazine

MFH :N-Methyl-N-formylhydrazine

AMFH :Acetaldehyde methylformylhydrazone

PMFH :Pentanal methylformylhydrazone

HMFH :Hexanal methylformylhydrazone

MBMFH :3-Methylbutanal methylformylhydrazone

表4 *Agaricus Blazei* Miller に関する文献調査結果

有効成分	作用	文献番号
多糖類(glucomannan)	抗癌作用	1
$\alpha$ -1,4-glucan と $\beta$ -1,6-glucan の complex	癌細胞選択的に抑制、免疫機能亢進	2
ペプチドグルカン ((1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glucan と (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucan の complex)	癌細胞選択的に抑制、免疫機能亢進	3
ペプチドグルカン ((1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glucan と (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucan の complex)	ナチュラルキラー細胞の活性化とアポトーシスによる抗癌作用	4
多糖類( $\alpha$ -1,6 glucan と $\alpha$ -1,4 glucan の complex)	細胞傷害性リンパT細胞の活性による抗癌作用	5
熱水抽出物 (含 $\alpha$ -1,4glucan と $\beta$ -1,6glucan)	免疫機能亢進、高血圧症、糖尿病、アトピー性皮膚炎の改善	6
多糖類とタンパク複合体	免疫機能亢進と抗癌作用	7
(1-6)- $\beta$ -D-glucan-protein complex	免疫機能亢進と抗癌作用	8
リノール酸 13-hydroxy cis-9, trans-11-octadecadienoic acid	抗変異原性 抗菌作用	9
タンパクと(1-6)- $\beta$ -D-glucan の complex	抗癌作用	10
レクチン	レクチンの分離と特性	11

文献番号は参考資料6に対応

Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. In vivo 14: 299-320, 2000. の文献で *Agaricus* 属のキノコと *Gyromitra esculenta* に関係する部分に引用されていた文献リスト(引用文献番号は本論文番号と一致する。網掛け文字の文献は収集できなかったもの)

- 7 Miller O.K. Mushroom of North America. New York: E.P. Dutton, 1972.
- 8 Levenberg B: Isolation and enzymatic reactions of agaritine, a new amino acid derivative. Fed Proc 19:6, 1960.
- 9 Levenberg B: Structure and enzymatic cleavage of agaritine, a phenylhydrazide of L-glutamic acid isolated from Agaricaceae. J Am Chem Soc 83:503-504, 1961.
- 10 Daniels EG, Kelly RB, Hinman JW: Agaritine: An improved isolation procedure and confirmation of structure by synthesis. J Am Chem Soc 83:3333-3334, 1961.
- 11 Kelly RB, Daniels EG, Hinman JW: Agaritine: Isolation, degradation and synthesis. J Org Chem 27:229-231, 1962.
- 12 Levenberg B: Isolation and structure of agaritine, a  $\gamma$ -glutamylsubstituted arylhydrazine derivative from Agaricaceae. J Biol Chem 239:267-273, 1964.
- 13 Gigliotti H, Levenberg B: Studies on the  $\gamma$ -glutamyltransferase of *Agaricus bisporus*. J Biol Chem 239:274-284, 1964.
- 14 Gigliotti H, Levenberg B: Enzymatic transfer of the  $\gamma$ -glutamyl group between naturally-occurring aniline and phenylhydrazine derivatives in the genus *Agaricus*. Biochim Biophys Acta 81:618-620, 1964.
- 15 Liu JW. Measurement of agaritine in fresh and processed mushrooms, *Agaricus bisporus*. M.S. Thesis, The Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, 1979.
- 16 Chiarlo B, Cajellim E, Acerbo C: The presence of agaritine in a mushroom (*Agaricus bisporus*) commonly cultivated in Italy. Fitoter 50:111-114, 1979.
- 17 Liu JW, Beelman RB, Lineback DR, Speroni JJ: Agaritine content of fresh and processed mushroom [*Agaricus bisporus*. (Lange) Imbach] J Food Sci 47:1542-1548, 1982.
- 18 Ross A, Nagel D, Toth B: Occurrence, stability and decomposition of  $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L (+) Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine (agaritine) from the mushroom *Agaricus bisporus*. Food Chem Toxicol 20:903-907, 1982.
- 19 Speroni JJ, Beelman RB: High performance liquid chromatographic determination of agaritine in cultivated mushrooms. J Food Sci 47:1539-1541, 1982.
- 20 Speroni JJ, Beelman RB, Schisler LC: Factors influencing the agaritine content in cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*. J Food Protect 46:506-513, 1983.
- 21 Fisher B, Luthy J, Schlatter C: Gehaltsbestimmung von Agaritin in Zuchtchampignon (*Agaricus bisporus*) mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Z. Lebensmittel Unters Forsch 179:218-223, 1984.
- 22 Speroni JJ, Sastry SK, Beelman RB: Thermal degradation kinetics of agaritine in model systems and agaritine retention in canned mushrooms. J Food Sci 50: 1306-1311, 1985.
- 23 Ståjve T, Fumeaux R, Philipposian G: Agaritine, a p-hydroxymethylphenylhydrazine derivative in cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*), and in some of its wild growing relatives. Deut Lebensm-Rundsch 82:243-248, 1986.
- 24 Sharman M, Patey AL, Gilbert J: A survey of the occurrence of agaritine in U.K. cultivated mushrooms and processed mushroom products. Food Additives and Contaminants 7: 649-656, 1990.

- 25 Soulier L, Foret V, Arpin N: Occurrence of agaritine and  $\gamma$ -glutamyl-4-hydroxybenzene (GHB) in the fructifying mycelium of *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 97: 529-532, 1993.
- 26 Nicholls H: Studies on the  $\gamma$ -glutamyltransferase and arylhydrazine oxidase activities of *Agaricus bisporus*. Ph.D. Thesis. The University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1963.
- 27 Levenberg B: Agaritine and  $\gamma$ -glutamyltransferase. *Methods in Enzymology*, (H Tabor, and WL Tabor, eds). New York, Academic Press, 1970, 17A: 877-833, 1977.
- 28 Schutte HR, Liebisch HW, Miersch O, Senf L: Untersuchungen zur Biosynthese des Agaritins Agaritins in *Agaricus bisporus*. *Ann Chimica* 68: 899-903, 1972.
- 29 Sastry SK, Beelman RB, Speroni JJ: A three-dimensional finite element model for thermally induced changes in foods: applications to degradation of agaritine in canned mushrooms. *J Food Sci* 50: 1293-1299, 1985.
- 30 Datta S, Hoesch L: Normal synthesis of agaritine, a 4-hydrazinobenzyl-alcohol derivative occurring in Agaricaceae. *Helv Chim Acta* 70: 1261-1267, 1987.
- 31 Baumgartner D: Agaritin - ein Phenylhydrazinderivat des Kulturchampignons. Ph.D. Thesis. University of Zurich, 1995.
- 32 Baumgartner D, Hoesch L, Rast DM: The biogenesis of  $\beta$ -N-( $\gamma$ -Glutamyl)-4-hydroxymethylphenylhydrazine (agaritine) in *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 49: 465-474, 1998.
- 33 Levenberg B: An aromatic diazonium compound in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Biochim Biophys Acta* 63: 212-214, 1962.
- 34 Ross AE, Nagel D, Toth B, Evidence for the occurrence and formation of diazonium ions in the *Agaricus bisporus* mushroom and its extracts. *J Agr Food Chem* 30: 521-525, 1982.
- 35 Fiussello N, Vigolo G, Ceruti M: Sostanze mutagene e cancerogene in funghi del genere *Agaricus*. *Atti Accad Sci Torino* 122: 237-242, 1988.
- 36 Chauhan Y, Nagel D, Issenberg P, Toth B: Identification of a phydrazinobenzoic acid in the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. *J Agricult Food Chem* 32: 1067-1069, 1984.
- 37 Chauhan Y, Nagel D, Gross M, Cerny R, Toth, B: Isolation of N<sup>2</sup>-[ $\gamma$ -L (+) Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *J Agr Food Chem* 33: 817-820, 1985.
- 38 U.S. Department of Agriculture, National Agricultural Service, Mushrooms, Washington, DC, Vg 2-1-2, August, 1999, Economic Research Service, Vegetables and Specialties, VCS-273, July, 1999.
- 39 The Foodbase Company, Ltd. Mushrooms, Tonbridge, Wells, Kent, United Kingdom, April, 1998.
- 47 Schmidt-Meszaros J: Gyromitran in *Tricholomachela* (*Gyromitra esculenta* sicc.) Mitt. Gebiet Lebensm Hyg 65: 453-455, 1974.
- 48 Pyysalo H: Some new toxic compounds in false morels, *Gyromitra esculenta*. *Naturwissenschaften* 62: 395, 1975.
- 49 Pyysalo H: Metsäsiienten hainnivistä yhdisteistä. *Kemia-Kemi* 12: 605-609, 1975.
- 50 Pyysalo H, Honkanen E: Mass spectra of some N-methyl-N-formylhydrazones. *Acta Chem Scand B* 30: 792-793, 1976.
- 51 Pyysalo H, Niskanen A.A. GLC method for analyzing residues of N-methyl-N-formylhydrazones in fresh and processed false morel *Gyromitra esculenta*. *Kemia-Kemi* 3: 12, 1976.
- 52 Pyysalo H: Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. *Acta Chem Scand B* 30: 235-244, 1976.

- 53 Pyysalo H: Tests for gyromitrin, a poisonous compound in false morel *Gyromitra esculenta*. *Z Lebensm Unters Forsch* 160:325-330,1976.
- 54 Pyysalo H, Niskanen A: On the occurrence of N-methyl-N-formylhydrazones in fresh and processed false morel, *Gyromitra esculenta*. *J Agr food Chem* 25:644-647,1977.
- 55 Pyysalo H, Niskanen A: Är stenmurklan ättig Livsmedelstetalk 6:294-296,1977.
- 56 Raudaskoski M, Pyysalo H, Occurrence of N-methyl-N-formylhydrazones in mycelia of *Gyromitra esculenta*. *Z Naturforsch* 33:472-474,1978.
- 57 Stijve T: Ethylidene gyromitrine and N-methyl-N-formylhydrazine in commercially available dried false morels, *Gyromitra esculenta*. *Fr ex Pers Trav Clin Aliment Hyg* 69:492-504,1978.
- 58 McClusky GA, Cooks RG, Knevel AM: Direct analysis of mushroom constituents by mass spectrometry *Tetrahedron Lett* 46:4471-4474,1978.
- 59 Viernstein H, Jurenitich J, Kubelka W: Vergleich des Giftgehaltes der Lorchelarten *Gyromitra gigas*, *Gyromitra fastigiata* und *Gyromitra esculenta*. *Ernahrung* 4: 392-395,1980.
- 60 Pyysalo H, Niskanen A, Wright Av: Formation of toxic methylhydrazine during cooking of false morels, *Gyromitra esculenta*. *J Food Safety* 1: 295-299,1978.
- 61 Andary C, Privat G, Bourrier Mj: Microdosage spectrofluorimétrique sur couches minces de la monométhylhydrazine chez *Gyromitra esculenta*. *J Chromatogr* 287: 419-424, 1984.
- 62 Andary C, Bourrier Mj, Privat G: Teneur en toxine et inconstance de l'intoxication gyromitrénne. *Bull Soc Myc Fr* 4: 273-285,1984.
- 63 Andary C, Privat G, Bourrier Mj: Variations og monométhylhydrazine content in *Gyromitra esculenta*. *Mycologia* 77: 259-264,1985.
- 64 Larsson BK, Eriksson A: The analysis and occurrence of hydrazine toxins in fresh and processed false morel, *Gyromitra esculenta*. *Z Lebensm Unters Forsch* 189: 438-442,1989.
- 65 Larsson B, Eriksson A: Methylhydrazin i stenmurkla. *Nær Foda* 41: 75-83,1989.
- 66 Simon DM: The mushroom toxins. *Del Med J* 43: 177-187,1974.
- 67 LaRue TA: Naturally occurring compounds containing a nitrogen - nitrogen bond . *Lloydia* 40: 307-321,1977.
- 68 Michelot D, Toth B: Poisoning by *Gyromitra esculenta*. - a review. *J Appl Toxicol* 11: 235-243,1991.
- 69 Gill M, Strauch RJ: Constituents of *Agaricus zanthodermus* Genevier: The first naturally endogenous azo compound and toxic phenolic metabolites. *Z Naturforsch* 39c: 1027-1029,1984.
- 70 Dornberger K, Ihn W, Schade W, Tresselt D, Zureck A, Radics L: Antibiotics from Basidiomycetes. Evidence for the occurrence of the 4-hydroxybenzenediazonium ion in the extracts of *Agaricus zanthodermus* Genevier(Agaricales). *Tetrahedron Lett* 27: 559-560,1986.
- 71 Chulia AG, Bernillon J, Favre-Bonvin J, Kaouadji M, Arpin N: Isolation of  $\beta$ -N-( $\gamma$  Glutamyl)-4-formylphenylhydrazine (agaritinal) from *Agaricus campestris*. *Phytochemistry* 27: 929-930,1988.
- 72 Szent-Gyorgyi A, Chung RH, Boyajian MJ, Tishler M, Arison BH, Schoenewaldt EF, Wittick JJ: Agaridoxin, a mushroom metabolite. Isolation, structure, and synthesis. *J Org Chem* 41: 1603-1606,1976.
- 73 Pacini G: Guide to mushrooms. (C. Lincoff, ed.) New York, Simon and Schuster, 1981.

Toth B. Toxicities of hydrazines: A review. *In vivo* 2: 209-242, 1998. の文献で *Agaricus* 属のキノコと *Gyromitra esculenta* に関係する部分に引用されていた文献リスト  
(引用文献番号は本論文番号と一致する. 太字は文献を収集でたもの)  
文献 (1)

- 58 Toth B: Carcinogenesis by N<sup>2</sup> - [ $\gamma$ -L (+) Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine of *Agaricus bisporus* in mice. *Anticancer Res* 6: 917-920, 1986.
- 59 Toth B and Raha CR: Carcinogenesis by pentanal methylformylhydrazone of *Gyromitra esculenta* in mice. *Mycopathol* 98: 83-89, 1987.
- 72 Niskanen A, Pyysalo H, Rimaila-Parnanen E and Hartikka P: Shortterm peroral toxicity of ethylidene gyromitrin in rabbits and chickens. *Fd Cosmet Toxicol* 14: 409-415, 1976.
- 73 Makinen SM, Kreula M and Kauppi M: Acute oral toxicity of ethylidene gyromitrin in rabbits, rats and chickens. *Food Cosmet Toxicol* 15: 575-578, 1977.
- 74 Braun R, Greef U and Netter KJ: Liver injury by the false morel poison gyromitrin. *Toxicol* 12:155-163, 1979.
- 75 Braun R, Kremer J and Rau H: Renal Functional response to the mushroom poison gyromitrin. *Toxicol* 13:187-196, 1979.
- 76 Wright A, Niskanen A, Pyysalo H and Korpela H: The toxicity of some N-methyl-N-formylhydrazones from *Gyromitra esculenta* and related compounds in mouse and microbial tests. *Tox Appl Pharm* 45:429-434, 1978.
- 77 Wright A, Niskanen A, Pyysalo H and Korpela H: Amelioration of toxic effect of ethylidene gyromirin(false morel poison)with pyridoxine chloride. *J Food Safety* 3:199-203, 1981.
- 87 Toth B and Erikson J: Reversal of the toxicity of hydrazine analogues by pyridoxine hydrochloride. *Toxicology* 7:31-36, 1977.
- 88 Jenney EH, Smith RP and Pfeiffer CC: Pyridoxine as an antidote to semicarbazine seizures. *Fed Proc* 12 :333, 1953
- 105 Jacobson KH, Clem JH, Wheelwright HJ, Jr, Rinehart WE and Mayes N: The acute toxicity of the Vapors of some methylated hydrazine derivatives. *AMA Archs Industr Hlth* 12:609-616, 1955.
- 106 Witkin L: Acute toxicity of hydrazine and some of its methylated derivatives. *AMA Archs Industr Hlth* 13:34-36, 1956.
- 109 Van Stee EW: Acute effects of exposure to hydrazine and hydrazine derivatives on renal function in the dog. *Aero Med* 36:764-767, 1965.
- 119 O'Brien RD, Kirkpatrick M and Miller PS: poisoning of the rat by hydrazine and alkylhydrazines. *Tox and Appl Pharm* 6:371-377, 1964.
- 129 Wein FW, Nemenzo JH, Bennett S and Meyers FH: A study of the mechanism of acute toxic effects of hydrazine, UDMH, MMH, and SDMH. *NTIS, AMRL-TDR-64-26:1-15, 1965.*
- 130 Furst A and Gustavson WR: A comparison of alkylhydrazines and their  $\beta$ -hydrazones as convulsant agents. *Proc Soc Exp Biol Med* 124:172-175, 1967.
- 131 Greenhouse G: Evaluation of the teratogenic effects of hydrazine, methylhydrazine, and dimethylhydrazine on embryos of *Xenopus laevis*, the South African clawed toad. *Teratology* 13: 167-178, 1976.
- 132 Greenhouse G: Effects of pollutants on eggs, embryos and larvae of amphibian species, Springfield, VA, U.S. Dept. of Comm., NTIS 1-24, 1976.
- 133 Greenhouse G: Effects of pollutants on eggs, embryos and larva of amphibian species, VA, U.S. Dept. of Comm., NTIS1-24, 1976.

- 156 Bodansky M: The action of hydrazine and some of its derivatives in producing liver injury as measured the effect on levulose tolerance. *J Biol chem* 58:799-811,1924.
- 173 Minami S: The anemia causing action of various hydrazine derivatives, their influence on oxygen in the blood, and their relation to their chemical structure. I. The anemia causing action of Various hydrazine derivatives and their relation to their chemical structure. *Japan J Exptl Med* 11:253-299,1933.
- 215 Takahashi GH and Dasher CE: Effects of MMH Upon the cornea and studies on the blood-aqueous barrier to MMH. *Aerosp Med* 40:279-283,1969.
- 268 MacEwen JD, Theodore J and Vernot EH: Human exposure to EEL concentrations of monomethylhydrazine. NTIS, AMRL-TR-70-102:355-363,1970.
- 269 Back KC and Pinkerton MK: Toxicology and pathology of repeated doses of monomethylhydrazine in monkeys. NTIS, AMRL-TR-66-199:1-13,1957.
- 270 Reynolds HH and Back KC: Effect of injected monomethylhydrazine on primate performance. *Tox and Appl Pharm* 9:376-389,1966.
- 271 Whitney GD, Wolfle TL and Batson PY: Behavior of primates following injection of monomethylhydrazine with and without Pyridoxine. *Aerosp Med* 39:1283-1286,1968.
- 272 George ME, Mautner W and Back KC: Nephrotoxic effects of monomethylhydrazine in monkeys. NTIS, AMRL-TR-68-110:1-15,1968.
- 273 Haun CC: The acute inhalation toxicity of monomethylhydrazine Vapor. NTIS, AMRL-TR-68-175:145-156,1968.
- 274 Whitney G and Taylor HL: Behavioral change following repeated low doses of monomethylhydrazine. *Aerosp Med* 41:1048-1051,1970.
- 275 Haun CC, MacEwen JD, Vernot EH and Eagan GF: Acute inhalation toxicity of monomethylhydrazine vapor. *Am Ind Hyg Assoc J* 31:667-677,1970.
- 276 Kroe DJ: Animal pathology resulting from long-term exposure to low levels of monomethylhydrazine. Springfield, VA, U.S.Dept.of Comm., NTIS 271-278, 1971.
- 277 MacEwen JD and Haun CC: Chronic exposure studies with monomethylhydrazine. Springfield, VA, U.S. Dept. of Comm., NTIS 255-270, 1971.
- 278 Darmer KI, Jr and MacEwen JD: monomethylhydrazine-chronic low level exposures and 24-hour emergency exposure limits. Proc. Of the 4th Annual Conf.on Environ. Tox., Springfield, VA, U.S.Dept.of Comm.,NTIS 373-385,1973.
- 279 Within LS and Wheatherby JH: Some pharmacological effect of methylhydrazine. *Fed Proc* 14:395,1955.
- 281 Coe FL, Hower RW and Goetting JA: The effect of monomethylhydrazine upon renal function. NTIS, SAM-TR-67-61:1-7,1967.
- 282 SophervRL, Esparza AR and Robinson FR: The effect of monomethylhydrazine by inhalation or injection in dog's kidneys. NTIS, AMRL-TR-68-175:159-166,1968.
- 283 Smith EB and Clark DA: The absorption of monomethylhydrazine through canine skin. *Proc Exp Biol Med* 131:226-232,1969.
- 284 Sopher RL, Esparza AR and Robinson FR: Renal pathology of acute methylhydrazine intoxication in dogs. *Aero Med* 40:55-61,1969.
- 285 Clark DA and De la Garza M: Species differences in methemoglobin levels produced by administration of monomethylhydrazine. *Proc Soc Exp Biol Med* 125:912-916,1967.
- 286 Clark DA and De la Garza M: Species differences in methemoglobin levels produced by administration of mono methylhydrazine. *Proc Soc Exp Biol Med* 125: 912-916, 1967
- 287 Bairrigton JD: The effects of monomethylhydrazine on the coagulation mechanism. NTIS. AMRL-TR-67-64:1-4,1967.
- 288 Gregory AR, Warrington HP, Bafus DA, Baily JW, Legg CA, Cornish MH and Evans DQ: monomethylhydrazine nitrate toxicity. *Proc West Pharmacol Soc* 14:117-120,1971.



参考資料 3

Mushroom toxins and cancer (review): International Journal of Oncology 6:137-145,1995.  
の文献で *Agaricus* 属のキノコと *Gyromitra esculenta* に関係する部分に引用されていた文献リスト(引用文献番号は本論文番号と一致する。以下の文献は全て入手済みである)

- 27 Hashida C, Hayashi, Jie L, Haga S, Sakurai M, Shimizu H: Quantities of agaritine in mushrooms(*Agaricus bisporus*) and the carcinogenicity of mushroom methanol extracts on the mouse bladder epithelium. Jap J Pub Health 37: 400-405, 1990.
- 30 Toth B, Nagel D, Ross A: Gastric tumorigenesis by a single dose of 4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion of *Agaricus bisporus*. Br J Cancer 46:417-422, 1982.
- 31 Toth B: Hydrazine, methylhydrazine and methylhydrazine sulfate carcinogenesis in Swiss mice. Failure of ammonium hydroxide to interfere in the development of tumors. Int J Cancer 9: 109-118, 1972.
- 32 Toth B, Nagel D: Tumors induced in mice by N-methyl-N-formylhydrazine of the false morel *Gyromitra esculenta*. J Natl Cancer Inst 60:201-204, 1978.
- 33 Toth B, Nagel D, Patil K, Erickson J, Antonson K: Tumor induction with the N-acetyl derivative of 4- hydroxymethylphenylhydrazine a metabolite of agaritine of *Agaricus bisporus*. Cancer Res 38:177-180, 1978.
- 34 Toth B, Patil K: Carcinogenesis by a single dose of N-methyl-N-formylhydrazine. J Tox Env Health 6: 577-584, 1980.
- 35 Toth B, Patil K, Jas HS: Carcinogenesis of 4-(hydroxymethyl)-benzenediazium ion (tetrafluorborate) of *Agaricus bisporus*. Cancer Res 41:2444-2449, 1981.
- 36 Toth B, Smith J, Patil K: Cancer induction in mice with acetaldehyde methylformylhydrazone of the false morel mushroom. J Natl Cancer Inst 67:881-887, 1981.
- 37 Toth B: Carcinogenesis by  $N^2 - [\gamma\text{-L (+) Glutamyl}]$ -4-carboxyphenylhydrazine of *Agaricus bisporus* in mice. Anticancer Res 6:917-920, 1986.
- 38 Toth B, Erickson J: Cancer induction in mice by feeding the fresh uncooked cultivated mushroom of commerce *Agaricus bisporus*. Cancer Res 46:4007-4011, 1986.
- 39 Toth B, Raha CR: Carcinogenesis by pentanal methylformylhydrazone *Gyromitra esculenta*. Mycopathologia 98:83-89, 1987.
- 40 McManus BM, Toth B, Patil K. Aortic rupture and aortic smooth muscle tumors in mice: induction by p-hydrazinobenzoic acid hydrochloride of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Lab invest 57:78-85, 1987.
- 41 Toth B: Cancer induction by sulfate form of 4-(hydroxymethyl)benzenediazonium ion of *Agaricus bisporus*. In Vivo 1:39-42, 1987.
- 42 Toth B, Patil K, Taylor J, Stessman C, Gannett P: Cancer induction in mice by hydroxy benzenediazonium sulfate of the *Agaricus xanthodermus* mushroom. In Vivo 3:301-306, 1989.
- 43 Toth B, Gannett P: Carcinogenesis study in mice by 3-methylbutanal methylformylhydrazone of *Gyromitra esculenta*. In Vivo 4:283-288, 1990.
- 44 Toth B, Taylor J, Gannett P: Tumor induction with hexanal methylformylhydrazone of *Gyromitra esculenta*. Mycopathologia 115:65-71, 1991.
- 45 Toth B, Patil K, Pyysalo H, Stessman C, Gannett P: Cancer induction in mice by feeding the raw false morel mushroom *Gyromitra esculenta*. Cancer Res 52:2279-2284, 1992.

Teratogenic hydrazines: A review. *In vivo* 7: 101-110, 1993.の文献で *Agaricus* 属のキノコと *Gyromitra esculenta* に関係する部分に引用されていた文献リスト(引用文献番号は本論文番号と一致する。網掛け文字の文献は収集できなかったもの)

- 17 Neuman RE, Maxwell M and McCoy TA: Production of beak and skeletal malformations of chick embryo by semicarbazide. *Proc Soc Exp Biol Med* 92: 578-581, 1956.
- 23 Greenhouse G: Evaluation of the teratogenic effects of hydrazine, methylhydrazine, and dimethylhydrazine on embryos of *Xenopus laevis*, the South African clawed toad. *Teratol* 18:167-178, 1976.
- 24 Greenhouse G: Effects of pollutants on eggs, embryos and larvae of amphibian species. Springfield, VA: US Dept. Comm. Nat. Tech. Inform. Serv. 1976, pp. 1-24.
- 25 Keller WC, Olson CT, Back KC and Gaworski CL: Teratogenic assessment of threemethylated hydrazine derivatives in the rat. *J Toxicol Environm Health* 13: 125-131, 1984.
- 26 Kreybig Th V, Preussmann R, and v. Kreybig J: Chemische Konstitution und teratogene Wirkung bei der Ratte. III: N-Alkylcarbonhydrazine, weitere Hydrazinderivate. *Arzneim. Forsch* 20: 363-367, 1970.
- 60 Cekan E, Slanina P, Bergman K, and Halen B: Embryotoxicity of monomethylhydrazine(MMH) from the edible mushroom false more (*Gyromitra esculenta*). 10<sup>th</sup> World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Program and Abstracts, 382, Singapore, 1991.

*Agaricus blazei* Murill に関する文献調査結果 (MEDLINE で *Agaricus blazei* の物質名を指定し検索し,以下の文献は全て入手済みである)

- 1 izuno M, Minato K, Ito H, Kawade M, Terai H, Tsuchida H : Anti-tumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* mill. *Biochem Mol Biol Int.* 47,707-714,1999.
- 2 Fujimiya Y, Suzuki Y, Katakura R, Ebina T : Tumor-specific cytotoxic and immunopotentiating effects of relatively low molecular weight products derived from the basidiomycete, *Agaricus blazei* Murill. *Anticancer Res.* 19,113-118,1999.
- 3 Ebina T, Fujimiya Y : Antitumor effect of a peptide-glucan preparation extracted from *Agaricus blazei* in a double-grafted tumor system in mice. *Biotherapy.* 11,259-265,1998.
- 4 Fujimiya Y, Suzuki Y, Oshiman K, Kobori H, Moriguchi K, Nakashima H, Matumoto Y, Takahara S, Ebina T, Katakura R : Selective tumoricidal effect of soluble proteoglucan extracted from the basidiomycete, *Agaricus blazei* Murill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis. *Cancer Immunol Immunother.* 46,147-59,1998.
- 5 Mizuno M, Morimoto M, Minato K, Tsuchida H: Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. *Biosci Biotechnol Biochem.* 62,434-437,1998.
- 6 Higaki M, Eguchi F, Watanabe Y : A stable culturing method and pharmacological effects of the *Agaricus blazei*. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 110 Suppl 1,98P-103P,1997.Japanese.
- 7 Ito H, Shimura K, Itoh H, Kawade M : Antitumor effects of a new polysaccharide-protein complex (ATOM) prepared from *Agaricus blazei* (Iwade strain 101) "Himematsutake" and its mechanisms in tumor-bearing mice. *Anticancer Res.*17,277-84,1997.
- 8 Itoh H, Ito H, Amano H, Noda H : Inhibitory action of a (1-->6)-beta-D-glucan-protein complex (F III-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill ("himematsutake") on Meth A fibrosarcoma-bearing mice and its antitumor mechanism. *Jpn J Pharmacol.* 66,265-71,1994.
- 9 Osaki Y, Kato T, Yamamoto K, Okubo J, Miyazaki T : Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a Basidiomycete *Agaricus blazei*, Jun-17. *Yakugaku Zasshi.* 114,342-50,1994. Japanese.
- 10 Kawagishi H, Inagaki R, Kanao T, Mizuno T, Shimura K, Ito H, Hagiwara T, Nakamura T : Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydr Res.* 186,267-273,1989.
- 11 Kawagishi H, Nomura A, Yumen T, Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T : Isolation and properties of a lectin from the fruiting bodies of *Agaricus blazei*. *Carbohydr Res.*183,150-154,1988.

## 細胞壁破壊アガリクス（顆粒）の製法について（サマリー）

### 1. 原料

#### (1) 農園

中国浙江省にある農園で栽培、乾燥されたアガリクス茸を輸入している。農園は日本の有機認証（認定番号）を受けている。細胞壁破壊アガリクスは、有機品ではないが、隣接農園で栽培しており、無農薬で有機同等品として栽培されている。

#### (2) 培地

菌を植え付ける菌床は、有機栽培と同じものである。培地は、木屑、ふすま、とうもろこし等を使用している。

#### (3) 露地栽培

専用の畑に菌床を置き、上に土を薄くかぶせ、きのこの発生をまつ。堆肥は、バカス（サトウキビ粕）、綿種、麦わら、牛糞を混ぜ合わせ、発酵させたものである。

### 2. 一次加工（中国農園内）

#### (1) 洗浄、2分割

収穫したアガリクスを、異物、大きさ等を目視検査後、良品のみ洗浄し、2分割する。

#### (2) 乾燥、選別、梱包

薪を使用した、間接過熱方式により、指定の水分量まで乾燥し、選別後に、梱包する。

3. 国内加工

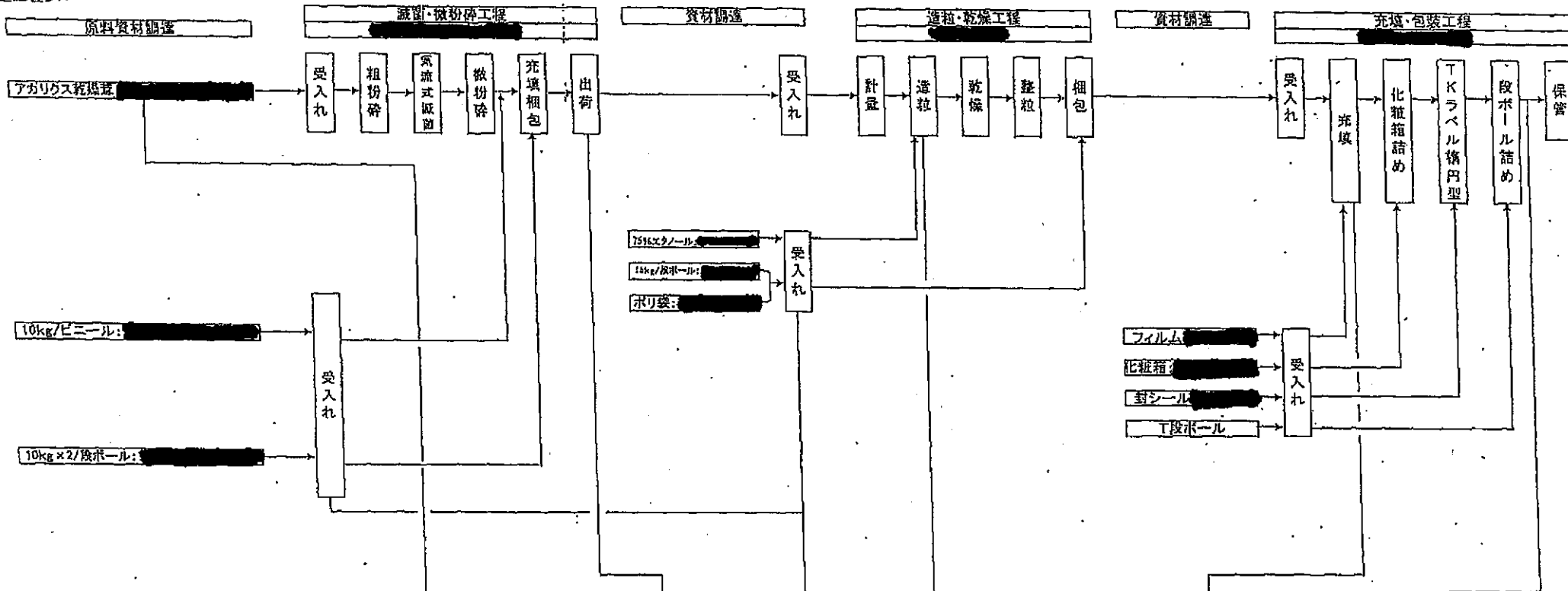
- (1) 殺菌、粉碎 [REDACTED]  
外観、金属探知、微生物検査後、粗粉碎し、殺菌し、微粉碎する。
- (2) 造粒 [REDACTED]  
アガリクスを100%で造粒する。 [REDACTED]
- (3) 充填包装 [REDACTED]  
造粒した、粉末をそのまま充填包装する。

4. 品質検査 (詳細別紙)

- (1) 原料品質規格保証書に基づく納入メーカーの検査：外観、微生物、水分 [REDACTED]、重金属、砒素、カドミウム、残留農薬 [REDACTED] 他
- (2) 自社による商品分析：原料規格保証書の項目 [REDACTED]
- (3) 原料の受け入れ検査：外観、異物、微生物 [REDACTED]
- (4) 製造工程品質検査：微生物、水分等

以上

製造工程フロー



-45-

品質管理フロー

原料規格 アガリクス乾燥茎		微粉碎 アガリクス微粉砕品		造粒品 細胞壁破砕アガリクス顆粒 (粗製品)		ステツ 細胞壁破砕		製品規格 細胞壁破砕アガリクス顆粒	
項目	規格値	項目	規格値	項目	規格値	項目	規格値	項目	規格値
包装外観		外観・形状		外観		ステツ外観		外観	
官能		香味		内容物		シール枚数		原料外観	
水分		色調		水分		印刷の異状		×形異状	
一般性菌		夾雑物		一般性菌		シワ・カット		包装	
大腸菌群		粒度(×50)		大腸菌群		賞味		内容量	
酵母		粒度(×95)		行姿		保存期間		製品構成	
重金属		水分		製造ロット		一般性菌		荷姿	
B-ゲルカン		一般性菌数				大腸菌群		製品ロット	
		大腸菌群							
		包装外観							

資材規格

項目	資材名称
包装外観	
その他	

生産部 生産部 生産部

**The World's  
Premier  
Multidisciplinary  
Meeting.**

**Presenting  
Cutting-Edge  
Laboratory,  
Translational,  
and Clinical  
Cancer Research.**

**AAC**

*American Association  
for Cancer Research*



**94<sup>th</sup>  
Annual Meeting  
2003**

April 5-9, 2003 • Metro Toronto Convention Centre  
Toronto, Ontario, Canada

**Volume 44  
March 2003**

**Proceedings**

(4-hydroxybutyl) nitrosamine (0.05% in drinking water, during weeks 1 and 2) and 2,2-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine (0.1% in drinking water, during weeks 3 and 4) (DMBDD treatment). Another 18 rats, divided into 2 non-initiated groups (groups 5 and 6), were given the vehicle alone. After DMBDD treatment, rats in groups 1 to 4 received 0, 0.004, 0.02 and 0.1% arctiin in NIH-07 (soy bean free) diet respectively. Groups 5 and 6 received 0 and 0.1% arctiin in their diet. All surviving rats were killed under ether anesthesia at week 33 and all organs were excised and subjected to pathological examination. There were no significant differences concerning food consumption and water intake among the groups. Final body weights were significantly increased dose-dependently by arctiin-administration. The incidence of urinary bladder tumors (>2mm in diameter) were dose-dependently inhibited by arctiin. (8/20 in 0%, 7/21 in 0.004%, 3/20 in 0.02% and 0/20 (P<0.0016 vs 0% group) in 0.1% arctiin. No significant differences in incidence of tumors were found in esophagus, large intestine, kidney, thyroid and other organs. Our results indicate that arctiin exerts chemopreventive effects on rat urinary bladder carcinogenesis.

**#2455 Antitumor efficacy of endostatin: Administered alone or in combination with cyclophosphamide.** Yongping Jiang, Yuchang Qiu, Wenhong Jiang, Yiqi Zhou, and Wei Dai. *Abtek Inc., Malden, MA, Biopharmagene Corp, Beihai, Guangxi, China, Biopharmagene, Beihai, Guangxi, China, and New York Medical College, Valhalla, NY.*

Angiogenesis is a crucial event in the establishment and progression of solid tumors. Strategies that target tumor-induced microvascular networks become increasingly attractive for cancer therapy. Endostatin is one of the most potent inhibitors for angiogenesis. Given that the antitumor activities of Endostatin remain controversial and that few have reported its antitumor efficacy when used in combination with conventional chemotherapy, we have assessed the antitumor effect of recombinant human Endostatin administered alone or in combination with cyclophosphamide (CTX). Nude mice bearing tumors induced by murine Lewis lung carcinoma cells, human lung carcinoma A549 cells, or human mammary carcinoma Bcap-37 cells were employed for studying the effect of Endostatin that was expressed in *E. coli* and purified as a soluble form. Compared with the vehicle-treated controls, Endostatin at 2.5 mg/kg/day, 5 mg/kg/day, 10 mg/kg/day inhibited the growth of Lewis lung carcinoma-induced tumors by 30.83%, 41.50% and 47.43%, respectively (n=10, p<0.01). Inhibition of A549 carcinoma-induced tumors by Endostatin was 61.09%, 56.92% and 62.15%, respectively (n=10, p<0.01), and Endostatin-mediated inhibition of Bcap-37 tumors was 62.04%, 58.13% and 62.39%, respectively (n=10, p<0.01). Moreover, local administration of Endostatin (5 mg/kg/day) resulted in a more pronounced inhibition of xenograph-induced tumors compared to the systemic administration at the same dosage. This enhanced tumor-inhibition may result from sustaining an effective concentration of Endostatin at the tumor sites when administered locally. Furthermore, nude mice injected intravenously with B6 carcinoma cells to induce lung metastasis were used as a model system to evaluate potential synergistic effect of Endostatin and CTX. Metastatic lesions were examined 15 days after injection. Systemic administration of Endostatin at the dose of 2.5 mg/kg/day, 5 mg/kg/day and 10 mg/kg/day inhibited the lesions by 29.26%, 29.66% and 34.87%, respectively. CTX (15 mg/kg/day) alone resulted in inhibition of the metastatic lesions by 59.32%. In combination, Endostatin and CTX resulted in the inhibition by 65.93%, 70.94% and 77.15%, respectively. In conclusion, the soluble form of recombinant human Endostatin expressed in *E. coli* is a potent inhibitor of tumor growth and metastasis. Local administration of Endostatin is more effective than the systemic one, underscoring the importance of the administration method. Its synergistic effect with CTX implies that Endostatin can be potentially used together with conventional chemotherapy in the clinics.

**#2456 Molecular toxicology of curcumin: Inhibition of the p53 tumor suppressor.** Philip J. Moos, James E. Mullally, Kornelia Edes, and Frank A. Fitzpatrick. *University of Utah, Salt Lake City, UT.*

Curcumin (diferuloylmethane) is a putative chemopreventative drug that is advancing to clinical trials without a comprehensive understanding of its molecular toxicology. The Division of Cancer Prevention at the NCI is currently enrolling healthy volunteers in a Phase I study of Curcumin for the Chemoprevention of Colon Cancer (Protocol IDs: CCUM-9941, NCI-P00-0144, UMN-9941) to determine the maximum tolerated dose, along with its bioavailability and pharmacokinetics. However, a toxicologic and carcinogenesis study of Tumeric Oleoresin (CAS No. 8024-37-1), whose major component is curcumin (79-85%), concluded that tumeric oleoresin displays carcinogenic activity in mice. This report found that there was: 1) hyperplasia of the mucosal epithelium in the cecum and colon of both male and female F344/N rats; 2) an increased incidence of hepatocellular adenoma in male and female B6C3F1 mice; 3) a significantly increased incidence of thyroid gland follicular cell hyperplasia in female mice; and, 4) a small but significant

increase in sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in cultured CHO cells. Based on chemical precepts, we sought to understand the molecular toxicology of curcumin. We have previously shown that curcumin can promote cell death through the inhibition of isopeptidase activity, and that this cell death was p53-independent. Now, we report that curcumin's mode of action is not only independent of p53 but can attenuate wild type p53 activity. Incubation of RKO colon cancer cells with curcumin promotes the accumulation of conformationally deranged p53 as demonstrated by immunoprecipitations using conformationally sensitive antibodies. Curcumin attenuates the activation of etoposide-induced p53 as measured by serine 15 phosphorylation and, transactivation as measured by a p53-luciferase reporter construct. Therefore, curcumin may have carcinogenic potential resulting from its ability to attenuate the transcriptional activity of the tumor suppressor p53. The chemopreventative role of curcumin may derive from its ability to inhibit the proteasome pathway through isopeptidase inhibition. This complex molecular toxicology may confine the use of curcumin as a broad-spectrum chemopreventative agent.

**#2457 Analysis of carcinogens and the safety of *Agaricus blazei* Murill (ABMK).** Bela Toth, Peter M. Gannett, Jonathan R. Daft, and Insu P. Lee. *Eppley Cancer Research Institute, Omaha, NE, West Virginia University, Morgantown, WV, and Catholic University Medical College, Bethesda, MD.*

Cancer death rates among mushroom consumers versus non-consumers in the same geographical region are 0.8 and 1.3% (p<0.05), respectively. This significant difference in cancer death was attributed to enhancement of immunity against tumor growth by NK cell activation. Currently, *Agaricus blazei* Murill (ABMK) has been consumed worldwide, however, safety of this mushroom has not been determined previously. Since some edible mushrooms, such as *Agaricus bisporus* (AB), have been shown to contain potent carcinogens, we have undertaken a two-year chronic cancer bioassays (US FDA guidelines) to evaluate the safety of long term consumption, and also to analyze ABMK for the possible presence of mushroom related carcinogens. The results of a two year cancer bioassay showed that there are no significant differences in the frequency of spontaneous incidence of tumors in F344 rats, while the survival rates in the treatment groups were significantly increased by 33% of controls (p<0.05). Concurrently, three separate lots of ABMK were examined for the presence of Agaritine ( $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-glutamyl)-4-hydroxymethylphenylhydrazine), the presumed biosynthetic precursor of Agaritine,  $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-glutamyl)-4-carboxyphenylhydrazine (CGPH) and two arenediazonium ions that have been previously observed to form from Agaritine and CGPH, 4-hydroxymethylbenzene diazonium ion (HMBD) and 4-carboxybenzenediazonium ion (CBD), respectively. Specifically, we used a combination of HPLC and mass spectrometry to detect Agaritine or CGPH and chemical derivatization with naphthol coupled with HPLC analysis to detect the presence of either HMBD or CBD, as their aryl azo- $\beta$ -naphthol derivative. We did not detect the presence of Agaritine, CGPH, HMBD, or CBD in the samples examined (within the limits of detection being approximately 100 ng for Agaritine and CGPH and 10 ng for the naphthol adducts). Based on these results, ABMK could be used as a replacement AB and would likely reduce the cancer risk associated with AB.

**#2458 Possible application of human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats to a medium-term bioassay model for carcinogens.** Takamasa Ohnishi and Hiroyuki Tsuda. *The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima, Japan and National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan.*

[Purpose] We have developed a human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rat (Tg), which is highly susceptible to mammary carcinogens such as MNU, DMBA and PhIP. The present study was aimed to utilize this animal in a medium-term assay model for environmental carcinogens. To confirm applicability, the following compounds were tested: 3-methylcholanthrene (3-MC), benzo[a]pyrene (BP), and their parent substances anthracene (Ant) and pyrene (Pyr); a heterocyclic amine, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx); 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), found in tobacco smoke; diethylnitrosamine (DEN), a liver carcinogen; azoxymethane (AOM), an intestinal carcinogen; and the arsenide dimethylarsinic acid (DMA). As endpoints, incidence and multiplicity of mammary tumors and incidences of transgene mutations in codons 12 and 61 were analyzed. [Experimental Protocol] Seven-week-old Tg rats and wild type littermates were orally administered 3-MC, BP, Ant, and Pyr at 200 mg/kg, IQ and MeIQx at 80 mg/kg, and NNK and DMA at 100 mg/kg three times; DEN (100 mg/kg) two times; and AOM (50 mg/kg) one time. Females were killed at twelve weeks (3-MC ten weeks) and males 20 weeks after the initial treatment. Control animals were administered the vehicles, olive oil or distilled water. [Results] Mammary tumors developed in 100% of female Tg rats receiving 3-MC and BP, 57% with Ant, 43% with Pyr, 41.7% with NNK, 92.3% with IQ, 41.7% with MeIQx, 33.3% with DEN, 66.7% with AOM, and 11.1% with DMA. In males the incidences were



## *Agaricus blazei Murill*(ABMK)中の発癌物質と安全性の分析

同一地域においても、マッシュルーム摂取者と非摂取者では癌死亡率がそれぞれ0.8%、1.3%と有意差が認められる( $p < 0.05$ )。この癌死亡率における有意差はNK細胞の活性化による腫瘍増殖に対する免疫力の増強が関連している。最近、*Agaricus blazei Murill*(ABMK)が世界中で摂取されているが、このマッシュルームの安全性についてはまだ明らかとなっていない。Agaricus bisponus(AB)などいくつかの食用マッシュルームには強力な発癌物質が含まれることが示されており、長期摂取の安全性を評価し、マッシュルームに関連した発癌物質の存在の可能性について ABMK を分析するために2年間慢性癌バイオアッセイ(アメリカFDAガイドライン)を行った。2年間癌バイオアッセイの結果、F344系ラットにおける腫瘍の自然発生率にABMK投与群と対照群とに有意差はみられなかった。一方、生存率はABMK投与群において対照群よりも33%と有意に増加した( $p < 0.05$ )。同時に、ABMKの3種類のロットについて、アガリチン、 $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-グルタミル)-4-ヒドロキシメチルフェニルヒドラジン、アガリチンの生合成前駆物質と思われる $\beta$ -N-( $\gamma$ -L(+)-グルタミル)-4-カルボキシフェニルヒドラジン(CGPH)およびアガリチンとCGPHから生成されることが既に認められている2種類のアレーンジアゾニウムイオン、4-ヒドロキシメチルベンゼンジアゾニウムイオン(HMBD)、4-カルボキシベンゼンジアゾニウムイオン(CBD)の存在について調べた。特にアガリチンまたはCGPHを検出するためにHPLC/質量分析法(HPLC/MS)を、アリアルアゾ- $\beta$ -ナフトールとして存在するHMBDまたはCBDの存在を検出するためにHPLC分析と連結したナフトールによる化学的誘導体化法を用いた。調べたサンプル中にアガリチン、CGPH、HMBDまたはCBDの化合物の存在は検出されなかった(検出限界はアガリチンとCGPHについて約100ng、ナフトール付加体について約10ngであった)。以上の結果より、ABMKはABの代替として使用可能であり、ABに関連した癌リスクを低下させると思われる。

# 協和アガリクス安全性試験報告書目録

(1998～2005年度)

## 〈目次〉

### I. 協和アガリクス茸仙生露顆粒

1. ラット2年間慢性反復経口投与、がん原性試験
2. ラット2年間慢性反復経口投与、神経毒性試験
3. ラット1年間慢性反復経口投与、生殖毒性試験

### II. 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤル (ABMK-22濃度強化)

1. ラット4週間反復経口投与試験
2. イヌ4週間反復経口投与試験
3. 復帰突然変異原生試験
4. 小核実験
5. 染色体異常試験

## I. 協和アガリクス茸仙生露顆粒

### 1. ラット2年間慢性反復経口投与、がん原性試験

協和アガリクス茸仙生露の雌雄ラット2年間慢性反復経口投与がん原性試験は、KFDA、KGLP 規制 No.1966-8 及び 1998-17 に従い、AAALAC (米実験動物施設基準承認委員会) より承認された動物施設がある Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology Research Center (大徳研究団地) で行われた (試験番号: G98024)。<1998年4月~2001年10月>

結論: 協和アガリクス茸仙生露 (各群 0.625, 1.25, 2.5g/kg/Day) を2年間反復経口投与したがん原性試験の全て組織検査の結果、協和アガリクス茸による発癌は観察されなかった。尚、対照群に比べて試験群の生存率は統計的に20%増加した。

さらに、全ての生 DATA を US, National Toxicology Program (国立毒性 Program, National Institute of Environmental Health Sciences の病理責任研究官 G. Boorman, Ph.D, DVM, Diplomat ACVP, ACLAM, ABT) により評価したところ、協和アガリクス茸仙生露による発癌発生はないと判断された。

### 2. ラット2年間慢性反復経口投与、神経毒性試験

協和アガリクス茸仙生露における神経毒性 (運動神経、認識力及び記憶力機能) は、KFDA、KGLP 規制 No.1966-8 及び 1998-17 に従って実施された (試験番号: 98010)。<1998年10月~2001年10月>

結論: 協和アガリクス茸による行動力、認識力及び障害は一切観察されなかった。

### 3. 1年慢性反復経口投与、生殖毒性実験結果

協和アガリクス茸仙生露による交尾力、妊娠力、在胎期間、正常分泌率、死産率を1年間反復経口投与後評価した。(試験番号: N98038) <1998年4月~1999年8月>

結論: 協和アガリクス茸による交尾力、受胎力、妊娠力、在胎期間、正常分泌率は対照群と比較して統計的に差異は観察されなかった。

## Ⅱ. 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤル

### 1. ラット 28 日間反復経口投与試験

協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルの雌雄ラットを用いた 28 日間反復経口投与は、米 FDA の規制により FDA より承認されている Southern Research Institute, Birmingham, Alabama, USA (45 年間の安全性研究経験を持つ FDA 及び NIH、国立癌研究所の信頼のある毒性研究所) で行われた (試験番号: A731.1.1)。<2002 年 10 月~2003 年 3 月>

結論: 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルによる一般症状、体重変化、食欲は観察されなかった。また、尿検査、血液的、血液性科学的、臨床的結果及び顕微鏡上の組織病理の異常も観察されなかった。

### 2. イヌ 28 日間反復経口投与

協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルの雌雄イヌを用いた 28 日間反復経口投与は、米 FDA の規制により FDA より承認されている Southern Research Institute, Birmingham, Alabama, USA (45 年間の安全性研究経験を持つ FDA 及び NIH、国立癌研究所の信頼のある毒性研究所) で行われた (試験番号: A731.1.2)。<2002 年 10 月~2003 年 3 月>

結論: 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルによる一般症状、体重変化、食欲、心電図、眼科的異常は観察されなかった。また、尿検査、血液的、血液性科学的、臨床的結果及び顕微鏡上の組織病理の異常も観察されなかった。

### 3. 復帰突然変異性試験

協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルの *Salmonella typhimurium*/大腸菌の復帰突然変異性試験は、USFDA による GLP 施設を持っている SITEK 研究センタ Rockville, MD, USA で USFDA の CFR 規制 21,58 部、1997 年 4 月 1 日及び ICH (International Committee on Harmonization: ICH Harmonized Tripartite Guideline) により行われた (試験番号: 0771-2140)。<2002 年 10 月~2003 年 3 月>

結論: 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルによる細菌突然変異は観測されなかった。

#### 4. 小核実験

協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルの小核実験は、USFDA による GLP 施設を持っている SITEK 研究センタ Rockville, MD, USA で USFDA の CFR 規制 21,58 部、1997 年 4 月 1 日及び ICH (International Committee on Harmonization : ICH Harmonized Tripartite Guideline) により行われた (試験番号 : 0771-1521)。<2002 年 10 月~2003 年 1 月>

結論 : 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルによるマウス骨髄細胞における小核誘発作用は観察されなかった。

#### 5. 染色体異常試験

協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルのハムスター卵巣細胞染色体を用いた染色体異常試験は、USFDA による GLP 施設を持っている SITEK 研究センタ Rockville, MD, USA で USFDA の CFR 規制 21,58 部、1997 年 4 月 1 日及び ICH (International Committee on Harmonization : ICH Harmonized Tripartite Guideline) により行われた (試験番号 : 0771-3110)。<2002 年 10 月~2003 年 1 月>

結論 : 協和アガリクス茸仙生露エキスロイヤルによる染色体異常は観察されなかった。