

研究成果報告書（研究要旨）

| | |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 研究課題名 | グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステルの安全性評価に関する研究（課題番号：1006） (研究期間：平成 22 年度～平成 24 年度) |
| 主任研究者名 | 研究者名：小川 久美子 所属機関：国立医薬品食品衛生研究所 |

食用油の精製・脱臭過程で形成されるグリシドール脂肪酸エステル、および酸加水分解植物性蛋白や食用油の精製・脱臭過程で形成される 3-MCPD 脂肪酸エステルは、げっ歯類で発がん性が認められているグリシドールや 3-MCPD に変化する可能性があり、毒性評価が必要と考えられている。これらのエステル化合物のうち食品含有濃度が高いと考えられる物質について、F344 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験、in vivo 遺伝毒性試験（小核試験、Pig-A アッセイおよび F344 系 gpt delta ラット遺伝子変異解析）および生体内での代謝について検討した。

グリシドール脂肪酸エステルの 0.03% Tween 80 添加飲料水投与において、グリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステルは、明らかな遺伝毒性を示さず、13 週間反復投与毒性試験において等モル濃度のグリシドールに比較して明らかな毒性は示さなかった。

3-MCPD 脂肪酸エステルのオリーブオイル懸濁強制経口投与において、3-MCPD パルミチノ酸ジエステル (PD)、3-MCPD パルミチン酸モノエステル (PM) および 3-MCPD オレイン酸ジエステル (OD) は、明らかな遺伝毒性は示さなかつたが、13 週間反復投与毒性試験において腎臓と精巣上体に対して、等モル濃度の 3-MCPD とほぼ同等の毒性を示し、その NOAEL は雌雄ともそれぞれ、14.8 および 15 mg/kg bw/day と考えられた。

また、ラットにおいて、上記脂肪酸エステルを上記溶媒を用いて強制経口投与 30 分後の血清の検討から、経口投与されたグリシドールおよびグリシドールリノール酸エステルは従来の知見と比較して少量ながらグリシドールとして血液中に移行しており、それより多くが 3-MCPD として移行していることが示された。また、その移行量は、グリシドールに比べ、グリシドール脂肪酸エステルではより少量であると考えられた。一方、3-MCPD、PD、PM および OD も血液への移行が確認されたが、グリシドールは定量限界以下であり、3-MCPD および PM に比べて PD と OD は少量であった。さらに、グリシドール脂肪酸エステルからグリシドールあるいは 3-MCPD への変化および 3-MCPD 脂肪酸エステルから 3-MCPD への変化は、ラットの胃、十二指腸あるいは盲腸内容物によって触媒されることが示された。

これらの結果は、グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステルの代謝と毒性プロファイルを明らかにすると共に、毒性評価に資するものであると考える。

研究成果報告書（本体）

| | |
|-------|--------------------------------------------------------|
| 研究課題名 | グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステルの安全性評価に関する研究（課題番号：1006） |
| 主任研究者 | 研究者名：小川 久美子 所属機関：国立医薬品食品衛生研究所 |

I 研究計画

1 研究期間 平成 22 年度～24 年度（3 年間）

2 研究目的、必要性及び期待される成果

グリシドール脂肪酸エステルは、ジアシルグリセロール (DAG) のみならず、パーム油などの食用油の精製・脱臭過程で形成される副産物であり、乳児用ミルク内にも数 ppm 存在しているとの報告がある。生体への影響を検討した報告は、ほとんどなく、マウス皮下投与試験では glycidyl oleate 投与動物に限局性の肉腫を低頻度に認めたものの、明らかな投与との相関性はみられず、また glycidyl stearate では腫瘍発生は認められなかった。これらは、1987年に IARC によって、ともに Group 3 (Not classifiable as to carcinogenicity in humans) とされている。一方、その加水分解産物であるグリシドールは、グルタチオンとの反応性を持つアルキル化剤であり、F344 ラットへの 37.5、75 mg/kg の強制胃内投与（週5回2年間）により、雄の精巣漿膜中皮腫、雌の乳腺線維腺腫および腺癌、雌雄の前胃乳頭腫および脳神経膠腫などを有意に誘発し、B6C3F₁ マウスへの 50 mg/kg 強制胃内投与（週5回2年間）により、雌雄のハーダー腺、雄の前胃および雌の乳腺の腫瘍発生を増加させたという報告（1996; Irwin et. al.）などから 2000年に IARC によって Group 2A (Probably carcinogenic to humans) に分類されている。

また、3-クロロ-1,2-プロパンジオールエステル（3-MCPD エステル）も一部の調味料などの酸加水分解植物性蛋白やマーガリンを含む食用油の精製・脱臭過程で形成される副産物であり、ヒトの母乳中にも見られるが、その毒性データは充分に得られていない。一方、その加水分解産物である 3-MCPD は SD ラットへの 25, 100, 400 ppm の飲水投与実験では、400 ppm 雄の腎癌および精巣間細胞腫、さらに 400 ppm 雌の腎腺腫が有意に増加し（2008; Cho et. al.）、発がん性が懸念されている。

食用油の汎用性および精製方法による含有量の相違などを考慮すると、これら脂肪酸エステルの生体に対する毒性評価および ADI 設定は急務である。本研究では、グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステルのうち、高濃度で含まれているエステル化合物をラットに反復投与し、毒性影響および増殖性病変の有無を全身状態、血液生化学、病理組織学的に検討するとともに、無処置ラットの胃、小腸および大腸内容物とエステル化合物との混合物や、ラットにエステル化合物投与後の血清を分析し、生体内で加水分解産物であるグリシドールおよび 3-MCPD が生成され得るかについて検討する。具体的には、DAG 中に最も多く含まれるとされるグリシドールリノール酸エステル、比較的多いグリシドールオレイン酸エステルと、食用油への含有が報告されている

3-MCPDパルミチン酸ジエステル、(sn1) 3-MCPD パルミチン酸モノエステル、(sn2) 3-MCPD パルミチン酸モノエステル、3-MCPD オレイン酸ジエステルおよびグリシドール、3-MCPDについて、*gpt delta* ラットでの4週間投与による毒性試験、およびそのレポーター遺伝子の変異解析、小核試験、pigA アッセイによる *in vivo* 遺伝毒性の検討、さらに雌雄F344 ラットを用いた13週間連続投与による亜慢性毒性試験を行う。投与量は、それぞれの加水分解物で発がん性が検出された用量の等モル相当を上限とし、公比4で3用量にて実施する。

血液生化学的検討および全身諸臓器の病理組織学的検討により、主要な脂肪酸エステルの生体における毒性・造腫瘍性の有無、プロファイル、あるいは NOAEL や ADI の設定に有用なデータを得ることを目標とする。また、投与後の血清および腸管内容との反応による脂肪酸エステルおよび加水分解物の生成を、GC/MS 等を用いた分析を試みることにより、生体における代謝に関する基礎データを収集し、これらの食用油副産物の安全性評価に資する多面的なデータの取得を目標とする。

3 研究体制

| 研究項目名 | 個別課題名 | 研究担当者名（所属機関名） |
|------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------|
| 被験物質の安定性 | グリシドール脂肪酸エステルの安定性 | 小川久美子（国立衛研 病理部） 豊田武士（国立衛研 病理部） |
| | 3-MCPD脂肪酸エステルの安定性 | 小川久美子（国立衛研 病理部） 曹 永晩（国立衛研 病理部） |
| <i>gpt delta</i> ラットによる <i>in vivo</i> 遺伝毒性の検討 | グリシドール脂肪酸エステル | 小川久美子 豊田武士 |
| | 3-MCPD脂肪酸エステル | 小川久美子 曹 永晩 |
| 13週間反復投与毒性試験 | グリシドール脂肪酸エステル | 小川久美子 豊田武士 |
| | 3-MCPD脂肪酸エステル | 小川久美子 曹 永晩 |
| 1年間反復投与毒性試験 | 懸念される物質 | 小川久美子 曹 永晩 豊田武士 |

4 倫理面への配慮について

- 1) 動物施設は23°C前後、湿度約60%に保たれ、飲料水、飼料も適切に与えられる。
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取り扱い規定に基づいて飼育・実験を行う
- 3) 屠殺は深麻酔下で腹部大動脈からの採血による失血死によって行われ、動物に対する苦痛をできるだけ排除する。

II 研究内容及び成果等

1 研究内容及び方法

(1) 被験物質の安定性

1) グリシドール脂肪酸エステルの安定性 (小川久美子、豊田武士：国衛研病理)

2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの安定性 (小川久美子、曹 永晩：国衛研病理)

①被験物質の投与条件の検討

被験物質は、和光純薬株式会社にて合成し、表1に挙げた各被験物質の原液および予定投与濃度に希釈した 0.03% tween 80 含有水溶液を作成し、20°C に静置した。1、2 および4日後に容器の上部、中央、下部から一部採取して、被験物質の均一性、安定性について検討した。

水溶液懸濁で安定性が担保できない場合は、オリーブオイルに懸濁し、投与に要する2時間の安定性を検討し、総合的に妥当と考えられる投与方法を決定した。

表1. 投与用量

| 被験物質 | MW | 高用量 | | 中用量 | | 低用量 | |
|--------------------------|--------|----------|-------------------|-------|-------------------|-------|-------------------|
| | | (ppm) | 想定用量 (mg/kgBW) | (ppm) | 想定用量 (mg/kgBW) | (ppm) | 想定用量 (mg/kgBW) |
| グリシドール | 74.08 | 800 | 37.5 | | | | |
| グリシドールリノール酸エステル | 336.51 | 3600 | 169 | 900 | 42 | 225 | 11 |
| グリシドールオレイン酸エステル | 338.52 | 3600 | 169 | 900 | 42 | 225 | 11 |
| 3-MCPD | 110.54 | ■ (400) | 40 | | | | |
| 3-MCPDパルミチン酸ジエステル | 587.54 | ■ (2126) | 220 | | 44 | | 9 |
| (sn1) 3-MCPDパルミチン酸モノエステル | 349.04 | ■ (1263) | 130 | | 26 | | 5 |
| (sn2) 3-MCPDパルミチン酸モノエステル | 349.04 | ■ (1263) | 130 | | 26 | | 5 |
| 3-MCPDオレイン酸ジエステル | 639.46 | ■ (2314) | 240 | | 48 | | 10 |

②被験物質の血液移行の検討

9週齢雄性 F344 ラット（各群5匹）に、1晩絶食後グリシドールとその脂肪酸エステル、および 3-MCPD とその脂肪酸エステル類をそれぞれ等モル量で単回胃内投与し、30 分後に麻酔下で採取した全血から血清を分離し、投与したエステル、グリシドールおよび 3-MCPD の血清中濃度を測定した。具体的には、グリシドールは 37.5 mg/kg bw (510 μmol/kg bw)、グリシドールオレイン酸エステルは 170 mg/kg bw、グリシドールリノール酸エステルは 171 mg/kg bw を 5 ml/kg bw の 0.03% Tween 80 を溶媒として強制胃内投与した。一方、3-MCPDは 40 mg/kg bw (360 μmol/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸ジエステルは 220 mg/kg bw、3-MCPD パルミチン酸モノエステルは 130 mg/kg bw および 3-MCPD オレイン酸ジエステルは 240 mg/kg bw を 5 ml/kg bw の オリーブオイル を溶媒として強制胃内投与した。また、それぞれの溶媒対照群と無処置対照群も設定した。血液採取後直ちに血清を分離し、測定までは -80°C にて保存した。

これらの試験の条件は2011年2月に食品安全委員会の高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループより報告された、「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性：当該食品に含まれるグリシドール及びその脂肪酸エステル」についての評価書に掲載されている、ラットへのグリシドールリノール酸エステルおよびグリシドールの単回投与後の血漿中のグリシドール濃度についての研究を参

考に設定した。

グリシドールおよび 3-MCPD は GC/MS を用い、前処理から測定における誤差を相殺するため、安定同位体である各々グリシドール- d_5 および 3-MCPD- d_5 を内標準として添加して測定した。グリシドールエステルと 3-MCPD モノエステルおよび 3-MCPD ジエステルは、それぞれグリシドールパルミチン酸- d_{31} 、3-MCPD- d_5 -1-パルミタートおよび 3-MCPD- d_5 -ジパルミタートを内標準に用いて LC-MS/MS にて測定した。(いずれも n=3) これらの定量・定性分析は、島津テクノリサーチの協力を得て実施した。

③被験物質と腸管内容物との反応性の検討

無処置の F344 ラットの胃、十二指腸および盲腸内容物の希釀液（それぞれ 10、20 及び 10 倍希釀）にグリシドール（胃・盲腸は 20 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 、十二指腸は 96 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）、グリシドール脂肪酸エステル類（胃・盲腸は 20 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 、十二指腸は 100–101 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）、3-MCPD（胃・盲腸は 7.2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 、十二指腸は 36 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）および 3-MCPD 脂肪酸エステル類（胃・盲腸は 7.5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 、十二指腸は 37–38 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）を添加し 37 °C で 30 分間インキュベーション処理後、添加したエステル、グリシドールおよび 3-MCPD の濃度を検討した。分析は②と同様に内標準を加えて補正を行い、インキュベーションのある場合 (n=3) とない場合を比較した。これらの定量・定性分析は、島津テクノリサーチの協力を得て実施した。

(2) *gpt delta* ラットによる *in vivo* 遺伝毒性の検討

- 1) グリシドール脂肪酸エステルの *in vivo* 遺伝毒性（小川久美子、豊田武士：国衛研病理）
- 2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの *in vivo* 遺伝毒性（小川久美子、曹 永晩：国衛研病理）

①ラット小核試験

雄性 6 週齢 F344 系 *gpt delta* ラット 1 群 10 匹に、グリシドール (800 ppm)、グリシドールオレイン酸エステル (3600 ppm)、グリシドールリノール酸エステル (3600 ppm) を 0.03% Tween 80 に混じた自由摂取飲水投与あるいは 3-MCPD (40 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸ジエステル (220 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸モノエステル (130 mg/kg bw)、3-MCPD オレイン酸ジエステル (240 mg/kg bw) をオリーブオイルを溶媒として週 5 日強制経口投与にて 4 週間投与後、深麻酔下で屠殺剖検し骨髓組織を採取しスメア標本を作製した。それぞれの溶媒対象及び無処置対照群についても同様に検討した。

定法に従ってアクリシンオレンジで染色し、網状赤血球 2000 個以上について小核の出現頻度と赤血球中の網状赤血球の割合を測定した。

② PigA アッセイ

上記①の各群 5 匹について、被験物質の投与開始直前および 2 週経過時は尾動脈から、4 週時は下大動脈から末梢血を採取し、赤血球表面の glycosylphatidylinositol アンカーに CD59 が結合しているか否かについて、CD59 抗体を用いてフローサイトメ

ーターにて測定した。*PigA* 遺伝子に変異が加わっている場合は glycosylphatidylinositol アンカーが形成されず CD59 陰性の赤血球となることを指標として、赤血球 100 万個以上について測定し、定量的に遺伝毒性を評価した。

③ gpt アッセイ

上記①の各群 5~6 匹について、定法に従い組織から抽出した DNA をファージにパッケージングし、6-thioguanine 遺伝子と Spi^- 遺伝子の変異について、大腸菌コロニー形成数を元に算出した。グリシドールとそのエステル投与群は大脳および肝臓について、3-MCPD とそのエステル投与群は腎臓と精巣について検討した。

(3) 13週間反復投与毒性試験

- 1) グリシドール脂肪酸エステルの 13 週間反復毒性試験 (小川久美子、豊田武士：国衛研病理)
- 2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの 13 週間反復毒性試験 (小川久美子、曹 永晩：国衛研病理)

F344 ラット 6 週齢 (各群雌雄 10 匹) への 13 週間反復投与による亜慢性毒性試験を行い、一般毒性影響を検討した。グリシドールは 800 および 200 ppm、グリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステルは共に 3600、900 および 225 ppm の濃度で 0.03% Tween 80 に混じた飲水投与をおこなった。3-MCPD は 40 mg/kg bw、3-MCPDパルミチン酸ジエステルは 220、55 および 14 mg/kg bw、3-MCPD パルミチン酸モノエステルは 130、32 および 8 mg/kg bw、3-MCPDオレイン酸ジエステルは 240、60 および 15 mg/kg bw の濃度でオリーブオイルに混じて週5日強制経口投与を実施した。エステル類の最高用量は、代謝物と考えられるグリシドールおよび 3-MCPD と等モル量になるよう設定し、それぞれ溶媒対象および無処置対照群を設けて比較検討した。

検討項目としては、投与期間中、一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重および摂餌量を週 1 回測定する。動物は、投与期間終了後に、深麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血を行う。血液学的検査は、多項目自動血球計数装置 (K-4500; Sysmex, 兵庫) を用いて、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC) および血小板数 (PLT) を測定した。血清生化学的検査は、遠心分離により得た血清について、総蛋白質 (TP)、アルブミン (Alb)、トリグリセリド (TG)、総コレステロール (T-Chol)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、ナトリウム (Na)、塩素 (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリフオスファターゼ (ALP)、および γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP) について株SRL (東京) に依頼し測定した。採血後動物を放血死させ、剖検を実施すると共に脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣および卵巣を摘出し、重量を測定した。上記の器官に加え、鼻腔、眼球およびハーダー腺、三叉神経、下垂体、脊髄、甲状腺および上皮小体、気管、胸部大動脈、唾液腺、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、

回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、脾臓、精巣上体、前立腺、精囊、尿道球腺、子宮、膿、膀胱、大腿筋、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨および骨髄（胸骨、大腿骨）を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリン液で、また精巣のみブアン液で固定した。摘出臓器を常法に従って、パラフィンに包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し対照群と高用量群について病理組織学的検査を行った。高用量群に変化のある場合は、中および低用量についても検討を加えた。

(4) 1年間反復投与毒性試験

- 1) グリシドール脂肪酸エステルの1年間反復毒性試験（小川久美子、豊田武士：国衛研病理）
- 2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの1年間反復毒性試験（小川久美子、曹 永晩：国衛研病理）

必要であれば、*gpt delta* ラットおよび13週間反復投与試験で懸念される被験物質について、F344 ラットへの1年間連続投与による慢性毒性試験あるいは発がん性試験の実施を考慮する。

2 研究成果、考察、今後の課題

(1) 被験物質の安定性

1) グリシドール脂肪酸エステルの安定性（小川久美子、豊田武士：国衛研病理）

①被験物質の投与条件の検討

グリシドールおよびグリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステルは、合成上問題はなく、オレイン酸エステルは純度 98 % 以上であり、リノール酸エステルは純度 90 % 以上であり、オレイン酸エステルをわずかに含んでいた。

飲水投与の妥当性を検討するため、0.03% Tween 80 混合液給水瓶中の安定性を検討したところ、容器上部では濃度の低下が見られたが、吸水口のある下部は比較的保たれており、混合することによりほぼ調整濃度に戻ることから、分解は緩やかであるものの容器への吸着の可能性が考えられた。また、4日間室温に保存した場合もグリシドールとエステル類ともに 78~79% に保たれた。

0.03%Tween80懸濁液を給水瓶にて保存後の残存率

| 測定成分名 | 調整濃度 ($\mu\text{g/mL}$) | 残存率 (%) (調整濃度を100%とした場合) | | | | |
|-----------------|------------------------------|--------------------------|-------|------|------------|-------|
| | | 調整直後 | 1日静置後 | | | 4日静置後 |
| | | | 上部 | 下部 | 混合後 中央部 | |
| グリシドール | 802.6 | 92 % | 88 % | 87 % | 88 % | 78 % |
| グリシドールオレイン酸エステル | 231.6 | 85 % | 48 % | 67 % | 82 % | 79 % |
| グリシドールリノール酸エステル | 234.1 | 84 % | 57 % | 71 % | 98 % | 78 % |

また、水溶液中でエステルがグリシドールまたは、3-MCPDへ加水分解される可能性を検討したが、4日間室温に保存した場合もグリシドールおよび 3-MCPD は定量下限値 (5 · g/mL) 以下であり、その可能性は無視できると考えた。

0.03% Tween80 水溶液中における、脂肪酸エステルの加水分解の可能性
(25°C恒温器内、4日静置後攪拌物をアセトニトリルで希釈し検討)

| 添加標準品 | 調整濃度 ($\mu\text{g/mL}$) | 測定分析結果 ($\mu\text{g/mL}$) | |
|-----------------|------------------------------|-----------------------------|--------|
| | | グリシドール | 3-MCPD |
| グリシドールオレイン酸エステル | 263.6 | < 5 | < 5 |
| グリシドールリノール酸エステル | 213.2 | < 5 | < 5 |

以上より、週2回の入れ替えと毎日攪拌を行うことにより、グリシドールとそのオレイン酸エステルまたはリノール酸エステルをほぼ同等に投与することが可能と考えた。

②被験物質の血液移行の検討

グリシドールを 37.5 mg/kg bw (510 $\mu\text{mol/kg bw}$) の用量で強制経口投与し、30 分後のラット血清から、 $1.6 \pm 0.4 \ \mu\text{g/mL}$ のグリシドールとともに、 $9.6 \pm 0.6 \ \mu\text{g/mL}$ の 3-MCPD が検出された。これは、ラットの体重が 200 g であり、血液量が 64 mL/kg BW、血清量が全血の 55 % として、モル濃度に換算すると、それぞれ 0.16 および 0.61 $\mu\text{mol/rat}$ となり、投与量の 0.15 および 0.60 % に相当した。また、等モル相当のグリシドールオレイン酸エステル投与群では、グリシドールは定量下限値以下 (<0.2 $\mu\text{g/mL}$) であったが、3-MCPD は $0.16 \pm 0.05 \ \mu\text{g/mL}$ と投与の 0.01 % 相当が検出された。さらに、グリシドールリノール酸エステル投与群でも、 $0.13 \pm 0.22 \ \mu\text{g/mL}$ のグリシドールとともに、 $1.21 \pm 1.47 \ \mu\text{g/mL}$ の 3-MCPD が検出され、これらは投与量のモル換算で、それぞれ 0.01 および 0.08 % に相当した。一方、これらのエステルの未変化物は定量下限値以下 (<20 ng/mL) であった。このことから、本条件下において、経口投与されたグリシドールおよびグリシドール脂肪酸エステルは、低濃度ながらグリシドールとして血液中に移行しており、それよりは多いものの 1% 以下が、3-MCPD として血液中に存在していることが示された。また、グリシドールリノール酸エステルをラットに経口投与後30分の血清中のグリシドールおよび3-MCPD 濃度は、グリシドール投与ラットの、それぞれ 6% および 13% であり、グリシドールオレイン酸エステル投与ラットでは、さらに低値であった。

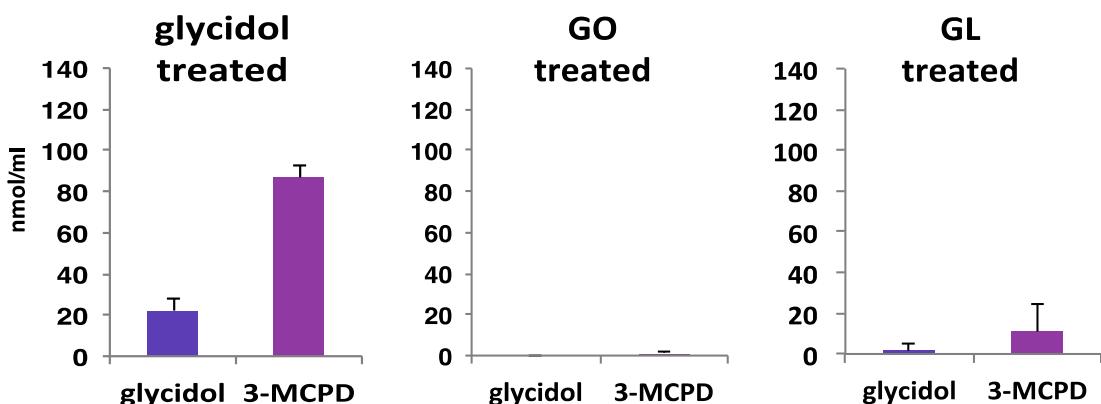
The blood concentration of compounds and metabolites in male F344 rats 30 minutes after administration

| 投与物質 | 投与濃度 (mg/kg, b w) | 投与量 ^a ($\mu\text{mol/rat}$) | n | 血清中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/rat}$) ^a | | | |
|-----------------|----------------------|---------------------------------------------|---|-------------------------------------------------------------|-------|-------|-------------------------------------|
| | | | | グリシドール | GO | GL | 3-MCPD |
| 無処置 | - | - | 3 | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ |
| 0.03 % Tween 80 | - | - | 3 | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ |
| グリシドール | 37.5 | 101.2 | 3 | 1.6 ± 0.4 ^b (0.16) | - | - | 9.6 ± 0.6 ^b (0.61) |
| GO | 170 | 100.4 | 3 | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | 0.16 ± 0.05 ^b (0.01) |
| GL | 171 | 101.6 | 3 | 0.13 ± 0.22 ^b (0.01) | <LLOQ | <LLOQ | 1.21 ± 1.47 ^b (0.08) |

LLOQ ; 検出限界 3MCPD < 0.05 ug/ml, Glycidol < 0.2 ug/ml, esters < 20 ng/ml

GO ; グリシドールオレイン酸エステル、GL ; グリシドールリノール酸エステル

^a ; ラット体重は 200g、血液量 64 mL/kg、血清量は全血の 55 % と想定



The serum concentration of glycidol and 3-MCPD in male F344 rats 30 minutes after treatment

③被験物質と腸管内容物との反応性の検討

胃、十二指腸、盲腸内容物との反応性の検討では、腸管内容物そのものには、いずれの被験物質および代謝物も定量下限値以下であった。検討に用いたグリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステル中のグリシドール濃度は定量下限値以下 ($< 0.2 \text{ } \cdot \text{g/mL}$) であったが、 37°C で 30 分のインキュベーションを行わなくても、いずれの腸管内容物と混合した場合もグリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステル共に混合直後に約 1% モル相当のグリシドールが検出され、エステルから変化したものと考えられた。

グリシドールは胃および十二指腸内容物とインキュベートすることにより、ともに約 0.04 % 相当が 3-MCPD に変化していると考えられた。また、グリシドールオレイン酸エステルは、胃 (2%)、十二指腸 (6%) および盲腸 (12%) 内容物によってグリシドールに加水分解された。さらに、少量ながら十二指腸 (0.04%) および盲腸 (0.05%) で 3-MCPD に変化することが示された。一方、グリシドールリノール酸エステルは、胃 (2.5%)、十二指腸 (7.5%) および盲腸 (10%) 内容物によりグリシドールに変化したが、3-MCPD は定量下限値以下 (胃・盲腸 $< 2.5 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ 、十二指腸 $< 10 \text{ } \cdot \text{g/mL}$) であった。

このことから、本条件下においてグリシドールオレイン酸エステルおよびグリシドールリノール酸エステルは、共に 2~10 % 以上がグリシドールに加水分解されることが示され、この反応は十二指腸のみならず胃および盲腸でもおこる可能性が示唆された。また、グリシドールの一部は、腸管内においてさらに 3-MCPD に変換される可能性が示された。

The concentration of glycidol-related compounds and metabolites mixed with gastro-intestinal contents of male F344 rats with or without 30 minutes incubation at 37°C

| 胃内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | GO | GL |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | グリシドール | 20 | 1616 (21.8) | < LLOQ (NC) | - | - |
| | GO | 20 | 14 (0.2) | < LLOQ (NC) | 7850 (23) | - |
| | GL | 20 | 13 (0.2) | < LLOQ (NC) | - | 7020 (21) |
| インキュベーションあり (n=3) | グリシドール | 20 | 1614 (21.8) | 1.0 (0.01) | - | - |
| | GO | 20 | 29 (0.4) | < LLOQ (NC) | 7597 (22) | - |
| | GL | 20 | 34 (0.5) | < LLOQ (NC) | - | 7323 (22) |
| | なし | - | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ ; 定量下限値 Glycidol < 5.5 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 2.5 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 20 $\mu\text{g/mL}$, GO < 32 $\mu\text{g/mL}$, GL < 29 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 12.6 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 14 $\mu\text{g/mL}$

| 十二指腸内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | GO | GL |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | グリシドール | 96 | 8176 (110.4) | < LLOQ (NC) | - | - |
| | GO | 100 | 42 (0.6) | < LLOQ (NC) | 33200 (98) | - |
| | GL | 101 | 52 (0.7) | < LLOQ (NC) | - | 35600 (106) |
| インキュベーションあり (n=3) | グリシドール | 96 | 8117 (109.6) | 3.87 (0.05) | - | - |
| | GO | 100 | 475 (6.4) | 3.94 0.04 | 33600 (99) | - |
| | GL | 101 | 553 (7.5) | < LLOQ (NC) | - | 36167 (107) |
| | なし | - | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ ; 定量下限値 Glycidol < 27 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 10 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 80 $\mu\text{g/mL}$, GO < 127 $\mu\text{g/mL}$, GL < 117 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 50 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 55 $\mu\text{g/mL}$

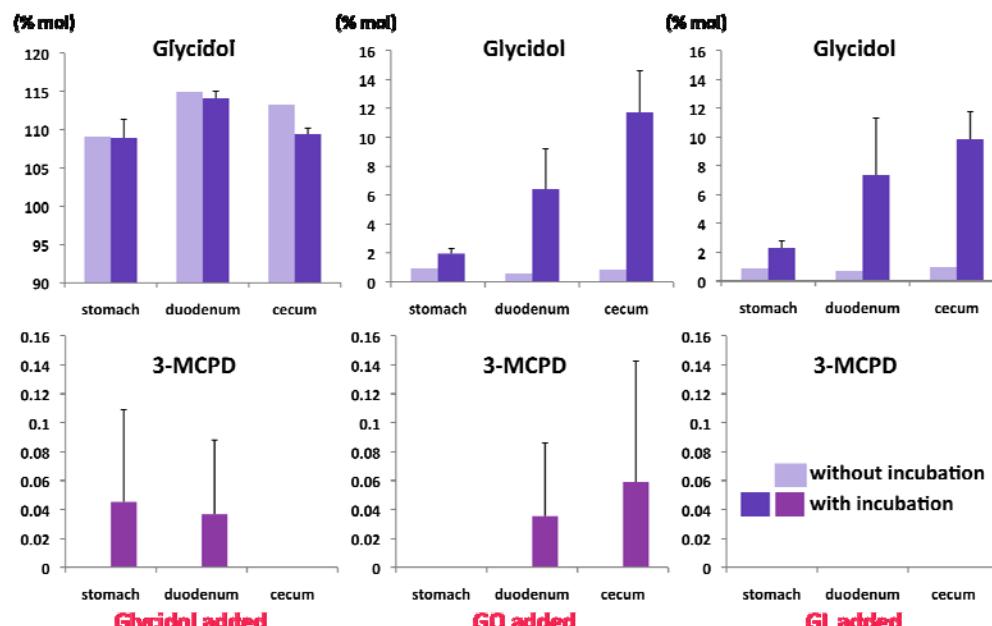
| 盲腸内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | GO | GL |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | グリシドール | 20 | 1678 (22.6) | < LLOQ (NC) | - | - |
| | GO | 20 | 13 (0.2) | < LLOQ (NC) | 7190 (21) | - |
| | GL | 20 | 15 (0.2) | < LLOQ (NC) | - | 7620 (23) |
| インキュベーションあり (n=3) | グリシドール | 20 | 1620 (21.9) | < LLOQ (NC) | - | - |
| | GO | 20 | 174 (2.4) | 1.31 (0.01) | 7220 (21) | - |
| | GL | 20 | 146 (2.0) | < LLOQ (NC) | - | 7223 (21) |
| | なし | - | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ ; 定量下限値 Glycidol < 5.5 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 2.5 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 20 $\mu\text{g/mL}$, GO < 32 $\mu\text{g/mL}$, GL < 29 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 12.6 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 14 $\mu\text{g/mL}$

GO: グリシドールオレイン酸エステル、GL: グリシドールリノール酸エステル

CMP: 3-MCPD パルミチン酸モノエステル、CDP: 3-MCPD パルミチン酸ジエステル、CDO: 3-MCPD オレイン酸ジエステル



Concentration of glycidol and 3-MCPD detected after incubation with the intestinal contents of rat

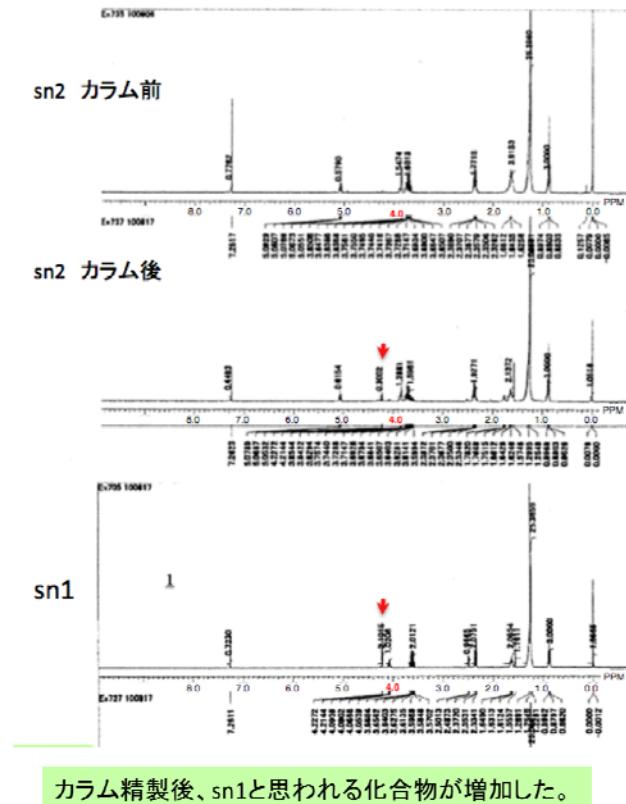
2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの安定性 (小川久美子、曹 永晩：国衛研病理)

①被験物質の投与条件の検討

3-MCPD脂肪酸エステルの合成においては、ジエステルは問題なく合成されたが、sn1 および sn2 の 2 種類のパルミチン酸モノエステルの内、sn2 については、合成直後

より徐々に sn1 に変化する不安定な物質であることが示されたため、安定的には存在しにくく、投与試験を実施する意義は低いと考えられた。

3-MCPDパルミチン酸モノエステル合成時カラム前後のNMRチャート



カラム精製後、sn1と思われる化合物が増加した。

また、ジエステルは水溶液中での安定性が低く、モノエステルは溶解不能であった。そこで、3-MCPD の含有量が少ないとされるオリーブオイルを溶媒とした強制経口投与が妥当と考えられた。オリーブオイル懸濁調整液作成後 2時間室温保存した場合の安定性を確認したところ、調製直後および 2 時間保存後ともに 84~96% であった。

オリーブオイルに溶解2時間後の残存率

| 測定成分名 | 調整濃度 ($\mu\text{g/mL}$) | 残存率 (%) (調整濃度を100%とした場合) | |
|--------------------|------------------------------|--------------------------|------|
| | | 調整直後 | 2時間後 |
| 3-MCPDジオレイン酸エステル | 168.4 | 94 % | 96 % |
| 3-MCPDジパルミチン酸エステル | 130.4 | 84 % | 86 % |
| 3-MCPDモノパルミチン酸エステル | 137.6 | 93 % | 92 % |

以上より、3-MCPD とそのエステル類については、オレイン酸ジエステル、パルミチン酸ジエステルおよび sn1 パルミチン酸モノエステルを被験物質とし、オリーブオイルを溶媒として、週 5 回の強制経口投与を実施するのが妥当と考えられた。

②被験物質の血液移行の検討

3-MCPD を 40 mg/kg bw (360 · mol/kg bw) の用量で強制経口投与し、30 分後のラット血清から、 $9.6 \pm 1.6 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ の 3-MCPD が検出された。これは、ラットの体重が 200 g であり、血液量が 64 mL/kg BW、血清量が全血の 55 % として、モル濃度に換算すると、 $0.61 \text{ } \cdot \text{mol/rat}$ となり、投与量の 0.85 % に相当した。また、等モル相当の 3-MCPD パルミチン酸ジエステルおよび 3-MCPD オレイン酸ジエステル投与群では、3-MCPD はそれぞれ 1.7 ± 0.3 、 $1.5 \pm 0.2 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ と投与の 0.15 および 0.13 % 相当が検出された。さらに、3-MCPD パルミチン酸モノエステル投与群では、 $7.0 \pm 0.9 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ と、投与量のモル濃度換算で 0.60 % 相当の 3-MCPD が検出された。一方、いずれの群においても、グリシドールは定量下限値以下 ($<0.2 \text{ } \cdot \text{mol/mL}$) であった。また、3-MCPD パルミチン酸ジエステルおよび 3-MCPD オレイン酸ジエステル投与群では、それぞれ 0.036 ± 0.018 、 $0.035 \pm 0.016 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ と投与量のモル換算で 0.0006 および 0.0005 % と極わずかながら投与したエステルそのものが血清より検出された。このことから、本条件下において、経口投与された 3-MCPD および 3-MCPD 脂肪酸エステルは投与の 1 % 以下が 3-MCPD として血液中に存在しており、グリシドールとしてはみられないことが示唆された。また、3-MCPD パルミチン酸モノエステル、3-MCPD パルミチン酸ジエステルおよび 3-MCPD オレイン酸ジエステルを、ラットに経口投与後30分の血清中の3-MCPD 濃度は、3-MCPD 投与ラットの、それぞれ 72%、18% および 16% であった。

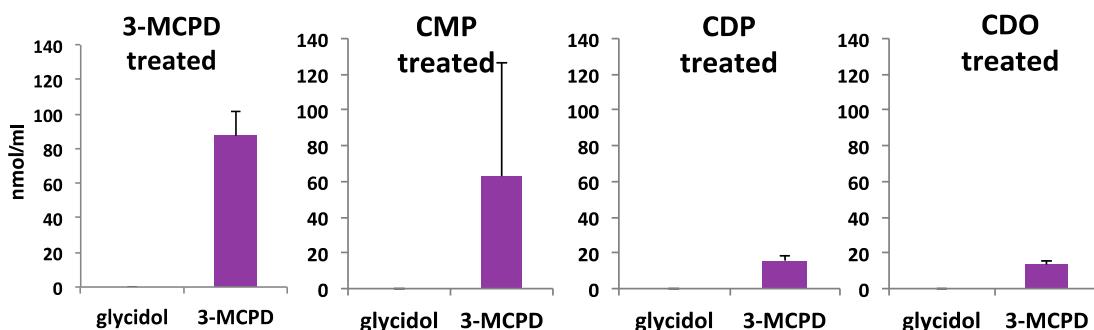
The blood concentration of compounds and metabolites in male F344 rats 30 minutes after administration

| 投与物質 | 投与濃度 (mg/kg, b w) | 投与量 ^a (μmol/rat) | n | 血清中濃度 μg/mL (μmol/rat) ^a | | | | |
|-----------|----------------------|--------------------------------|---|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------|--------|
| | | | | 3-MCPD | CDP | CMP | CDO | グリシドール |
| 無処置 | - | - | 3 | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ |
| Olive oil | - | - | 3 | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ |
| 3-MCPD | 40 | 72.4 | 3 | $9.6 \pm 1.6 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.61) | - | - | - | <LLOQ |
| CDP | 220 | 74.9 | 3 | $1.7 \pm 0.3 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.11) | $0.036 \pm 0.018 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.0004) | <LLOQ | <LLOQ | <LLOQ |
| CMP | 130 | 74.5 | 3 | $7.0 \pm 0.9 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.44) | - | <LLOQ | - | <LLOQ |
| CDO | 240 | 75.1 | 3 | $1.5 \pm 0.2 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.10) | <LLOQ | - | $0.035 \pm 0.016 \text{ } \cdot \text{g/mL}$ (0.0004) | <LLOQ |

LLOQ ; 検出限界值 3MCPD < 0.05 ug/ml, Glycidol < 0.2 ug/ml, esters < 20 ng/ml

CDP ; 3-MCPD パルミチン酸ジエステル、CMP ; 3-MCPD パルミチン酸モノエステル、CDO ; 3-MCPD オレイン酸ジエステル

^a ; ラット体重は 200g、血液量 64 mL/kg、血清量は全血の 55 % と想定



The serum concentration of glycidol and 3-MCPD in male F344 rats 30 minutes after treatment

③被験物質と腸管内容物との反応性の検討

胃、十二指腸、盲腸内容物との反応性の検討では、腸管内容物そのものには、いずれの被験物質および代謝物も検出されなかつたが、37°Cで 30 分のインキュベーションを行わなくとも、3-MCPD パルミチン酸ジエステルを十二指腸および盲腸内容物と混合した場合、混合直後に、それぞれ約 0.5 および 1 %モル相当 がモノエステルに変化したと考えられた。また、3-MCPD パルミチン酸ジエステルそのものの濃度が、胃、十二指腸および盲腸内容物と混合直後においてもそれぞれ約 46、64 および 62%と低値を示したが、充分に溶解できなかつたためか、分析した以外の物質に変化しているためと考えられた。

3-MCPD およびこれらのエステルは、いずれの内容物とインキュベートしても、グリシドールへの変化は見られなかつた（胃・盲腸<5.5 · g/mL、十二指腸<27 · g/mL）。3-MCPD パルミチン酸ジエステルは、十二指腸（2.7%）および盲腸（2.7%）内容物によって 3-MCPD パルミチン酸モノエステルに加水分解されており、さらに、胃（0.14%）、十二指腸（0.5%）および盲腸（1.2%）内容物によって 3-MCPD に変化していた。しかし、パルミチン酸ジエステルの濃度は、添加量から変化物総量を差し引いた量より低値であり、溶解が充分でなかつた可能性を考慮すると、溶解されたジエステルからモノエステルに加水分解された割合はさらに多いと考えられる。また、胃内容物と混合した場合より、十二指腸及び盲腸内容物と混合した場合において、インキュベーション後のパルミチン酸ジエステルの割合が更に低くなつており、固形化以外に、分析した以外の物質に変化した可能性も残ると考える。一方、3-MCPD パルミチン酸モノエステルは、胃（1.1%）、十二指腸（1.2%）および盲腸（2.9%）内容物によって 3-MCPD に加水分解された。また、3-MCPD オレイン酸ジエステルは、胃（0.9%）、十二指腸（2.3%）および盲腸（1.1%）内容物によって 3-MCPD に加水分解された。

このことから、本条件下において 3-MCPD パルミチン酸ジエステル、3-MCPD パルミチン酸モノエステルおよび 3-MCPD オレイン酸ジエステルは、いずれも 0.1~2.9% 程度が 3-MCPD に加水分解されるが、エステルの種類によりその程度が異なつており、加水分解は十二指腸のみならず胃および盲腸でもおこることが示された。

The concentration of 3-MCPD-related compounds and metabolites mixed with gastro-intestinal contents of male F344 rats with or without 30 minutes incubation at 37°C

| 胃内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|---------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | CMP | CDP | CDO |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | 3-MCPD | 7.2 | <LLOQ (NC) | 802 (7.3) | - | - | - |
| | CMP | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 2660 (7.6) | - | - |
| | CDP | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 2040 (3.5) | - |
| | CDO | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | - | - | 4980 (7.8) |
| インキュベーションあり (n=3) | 3-MCPD | 7.2 | <LLOQ (NC) | 811 (7.3) | - | - | - |
| | CMP | 7.5 | <LLOQ (NC) | 9 (0.08) | 2583 (7.4) | - | - |
| | CDP | 7.5 | <LLOQ (NC) | 1 (0.01) | < LLOQ (NC) | 1480 (2.5) | - |
| | CDO | 7.5 | <LLOQ (NC) | 7 (0.07) | - | - | 4880 (7.6) |
| | なし | - | <LLOQ (NC) | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ : 定量下限値 Glycidol < 5.5 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 2.5 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 20 $\mu\text{g/mL}$, GO < 32 $\mu\text{g/mL}$, GL < 29 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 12.6 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 14 $\mu\text{g/mL}$

| 十二指腸内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|---------------------------------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | CMP | CDP | CDO |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | 3-MCPD | 36 | <LLOQ (NC) | 4110 (37.2) | - | - | - |
| | CMP | 37 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 13300 (38.1) | - | - |
| | CDP | 37 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 67.0 (0.2) | 13700 (23.3) | - |
| | CDO | 38 | <LLOQ (NC) | 19 (0.17) | - | - | 22100 (34.6) |
| インキュベーションあり (n=3) | 3-MCPD | 36 | <LLOQ (NC) | 4001 (36.2) | - | - | - |
| | CMP | 37 | <LLOQ (NC) | 49 (0.44) | 13100 (37.5) | - | - |
| | CDP | 37 | <LLOQ (NC) | 19 (0.18) | 345 (1.0) | 4773 (8.1) | - |
| | CDO | 38 | <LLOQ (NC) | 98 (0.88) | - | - | 22433 (35.1) |
| | なし | - | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ : 定量下限値 Glycidol < 27 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 10 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 80 $\mu\text{g/mL}$, GO < 127 $\mu\text{g/mL}$, GL < 117 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 50 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 55 $\mu\text{g/mL}$

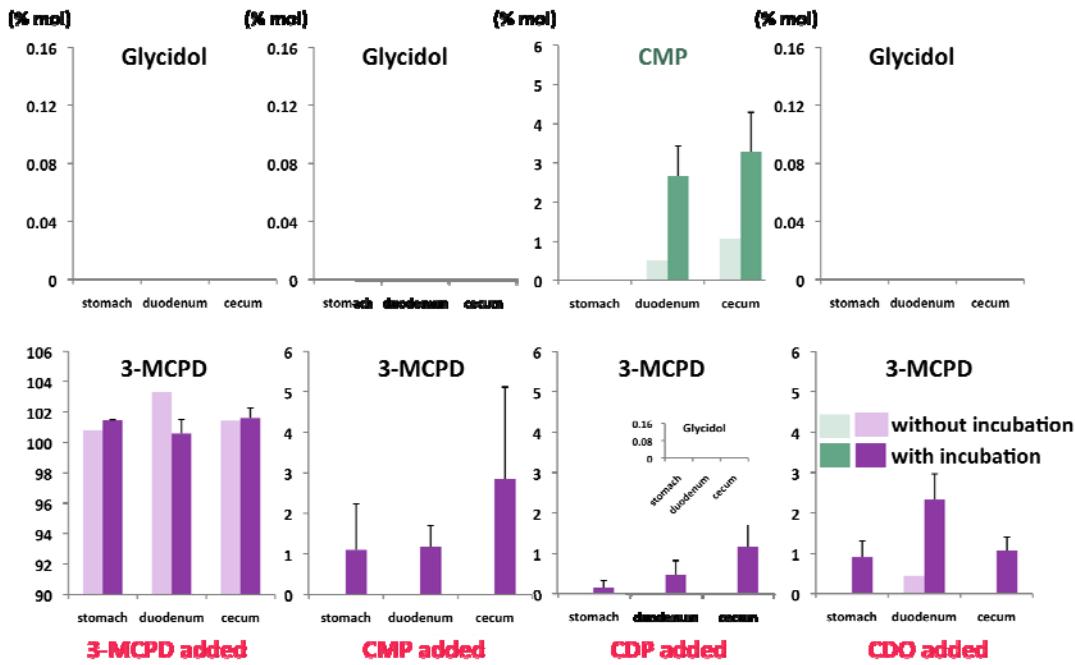
| 盲腸内容物 | 添加被験物質 | 添加濃度 ($\mu\text{mol/mL}$) | ホモジネート中濃度 $\mu\text{g/mL}$ ($\mu\text{mol/mL}$) | | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------------|---------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | グリシドール | 3-MCPD | CMP | CDP | CDO |
| インキュベーションなし (被験物質添加直後) | 3-MCPD | 7.2 | <LLOQ (NC) | 807 (7.3) | - | - | - |
| | CMP | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 2630 (7.5) | - | - |
| | CDP | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | 28 (0.1) | 2690 (4.6) | - |
| | CDO | 7.5 | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | - | - | 5050 (7.9) |
| インキュベーションあり (n=3) | 3-MCPD | 7.2 | <LLOQ (NC) | 808 (7.3) | - | - | - |
| | CMP | 7.5 | <LLOQ (NC) | 24 (0.21) | 2463 (7.1) | - | - |
| | CDP | 7.5 | <LLOQ (NC) | 10 (0.09) | 86 (0.2) | 1020 (1.7) | - |
| | CDO | 7.5 | <LLOQ (NC) | 9 (0.08) | - | - | 4600 (7.2) |
| | なし | - | <LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) | < LLOQ (NC) |

NC: Not calculated

LLOQ : 定量下限値 Glycidol < 5.5 $\mu\text{g/mL}$, 3MCPD < 2.5 $\mu\text{g/mL}$, esters: CMP < 20 $\mu\text{g/mL}$, GO < 32 $\mu\text{g/mL}$, GL < 29 $\mu\text{g/mL}$, CDP < 12.6 $\mu\text{g/mL}$, CDO < 14 $\mu\text{g/mL}$

CMP: 3-MCPD バルミチン酸エステル, CDP: 3-MCPD バルミチン酸ジエステル, CDO: 3-MCPD オレイン酸ジエステル

GO: グリシドールオレイン酸エステル, GL: グリシドールリノール酸エステル



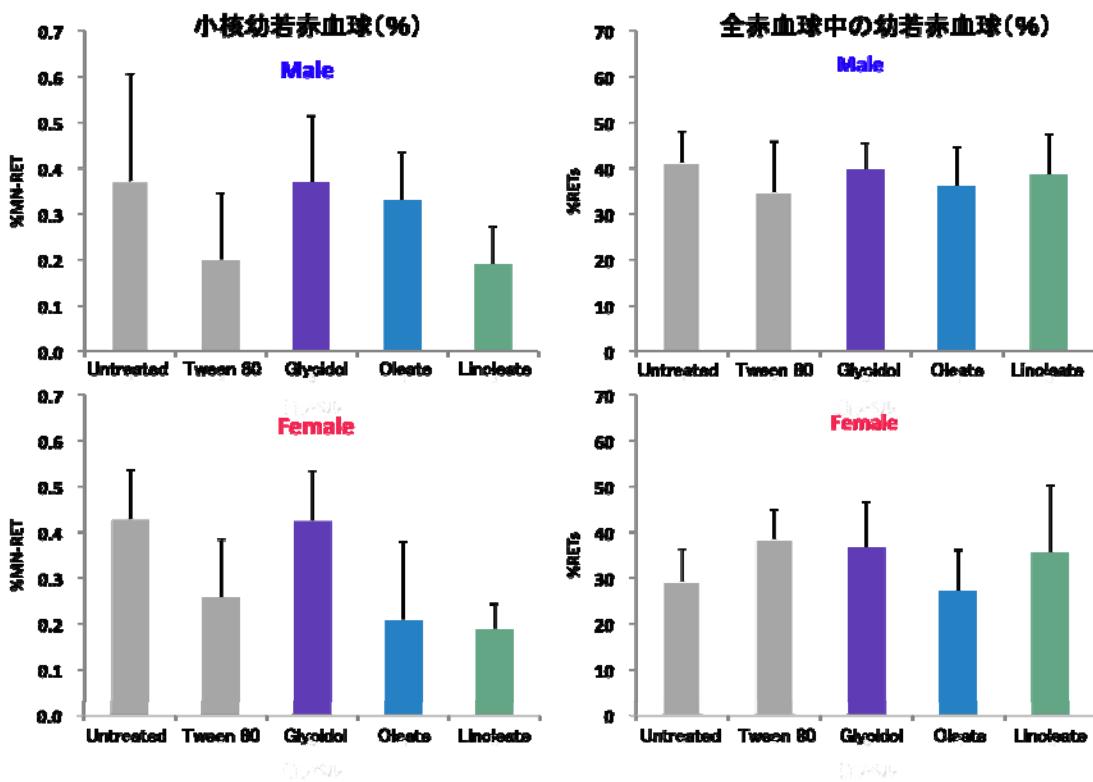
Concentration of glycidol, 3-MCPD and CMP detected after incubation with the intestinal contents of rat

(2) *gpt delta* ラットによる *in vivo* 遺伝毒性の検討

1) グリシドール脂肪酸エステル (小川久美子、豊田武士：国衛研病理)

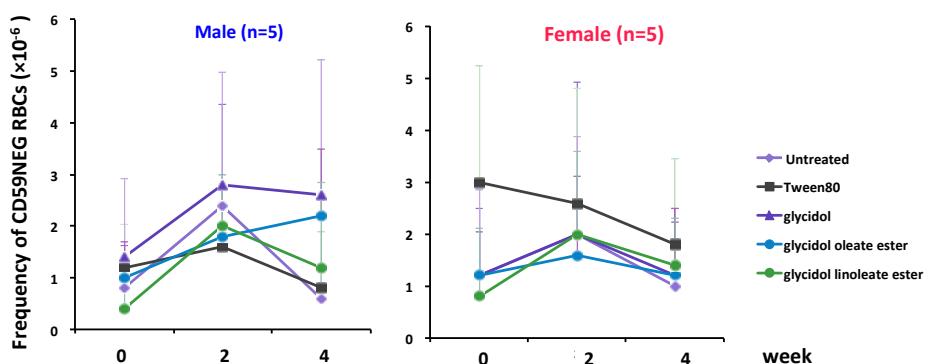
①ラット小核試験

雌雄のラット骨髓を用いた小核試験において、グリシドール (800 ppm)、グリシドールオレイン酸エステル (3600 ppm)、およびグリシドーリノレン酸エステル (3600 ppm) の 4 週間投与による小核の出現率および網状赤血球/赤血球比には、無処置対照群および溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。



②PigA アッセイ

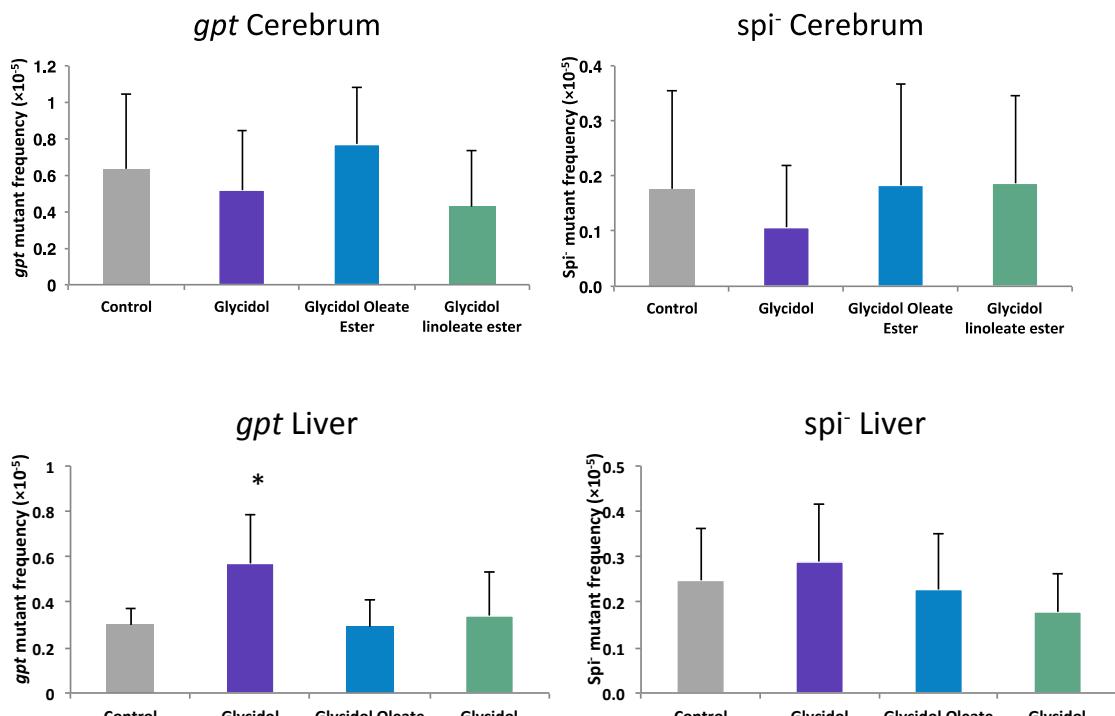
雌雄のラット末梢血を用いた PigA アッセイにおいて、グリシドール (800 ppm)、グリシドールオレイン酸エステル (3600 ppm)、およびグリシドーリノレン酸エステル (3600 ppm) の 0、2 および 4 週間投与による CD59 隣性赤血球の出現率には、無処置対照群および溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。



③ gpt アッセイ

グリシドールのラット 2 年間発がん性試験において、標的性の認められている大脳と、明らかな標的性は示さないものの細胞増殖が緩やかであり一般的に毒性変化が検出されやすい臓器とされる肝臓を用いて gpt アッセイおよび spi^- アッセイを実施した。

グリシドール (800 ppm)、グリシドールオレイン酸エステル (3600 ppm)、およびグリシドーリノレン酸エ斯特ル (3600 ppm) の 4 週間投与によるラット大脳の突然変異頻度及び欠失変異頻度には、溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。また、肝臓については、エ斯特ル投与群については、肝臓においても有意な増加は認めなかった。一方、グリシドール投与群では溶媒対照群に比較して統計上有意な増加を示したが、わずかな増加であり、また、無処置ラットの背景データ内の変化であった。しかし、変異のスペクトラム解析を実施したところ、グリシドール投与群においてはアクリルアミド投与により誘導される変異と同様の GC-TA への transversion が有意に増加していることから、投与に関連した弱い遺伝毒性を反映していると考えられた。



Mutation spectra of *gpt* mutant colonies in livers of F344 *gpt* delta rats treated with glycidol fatty acid esters for 4 weeks.

| | Control (0.03% Tween 80) | | | 500 ppm Glycidol | | | 3600 ppm Glycidol oleate ester | | | 3600 ppm Glycidol linoleate ester | | |
|----------------------|--------------------------|------|--------------------------------------------------------|------------------|------|-------------------------------------------|--------------------------------|------|-------------------------------------------|-----------------------------------|------|-------------------------------------------|
| | Number ^a | (%) | Mutation frequency (10 ⁻⁵) ^b | Number | (%) | Mutation frequency (10 ⁻⁵) | Number | (%) | Mutation frequency (10 ⁻⁵) | Number | (%) | Mutation frequency (10 ⁻⁵) |
| Transversions | | | | | | | | | | | | |
| GC-TC | 6 | 16.7 | 0.04 ± 0.05 | 22 | 30.6 | 0.16 ± 0.07** | 10 | 22.2 | 0.05 ± 0.05 | 8 | 21.1 | 0.08 ± 0.08 |
| GC-TG | 1 | 2.8 | 0.01 ± 0.02 | 2 | 2.4 | 0.01 ± 0.02 | 2 | 4.4 | 0.01 ± 0.02 | 5 | 13.2 | 0.04 ± 0.07 |
| AT-TC | 2 | 5.6 | 0.01 ± 0.02 | 4 | 5.6 | 0.02 ± 0.04 | 3 | 6.7 | 0.02 ± 0.03 | 3 | 7.9 | 0.02 ± 0.04 |
| AT-TG | 2 | 5.6 | 0.01 ± 0.02 | 4 | 5.6 | 0.03 ± 0.04 | 1 | 2.2 | 0.01 ± 0.02 | 2 | 5.3 | 0.02 ± 0.06 |
| Transitions | | | | | | | | | | | | |
| GC-AT | 15 | 41.7 | 0.12 ± 0.07 | 27 | 37.5 | 0.19 ± 0.18 | 16 | 35.6 | 0.09 ± 0.07 | 13 | 34.2 | 0.15 ± 0.16 |
| AT-GC | 1 | 2.8 | 0.01 ± 0.02 | 6 | 8.3 | 0.05 ± 0.09 | 3 | 6.7 | 0.02 ± 0.03 | 0 | 0 | 0 |
| Deletion | | | | | | | | | | | | |
| Single bp | 5 | 13.9 | 0.03 ± 0.05 | 3 | 4.2 | 0.02 ± 0.05 | 9 | 20.0 | 0.06 ± 0.05 | 3 | 7.9 | 0.02 ± 0.03 |
| Over 2 bp | 0 | 0 | 0 | 1 | 1.4 | 0.01 ± 0.02 | 0 | 0 | 0 | 3 | 7.9 | 0.02 ± 0.04 |
| Insertion | | | | | | | | | | | | |
| Complex | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2.2 | 0.01 ± 0.02 | 0 | 0 | 0 |
| Composites | 4 | 11.1 | 0.03 ± 0.03 | 3 | 4.2 | 0.04 ± 0.08 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2.6 | 0.01 ± 0.02 |

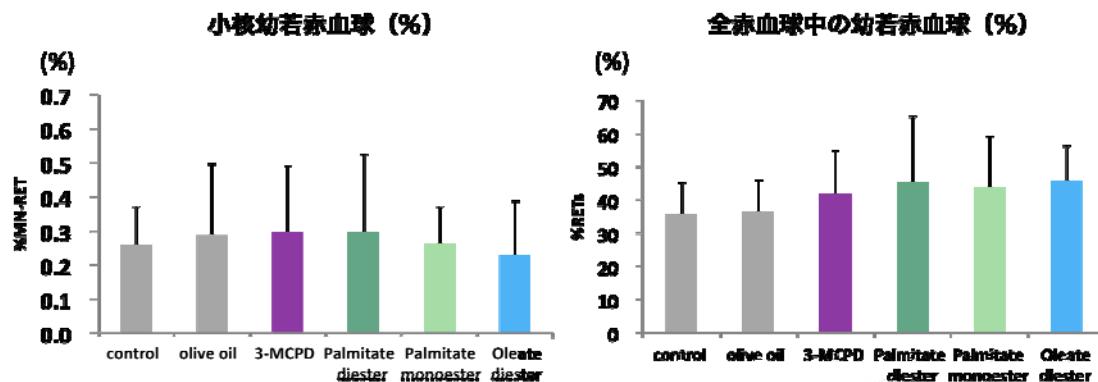
^a Number of colonies with independent mutations. ^b Specific mutation frequency = the number of specific mutations/the number of Gm² colonies.

** P < 0.01 vs. control [Dunnett's test].

2) 3-MCPD 脂肪酸エステル (小川久美子、曹 永晩：国衛研病理)

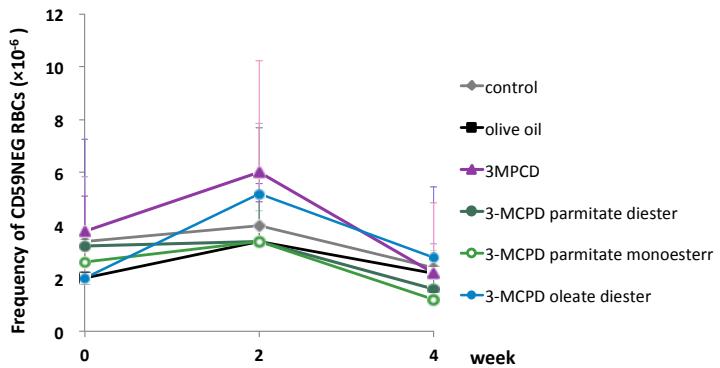
①ラット小核試験

雄のラット骨髄を用いた小核試験において、3-MCPD (40 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸ジエステル(220 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸モノエステル(130 mg/kg bw)、3-MCPD オレイン酸ジエステル (240 mg/kg bw) の4週間投与による小核の出現率および網状赤血球/赤血球比には、無処置対照群および溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。



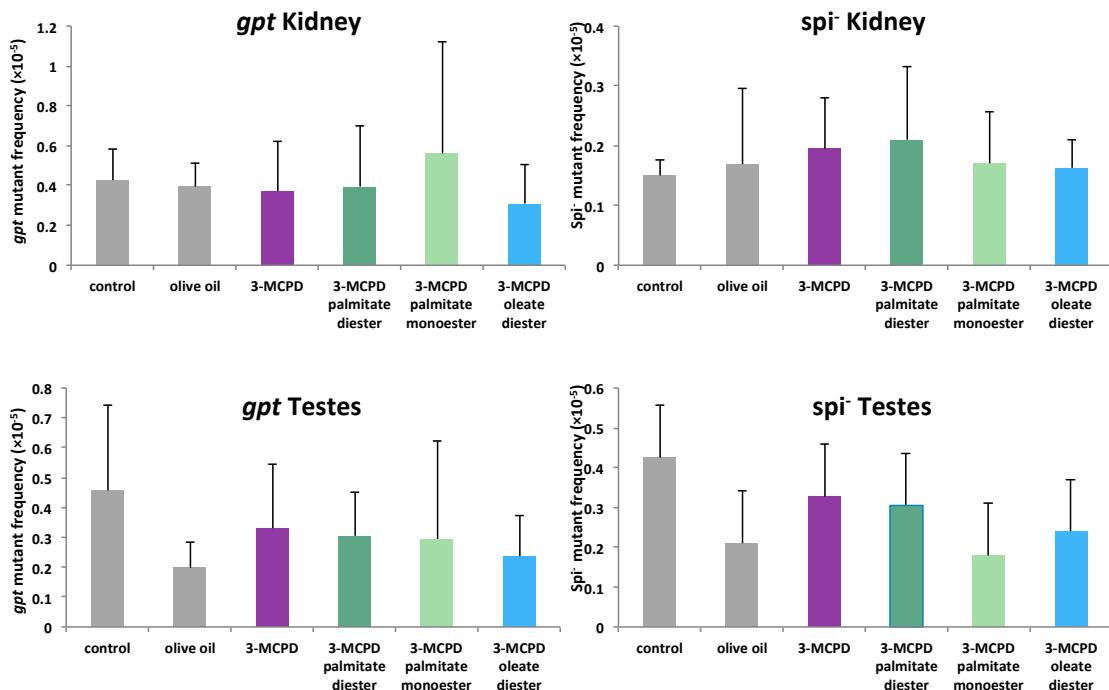
②PigA アッセイ

雄のラット末梢血を用いたPigA アッセイにおいて、3-MCPD (40 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸ジエステル (220 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸モノエステル (130 mg/kg bw)、3-MCPD オレイン酸ジエステル (240 mg/kg bw) の4週間投与によるCD59 隣性赤血球の出現率には、無処置対照群および溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。



③ *gpt* アッセイ

3-MCPDの2年間投与で発がん性が報告されている雄ラットの腎臓および精巣を用いた*gpt* アッセイおよび *spi-* アッセイにおいて、3-MCPD (40 mg/kg bw)、3-MCPDパルミチン酸ジエステル (220 mg/kg bw)、3-MCPD パルミチン酸モノエステル (130 mg/kg bw)、3-MCPDオレイン酸ジエステル (240 mg/kg bw) の4週間投与による突然変異頻度及び欠失変異頻度には、無処置対照群および溶媒対照群と比較し、有意な差は認めなかった。



(3) 13週間反復投与毒性試験

1) グリシドール脂肪酸エステル (小川久美子、豊田武士：国衛研病理)

800 ppm グリシドール群において、雌雄ともに飲水量の低下に伴った有意な体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、800 ppm グリシドール群の雌で MCV 値の増加、高用量グリシドールオレイン酸エステル群の雌で白血球数の減少が見られた。血清生化学的検索では、T-Chol 増加、カリウム値増加または ALT 減少が、それぞれ雄

の 800 ppm グリシドール群、雄の高用量グリシドールリノール酸エステル群または雌の 800 ppm グリシドール群で認められた。血清クレアチニンは 800 ppm グリシドールによって雌雄ともに低下した。これらの血液学的、血液生化学的变化は、関連する因子の変動を伴っていないため、いずれも毒性学的意義は乏しいと考えられた。また、腎および脾の相対重量はグリシドールを投与した雄の両群および雌の 800 ppm 群で有意に上昇した。腎相対重量の増加は雄の高用量グリシドールオレイン酸エステル群でも見られたが、相対重量のみの変化であり体重増加抑制に関連した毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。病理組織学的検索では、腎臓に著変は見られなかった。雄の 800 ppm グリシドール群で精巣の精細管内セルトリ細胞のセグメンタルな変性を伴う萎縮が、10 例中 7 例 ($p < 0.01$) が両側性に、2 例が片側性において認められるとともに、精巣上体管内における細胞残渣の増加が 10 例中 9 例 ($p < 0.01$) に認められた。一方、本試験条件下においては、グリシドールオレイン酸エステルならびにグリシドールリノール酸エステル群では、いずれの臓器にも、投与との関連が示唆される変化は認めなかった。

Body weight, water consumption and chemical intake in F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Group | Body weight (g) | | Water consumption (g/rat/day) | Total chemical intake (mg/kg bw/day) | As glycidol (mg/kg bw/day) |
|--------------------|-----------------|---------------|----------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|
| | Initial | Final | | | |
| <i>Male</i> | | | | | |
| Untreated | 114.3 ± 6.0 | 329.7 ± 12.4 | 20.1 | 0.0 | 0.0 |
| 0.03% Tween 80 | 114.2 ± 6.6 | 341.8 ± 15.5 | 21.1 | 0.0 | 0.0 |
| 200 ppm Glycidol | 114.2 ± 7.3 | 329.5 ± 14.9 | 21.2 | 18.4 | 18.4 |
| 800 ppm Glycidol | 114.3 ± 6.0 | 294.1 ± 9.5** | 14.7 | 56.2 | 56.2 |
| 225 ppm Oleate | 114.2 ± 6.9 | 328.7 ± 16.0 | 21.2 | 20.8 | 4.6 |
| 900 ppm Oleate | 114.5 ± 6.1 | 333.8 ± 9.8 | 23.1 | 89.5 | 19.9 |
| 3600 ppm Oleate | 114.5 ± 5.1 | 329.4 ± 11.0 | 20.9 | 323.4 | 71.9 |
| 225 ppm Linoleate | 114.5 ± 7.3 | 337.2 ± 17.2 | 21.2 | 20.5 | 4.6 |
| 900 ppm Linoleate | 114.2 ± 4.5 | 332.5 ± 12.5 | 21.6 | 84.2 | 18.7 |
| 3600 ppm Linoleate | 114.4 ± 5.9 | 331.2 ± 14.3 | 20.5 | 321.0 | 71.3 |
| <i>Female</i> | | | | | |
| Untreated | 92.9 ± 4.4 | 184.2 ± 6.8 | 15.5 | 0.0 | 0.0 |
| 0.03% Tween 80 | 93.0 ± 4.3 | 179.7 ± 7.2 | 16.5 | 0.0 | 0.0 |
| 200 ppm Glycidol | 92.7 ± 5.1 | 177.6 ± 5.7 | 16.6 | 23.0 | 23.0 |
| 800 ppm Glycidol | 92.8 ± 4.6 | 162.5 ± 7.3** | 10.1 | 60.6 | 60.6 |
| 225 ppm Oleate | 93.0 ± 4.4 | 180.0 ± 5.5 | 16.2 | 25.1 | 5.6 |
| 900 ppm Oleate | 93.0 ± 4.9 | 179.1 ± 8.6 | 16.1 | 99.8 | 22.2 |
| 3600 ppm Oleate | 92.0 ± 4.6 | 178.9 ± 6.2 | 14.8 | 372.9 | 82.9 |
| 225 ppm Linoleate | 92.7 ± 4.6 | 184.2 ± 7.6 | 16.1 | 24.8 | 5.5 |
| 900 ppm Linoleate | 92.6 ± 4.6 | 178.2 ± 7.0 | 14.7 | 92.7 | 20.6 |
| 3600 ppm Linoleate | 93.1 ± 3.2 | 184.0 ± 5.3 | 16.3 | 400.8 | 89.1 |

Each value represents the mean ± S.D.

**: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.01$.

Hematology for male F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Untreated | 0.03% Tween 80 | | Glycidol | | Oleate | | | Linoleate | | |
|-----------------------------------|-------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
| | | 200 ppm | 800 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm |
| No. of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$) | 23.9 ± 9.1 | 28.7 ± 6.3 | 26.5 ± 9.0 | 31.1 ± 11.8 | 25.3 ± 5.5 | 28.0 ± 6.6 | 26.8 ± 8.6 | 34.0 ± 13.0 | 25.3 ± 6.5 | 28.4 ± 8.6 | |
| RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 883 ± 47 | 875 ± 40 | 897 ± 35 | 879 ± 73 | 895 ± 44 | 923 ± 60 | 903 ± 34 | 902 ± 54 | 901 ± 44 | 928 ± 59 | |
| HGB (g/dl) | 15.1 ± 0.7 | 14.9 ± 0.8 | 15.2 ± 0.6 | 14.8 ± 0.8 | 15.2 ± 0.6 | 15.4 ± 0.5 | 15.0 ± 0.3 | 15.3 ± 0.7 | 15.1 ± 0.6 | 15.4 ± 0.8 | |
| HCT (%) | 47.6 ± 2.0 | 47.1 ± 2.1 | 48.2 ± 1.8 | 47.8 ± 3.8 | 48.1 ± 1.9 | 49.7 ± 3.0 | 48.7 ± 1.9 | 48.4 ± 2.6 | 48.7 ± 2.4 | 50.2 ± 3.3 | |
| MCV (fl) | 54.0 ± 0.7 | 53.9 ± 0.7 | 53.7 ± 0.7 | 54.4 ± 0.5 | 53.8 ± 0.9 | 53.9 ± 0.8 | 53.9 ± 0.7 | 53.7 ± 0.8 | 54.0 ± 0.4 | 54.1 ± 0.5 | |
| MCH (pg) | 17.2 ± 0.4 | 17.0 ± 0.4 | 17.0 ± 0.4 | 16.9 ± 0.6 | 17.0 ± 0.4 | 16.8 ± 0.7 | 16.7 ± 0.6 | 17.0 ± 0.4 | 16.8 ± 0.5 | 16.6 ± 0.5 | |
| MCHC (g/dl) | 31.8 ± 0.5 | 31.5 ± 0.5 | 31.6 ± 0.5 | 31.1 ± 1.2 | 31.5 ± 0.4 | 31.1 ± 1.1 | 30.9 ± 1.0 | 31.7 ± 0.5 | 31.1 ± 1.1 | 30.7 ± 0.9 | |
| PLT ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 66.5 ± 2.7 | 70.2 ± 1.8 | 71.0 ± 3.3 | 69.2 ± 3.8 | 66.5 ± 12.5 | 68.7 ± 4.4 | 66.7 ± 4.1 | 68.5 ± 3.8 | 73.4 ± 4.6 | 70.6 ± 3.0 | |
| <i>Differential cell count</i> | | | | | | | | | | | |
| Band (%) | 0.20 ± 0.26 | 0.30 ± 0.33 | 0.63 ± 0.32 | 0.46 ± 0.55 | 0.20 ± 0.35 | 0.25 ± 0.35 | 0.11 ± 0.23 | 0.15 ± 0.24 | 0.27 ± 0.37 | 0.26 ± 0.38 | |
| Seg (%) | 44.3 ± 8.8 | 38.8 ± 3.7 | 40.1 ± 10.9 | 36.7 ± 6.6 | 39.1 ± 4.2 | 42.2 ± 9.2 | 45.0 ± 8.1 | 36.1 ± 4.3 | 41.5 ± 7.6 | 37.6 ± 5.2 | |
| Eosin (%) | 1.25 ± 1.01 | 2.19 ± 1.03 | 1.43 ± 1.39 | 1.30 ± 1.30 | 1.22 ± 1.06 | 1.17 ± 0.99 | 1.43 ± 0.94 | 1.86 ± 0.74 | 1.08 ± 0.69 | 1.38 ± 0.92 | |
| Baso (%) | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.05 ± 0.16 | 0.0 ± 0.0 | 0.05 ± 0.16 | 0.0 ± 0.0 | 0.08 ± 0.25 | 0.0 ± 0.0 | |
| Lymph (%) | 53.5 ± 9.7 | 58.3 ± 4.0 | 57.6 ± 11.4 | 61.1 ± 7.5 | 58.8 ± 4.8 | 56.2 ± 9.6 | 52.9 ± 8.2 | 61.5 ± 5.1 | 56.4 ± 8.0 | 60.3 ± 5.9 | |
| Mono (%) | 0.70 ± 0.95 | 0.40 ± 0.44 | 0.30 ± 0.42 | 0.40 ± 0.56 | 0.64 ± 0.92 | 0.25 ± 0.42 | 0.51 ± 0.73 | 0.42 ± 0.69 | 0.76 ± 0.91 | 0.50 ± 0.62 | |
| Ebl (per 200WBC) | 0.30 ± 0.68 | 0.34 ± 0.56 | 0.20 ± 0.64 | 0.50 ± 0.71 | 0.32 ± 0.52 | 0.52 ± 0.88 | 0.52 ± 0.88 | 0.40 ± 0.54 | 0.43 ± 0.73 | 0.20 ± 0.42 | |

Each value represents the mean ± S.D. *; **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Hematology for female F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Untreated | 0.03% Tween 80 | | Glycidol | | Oleate | | | Linoleate | | |
|-----------------------------------|-------------|----------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
| | | 200 ppm | 800 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm |
| No. of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$) | 25.0 ± 6.4 | 25.3 ± 5.8 | 21.8 ± 7.1 | 22.9 ± 5.1 | 20.5 ± 6.5 | 20.8 ± 4.7 | 18.1 ± 4.3* | 22.6 ± 6.4 | 20.8 ± 6.8 | 23.5 ± 4.7 | |
| RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 834 ± 53 | 837 ± 52 | 869 ± 40 | 786 ± 54 | 854 ± 58 | 848 ± 48 | 783 ± 85 | 842 ± 30 | 846 ± 51 | 817 ± 32 | |
| HGB (g/dl) | 15.1 ± 0.7 | 15.0 ± 0.7 | 15.6 ± 0.6 | 14.5 ± 0.9 | 15.3 ± 0.6 | 15.4 ± 0.7 | 14.2 ± 1.6 | 15.3 ± 0.6 | 15.5 ± 0.6 | 15.0 ± 0.5 | |
| HCT (%) | 47.2 ± 2.9 | 47.3 ± 2.6 | 48.9 ± 2.3 | 45.6 ± 2.8 | 48.4 ± 3.2 | 48.2 ± 3.0 | 44.4 ± 4.6 | 47.9 ± 1.8 | 48.2 ± 2.7 | 46.6 ± 1.7 | |
| MCV (fl) | 56.6 ± 0.4 | 56.5 ± 0.6 | 56.3 ± 0.3 | 58.0 ± 0.6** | 56.7 ± 0.5 | 56.9 ± 0.6 | 56.8 ± 0.5 | 56.9 ± 0.4 | 57.0 ± 0.6 | 57.1 ± 0.4 | |
| MCH (pg) | 18.1 ± 0.6 | 17.9 ± 0.5 | 18.0 ± 0.3 | 18.4 ± 0.6 | 18.0 ± 0.9 | 18.2 ± 0.6 | 18.1 ± 0.4 | 18.2 ± 0.3 | 18.3 ± 0.6 | 18.4 ± 0.4 | |
| MCHC (g/dl) | 32.1 ± 1.1 | 31.7 ± 0.6 | 31.9 ± 0.4 | 31.7 ± 1.0 | 31.7 ± 1.4 | 31.9 ± 1.0 | 31.8 ± 0.7 | 32.0 ± 0.5 | 32.2 ± 1.0 | 32.3 ± 0.6 | |
| PLT ($\times 10^4/\mu\text{l}$) | 72.6 ± 4.7 | 72.1 ± 6.4 | 71.3 ± 4.6 | 72.2 ± 4.2 | 73.2 ± 6.8 | 68.4 ± 9.4 | 69.2 ± 6.5 | 71.8 ± 4.5 | 73.2 ± 5.3 | 71.7 ± 4.8 | |
| <i>Differential cell count</i> | | | | | | | | | | | |
| Band (%) | 0.35 ± 0.42 | 0.40 ± 0.47 | 0.45 ± 0.44 | 0.43 ± 0.64 | 0.28 ± 0.43 | 0.20 ± 0.35 | 0.19 ± 0.32 | 0.61 ± 0.80 | 0.05 ± 0.16 | 0.25 ± 0.35 | |
| Seg (%) | 34.6 ± 6.8 | 34.5 ± 7.7 | 32.4 ± 8.4 | 30.4 ± 6.8 | 28.9 ± 7.3 | 30.3 ± 4.2 | 30.9 ± 9.2 | 27.0 ± 8.4 | 29.3 ± 4.5 | 30.5 ± 6.0 | |
| Eosin (%) | 2.29 ± 0.88 | 1.89 ± 0.90 | 1.90 ± 1.39 | 1.18 ± 1.34 | 1.74 ± 1.14 | 2.11 ± 0.87 | 2.66 ± 1.59 | 2.13 ± 1.54 | 1.56 ± 1.06 | 1.60 ± 1.10 | |
| Baso (%) | 0.05 ± 0.16 | 0.0 ± 0.0 | 0.06 ± 0.19 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | |
| Lymph (%) | 62.1 ± 7.4 | 62.6 ± 8.1 | 64.6 ± 8.0 | 67.5 ± 6.4 | 68.6 ± 7.2 | 66.9 ± 4.2 | 65.3 ± 9.8 | 69.9 ± 8.9 | 68.8 ± 4.9 | 67.0 ± 5.8 | |
| Mono (%) | 0.55 ± 0.53 | 0.65 ± 0.68 | 0.54 ± 0.76 | 0.50 ± 0.58 | 0.57 ± 0.74 | 0.50 ± 0.46 | 0.91 ± 0.82 | 0.45 ± 0.56 | 0.30 ± 0.35 | 0.61 ± 0.72 | |
| Ebl (per 200WBC) | 0.0 ± 0.0 | 0.56 ± 1.18 | 0.0 ± 0.0 | 0.20 ± 0.43 | 0.10 ± 0.32 | 0.20 ± 0.63 | 0.30 ± 0.67 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.10 ± 0.32 | |

Each value represents the mean ± S.D. *; **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Serum biochemistry for male F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Untreated | 0.03% Tween 80 | | Glycidol | | Oleate | | | Linoleate | | |
|--------------------|--------------|----------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| | | 200 ppm | 800 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm |
| No. of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| TP g/dl | 6.62 ± 0.18 | 6.52 ± 0.13 | 6.60 ± 0.26 | 6.75 ± 0.17 | 6.48 ± 0.23 | 6.27 ± 0.38 | 6.42 ± 0.22 | 6.45 ± 0.31 | 6.61 ± 0.22 | 6.59 ± 0.20 | |
| A/G | 1.78 ± 0.11 | 1.76 ± 0.07 | 1.75 ± 0.08 | 1.76 ± 0.11 | 1.72 ± 0.12 | 1.78 ± 0.08 | 1.77 ± 0.11 | 1.71 ± 0.09 | 1.71 ± 0.07 | 1.78 ± 0.10 | |
| Alb g/dl | 4.23 ± 0.19 | 4.15 ± 0.08 | 4.19 ± 0.16 | 4.30 ± 0.14 | 4.09 ± 0.17 | 4.01 ± 0.23 | 4.10 ± 0.12 | 4.07 ± 0.16 | 4.17 ± 0.15 | 4.21 ± 0.17 | |
| Bil mg/dl | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | |
| Glc mg/dl | 148.7 ± 20.5 | 141.3 ± 22.1 | 132.4 ± 22.9 | 130.4 ± 14.8 | 163.7 ± 15.1 | 159.0 ± 19.0 | 149.5 ± 21.5 | 150.3 ± 21.9 | 137.4 ± 18.4 | 151.7 ± 20.3 | |
| TG mg/dl | 86.7 ± 29.8 | 75.2 ± 20.0 | 72.5 ± 27.6 | 100.0 ± 30.4 | 74.8 ± 24.5 | 82.9 ± 37.9 | 70.6 ± 23.9 | 74.5 ± 21.7 | 68.7 ± 22.1 | 98.6 ± 36.2 | |
| T-Chol mg/dl | 65.1 ± 4.8 | 65.0 ± 5.7 | 66.0 ± 6.7 | 75.8 ± 6.3** | 62.1 ± 5.5 | 63.0 ± 8.3 | 62.7 ± 4.2 | 63.3 ± 4.9 | 64.7 ± 4.2 | 70.4 ± 5.1 | |
| BUN mg/dl | 20.6 ± 1.5 | 19.8 ± 1.7 | 19.3 ± 1.5 | 19.5 ± 2.8 | 19.3 ± 1.4 | 17.8 ± 1.6 | 18.6 ± 2.6 | 18.5 ± 1.8 | 18.6 ± 1.8 | 20.1 ± 1.6 | |
| Ore mg/dl | 0.29 ± 0.02 | 0.30 ± 0.03 | 0.29 ± 0.02 | 0.25 ± 0.01** | 0.28 ± 0.01* | 0.26 ± 0.02** | 0.28 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 | 0.28 ± 0.02 | 0.28 ± 0.03 | |
| Na mEq/l | 141.6 ± 1.0 | 140.8 ± 1.8 | 140.1 ± 2.3 | 139.4 ± 1.6 | 140.6 ± 2.1 | 137.4 ± 4.4 | 140.5 ± 2.8 | 140.5 ± 3.9 | 141.4 ± 1.5 | 140.8 ± 1.8 | |
| Cl mEq/l | 102.5 ± 1.2 | 101.9 ± 1.4 | 101.5 ± 1.6 | 100.6 ± 1.3 | 101.8 ± 2.6 | 99.7 ± 3.1 | 100.9 ± 2.9 | 101.9 ± 3.0 | 102.6 ± 1.1 | 101.9 ± 1.9 | |
| K mEq/l | 4.45 ± 0.22 | 4.33 ± 0.16 | 4.44 ± 0.18 | 4.39 ± 0.17 | 4.47 ± 0.13 | 4.34 ± 0.28 | 4.36 ± 0.21 | 4.44 ± 0.16 | 4.49 ± 0.26 | 4.62 ± 0.16* | |
| Ca mg/dl | 10.00 ± 0.24 | 9.98 ± 0.25 | 9.90 ± 0.26 | 10.03 ± 0.21 | 10.11 ± 0.28 | 9.66 ± 0.55 | 9.90 ± 0.29 | 9.97 ± 0.33 | 10.08 ± 0.21 | 10.11 ± 0.23 | |
| IP mg/dl | 5.26 ± 0.45 | 5.26 ± 0.51 | 5.15 ± 0.25 | 5.47 ± 0.33 | 5.77 ± 0.50 | 5.59 ± 0.19 | 5.66 ± 0.24 | 5.56 ± 0.47 | 5.75 ± 0.50 | 5.50 ± 0.48 | |
| AST IU/l | 88.9 ± 11.4 | 87.0 ± 6.8 | 81.1 ± 8.8 | 75.5 ± 7.9 | 76.3 ± 8.9 | 73.9 ± 6.7 | 78.3 ± 7.5 | 82.2 ± 6.1 | 87.5 ± 16.8 | 86.4 ± 13.3 | |
| ALT IU/l | 60.0 ± 7.0 | 56.0 ± 4.3 | 54.3 ± 4.2 | 51.8 ± 7.8 | 57.4 ± 4.9 | 54.6 ± 8.0 | 54.5 ± 5.7 | 57.8 ± 6.0 | 55.9 ± 8.2 | 55.9 ± 6.4 | |
| ALP IU/l | 384.9 ± 30.8 | 378.3 ± 31.4 | 367.4 ± 25.4 | 376.4 ± 33.2 | 383.5 ± 33.1 | 373.2 ± 38.2 | 373.6 ± 25.6 | 368.8 ± 26.8 | 374.9 ± 28.0 | 372.0 ± 28.0 | |
| γ -GTP IU/l | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 | |

Each value represents the mean ± S.D. *; **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Serum biochemistry for female F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

Each value represents the mean \pm S.D. *, **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Organ weights for male F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Untreated | 0.03% | | Glycidol | | Oleate | | | Linoleate | | |
|------------------------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------|
| | | Tween 80 | | 200 ppm | 800 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm |
| No. of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Body weight <i>Absolute (g)</i> | 316.1 ± 10.3 | 327.9 ± 14.0 | 316.1 ± 14.1 | 281.9 ± 9.6** | 316.2 ± 13.9 | 320.9 ± 10.0 | 315.3 ± 9.9 | 325.1 ± 16.9 | 318.9 ± 11.3 | 319.7 ± 12.9 | |
| Brain | 1.99 ± 0.06 | 2.03 ± 0.04 | 2.03 ± 0.04 | 1.91 ± 0.05** | 1.93 ± 0.10* | 2.01 ± 0.04 | 2.01 ± 0.05 | 2.01 ± 0.05 | 1.99 ± 0.03 | 2.00 ± 0.04 | |
| Thymus | 0.21 ± 0.06 | 0.22 ± 0.06 | 0.24 ± 0.06 | 0.18 ± 0.03 | 0.21 ± 0.07 | 0.18 ± 0.02 | 0.20 ± 0.05 | 0.20 ± 0.03 | 0.20 ± 0.06 | 0.21 ± 0.04 | |
| Lungs | 0.94 ± 0.06 | 1.00 ± 0.05 | 1.01 ± 0.04 | 0.93 ± 0.05* | 1.00 ± 0.08 | 1.00 ± 0.03 | 0.98 ± 0.04 | 0.98 ± 0.07 | 0.99 ± 0.04 | 0.98 ± 0.06 | |
| Heart | 0.91 ± 0.02 | 0.95 ± 0.05 | 0.94 ± 0.04 | 0.87 ± 0.03** | 0.93 ± 0.05 | 0.96 ± 0.05 | 0.93 ± 0.03 | 0.93 ± 0.05 | 0.94 ± 0.03 | 0.91 ± 0.05 | |
| Spleen | 0.62 ± 0.02 | 0.64 ± 0.03 | 0.66 ± 0.03 | 0.61 ± 0.03 | 0.62 ± 0.04 | 0.65 ± 0.05 | 0.64 ± 0.04 | 0.66 ± 0.05 | 0.64 ± 0.03 | 0.64 ± 0.04 | |
| Liver | 7.57 ± 0.32 | 7.86 ± 0.55 | 7.77 ± 0.48 | 7.18 ± 0.39** | 7.51 ± 0.37 | 7.66 ± 0.40 | 7.55 ± 0.36 | 7.60 ± 0.47 | 7.68 ± 0.39 | 7.65 ± 0.51 | |
| Adrenals | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | |
| Kidneys | 1.86 ± 0.08 | 1.92 ± 0.09 | 1.97 ± 0.12 | 1.99 ± 0.11 | 1.88 ± 0.09 | 1.95 ± 0.09 | 1.97 ± 0.10 | 1.91 ± 0.13 | 1.90 ± 0.07 | 1.95 ± 0.06 | |
| Testes | 3.05 ± 0.15 | 3.12 ± 0.09 | 3.13 ± 0.11 | 2.85 ± 0.13** | 3.03 ± 0.14 | 3.21 ± 0.07 | 3.09 ± 0.10 | 3.13 ± 0.10 | 3.12 ± 0.07 | 3.15 ± 0.12 | |
| <i>Relative (g%)</i> | | | | | | | | | | | |
| Brain | 0.63 ± 0.02 | 0.62 ± 0.03 | 0.64 ± 0.03 | 0.68 ± 0.02** | 0.61 ± 0.03 | 0.63 ± 0.03 | 0.64 ± 0.02 | 0.62 ± 0.03 | 0.63 ± 0.03 | 0.63 ± 0.03 | |
| Thymus | 0.07 ± 0.02 | 0.07 ± 0.02 | 0.07 ± 0.02 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.02 | 0.06 ± 0.00 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.02 | 0.07 ± 0.01 | |
| Lungs | 0.31 ± 0.02 | 0.30 ± 0.01 | 0.32 ± 0.01 | 0.33 ± 0.02** | 0.32 ± 0.03 | 0.31 ± 0.02 | 0.31 ± 0.02 | 0.30 ± 0.02 | 0.31 ± 0.02 | 0.31 ± 0.01 | |
| Heart | 0.29 ± 0.01 | 0.29 ± 0.01 | 0.30 ± 0.02 | 0.31 ± 0.01 | 0.29 ± 0.02 | 0.30 ± 0.02 | 0.30 ± 0.01 | 0.29 ± 0.01 | 0.29 ± 0.01 | 0.29 ± 0.01 | |
| Spleen | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | 0.21 ± 0.01** | 0.22 ± 0.01** | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | 0.20 ± 0.01 | |
| Liver | 2.39 ± 0.06 | 2.40 ± 0.13 | 2.46 ± 0.08 | 2.55 ± 0.11** | 2.38 ± 0.09 | 2.39 ± 0.08 | 2.40 ± 0.11 | 2.34 ± 0.08 | 2.41 ± 0.06 | 2.39 ± 0.10 | |
| Adrenals | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | |
| Kidneys | 0.59 ± 0.01 | 0.59 ± 0.02 | 0.62 ± 0.02** | 0.71 ± 0.03** | 0.59 ± 0.02 | 0.61 ± 0.03 | 0.62 ± 0.03* | 0.59 ± 0.02 | 0.60 ± 0.02 | 0.61 ± 0.01 | |
| Testes | 0.97 ± 0.04 | 0.95 ± 0.04 | 0.99 ± 0.04 | 1.01 ± 0.06* | 0.96 ± 0.06 | 1.00 ± 0.04 | 0.98 ± 0.04 | 0.96 ± 0.03 | 0.98 ± 0.02 | 0.99 ± 0.05 | |

Each value represents the mean \pm S.D. * $**$: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Organ weights for female F344 rats treated with glycidol fatty acid sters for 13 weeks

| Treatment | Untreated | 0.03% | | | Glycidol | | | Oleate | | | Linoleate | | |
|---------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|----------|
| | | Tween 80 | 200 ppm | 800 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm | 225 ppm | 900 ppm | 3600 ppm |
| No. of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Body weight | 177.3 ± 5.8 | 171.8 ± 6.7 | 169.9 ± 6.2 | 155.5 ± 7.5** | 172.9 ± 5.9 | 171.8 ± 8.4 | 171.6 ± 6.3 | 176.0 ± 7.7 | 170.9 ± 7.2 | 177.0 ± 4.9 | | | |
| Absolute (g) | | | | | | | | | | | | | |
| Brain | 1.82 ± 0.04 | 1.80 ± 0.08 | 1.79 ± 0.05 | 1.76 ± 0.07 | 1.83 ± 0.04 | 1.81 ± 0.04 | 1.82 ± 0.05 | 1.83 ± 0.03 | 1.80 ± 0.04 | 1.80 ± 0.02 | | | |
| Thymus | 0.18 ± 0.03 | 0.16 ± 0.02 | 0.17 ± 0.02 | 0.15 ± 0.02 | 0.17 ± 0.03 | 0.17 ± 0.03 | 0.17 ± 0.02 | 0.16 ± 0.02 | 0.15 ± 0.02 | 0.15 ± 0.02 | 0.17 ± 0.04 | | |
| Lung\$ | 0.71 ± 0.05 | 0.72 ± 0.04 | 0.72 ± 0.05 | 0.67 ± 0.05 | 0.71 ± 0.05 | 0.72 ± 0.04 | 0.72 ± 0.04 | 0.72 ± 0.05 | 0.70 ± 0.04 | 0.73 ± 0.05 | 0.73 ± 0.05 | | |
| Heart | 0.57 ± 0.03 | 0.56 ± 0.03 | 0.57 ± 0.05 | 0.54 ± 0.05 | 0.57 ± 0.01 | 0.57 ± 0.03 | 0.59 ± 0.03 | 0.59 ± 0.04 | 0.56 ± 0.03 | 0.59 ± 0.03 | 0.59 ± 0.03 | | |
| Spleen | 0.40 ± 0.04 | 0.40 ± 0.03 | 0.39 ± 0.03 | 0.42 ± 0.04 | 0.40 ± 0.04 | 0.40 ± 0.02 | 0.41 ± 0.03 | 0.40 ± 0.02 | 0.39 ± 0.02 | 0.42 ± 0.02 | 0.42 ± 0.02 | | |
| Liver | 3.93 ± 0.18 | 3.87 ± 0.15 | 3.91 ± 0.28 | 3.68 ± 0.19 | 3.93 ± 0.16 | 3.86 ± 0.24 | 3.85 ± 0.20 | 3.99 ± 0.19 | 3.84 ± 0.18 | 4.03 ± 0.13 | | | |
| Adrenals | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.05 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | | |
| Kidneys | 1.14 ± 0.05 | 1.10 ± 0.07 | 1.12 ± 0.08 | 1.23 ± 0.05** | 1.12 ± 0.05 | 1.12 ± 0.08 | 1.14 ± 0.08 | 1.15 ± 0.06 | 1.15 ± 0.07 | 1.15 ± 0.05 | | | |
| Relative (g%) | | | | | | | | | | | | | |
| Brain | 1.03 ± 0.04 | 1.05 ± 0.03 | 1.05 ± 0.04 | 1.13 ± 0.07** | 1.06 ± 0.04 | 1.05 ± 0.05 | 1.06 ± 0.04 | 1.04 ± 0.05 | 1.05 ± 0.03 | 1.02 ± 0.04 | | | |
| Thymus | 0.10 ± 0.02 | 0.09 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.10 ± 0.02 | 0.10 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.10 ± 0.02 | | | |
| Lung\$ | 0.40 ± 0.03 | 0.42 ± 0.02 | 0.42 ± 0.02 | 0.43 ± 0.03 | 0.41 ± 0.02 | 0.42 ± 0.03 | 0.42 ± 0.02 | 0.41 ± 0.02 | 0.41 ± 0.03 | 0.41 ± 0.02 | | | |
| Heart | 0.32 ± 0.02 | 0.32 ± 0.02 | 0.34 ± 0.02 | 0.35 ± 0.03* | 0.33 ± 0.01 | 0.33 ± 0.01 | 0.34 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 | | | |
| Spleen | 0.23 ± 0.02 | 0.23 ± 0.02 | 0.23 ± 0.01 | 0.27 ± 0.02** | 0.23 ± 0.02 | 0.24 ± 0.02 | 0.24 ± 0.02 | 0.23 ± 0.01 | 0.23 ± 0.01 | 0.24 ± 0.01 | | | |
| Liver | 2.22 ± 0.09 | 2.26 ± 0.12 | 2.30 ± 0.11 | 2.37 ± 0.09 | 2.27 ± 0.09 | 2.25 ± 0.10 | 2.24 ± 0.06 | 2.27 ± 0.11 | 2.25 ± 0.10 | 2.28 ± 0.11 | | | |
| Adrenals | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | | |
| Kidneys | 0.64 ± 0.03 | 0.64 ± 0.03 | 0.66 ± 0.03 | 0.79 ± 0.03** | 0.65 ± 0.03 | 0.65 ± 0.03 | 0.66 ± 0.04 | 0.65 ± 0.03 | 0.67 ± 0.02 | 0.65 ± 0.03 | | | |
| Estimated relative values | 1.00 | 0.98 | 0.95 | 1.05 | 1.02 | 1.01 | 1.02 | 1.05 | 1.04 | 1.03 | | | |

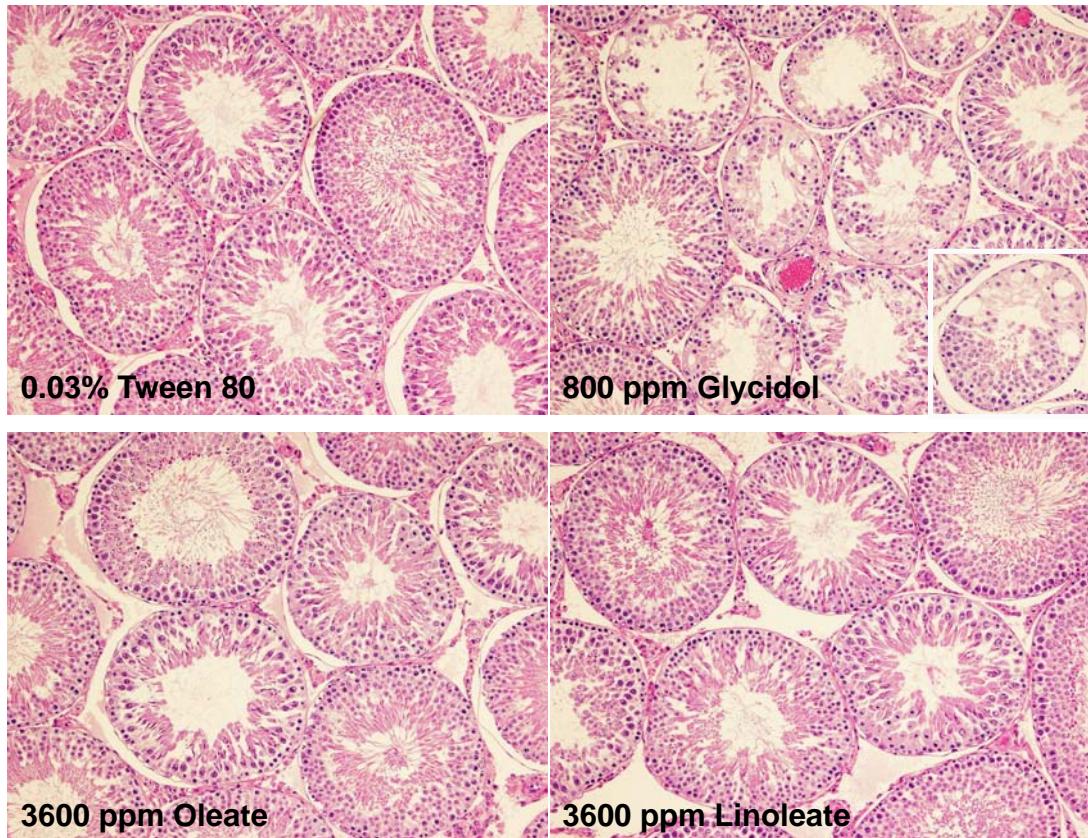
*, **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Histopathological findings for F344 rats treated with glycidol fatty acid esters for 13 weeks

| Organs | Findings | No. of animals | Male | | | | | | Female | | | | | |
|---------------|-------------------------------------------|----------------|-----------|----------------|------------------|------------------|-----------------|--------------------|-----------|----------------|------------------|-----------------|--------------------|--|
| | | | Untreated | 0.03% Tween 80 | 200 ppm Glycidol | 800 ppm Glycidol | 3600 ppm Oleate | 3600 ppm Linoleate | Untreated | 0.03% Tween 80 | 800 ppm Glycidol | 3600 ppm Oleate | 3600 ppm Linoleate | |
| Liver | Microgranuloma | 4 | 4 | — | 4 | 6 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 2 | 2 | |
| | Focal necrosis | 0 | 1 | — | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | Clear cell foci | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| Kidney | Basophilic tubules | 2 | 3 | — | 2 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | Inflammation, interstitial, focal | 1 | 0 | — | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| | Hyaline cast | 0 | 1 | — | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | Mineralization | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0 | 5 | 9 | 7 | 7 | 8 | | |
| | Hyperplasia of tubular cells | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Heart | Mononuclear cell infiltration, focal | 7 | 7 | — | 8 | 10 | 9 | 2 | 3 | 5 | 4 | 4 | | |
| | Myocardial degeneration, focal | 0 | 1 | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Lung | Mineralization | 4 | 4 | — | 3 | 2 | 4 | 2 | 4 | 4 | 3 | 1 | | |
| | Osseous metaplasia | 1 | 0 | — | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | |
| Pancreas | Mononuclear cell infiltration, focal | 3 | 1 | — | 3 | 4 | 3 | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 | | |
| Tongue | Inflammation, mild | 1 | 1 | — | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Stomach | Mononuclear cell infiltration, focal | 0 | 0 | — | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Testis | Degeneration/atrophy, tubular, bilateral | 1 | 0 | 0 | 7** | 0 | 0 | — | — | — | — | — | | |
| | Degeneration/atrophy, tubular, unilateral | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | | |
| Epididymis | Cell debris in the epididymal duct | 1 | 0 | 1 | 9** | 0 | 0 | — | — | — | — | — | | |
| Prostate | Mononuclear cell infiltration, focal | 5 | 2 | — | 4 | 2 | 1 | — | — | — | — | — | | |
| Ovary | Cyst | — | — | — | — | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | | |
| Thymus | Focal epithelial hyperplasia | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | | |
| Pituitary | Cyst | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 3 | 5 | 1 | | |
| Bone marrow | Microgranuloma | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 2 | 3 | | |
| Harderian gl. | Mononuclear cell infiltration, focal | 2 | 2 | — | 2 | 2 | 1 | 3 | 4 | 8 | 5 | 5 | | |

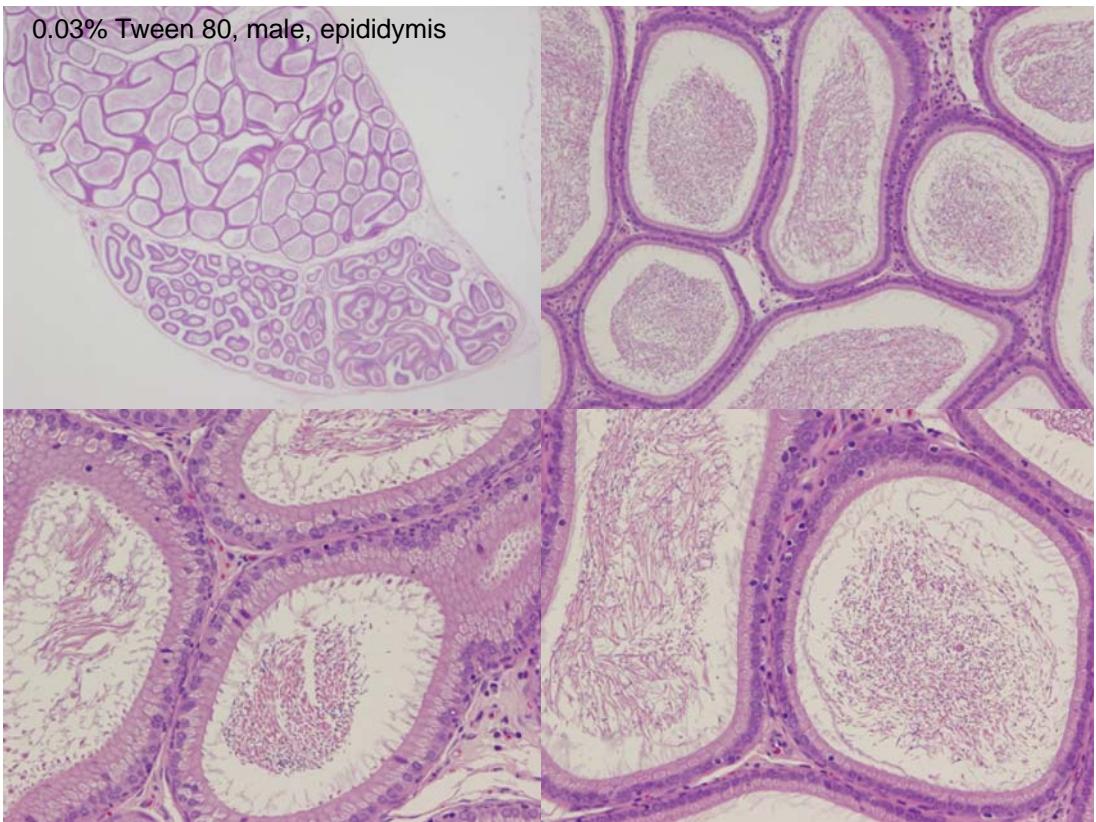
—: Not evaluated. **: Significantly different from the tween 80-treated group at $p < 0.01$.

Representative histological findings of the testis

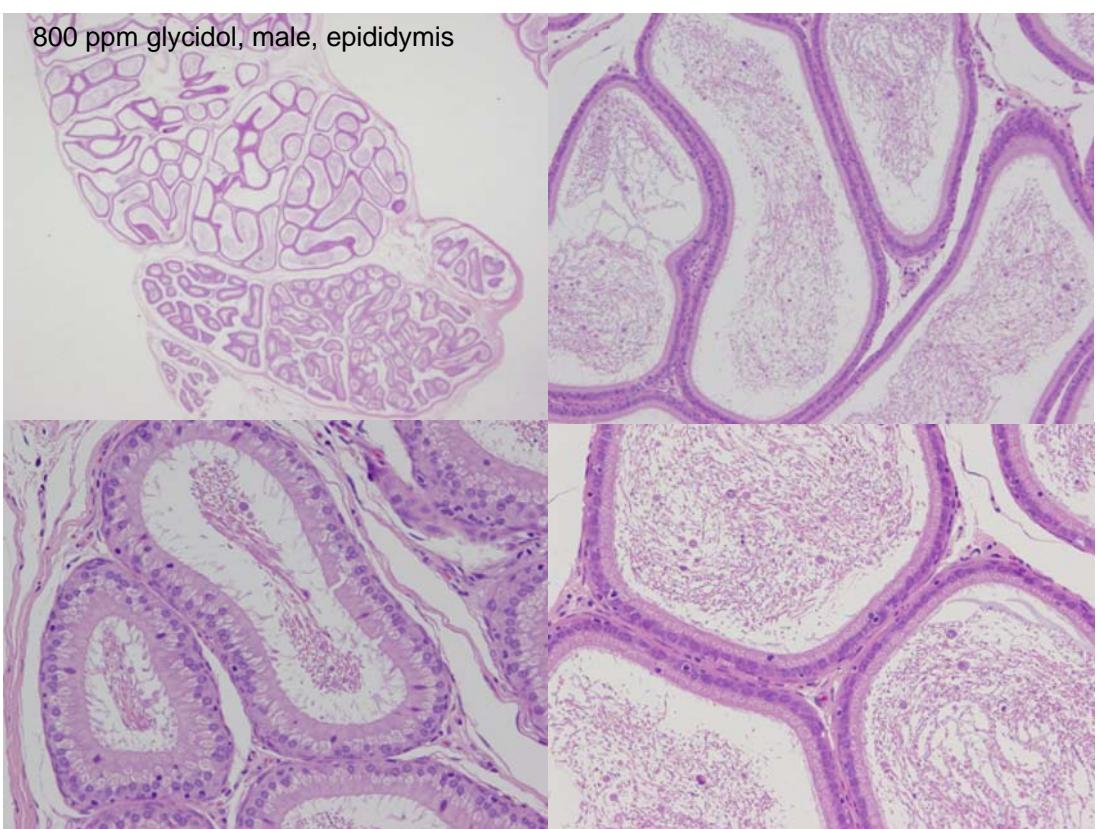


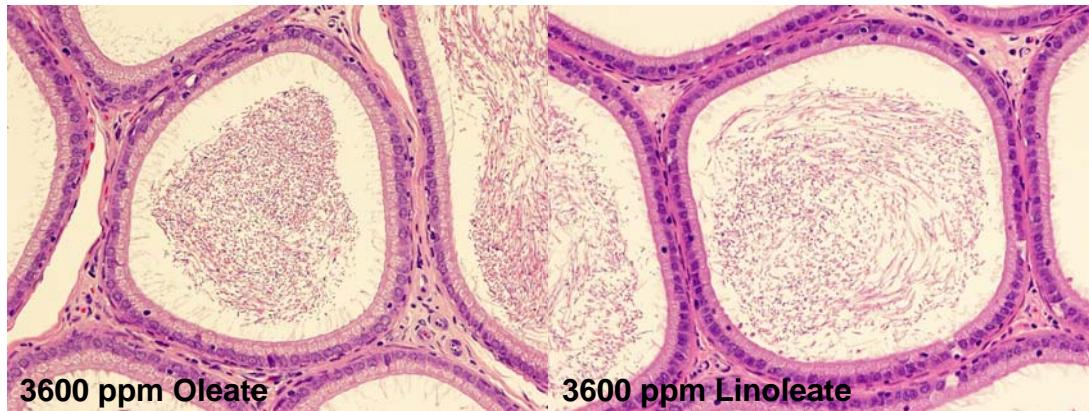
Representative histological findings of the epididymis

0.03% Tween 80, male, epididymis



800 ppm glycidol, male, epididymis





2) 3-MCPD 脂肪酸エステル (小川久美子、曹 永晩：国衛研病理)

3-MCPDオレイン酸ジエステル (240, 60, 15 mg/kg bw)、3-MCPDパルミチン酸ジエステル (220, 55, 14 mg/kg bw) および 3-MCPD パルミチン酸モノエステル (130, 32, 8 mg/kg bw) のいずれのエステル投与群も最終体重については、雌雄とも有意な差異は見られなかった。血液学的検査では、HGB の有意な低値がオレイン酸ジエステル投与群の雌の高用量、パルミチン酸ジエステル投与群の雌雄の高用量、およびパルミチン酸モノエステルの雄の高用量と雌の中用量以上に認められた。また、HCT の有意な低値がオレイン酸ジエステル投与群の雌の高用量、パルミチン酸ジエステル投与群の雌の高用量およびパルミチン酸モノエステルの雌雄の高用量に認められた。その他、RBC および MCH の低値が3種のエステルの雌の高用量に見られ、MCHC の低値がオレイン酸ジエステルとパルミチン酸ジエステルの雌の高用量に認められた。3-MCPD については、MCV と MCHC の低値のみが雌で認められた。血液生化学検査では、Cre の低値がオレイン酸ジエステル投与群の雄の低用量以上と雌の中用量以上、パルミチン酸ジエステル投与群の雄の低用量以上と雌の中用量以上、およびパルミチン酸モノエステルの雄の中用量以上と雌の低用量以上に認められ、BUN の低値がパルミチン酸モノエステルの雌の低用量以上にともなっていた。また、ALP の低値がオレイン酸ジエステル投与群の雄の中用量以上、パルミチン酸ジエステル投与群の雄の中用量以上、およびパルミチン酸モノエステルの雄の中用量以上に認められた。これらの変化は一般的に毒性影響としては高値を示すことが多く、その毒性的意義は乏しいと考えられた。腎臓の相対・絶対重量は、すべてのエステル化合物の中高用量群において、溶媒対照群と比較して有意な増加を示し、肝臓の相対重量は、雌の3-MCPD パルミチン酸モノエステル群を除く、エステル化合物の高用量群で、溶媒対照群と比較して有意な増加を示した。病理組織学的解析では、すべてのエステル化合物の高用量群において、雄の精巣上体頭部 (initial segment) 腺上皮のアポトーシスが溶媒対照群に比較し有意に高率に認められた。また、雌の高用量の 3-MCPD オレイン酸ジエステル投与ラット1例で、脳幹部のグリオーシスを伴うスポンジオーシス巣が両側に認められたが、その毒性学的意味は不明であった。

一方、3-MCPD投与群では、4週目までに死亡した全ての動物（雄1匹、雌5匹）に腎尿細管壞死を認め、13週時点では腎臓の相対・絶対重量の有意な高値と、雄において精

巢上体頭部で、精巣上体管上皮細胞のアポトーシスを有意に高率に認めた。

以上の結果より、これらのエステル化合物の高用量投与によって、等モル濃度の 3-MCPD とほぼ同様の貧血所見および腎臓と精巣上体に毒性影響を及ぼすことが示され、中用量以上で腎臓の相対・絶対重量の高値が見られたことから、本試験の NOAEL は、3-MCPD オレイン酸ジエステルは 15 mg/kg/day、3-MCPD パルミチン酸ジエステルは 14 mg/kg/day、3-MCPD パルミチン酸モノエステルは 8 mg/kg/day と考えられた。

Hematology for male F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|-------------------------------|-------------------|------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| WBC $\times 10^2/\mu\text{l}$ | 33 ± 11 | 36 ± 17 | 31 ± 14 | 30 ± 6 | 35 ± 6 | 49 ± 13 |
| RBC $\times 10^4/\mu\text{l}$ | 931 ± 48 | 925 ± 42 | 885 ± 36 | 916 ± 36 | 864 ± 100 | 901 ± 59 |
| HGB g/dL | 15.3 ± 0.8 | 15.4 ± 0.6 | 14.5 ± 0.6 | 15.3 ± 0.5 | 14.5 ± 1.8 | 14.5 ± 0.3 |
| HCT % | 49.7 ± 2.6 | 50.2 ± 2.1 | 47.5 ± 1.8 | 49.9 ± 1.9 | 47.0 ± 5.5 | 48.8 ± 3.1 |
| MCV fL | 53.3 ± 0.4 | 54.3 ± 0.5 | 53.7 ± 0.4 | 54.5 ± 0.4 | 54.4 ± 0.3 | 54.1 ± 0.5 |
| MCH pg | 16.5 ± 0.4 | 16.7 ± 0.2 | 16.4 ± 0.2 | 16.7 ± 0.3 | 16.8 ± 0.3 | 16.2 ± 0.7 |
| MCHC g/dL | 30.9 ± 0.6 | 30.7 ± 0.4 | 30.5 ± 0.4 | 30.6 ± 0.4 | 30.8 ± 0.5 | 29.9 ± 1.3 |
| PLT $\times 10^4/\mu\text{l}$ | 67.9 ± 7.0 | 69.9 ± 5.2 | 67.3 ± 4.7 | 65.6 ± 6.3 | 61.6 ± 18.6 | 63.5 ± 21.0 |
| <hr/> | | | | | | |
| Treatment | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
| | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 9 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| WBC $\times 10^2/\mu\text{l}$ | 37 ± 11 | 37 ± 8 | 39 ± 13 | 31 ± 8 | 31 ± 15 | 37 ± 12 |
| RBC $\times 10^4/\mu\text{l}$ | 906 ± 37 | 915 ± 19 | 860 ± 35 | 914 ± 22 | 888 ± 44 | 855 ± 43 |
| HGB g/dL | 15.1 ± 0.7 | 15.2 ± 0.3 | 14.0 ± 0.2 * | 15.1 ± 0.3 | 14.8 ± 0.6 | 14.2 ± 0.8 * |
| HCT % | 49.3 ± 2.0 | 49.4 ± 1.0 | 46.4 ± 1.8 | 49.6 ± 0.9 | 48.4 ± 2.2 | 46.3 ± 2.3 * |
| MCV fL | 54.4 ± 0.5 | 54.0 ± 0.5 | 53.9 ± 0.4 | 54.2 ± 0.4 | 54.5 ± 0.5 | 54.2 ± 0.5 |
| MCH pg | 16.7 ± 0.3 | 16.6 ± 0.2 | 16.3 ± 0.5 | 16.6 ± 0.5 | 16.7 ± 0.3 | 16.6 ± 0.3 |
| MCHC g/dL | 30.6 ± 0.5 | 30.7 ± 0.3 | 30.3 ± 0.9 | 30.5 ± 0.8 | 30.6 ± 0.4 | 30.6 ± 0.5 |
| PLT $\times 10^4/\mu\text{l}$ | 63.8 ± 17.5 | 67.7 ± 5.1 | 70.4 ± 6.0 | 61.1 ± 10.9 | 61.8 ± 19.8 | 68.2 ± 13.4 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Hematology for female F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|-------------------------------|------------|------------|---------------|----------------|------------|---------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 10 |
| WBC $\times 10^3/\mu\text{l}$ | 22 ± 3 | 23 ± 6 | 36 ± 10 | 33 ± 9 | 24 ± 10 | 31 ± 6 |
| RBC $\times 10^6/\mu\text{l}$ | 856 ± 43 | 848 ± 33 | 843 ± 54 | 831 ± 22 | 818 ± 34 | 794 ± 22 * |
| HGB g/dL | 15.1 ± 0.7 | 14.9 ± 0.6 | 14.0 ± 0.7 | 14.6 ± 0.3 | 14.2 ± 0.6 | 13.5 ± 0.3 ** |
| HCT % | 48.3 ± 2.4 | 48.1 ± 1.9 | 47.5 ± 2.9 | 47.3 ± 1.3 | 46.4 ± 1.7 | 44.9 ± 1.2 ** |
| MCV fL | 56.5 ± 0.4 | 56.8 ± 0.4 | 56.4 ± 0.3 | 56.9 ± 0.2 | 56.7 ± 0.4 | 56.6 ± 0.3 |
| MCH pg | 17.7 ± 0.3 | 17.6 ± 0.2 | 16.7 ± 0.3 ** | 17.6 ± 0.3 | 17.3 ± 0.2 | 17.0 ± 0.3 ** |
| MCHC g/dL | 31.3 ± 0.6 | 31.1 ± 0.5 | 29.6 ± 0.5 ** | 30.9 ± 0.5 | 30.5 ± 0.3 | 30.0 ± 0.5 * |
| PLT $\times 10^3/\mu\text{l}$ | 69.3 ± 3.8 | 66.2 ± 4.5 | 65.0 ± 5.3 | 69.3 ± 6.3 | 66.9 ± 5.0 | 70.6 ± 18.2 |

| Treatment | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
|-------------------------------|-------------------|------------|---------------|---------------------|--------------|---------------|
| | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| WBC $\times 10^3/\mu\text{l}$ | 20 ± 5 | 26 ± 6 | 31 ± 9 | 22 ± 7 | 25 ± 6 | 25 ± 7 |
| RBC $\times 10^6/\mu\text{l}$ | 798 ± 31 * | 831 ± 25 | 786 ± 14 ** | 818 ± 39 | 807 ± 41 | 798 ± 22 * |
| HGB g/dL | 14.0 ± 0.5 ** | 14.4 ± 0.5 | 13.3 ± 0.3 ** | 14.3 ± 0.5 | 14.1 ± 0.8 * | 13.6 ± 0.3 ** |
| HCT % | 45.5 ± 1.7 | 47.4 ± 1.4 | 44.4 ± 0.8 ** | 46.5 ± 2.3 | 45.9 ± 2.3 | 45.0 ± 1.2 * |
| MCV fL | 57.1 ± 0.4 | 57.0 ± 0.2 | 56.4 ± 0.3 | 56.8 ± 0.3 | 56.8 ± 0.2 | 56.5 ± 0.3 |
| MCH pg | 17.5 ± 0.3 | 17.3 ± 0.6 | 17.0 ± 0.3 ** | 17.5 ± 0.4 | 17.4 ± 0.5 | 17.0 ± 0.3 ** |
| MCHC g/dL | 30.7 ± 0.5 | 30.4 ± 1.1 | 30.1 ± 0.6 * | 30.8 ± 0.7 | 30.6 ± 0.7 | 30.1 ± 0.6 |
| PLT $\times 10^3/\mu\text{l}$ | 65.7 ± 4.6 | 63.8 ± 3.2 | 69.1 ± 8.6 | 61.6 ± 10.9 | 63.1 ± 5.4 | 64.9 ± 5.1 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Serum biochemistry for male F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-1

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|----------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| TP g/dL | 6.8 ± 0.2 | 6.8 ± 0.3 | 6.9 ± 0.3 | 6.8 ± 0.2 | 6.8 ± 0.1 | 6.9 ± 0.3 |
| Alb g/dL | 4.3 ± 0.2 | 4.4 ± 0.1 | 4.5 ± 0.2 | 4.4 ± 0.1 | 4.4 ± 0.1 | 4.6 ± 0.2 |
| A/G | 1.8 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 | 2.0 ± 0.2 |
| Glucose mg/dL | 156 ± 22 | 139 ± 16 | 135 ± 14 | 149 ± 19 | 149 ± 16 | 142 ± 17 |
| Bil mg/dL | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 |
| T-Chol mg/dL | 70 ± 6 | 62 ± 6 | 67 ± 8 | 62 ± 6 | 67 ± 4 | 65 ± 9 |
| TG mg/dL | 123 ± 34 | 98 ± 24 | 102 ± 41 | 97 ± 24 | 101 ± 15 | 86 ± 22 |
| γ GTP IU/L | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| AST IU/L | 91 ± 16 | 74 ± 10 | 77 ± 12 | 67 ± 9 | 69 ± 8 | 66 ± 10 |
| ALT IU/L | 55 ± 5 | 52 ± 5 | 51 ± 6 | 51 ± 5 | 48 ± 5 | 49 ± 5 |
| ALP IU/L | 441 ± 47 | 536 ± 59 | 479 ± 63 | 473 ± 57 | 440 ± 43 ** | 450 ± 35 ** |
| BUN mg/dL | 22.7 ± 2.9 | 18.6 ± 1.9 | 18.5 ± 1.9 | 18.9 ± 1.6 | 18.8 ± 2.0 | 17.4 ± 2.6 |
| Cre mg/dL | 0.31 ± 0.02 | 0.32 ± 0.02 | 0.24 ± 0.01 ** | 0.29 ± 0.01 * | 0.26 ± 0.01 ** | 0.23 ± 0.01 ** |
| Ca mg/dL | 10.1 ± 0.2 | 10.2 ± 0.3 | 10.2 ± 0.2 | 10.2 ± 0.2 | 10.1 ± 0.2 | 10.2 ± 0.3 |
| IP mg/dL | 5.5 ± 0.6 | 5.9 ± 0.7 | 5.6 ± 0.5 | 6.0 ± 0.3 | 5.9 ± 0.6 | 6.2 ± 0.4 |
| Na mEq/L | 142 ± 0 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 0 |
| K mEq/L | 4.3 ± 0.3 | 4.3 ± 0.1 | 4.2 ± 0.2 | 4.3 ± 0.2 | 4.3 ± 0.2 | 4.3 ± 0.2 |
| Cl mEq/L | 103 ± 1 | 103 ± 1 | 104 ± 1 | 104 ± 1 | 104 ± 1 | 105 ± 1 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Serum biochemistry for male F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-2

| Treatment | Olive oil | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
|----------------|-------------|-------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| | | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 10 | 9 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| TP g/dL | 6.8 ± 0.3 | 6.7 ± 0.2 | 6.7 ± 0.2 | 6.9 ± 0.3 | 6.7 ± 0.1 | 6.8 ± 0.1 | 6.9 ± 0.3 |
| Alb g/dL | 4.4 ± 0.1 | 4.3 ± 0.1 | 4.4 ± 0.1 | 4.5 ± 0.2 | 4.3 ± 0.1 | 4.4 ± 0.1 | 4.5 ± 0.1 |
| A/G | 1.9 ± 0.1 | 1.8 ± 0.1 | 1.9 ± 0.2 | 1.9 ± 0.0 | 1.9 ± 0.1 | 1.8 ± 0.1 | 1.9 ± 0.1 |
| Glucose mg/dL | 139 ± 16 | 155 ± 16 | 165 ± 20 | 154 ± 28 | 158 ± 22 | 154 ± 16 | 148 ± 14 |
| Bil mg/dL | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 |
| T-Chol mg/dL | 62 ± 6 | 65 ± 6 | 67 ± 5 | 61 ± 8 | 62 ± 5 | 68 ± 4 | 67 ± 7 |
| TG mg/dL | 98 ± 24 | 106 ± 31 | 130 ± 26 | 90 ± 32 | 93 ± 13 | 108 ± 25 | 93 ± 25 |
| γ GTP IU/L | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| AST IU/L | 74 ± 10 | 74 ± 11 | 64 ± 5 | 66 ± 10 | 70 ± 9 | 73 ± 33 | 61 ± 8 |
| ALT IU/L | 52 ± 5 | 54 ± 4 | 49 ± 4 | 47 ± 6 | 53 ± 4 | 61 ± 35 | 45 ± 4 |
| ALP IU/L | 536 ± 59 | 517 ± 29 | 458 ± 39 * | 435 ± 57 ** | 481 ± 55 | 453 ± 28 ** | 423 ± 43 ** |
| BUN mg/dL | 18.6 ± 1.9 | 19.0 ± 3.8 | 20.4 ± 1.7 | 17.4 ± 1.4 | 19.4 ± 1.8 | 19.5 ± 1.1 | 18.7 ± 1.7 |
| Cre mg/dL | 0.32 ± 0.02 | 0.29 ± 0.02 ** | 0.27 ± 0.01 ** | 0.24 ± 0.01 ** | 0.30 ± 0.02 | 0.26 ± 0.01 ** | 0.23 ± 0.01 ** |
| Ca mg/dL | 10.2 ± 0.3 | 10.1 ± 0.2 | 10.2 ± 0.2 | 10.1 ± 0.2 | 10.0 ± 0.2 | 10.2 ± 0.1 | 10.3 ± 0.2 |
| IP mg/dL | 5.9 ± 0.7 | 6.0 ± 0.4 | 5.7 ± 0.3 | 5.9 ± 0.5 | 5.8 ± 0.4 | 5.9 ± 0.3 | 6.4 ± 0.9 |
| Na mEq/L | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 143 ± 1 | 144 ± 1 | 144 ± 1 * |
| K mEq/L | 4.3 ± 0.1 | 4.2 ± 0.1 | 4.3 ± 0.1 | 4.1 ± 0.1 | 4.2 ± 0.1 | 4.2 ± 0.2 | 4.5 ± 0.7 |
| Cl mEq/L | 103 ± 1 | 104 ± 1 | 104 ± 1 | 105 ± 1 | 103 ± 1 | 105 ± 1 | 105 ± 1 ** |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Serum biochemistry for female F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-1

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|----------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 10 |
| TP g/dL | 7.0 ± 0.3 | 6.5 ± 0.3 | 6.4 ± 0.1 | 6.5 ± 0.3 | 6.6 ± 0.3 | 6.3 ± 0.4 |
| Alb g/dL | 4.6 ± 0.1 | 4.3 ± 0.2 | 4.3 ± 0.1 | 4.4 ± 0.2 | 4.4 ± 0.2 | 4.2 ± 0.2 |
| A/G | 1.9 ± 0.2 | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.3 | 2.1 ± 0.2 | 2.0 ± 0.2 |
| Glucose mg/dL | 136 ± 10 | 129 ± 12 | 138 ± 17 | 134 ± 20 | 139 ± 9 | 140 ± 13 |
| Bil mg/dL | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 |
| T-Chol mg/dL | 101 ± 9 | 88 ± 7 | 80 ± 6 | 87 ± 10 | 85 ± 8 | 80 ± 9 |
| TG mg/dL | 104 ± 31 | 82 ± 42 | 63 ± 25 | 92 ± 42 | 87 ± 37 | 83 ± 47 |
| γ GTP IU/L | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| AST IU/L | 77 ± 11 | 83 ± 6 | 75 ± 5 | 83 ± 7 | 83 ± 9 | 77 ± 7 |
| ALT IU/L | 46 ± 5 | 58 ± 9 | 48 ± 3 | 58 ± 6 | 53 ± 9 | 46 ± 6 * |
| ALP IU/L | 302 ± 37 | 500 ± 64 | 441 ± 61 | 501 ± 67 | 488 ± 121 | 484 ± 104 |
| BUN mg/dL | 22.4 ± 2.7 | 20.7 ± 2.7 | 19.6 ± 1.8 | 18.9 ± 2.3 | 17.9 ± 3.1 | 17.4 ± 2.7 |
| Cre mg/dL | 0.32 ± 0.02 | 0.32 ± 0.02 | 0.22 ± 0.01 ** | 0.29 ± 0.03 | 0.27 ± 0.03 ** | 0.23 ± 0.02 ** |
| Ca mg/dL | 10.0 ± 0.2 | 9.7 ± 0.3 | 9.6 ± 0.2 | 9.9 ± 0.3 | 9.8 ± 0.2 | 9.6 ± 0.2 |
| IP mg/dL | 4.0 ± 0.8 | 4.8 ± 1.2 | 5.5 ± 0.6 | 4.6 ± 0.6 | 4.5 ± 0.9 | 5.1 ± 0.8 |
| Na mEq/L | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 143 ± 0 | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 143 ± 1 |
| K mEq/L | 4.1 ± 0.1 | 4.0 ± 0.1 | 4.1 ± 0.0 | 4.1 ± 0.2 | 4.0 ± 0.2 | 4.1 ± 0.1 |
| Cl mEq/L | 105 ± 2 | 105 ± 2 | 106 ± 1 | 105 ± 1 | 106 ± 1 | 105 ± 2 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Serum biochemistry for female F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-2

| Treatment | Olive oil | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
|----------------|-------------|-------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| | | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| TP g/dL | 6.5 ± 0.3 | 6.6 ± 0.3 | 6.5 ± 0.2 | 6.3 ± 0.4 | 6.0 ± 0.4 | 6.1 ± 0.2 | 6.2 ± 0.1 |
| Alb g/dL | 4.3 ± 0.2 | 4.4 ± 0.2 | 4.4 ± 0.2 | 4.2 ± 0.2 | 4.1 ± 0.3 | 4.1 ± 0.1 | 4.1 ± 0.1 |
| A/G | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.2 | 2.1 ± 0.1 | 2.0 ± 0.3 | 2.2 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 | 2.1 ± 0.1 |
| Glucose mg/dL | 129 ± 12 | 138 ± 12 | 131 ± 15 | 136 ± 12 | 114 ± 11 | 128 ± 13 | 124 ± 13 |
| Bil mg/dL | 0.04 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 ** | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.00 |
| T-Chol mg/dL | 88 ± 7 | 85 ± 5 | 83 ± 6 | 83 ± 7 | 78 ± 9 | 80 ± 7 | 80 ± 6 |
| TG mg/dL | 82 ± 42 | 86 ± 45 | 52 ± 20 | 66 ± 20 | 51 ± 13 | 68 ± 12 | 70 ± 29 |
| γ GTP IU/L | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| AST IU/L | 83 ± 6 | 80 ± 8 | 77 ± 6 | 79 ± 10 | 79 ± 9 | 70 ± 5 * | 74 ± 4 |
| ALT IU/L | 58 ± 9 | 54 ± 6 | 50 ± 8 | 53 ± 7 | 53 ± 12 | 50 ± 8 | 46 ± 3 * |
| ALP IU/L | 500 ± 64 | 466 ± 82 | 456 ± 65 | 482 ± 106 | 469 ± 88 | 441 ± 50 | 461 ± 60 |
| BUN mg/dL | 20.7 ± 2.7 | 19.0 ± 1.9 | 17.3 ± 1.8 | 17.6 ± 2.0 | 16.9 ± 2.1 * | 16.9 ± 1.3 * | 16.7 ± 2.1 ** |
| Cre mg/dL | 0.32 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 | 0.27 ± 0.01 ** | 0.22 ± 0.01 ** | 0.27 ± 0.02 ** | 0.25 ± 0.02 ** | 0.22 ± 0.01 ** |
| Ca mg/dL | 9.7 ± 0.3 | 9.8 ± 0.2 | 9.8 ± 0.2 | 9.6 ± 0.3 | 9.2 ± 0.6 ** | 9.3 ± 0.3 | 9.5 ± 0.2 |
| IP mg/dL | 4.8 ± 1.2 | 4.3 ± 1.1 | 4.7 ± 0.7 | 5.5 ± 0.6 | 4.8 ± 0.4 | 4.6 ± 0.6 | 5.5 ± 0.5 |
| Na mEq/L | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 142 ± 2 | 136 ± 5 ** | 137 ± 3 ** | 142 ± 1 |
| K mEq/L | 4.0 ± 0.1 | 4.0 ± 0.2 | 4.0 ± 0.1 | 4.0 ± 0.2 | 4.0 ± 0.2 | 4.0 ± 0.2 | 4.1 ± 0.2 |
| Cl mEq/L | 105 ± 2 | 106 ± 1 | 106 ± 1 | 104 ± 3 | 100 ± 5 ** | 101 ± 3 ** | 104 ± 2 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Organ weights for male F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-1

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|-----------------|--------------|--------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| Body weight (g) | | | | | | |
| Body weight (g) | 321.0 ± 17.0 | 297.6 ± 17.1 | 287.2 ± 17.8 | 295.9 ± 17.7 | 300.6 ± 15.0 | 289.1 ± 16.9 |
| Absolute | | | | | | |
| Brain (g) | 2.00 ± 0.06 | 1.96 ± 0.03 | 1.96 ± 0.05 | 1.96 ± 0.04 | 1.92 ± 0.12 | 1.92 ± 0.04 |
| Thymus (g) | 0.20 ± 0.03 | 0.17 ± 0.02 | 0.17 ± 0.03 | 0.19 ± 0.05 | 0.18 ± 0.04 | 0.14 ± 0.03 |
| Lungs (g) | 1.00 ± 0.08 | 0.97 ± 0.10 | 1.05 ± 0.32 | 0.95 ± 0.08 | 0.96 ± 0.09 | 0.91 ± 0.09 (n=9) |
| Heart (g) | 0.95 ± 0.08 | 0.85 ± 0.04 | 0.88 ± 0.06 | 0.87 ± 0.05 | 0.87 ± 0.05 | 0.88 ± 0.07 |
| Spleen (g) | 0.63 ± 0.04 | 0.55 ± 0.04 | 0.55 ± 0.04 | 0.55 ± 0.03 | 0.56 ± 0.03 | 0.55 ± 0.04 |
| Liver (g) | 7.91 ± 0.51 | 7.03 ± 0.52 | 7.38 ± 0.65 | 7.10 ± 0.45 | 7.38 ± 0.33 | 7.48 ± 0.69 |
| Adrenals (g) | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 |
| Kidneys (g) | 1.90 ± 0.14 | 1.70 ± 0.11 | 2.13 ± 0.10 ** | 1.73 ± 0.09 | 1.88 ± 0.11 ** | 2.18 ± 0.12 ** |
| Gonads (g) | 3.09 ± 0.13 | 3.03 ± 0.13 | 2.91 ± 0.29 | 2.96 ± 0.22 | 3.01 ± 0.17 | 2.77 ± 0.62 |
| Relative | | | | | | |
| Brain (%) | 0.63 ± 0.02 | 0.66 ± 0.04 | 0.69 ± 0.04 | 0.66 ± 0.04 | 0.64 ± 0.02 | 0.67 ± 0.03 |
| Thymus (%) | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.02 | 0.06 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 |
| Lungs (%) | 0.31 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 | 0.37 ± 0.13 | 0.32 ± 0.03 | 0.32 ± 0.02 | 0.31 ± 0.01 (n=9) |
| Heart (%) | 0.30 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 | 0.31 ± 0.01 | 0.29 ± 0.01 | 0.29 ± 0.02 | 0.30 ± 0.01 |
| Spleen (%) | 0.20 ± 0.01 | 0.18 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 |
| Liver (%) | 2.47 ± 0.11 | 2.36 ± 0.09 | 2.57 ± 0.11 ** | 2.40 ± 0.06 | 2.46 ± 0.12 | 2.58 ± 0.12 ** |
| Adrenals (%) | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 |
| Kidneys (%) | 0.59 ± 0.03 | 0.57 ± 0.02 | 0.74 ± 0.03 ** | 0.58 ± 0.03 | 0.63 ± 0.03 ** | 0.75 ± 0.02 ** |
| Gonads (%) | 0.96 ± 0.04 | 1.02 ± 0.04 | 1.01 ± 0.10 | 1.00 ± 0.04 | 1.00 ± 0.03 | 0.95 ± 0.20 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Organ weights for male F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-2

| Treatment | Olive oil | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
|-----------------|--------------|-------------------|-------------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| | | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 10 | 9 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| Body weight (g) | 297.6 ± 17.1 | 292.6 ± 11.1 | 301.8 ± 11.9 | 286.8 ± 12.7 | 296.3 ± 14.5 | 299.4 ± 9.8 | 292.4 ± 17.3 |
| Absolute | | | | | | | |
| Brain (g) | 1.96 ± 0.03 | 1.95 ± 0.03 | 1.96 ± 0.03 | 1.94 ± 0.04 | 1.96 ± 0.05 | 1.96 ± 0.03 | 1.98 ± 0.03 |
| Thymus (g) | 0.17 ± 0.02 | 0.21 ± 0.06 | 0.17 ± 0.04 (n=9) | 0.16 ± 0.04 | 0.16 ± 0.02 | 0.17 ± 0.02 | 0.16 ± 0.04 |
| Lungs (g) | 0.97 ± 0.10 | 0.94 ± 0.03 (n=8) | 0.94 ± 0.07 | 1.02 ± 0.19 | 0.94 ± 0.05 | 0.93 ± 0.05 | 0.93 ± 0.05 |
| Heart (g) | 0.85 ± 0.04 | 0.87 ± 0.06 | 0.89 ± 0.04 | 0.86 ± 0.09 | 0.84 ± 0.05 | 0.88 ± 0.05 | 0.90 ± 0.04 |
| Spleen (g) | 0.55 ± 0.04 | 0.54 ± 0.02 | 0.56 ± 0.02 | 0.54 ± 0.09 | 0.54 ± 0.03 | 0.56 ± 0.03 | 0.65 ± 0.28 |
| Liver (g) | 7.03 ± 0.52 | 6.99 ± 0.59 | 7.44 ± 0.54 | 7.40 ± 0.50 | 7.07 ± 0.45 | 7.40 ± 0.36 | 7.88 ± 0.71 ** |
| Adrenals (g) | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.05 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 |
| Kidneys (g) | 1.70 ± 0.11 | 1.73 ± 0.07 | 1.88 ± 0.09 ** | 2.19 ± 0.07 ** | 1.74 ± 0.08 | 1.87 ± 0.06 ** | 2.25 ± 0.18 ** |
| Gonads (g) | 3.03 ± 0.13 | 2.98 ± 0.13 | 2.99 ± 0.13 | 2.66 ± 0.52 | 2.98 ± 0.09 | 2.96 ± 0.23 | 2.86 ± 0.45 |
| Relative | | | | | | | |
| Brain (%) | 0.66 ± 0.04 | 0.67 ± 0.03 | 0.65 ± 0.03 | 0.68 ± 0.02 | 0.66 ± 0.04 | 0.65 ± 0.02 | 0.68 ± 0.04 |
| Thymus (%) | 0.06 ± 0.01 | 0.07 ± 0.02 | 0.06 ± 0.01 (n=9) | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.02 |
| Lungs (%) | 0.33 ± 0.02 | 0.32 ± 0.01 (n=8) | 0.31 ± 0.02 | 0.36 ± 0.06 | 0.32 ± 0.01 | 0.31 ± 0.02 | 0.32 ± 0.02 |
| Heart (%) | 0.29 ± 0.01 | 0.30 ± 0.02 | 0.29 ± 0.02 | 0.30 ± 0.04 | 0.28 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 | 0.31 ± 0.01 * |
| Spleen (%) | 0.18 ± 0.01 | 0.18 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 | 0.19 ± 0.03 | 0.18 ± 0.01 | 0.19 ± 0.01 | 0.22 ± 0.09 * |
| Liver (%) | 2.36 ± 0.09 | 2.39 ± 0.13 | 2.47 ± 0.18 | 2.58 ± 0.07 ** | 2.39 ± 0.08 | 2.47 ± 0.06 | 2.69 ± 0.15 ** |
| Adrenals (%) | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 |
| Kidneys (%) | 0.57 ± 0.02 | 0.59 ± 0.02 | 0.62 ± 0.03 ** | 0.76 ± 0.03 ** | 0.59 ± 0.01 | 0.63 ± 0.02 ** | 0.77 ± 0.05 ** |
| Gonads (%) | 1.02 ± 0.04 | 1.02 ± 0.04 | 0.99 ± 0.05 | 0.93 ± 0.19 | 1.01 ± 0.20 | 0.99 ± 0.09 | 0.98 ± 0.16 |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Organ weights for female F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-1

| Treatment | Control | Olive oil | 3-MCPD | oleate diester | | |
|-----------------|--------------|-------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|
| | | | | 15mg/kg | 60mg/kg | 240mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 10 |
| Body weight (g) | 173.4 ± 12.7 | 172.1 ± 4.9 | 162.5 ± 8.2 | 168.2 ± 5.9 | 172.7 ± 5.5 | 163.0 ± 7.4 |
| Absolute | | | | | | |
| Brain (g) | 1.81 ± 0.05 | 1.79 ± 0.08 | 1.79 ± 0.04 | 1.79 ± 0.05 | 1.78 ± 0.10 | 1.82 ± 0.06 |
| Thymus (g) | 0.17 ± 0.03 | 0.16 ± 0.02 | 0.13 ± 0.02 | 0.16 ± 0.03 | 0.22 ± 0.19 (n=9) | 0.14 ± 0.03 |
| Lungs (g) | 0.70 ± 0.05 | 0.68 ± 0.03 | 0.69 ± 0.03 | 0.69 ± 0.05 | 0.68 ± 0.04 | 0.68 ± 0.04 |
| Heart (g) | 0.57 ± 0.04 | 0.56 ± 0.02 | 0.56 ± 0.02 | 0.56 ± 0.02 | 0.58 ± 0.03 | 0.56 ± 0.02 |
| Spleen (g) | 0.39 ± 0.04 | 0.38 ± 0.03 | 0.38 ± 0.02 | 0.38 ± 0.02 | 0.45 ± 0.18 | 0.39 ± 0.02 |
| Liver (g) | 3.84 ± 0.32 | 3.79 ± 0.20 | 3.96 ± 0.10 | 3.81 ± 0.08 | 3.92 ± 0.19 | 3.93 ± 0.18 |
| Adrenals (g) | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 |
| Kidneys (g) | 1.10 ± 0.07 | 1.05 ± 0.05 | 1.49 ± 0.12 ** | 1.08 ± 0.04 | 1.16 ± 0.05 ** | 1.46 ± 0.05 ** |
| Relative | | | | | | |
| Brain (%) | 1.05 ± 0.05 | 1.04 ± 0.04 | 1.11 ± 0.03 | 1.07 ± 0.05 | 1.03 ± 0.03 | 1.12 ± 0.05 * |
| Thymus (%) | 0.10 ± 0.02 | 0.09 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.10 ± 0.02 | 0.13 ± 0.11 (n=9) | 0.09 ± 0.02 |
| Lungs (%) | 0.40 ± 0.01 | 0.40 ± 0.02 | 0.43 ± 0.02 | 0.41 ± 0.04 | 0.40 ± 0.02 | 0.42 ± 0.03 |
| Heart (%) | 0.33 ± 0.01 | 0.33 ± 0.01 | 0.34 ± 0.01 | 0.33 ± 0.01 | 0.34 ± 0.02 | 0.35 ± 0.02 |
| Spleen (%) | 0.22 ± 0.01 | 0.22 ± 0.01 | 0.23 ± 0.00 | 0.23 ± 0.01 | 0.26 ± 0.12 | 0.24 ± 0.02 |
| Liver (%) | 2.22 ± 0.08 | 2.20 ± 0.08 | 2.44 ± 0.09 * | 2.27 ± 0.07 | 2.27 ± 0.10 | 2.41 ± 0.08 ** |
| Adrenals (%) | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 |
| Kidneys (%) | 0.64 ± 0.02 | 0.61 ± 0.02 | 0.92 ± 0.11 ** | 0.64 ± 0.03 | 0.67 ± 0.02 * | 0.89 ± 0.03 ** |

Each value represents the mean ± S.D.

*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Organ weights for female F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks-2

| Treatment | Olive oil | palmitate diester | | | palmitate monoester | | |
|-----------------|-------------|-------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| | | 14mg/kg | 55mg/kg | 220mg/kg | 8mg/kg | 32mg/kg | 130mg/kg |
| No. of animals | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| Body weight (g) | 172.1 ± 4.9 | 166.4 ± 8.7 | 170.3 ± 7.2 | 163.5 ± 6.9 | 168.8 ± 7.5 | 171.8 ± 6.6 | 161.1 ± 6.6 |
| Absolute | | | | | | | |
| Brain (g) | 1.79 ± 0.08 | 1.82 ± 0.06 | 1.82 ± 0.04 | 1.81 ± 0.03 | 1.82 ± 0.04 | 1.81 ± 0.04 | 1.80 ± 0.05 |
| Thymus (g) | 0.16 ± 0.02 | 0.14 ± 0.01 | 0.16 ± 0.02 | 0.14 ± 0.01 | 0.16 ± 0.01 | 0.14 ± 0.02 | 0.15 ± 0.03 |
| Lungs (g) | 0.68 ± 0.03 | 0.67 ± 0.05 | 0.69 ± 0.02 | 0.73 ± 0.13 | 0.68 ± 0.02 | 0.67 ± 0.05 | 0.68 ± 0.04 |
| Heart (g) | 0.56 ± 0.02 | 0.56 ± 0.03 | 0.56 ± 0.02 | 0.59 ± 0.05 | 0.55 ± 0.03 | 0.56 ± 0.03 | 0.57 ± 0.04 |
| Spleen (g) | 0.38 ± 0.03 | 0.38 ± 0.02 | 0.40 ± 0.03 | 0.38 ± 0.03 | 0.38 ± 0.02 | 0.38 ± 0.02 | 0.38 ± 0.02 |
| Liver (g) | 3.79 ± 0.20 | 3.80 ± 0.30 | 3.83 ± 0.16 | 3.91 ± 0.20 | 3.77 ± 0.26 | 3.83 ± 0.47 | 3.75 ± 0.14 |
| Adrenals (g) | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | 0.04 ± 0.01 |
| Kidneys (g) | 1.05 ± 0.05 | 1.09 ± 0.04 | 1.16 ± 0.05 ** | 1.48 ± 0.08 ** | 1.11 ± 0.05 | 1.19 ± 0.05 ** | 1.46 ± 0.08 ** |
| Relative | | | | | | | |
| Brain (%) | 1.04 ± 0.04 | 1.10 ± 0.06 | 1.07 ± 0.03 | 1.11 ± 0.05 | 1.08 ± 0.05 | 1.06 ± 0.03 | 1.12 ± 0.06 ** |
| Thymus (%) | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 |
| Lungs (%) | 0.40 ± 0.02 | 0.41 ± 0.03 | 0.41 ± 0.02 | 0.44 ± 0.08 | 0.40 ± 0.02 | 0.39 ± 0.02 | 0.42 ± 0.02 |
| Heart (%) | 0.33 ± 0.01 | 0.34 ± 0.02 | 0.33 ± 0.01 | 0.36 ± 0.04 ** | 0.32 ± 0.01 | 0.32 ± 0.01 | 0.35 ± 0.02 * |
| Spleen (%) | 0.22 ± 0.01 | 0.23 ± 0.00 | 0.23 ± 0.01 | 0.23 ± 0.02 | 0.22 ± 0.01 | 0.22 ± 0.01 | 0.23 ± 0.01 |
| Liver (%) | 2.20 ± 0.08 | 2.28 ± 0.09 | 2.25 ± 0.06 | 2.40 ± 0.09 * | 2.23 ± 0.08 | 2.23 ± 0.26 | 2.33 ± 0.11 |
| Adrenals (%) | 0.03 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 |
| Kidneys (%) | 0.61 ± 0.02 | 0.66 ± 0.03 | 0.68 ± 0.02 ** | 0.90 ± 0.04 ** | 0.66 ± 0.02 | 0.69 ± 0.02 ** | 0.91 ± 0.04 ** |

Each value represents the mean ± S.D.

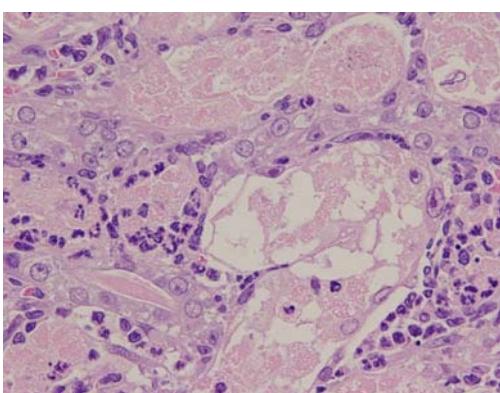
*, **: Significantly different from the olive oil group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively (Turkey's multiple comparison test)

Incidence of histopathological change in dead / moribund rats.

| Sex | Male | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|---------|-----------|--------|----|----|-----|----|----|-----|-----|----|-----|
| | control | olive oil | 3-MCPD | 14 | 55 | 220 | PD | 8 | 32 | 130 | 15 | OD |
| Compound | - | - | 40 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 60 |
| Dose (mg/kg) | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 8 | 32 | 130 | 15 | 0 | 240 |
| Number of rat | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | - | 0 | - | - | - | 0 | - |
| Kidney tubular necrosis | - | - | 1 | 0 | - | 0 | - | - | - | - | 0 | - |

| Sex | Female | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|---------|-----------|--------|----|----|-----|----|----|-----|-----|----|----|
| | control | olive oil | 3-MCPD | 14 | 55 | 220 | PD | 8 | 32 | 130 | 15 | OD |
| Compound | - | - | 40 | 5 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Dose (mg/kg) | 0 | 0 | 5 | 0 | 1 | 1 | 8 | 32 | 130 | 15 | 0 | 0 |
| Number of rat | 0 | 0 | 5 | - | 0 | 0 | - | - | - | - | - | - |
| Kidney tubular necrosis | - | - | 5 | - | 0 | 0 | - | - | - | - | - | - |

Kidney : tubular necrosis



3-MCPD (female dead rat)

Histopathological findings for F344 rats treated with 3-MCPD fatty acid esters for 13 weeks.

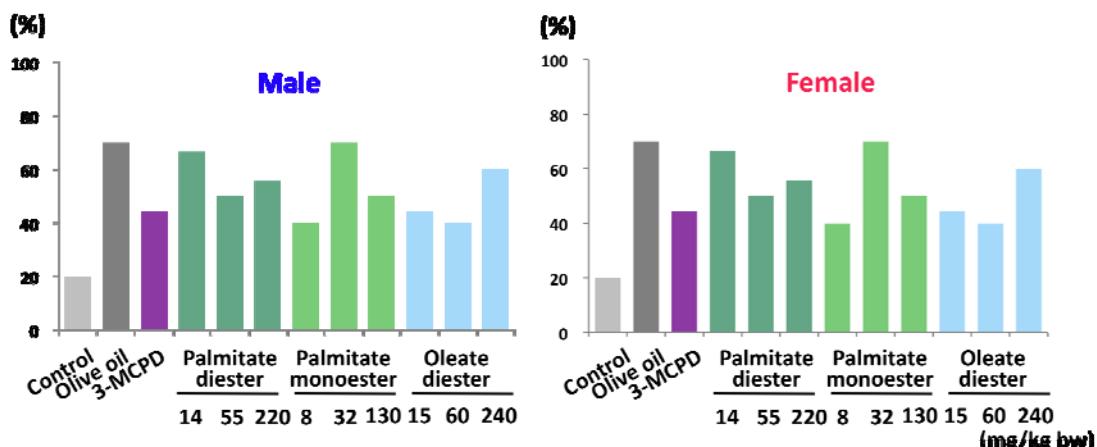
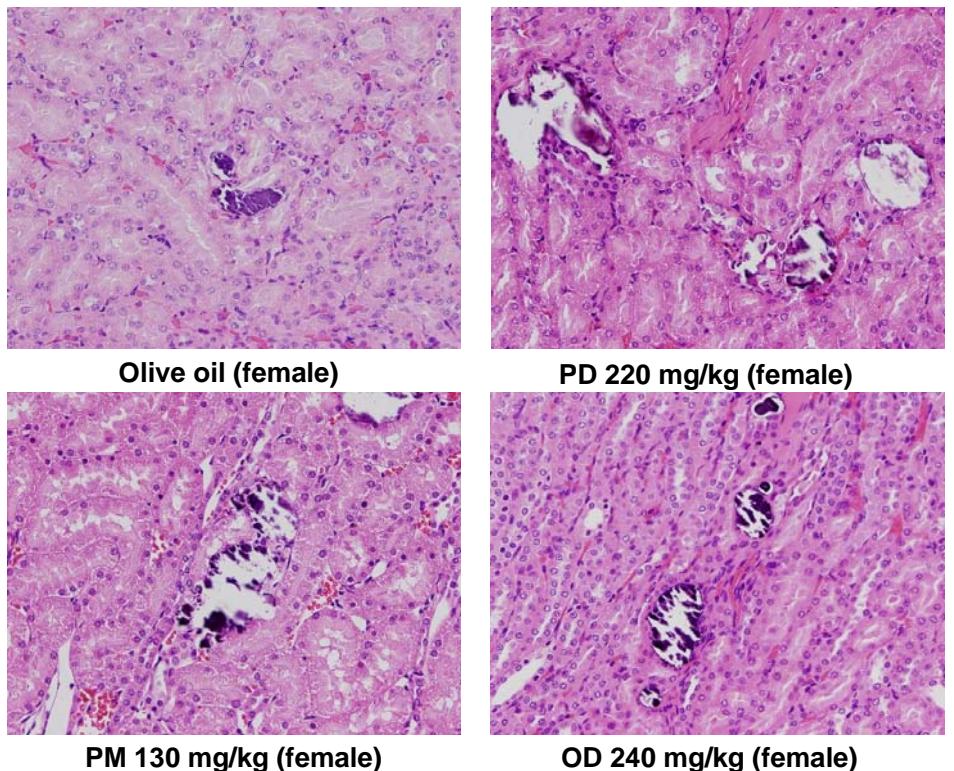
| Organ and findings | Treatment | Males | | | | | Females | | | | | | |
|--------------------|----------------------------------------------------------|-----------|-----------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | Untreated | Olive oil | 40 mg/kg 3-MCPD | 220 mg/kg PD | 130 mg/kg PM | 240 mg/kg OD | Untreated | Olive oil | 40 mg/kg 3-MCPD | 220 mg/kg PD | 130 mg/kg PM | 240 mg/kg OD |
| Liver | Microgranuloma | 8 | 5 | 3 | 3 | 2 | 7 | 10 | 10 | 5 | 4 | 4 | 4 |
| | Bile duct hyperplasia, focal | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Kidney | Karyomegaly, renal tubules, focal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Renal cyst, focal | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 |
| | Mineralization | 2 | 7 | 4 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5 | 5 | 9 | 10 | 10 |
| Heart | Mononuclear cell infiltration, focal | 7 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| Lung | Macrophage infiltration, focal | 0 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Osteoclast metaplasia | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Stomach | Erosion, pyloric gland | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Testis | Seminiferous tubule atrophy, bilateral | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | Seminiferous tubule atrophy, unilateral | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | - | - | - | - | - | - |
| | Aspermogenesis, bilateral | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Epididymis | Aspermogenesis, unilateral | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | - | - | - | - | - |
| | Epithelial cell apoptosis, initial segment ¹⁾ | 0 | 0 | geo | geo | 10** | 6 | - | - | - | - | - | - |
| Prostate | Mononuclear cell infiltration, focal | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - |
| Brain | Spongiosis, focal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

- Not evaluated.

1) In case more than 10% tubules have apoptotic cell

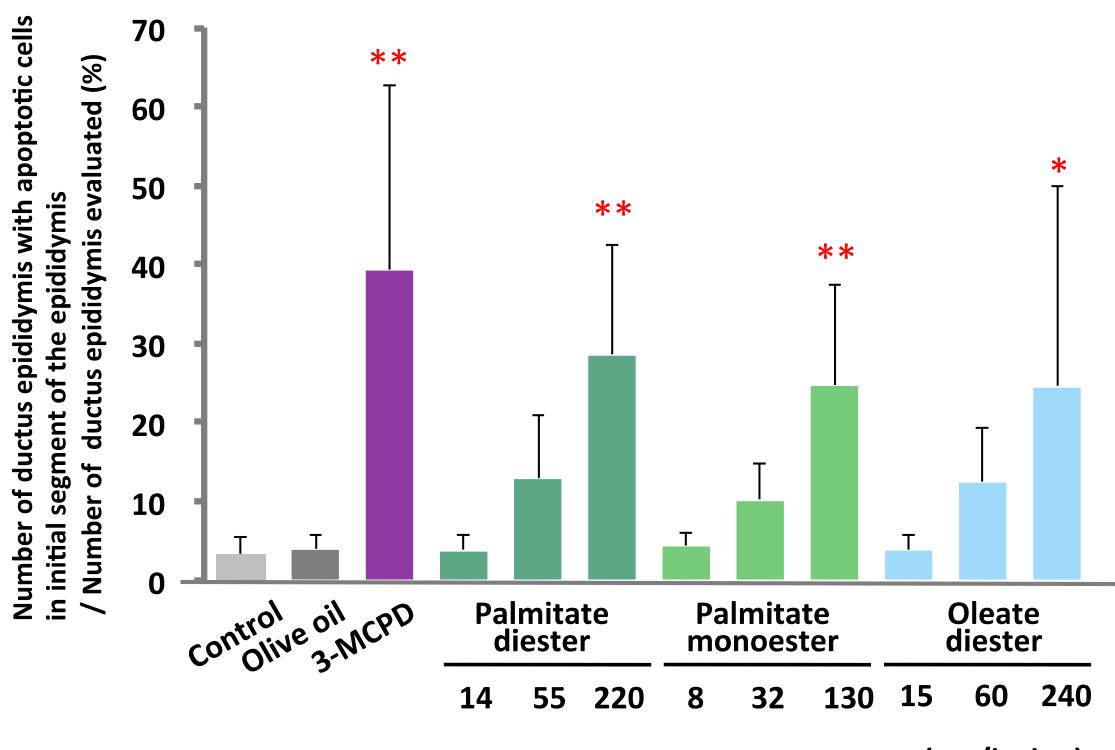
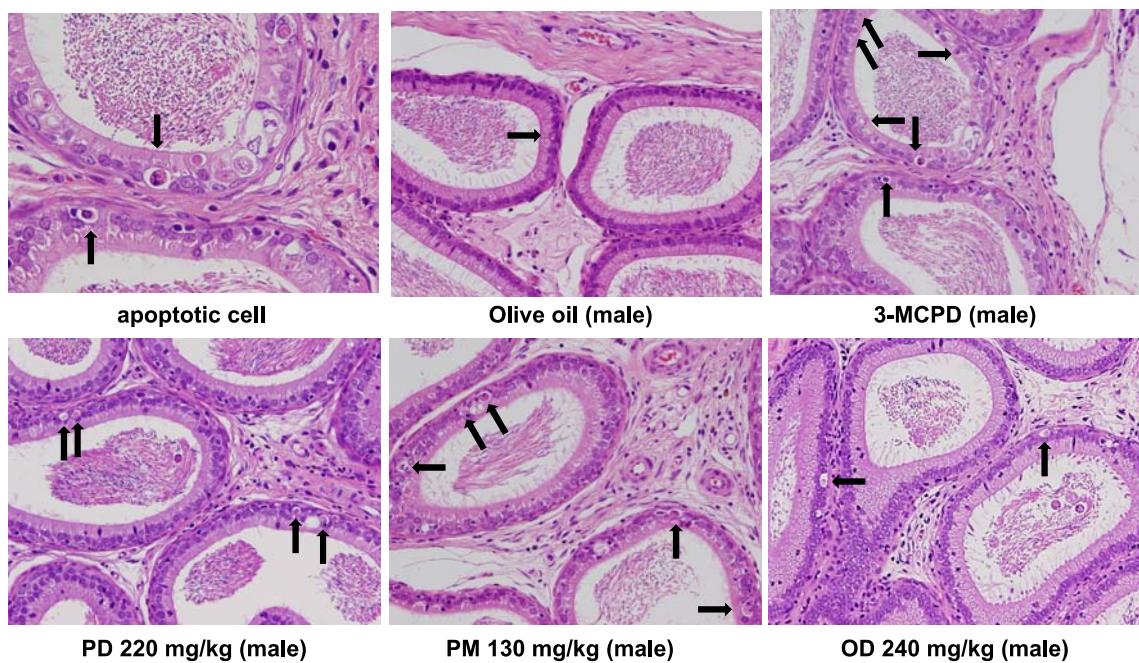
**: Significantly different from the olive oil-treated group at $p < 0.01$.

Kidney : renal mineralization

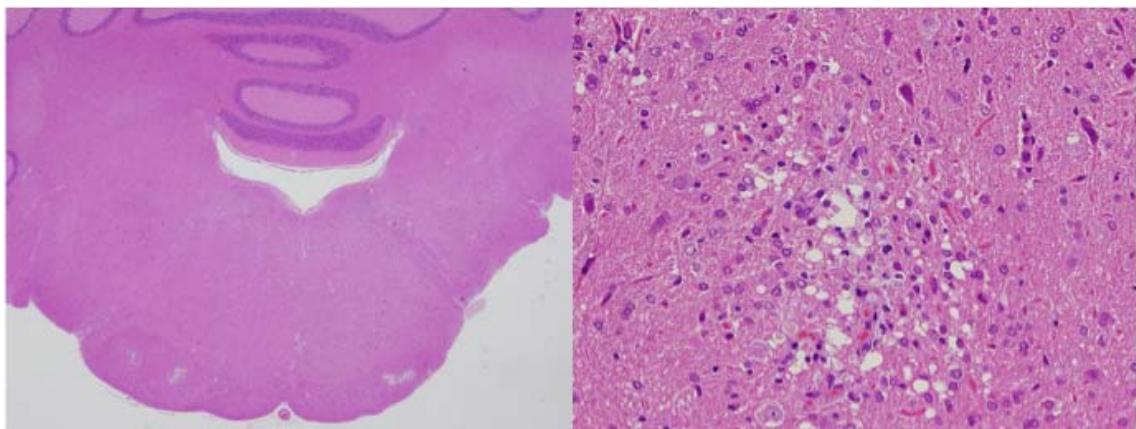


Incidence of renal mineralization

Initial segment of the epididymis : apoptotic cell



Ratio of ductus epididymis with apoptotic cells in initial segment of the epididymis



Spongiosis with gliosis found in 3-MCPD oleate diester 240mg/kg, female

(4) 1年間反復投与毒性試験

- 1) グリシドール脂肪酸エステルの1年間反復毒性試験
- 2) 3-MCPD 脂肪酸エステルの1年間反復毒性試験

重大な懸念が示唆される脂肪酸エステルについては1年間反復投与毒性試験の実施を考慮していたが、これまでのデータからは、脂肪酸エステルそのものの毒性に対する懸念は低いと考えられるため、実施が必要であるとの結論には至らなかった。

(5) 研究全体の成果、考察及び結論

本試験条件下では、グリシドール脂肪酸エステル（リノール酸エステルおよびオレイン酸エステル）は明らかな *in vivo* 遺伝毒性は示さず、ラット13週間反復投与試験において等モル量のグリシドール投与群で観察された精巣の精細管上皮の変性をふくむいづれの臓器においても投与に関連した毒性変化は認めなかった。

一方、3-MCPD 脂肪酸エステル類についても、明らかな *in vivo* 遺伝毒性は示さなかつたが、等モル量の 3-MCPD 投与群と類似の毒性を示し、貧血および腎臓と精巣上皮への毒性影響が認められた。ラット13週間反復投与の NOAELは雌雄とも、3-MCPD オレイン酸ジエステルは15 mg/kg/day、3-MCPD パルミチン酸ジエステルは14 mg/kg/day、3-MCPD パルミチン酸モノエステルは8 mg/kg/dayと考えられた。

なお、同時に検討した加水分解産物であるグリシドールについては、ラット骨髄を用いた小核試験、末梢血を用いた pigA アッセイにおいては明らかな *in vivo* 遺伝毒性は示さなかつたが、肝臓を用いたgpt アッセイにおいて同じエポキシの構造を持つアクリルアミドでの報告と共に遺伝子変異スペクトラムを示す弱い遺伝毒性が示唆された。一方、3-MCPD については、ラット骨髄を用いた小核試験、末梢血を用いた pigA アッセイおよび gpt アッセイにおいて、明らかな *in vivo* 遺伝毒性は示さなかつた。

また、ラットに強制経口投与30分後の血清の検討から、ラットにおいてはグリシドールの経口投与によってグリシドールが血液中に移行するが、より高濃度の 3-MCPD も検出されることが示された。一方、3-MCPD も経口投与後、血液中に移行するが、グリシドールは検出されなかつた。また、グリシドール脂肪酸エステルの投与ではグリ

シドールと 3-MCPD が検出されたが、3-MCPD 脂肪酸エステルの投与では、3-MCPD のみが検出された。このことは、生体内において、グリシドールから 3-MCPD に変換されることを示している。また、興味深いことに、微量ながら 3-MCPD の脂肪酸エステルは未変化体の形で血液中に移行しうることも示された。

腸管内容物との反応性の検討により、グリシドール脂肪酸エステルおよび 3-MCPD 脂肪酸エステルからそれぞれの加水分解産物であるグリシドールおよび 3-MCPD への変換の場としては、胃、十二指腸および盲腸のいずれにおいても可能であり、また、胃と十二指腸においては、グリシドールから 3-MCPD への変換も微量ながら起こりうることが確認された。さらに十二指腸と盲腸においては、グリシドールオレイン酸エステルから 3-MCPD への変化も見られている。また、今回実施した腸管内容との混合条件下では、3-MCPD のエステルよりもグリシドール脂肪酸エステルの方が加水分解産物の生成割合が高かった。グリシドールを経口投与したラットの血液中においてはグリシドールよりも 3-MCPD の濃度が高く、腸管内の反応ではエステルから作られたグリシドールのごく一部が 3-MCPD に変化していたことを考慮すると、生体ではグリシドールの吸収よりも 3-MCPD への移行が早い可能性が想定され、腸管内以外でもグリシドールから 3-MCPD に変化している可能性も残る。

今回は、反応時間が 30 分と 1 点のみであったため、代謝について詳細の言及は困難であるが、ラットの体内において、少量ながらこれらのエステルが加水分解受けること、さらにグリシドールは 3-MCPD に変化することが明らかとなった。なお、定量下限値がグリシドールよりも 3-MCPD において低いことを考慮しても、今回の条件下では、グリシドールより 3-MCPD の方が血液への移行率が高かつたが、ラットへの投与試験はじめ、いずれの試験においてもグリシドール類は 0.03%ながらエステル結合を持つ Tween 80 を含む水性の溶媒を用い、3-MCPD 類は油性の溶媒を用いていることもリバーゼ等の加水分解酵素の誘導および効率、ならびに化合物の吸収率のちがいをもたらす要因である可能性があり、今後の検討が必要と考えられた。

III 本研究を基に発表した論文等

- 1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト：該当なし（準備中）
- 2 本研究を基にした学会発表の実績：
 - 1) 大波冴子、曹 永晩、豊田武士、堀端克良、本間正充、能美健彦、西川秋佳、小川久美子：Glycidolと3-MCPD及びこれらのエステル化合物における*Pig-A*遺伝子突然変異試験と小核試験を用いた*in vivo*遺伝毒性学的検討
第70回日本癌学会学術総会（2011. 10）
 - 2) 大波冴子、曹 永晩、豊田武士、堀端克良、本間正充、能美健彦、西川秋佳、小川久美子：ラットを用いたglycidolと3-MCPD及びこれらのエステル化合物の28日間反復投与試験
第28回日本毒性病理学会総会および学術集会（2012. 2）
 - 3) 大波冴子、曹 永晩、豊田武士、堀瑞克良、本間正充、能美健彦、西川秋佳、小川久美子：3-MCPD と 3-MCPD のエステル化合物に関するラットを用いた *in vivo* 遺伝毒性学的検討と亜慢性毒性試験

第 71 回日本癌学会学術総会 (2012. 9)

- 4) 大波冴子, 曹 永晩, 豊田武士, 吉田 緑, 西川秋佳, 小川久美子 : ラットを用いた
3-MCPD エステル化合物の 13 週間亜慢性毒性試験

第 29 回日本毒性病理学会総会および学術集会 (2013. 1)

- 5) 豊田武士, 曹 永晩, 大波冴子, 水田保子, 赤木純一, 鈴木 勇, 西川秋佳, 小川久
美子: F344 ラットにおけるグリシドール脂肪酸エステルの 13 週間反復投与毒性試
験

第 29 回日本毒性病理学会総会および学術集会 (2013. 1)

- 6) Saeko Onami, Young-Man Cho, Takeshi Toyoda, Yuji Ishii, Takashi Umemura, Midori
Yoshida, Katsuyoshi Horibata, Masamitsu Honma, Takehiko Nohmi, Akiyoshi
Nishikawa, Kumiko Ogawa. : Evaluation of toxic effects of 3-MCPD and associated
esters in rats.

The 52nd Annual Meeting of the Society of Toxicology (2013. 3)

- 7) Takeshi Toyoda, Young-Man Cho, Saeko Onami, Jun-ichi Akagi, Akiyoshi Nishikawa
and Kumiko Ogawa : A 13-week subchronic toxicity study of glycidol fatty acid
esters in F344 rats.

The 52nd Annual Meeting of the Society of Toxicology (2013. 3)

- 3 特許及び特許出願の数と概要

該当なし

- 4 その他 (各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等)

該当なし

IV 主任研究者による研究全体の自己評価

| 項目 | 評価結果 | 評価コメント |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 研究の妥当性 | 5 | 食品中に含まれ、安全性が懸念されているグリシドール脂肪酸エステルと 3-MCPD 脂肪酸エステルの遺伝毒性、13 週間反復投与毒性試験を評価するとともに、生体内での加水分解産物の生成についても検討することができた。 |
| 2 研究目標の達成度 | 4 | 想定していた試験はほぼ終了したが、遺伝毒性試験のうち <i>gpt</i> アッセイについては、複数の発がん標的臓器での評価が望まれており、現在継続して検討を行っている。 |
| 3 研究成果の有用性 | 4 | 本試験の結果から、検討した 5 種類中 3 種類のエステル類の NOAEL が設定できた。また、加水分解産物の毒性評価においても有用な情報を供給できたと考える。 |
| 合 計 | 1 3 | |
| 総合コメント: | | |
| 委員会の承認のもと、計画に沿ってほぼ全ての試験を実施した。試験開始時に最良と考えられた方法で試験を実施したが、結果として、一部、他機関と異なるデータが得られた。試験条件についてさらに検証することにより、暴露量のみならず暴露条件によって毒性発現に大きな差異が見られる可能性について、科学的な知見を蓄積する必要があると考えられた。 | | |

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として 5 段階で記述する。