

- 6-2-14) Fitzhugh, O.G., Bourke, A.R., Nelson, A.A., Frawley, J.P. Chronic Oral Toxicities of Four Stearic Acid Emulsifiers Toxicology and Applied Pharmacology 1, 315-331(1959)
- 6-2-15) Kimura, T., Furuta, H., Matsumoto, Y., Yoshida, A. Ameliorating Effect of Dietary Fiber on Toxicities of Chemicals Added to a Diet in the Rat J. Nutr, 110(3) 513-521 1980
- 6-2-16) Brush, M.K., McCoy, J.R., Rosenthal, H.L., Stauber, L.A., Allison, J.B. The Addition of Non-Ionic Surface Active Agents of The Polyoxyethylene Type to The Diet of The Hamster, The Mouse and The Dog J. Nutr, Vol .62, 601-619, 1957
- 6-2-17) Waldstein S.S. et al. (1954). Am.J. dig. Dis.21,181. (Cited in toxicity profile polysorbate 60. TNO BIBRA international Ltd, 1989)
- 6-2-18) Preston E.III et al. (1953). J.Nutr.1,539. (Cited in toxicity profile polysorbate 60. TNO BIBRA international Ltd, 1989)
- 6-2-19) Jeans P.C. & Stearns G. (1970&1971). Unpublished date. (Cited in toxicity profile polysorbate 60. TNO BIBRA international Ltd, 1989)
- 6-2-20) Krantz J.C.Jr (1947). Unpublished Reports(cited in JECFA,1974)
- 6-2-21) Janowitz H.D. et al.(1953). Gastroenterology 24,510. (Cited in toxicity profile polysorbate 65. TNO BIBRA international Ltd, 1990)
- 6-2-22) Oser, B.L., Oser, M. Nutritional Studies on Rats on Diets Containing High Levels of Partial Ester Emulsifiers I General Plan and Procedures ; Growth and Food Utilization J. Nutr, Vol .60, 367-390, 1956
- 6-2-23) Oser, B.L., Oser, M. Nutritional Studies on Rats on Diets Containing High Levels of Partial Ester Emulsifiers III Clinical and Metabolic Observations J. Nutr, Vol .61, 149-166, 1957
- 6-2-24) Oser, B.L., Oser, M. Nutritional Studies on Rats on Diets Containing High Levels of Partial Ester Emulsifiers II Reproduction and Lactation J. Nutr, Vol .60, 489-505, 1956
- 6-2-25) Toxicology and Carcinogenesis Studies of Polysorbate 80 in F344/N Rats and B6C3F1 Mice(Feed Studies) NTP 報告年1992年
- 6-2-26) Nityannand S. & Kapoor N.K. (1979). Indian J.med. Res.69,664. (Cited in toxicity profile polysorbate 80. TNO BIBRA international Ltd, 1992)
- 6-2-27) Chusid, E., Diamond, J. Accidental Massive Overdose of Monitan in an Infant J.Pediat.,46,222,1955
- 6-2-28) Janowitz J.D. et al.(1953). Gastroenterology 24,510. (Cited in toxicity profile polysorbate 80. TNO BIBRA international Ltd, 1992)
- 6-2-29) JECFA Toxicological Evaluation of Some Food Additives Including Anticaking Agents, Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers and Thickening Agents WHO Food Additives Series, 1974, No.5
- 6-2-30) Kimura T. & Yoshida A. (1982). Nutr. Rep. Int. 26, 271. (Cited in TOXICITY PROFILE

polysorbate 60 TNO BIBRA International Ltd 1989)

6-2-31) Ohsumi T. (1979). Nihon Univ. J. Med. 21(1),61-78 (Cited in Final Report on the Safety Assessment of Polysorbates 20, 21, 40, 60, 61, 65, 80, 81, and 85. Journal of the American College of Toxicology, 3(5), (1984))

### 3) 変異原性

#### (1) まとめ

ポリソルベート20、60、65および80のうち、ポリソルベート60および80については現在においても評価が可能な水準の実験データが報告されている。ポリソルベート20については実験などの詳細な記載は入手できなかったが、結果は明確に示されている。ポリソルベート65については、Bibra; Toxicity Profile,1990を引用しても現在まで報告が見つからなかったため、新たに試験を実施して安全性を評価した(国立医薬品食品衛生研究所委託研究:食品薬品安全センター秦野研究所報告)。

これまでの試験成績では、一部ポリソルベート60については rec assay (DNA 修復試験)で、65及び80についてはほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で、それぞれ弱い陽性結果が認められたが、概して陰性の結果が多く、rec assay に関しては陽性結果が再現できなかった(Kawachi et al., 1981; Morita et al., 1981)点、in vitro での染色体異常誘発性に関しては十分高用量まで試験した in vivo の小核試験で陰性であった点を考慮すると、ポリソルベート20、60、65および80の遺伝毒性は、生体にとって特段問題となるものではないものと考えられる。

#### (2) 個別データ

##### ① ポリソルベート20

2つの報告がBIBRA(British Industrial Biological Research Association)の総説に引用されているが、原著は入手できなかった。その一つは Procter & Gamble の非出版データ(1979)で、*Salmonella typhimurium* 系の2つの細菌を用いた Ames test (遺伝子突然変異検索法)の結果では、ラット肝臓の代謝活性化系(S9 mix)存在の有無に関係なく変異原性は認められていない。また、抄録からの引用で詳細は明らかでない(Coopinger et al., 1981)が、ほ乳類培養細胞を用いた試験において代謝活性化系の存否にかかわらず変異原性は認めていない。

##### ② ポリソルベート60

DNA 修復試験、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験、等が行われている。DNA 修復試験としては、*Bacillus subtilis*を用いた rec assay が行われているが、Kada et al.は復帰変異陽性である(1980)のに対し、Kawachi et al. (1981)およびNorita et al. (1981)は陰性であったと、相反する結果が報告されている。Ames 試験では、S9 mixを用いる代謝活性化系の存在下および非存在下において、*Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 の2菌株を用いた試験が3回行われており、いずれも陰性であった(Inoue et al., 1980; Kawachi et al., 1981; Morita et al., 1981)。その他、染色体異

常誘発性を含め多くの試験が実施されているが、すべて陰性の成績であり、これらを総合的に考慮すると、ポリソルベート60の変異原性は問題ないものと考えられる。

### ③ ポリソルベート65

ポリソルベート65の変異原性に関する報告が見つからなかったため、新たに細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験およびげっ歯類を用いる小核試験を実施して評価した。細菌を用いる復帰突然変異試験は標準的な5菌株(TA100, TA1535, TA98, TA1537, および大腸菌 WP2uvrA)を用い、限界用量5000 $\mu$ g/plateまで検討したが、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。染色体異常誘発性に関してはチャイニーズハムスター細胞株(CHL/TU)を用い、細胞毒性が認められる用量まで試験した結果、代謝活性化系非存在下の短時間処理群において、強い細胞毒性が認められた用量でのみ弱い構造異常の誘発が認められたが、代謝活性化系非存在下の長時間連続処理群および代謝活性化系存在下の短時間処理群では構造異常の誘発は認められなかった。また、代謝活性化系非存在下の、短時間処理ならびに長時間連続処理群において染色体の数的異常の弱い誘発が認められた。一方、代謝活性化系の存在下においては限界用量である5000 $\mu$ g/mLまで検討した結果、統計学的な有意差は認められたものの、非存在下での陽性と比較してかなり弱まっていることが示された。また、マウスを用いる小核試験において、限界用量である2000mg/kgを24時間間隔で2回強制経口投与し、24時間後に小核誘発性を検討したが、結果は陰性であった。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で認められた染色体異常誘発性は強いものではなく、代謝活性化系の導入により減弱される点、限界用量まで検討したげっ歯類を用いる小核試験で陰性であった点を考慮すると、ポリソルベート65の染色体異常誘発性は生体にとって特段問題となるものではないと考えられる。

### ④ ポリソルベート80

DNA損傷修復に関しては*Bacillus subtilis*を用いたrec assayが行われており、陰性結果が報告されている(Kawachi et al., 1981)。また、*Escherichia coli*を用いたrec assayが行われているが、結果は陰性であった(Sugimura et al., 1976; BIBRA90引用)。

*Salmonella typhimurium*TA98, TA100, TA1535 および TA1537 株を用いた復帰突然変異試験では、S9 mixによる代謝活性化系の存否にかかわらず、すべて陰性の結果が得られている(Kawachi et al., 1981; Morita et al., 1981; Mortelmans et al., 1986)。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験に関しては代謝活性化系の存否にかかわらず陰性との報告がある(Ishidate et al., 1977; Kawachi et al., 1981)。一方、数的異常である倍数体がわずかに増加したとの報告もある(Sofuni, 1998)。げっ歯類を用いる小核試験2つの試験が実施されており(Jenssen et al., 1980; Scott & Topham, 1982)、いずれも陰性の結果であった。さらに、哺乳類の生殖細胞に対する影響を見る優性致死試験も行われているが、結果は陰性であり、問題となる点は見あたらなかった(Anderson et al., 1977)。ほ乳類培養細胞を用

いる染色体異常試験で認められた染色体の数的異常誘発性は非常に弱いものである点、代謝活性化系の存否にかかわらず陰性であるとの報告(Ishidate et al., 1977; Kawachi et al., 1981)もみられる点、げっ歯類を用いる小核試験で陰性であった点及び哺乳類の生殖細胞に対する染色体異常誘発性をみる優勢致死試験も陰性である点を考慮すると、ポリソルベート80の染色体異常誘発性は生体にとって特段問題となるものではないと考えられる。

以上を総合的に評価すると、ポリソルベート80の変異原性に関しては問題ないものと考えられる。

#### 参考文献

- 6-3-1)TOXICITY PROFILE polysorbate 65 TNO BIBRA International Ltd 1989
- 6-3-2)TOXICITY PROFILE polysorbate 20 TNO BIBRA International Ltd 1990
- 6-3-3)Kada, T., Hirano, K., Shirasu, Y. Screening of Environmental Chemical Mutagens by the Rec-Assay System with Bacillus Subtilis. 149-373, BIBRA
- 6-3-4)Kawachi, T., Yahagi, T., Kada, T., Tazima, Y., Ishidate, M., Sasaki, M., Sugiyama, T. Cooperative Programme on Short-Term Assays for Carcinogenicity in Japan. IARC Sci. Pub.27, 323-330, 1981 BIBRA
- 6-3-5)森田和良, 石垣美津子, 安部隆 化粧品関連物質の突然変異原性 J. Soc. Cosmet. Chem. Japan. Vol.15, No.3 243-253, 1981
- 6-3-6)Inoue, K., Sunakawa, T., Takayama, S. Studies of in Vitro Cell Transformation and Mutagenicity by Surfactants and Other Compounds. Fd Cosmet. Toxicol. Vol, 18, 289-296, 1980
- 6-3-7)Ishidate, M., Odashima, S. Chromosome Tests with 134 Compounds on Chinese Hamster Cells in Vitro-a Screening for Chemical Carcinogens. Mutation Research, 48, 337-353, 1977
- 6-3-8)Long, S.D., Warren, A.J., Little, J.B. Effect of Nonoxynol-9, a Detergent with Spermicidal Activity, on Malignant Transformation in Vitro Carcinogenesis, Vol.3 No.5, 553-557, 1982
- 6-3-9)Toxicology and Carcinogenesis Studies of Polysorbate80 in F344/N Rats and B6C3F1 Mice(Feed Studies) NTP 報告年 1992 年
- 6-3-10)Jenssen, G., Ramel, C. The Micronucleus Test as Part of a Short-Term Mutagenicity Test Program For the Prediction of Carcinogenicity Evaluated by 143 Agents Tested. Mutation Research, 75, 191-203, 1980
- 6-3-11)Scott, K., Topham, J.C. Assay of 4CMB, 4HMB and BC by the Micronucleus Test-Subcutaneous Administration. Mutation Research, 100, 365-371, 1982
- 6-3-12)Anderson, D., McGregor, D.B., Purchase, I.F.H., Hodge, M.C.E., Cuthbert, J.A. Dominant-Lethal Test Results with Known Mutagens in Two Laboratories. Mutation Research, 43, 231-246, 1977
- 6-3-13)TOXICITY PROFILE polysorbate 80 TNO BIBRA International Ltd

- 6-3-14) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究: 食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65  
の細菌を用いる復帰突然変異試験
- 6-3-15) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究: 食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65  
のチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験
- 6-3-16) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究: 食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65  
のマウスを用いる小核試験
- 6-3-17) 染色体異常試験データ集 (改訂 1998 年版) 監修 祖父尼俊雄

#### 4) 発がん性

##### (1) まとめ

ポリソルベート60, 65および80については、ラットおよびマウスを用いた混餌による2年間の経口投与試験が実施され、いずれも発がん性は陰性との結論が得られている。これらの中1950年代に実施された試験では投与量、動物数など方法について技術上の問題はあるが、陰性結果は明確に示されている。一方、ポリソルベート80については現状の指針に準じた方法でF344ラットおよびB6C3F1マウスを用いNTPが2年間の経口投与試験を実施している。NTPによる新しい試験では綿密な検討と評価が得られているので、この報告を中心とするポリソルベート類の発がん性の評価には支障はないと判断される。なお、1950年代に実施された試験が高濃度添加飼料により行われていることから、その試験での陰性結果はポリソルベート類について発がん性を否定する有用なデータとなっている。

以上の動物試験結果ならびに変異原性の試験成績を総合すると、ポリソルベート類は遺伝子障害による発がん性を示さないと評価される。

この評価は、JECFA(食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会)、SCF(欧州連合食品科学委員会)あるいは米国FDAなど専門家の委員会におけるポリソルベートの発がん性評価でもすべて裏付けられている。

一方、ポリソルベート類については、長期皮膚塗布による少数の良性腫瘍の発生、また長期間の反復皮下注射より局所に線維肉腫の発生がみられているが、これらは局所刺激性に起因する反応と解釈される。ちなみに蒸留水や高張糖液の皮下注射による線維肉腫等の発生は既知の事実であり、その主因として注射液の浸透圧その他の物理学的作用などによる影響が考えられている。なお、これらの試験は食品添加物としてのヒトでの摂取経路とは異なる適用経路によるもので、データをそのままヒトへ外挿することは適当でないと判断される。

げっ歯類動物を用いた長期実験では、高率な自然発生腫瘍が観察されるのが普通である。ポリソルベート80についてのNTPの実験においても乳腺腫瘍、副腎髄質の褐色細胞腫等の発生がみられ、特に副腎髄質褐色細胞腫は雄投与群に高率に発生している。これら自然発生腫瘍の発生促進は当該物質の発がん性についての直接的なデータとはみなされないし、ことにヒトでは通常認められない形式のものであることがJECFA第46回報告書でも指摘されている。