

## 5) 生殖発生毒性

### (1) まとめ

ポリソルベート 20、60、65 および 80 の生殖発生毒性についてはラット、マウスあるいはハムスターを用いた多世代生殖毒性試験および催奇形性試験の成績が報告されている。実施された試験は古いものも多く、投与量が現状のガイドラインで定められている上限(添加濃度 5%)を遥かに超えている試験や腹腔内注射など経口投与以外の経路による試験も散見される。ポリソルベート類を大量投与された試験では親動物で激しい下痢と体重増加抑制、新生児で生存率や体重増加の抑制が記載されている。腹腔内に投与した試験では胎児に奇形が誘発されたとする報告もみられる。しかし、現状の指針からみて妥当な用量での経口投与による試験を中心に全てのデータを総合すると、ポリソルベート類は雌雄の生殖能や新生児の発達に対する影響はなく、催奇形性もないと判断される。JECFA、SCF および FDA の安全性評価においてもポリソルベート類には生殖発生毒性は認められないとされている。

### (2) 個別データ

#### ①ポリソルベート 20

15 匹の妊娠ラットにポリソルベート 20 の 10%溶液 (1.1 g/kg 体重/日) を妊娠 7~17 日の期間反復強制経口投与した試験において、胎児および新生児の成長と生存率への影響は認められなかった (Wickramaratne, 1987)。

15 匹の妊娠ラットにポリソルベート 20 の原液あるいは 50%溶液を妊娠 7~17 日の期間継続的に皮膚塗布した試験において、両群とも胎児の成長と生存率および新生児の重量と成長は正常の範囲内にとどまり、被験物質投与による有害影響は認められなかった (Wickramaratne, 1987)。

15 匹の妊娠ラットにポリソルベート 20 の 5% (550 mg/kg 体重) あるいは 10% (1.1 g/kg 体重) 溶液を妊娠 7~17 日の期間継続的に腹腔内投与した試験において、両投与群の母動物の体重増加が著しく抑制され、新生児にも生存率の低下と体重増加の抑制がみられた (Wickramaratne, 1987)。

雄 16 匹、雌 14 匹の離乳ラットに対するポリソルベート 20 の混餌試験が行われている。先ず実験開始後 10 日の間にポリソルベート 20 の添加量を 5%から 10, 15, 25%と順次増加させ、以後 25% (10 g/kg 体重/日) 添加飼料を 10 週間与えた。投与期間中雌雄とも著しい下痢と体重増加抑制が認められた。また、組織学的検査において雄では精子形成の遅延が観察された (Harris et al, 1951a)。

雌雄合わせて 36 匹のハムスターにポリソルベート 20 を飼料中 5 あるいは 15%の濃度で 10 週間混餌投与した試験において、著しい下痢と体重増加抑制が認められ、試験終了時まで

15%群で全例、5%群で雌雄各7例が死亡した。また組織学的検査において卵巣と精巣の成熟が不完全であった(Harris et al, 1951b)。

妊娠9日目の雌マウス15匹にポリソルベート20の1.1 g/kg体重を腹腔内に投与した試験において、胎児に奇形が誘発され、投与した15匹中の1匹が死亡したと記載されている。異なる系統のマウスに同様の処置を行った結果、投与量(1.1-3.6 g/kg体重)に相関して早期の胎児の死亡が増加し、胎児の奇形も観察されている。なお、1.1および1.9 g/kg体重を投与した群では母動物への明らかな毒性影響は認められなかったと述べられている(Kocher-Becker et al., 1981)。

ポリソルベート20を500あるいは5000 mg/kg/日の用量で一群24~25匹の妊娠ラットに6~15日の期間強制経口投与した試験が報告されている。5000 mg/kg投与群において体重増加抑制が見られた。しかし、両投与群とも子宮重量に変化はみられず、また、母動物あたりの黄体数、着床数および着床前胚損失率においても対照群との間に差は認められなかった。さらに、胎児の成長、発達に対照群との間に明らかな差は見られなかった。(NTP Study:TER91010, 1992)。

## ② ポリソルベート60

一群12匹の雄および20匹の雌ラットに、ポリソルベート60を5, 10, 20%の濃度で3世代にわたり混餌投与した。なお、F<sub>0</sub>世代においては雌雄のラットに各濃度の飼料を12週間混餌投与した後交配した。5%投与群においては受精能、妊娠(同腹児/妊娠)、新生児数/同腹、授乳には3世代とも影響はみられなかった。20%(約10 g/kg体重/日)投与群では、親動物の生存率の減少が見られ、受精能の低下や新生児の4日目での生存率の顕著な減少が観察された。これら生存率の低下は、母動物の衰弱によるものと考えられた。4日生存率の低下は10%投与群では全ての世代で、5%投与群では第2, 3世代で見られた(Oser & Oser, 1956)。

ラットにポリソルベート60を0.25%の濃度で3世代にわたり混餌投与した試験では、生殖機能に影響は認められていない(Peters, 1951)。

一群10~12匹の雌ラットにポリソルベート60を0.1%(99mg/kg)、1%(960mg/kg)、10%(7693mg/kg)の濃度で妊娠7~14日の期間混餌投与した。1%投与群で子宮内での胎児の吸収率および死亡率に統計学的に有意な増加が認められたが、0.1%および10%群では認められず、また各投与群において吸収数、死亡胎児数、生存胎児数、性差、胎児体重に明らかな差は認められず骨格異常や形態異常についても投与群と対照群との間に明らかな差は見られなかった。以上よりポリソルベート60投与に起因する胎児への影響は確認できなかった(Ena et al., 1988)。

一群22~26匹の雌性ウイスターあるいはSD系ラットに妊娠1~19日あるいは7~15日の期間ポリソルベート60を1滴(約150 mg/kg体重/日)強制経口投与した試験では、同

腹児数、生存胎児数、胎児体重に影響は認められなかった (Merkle et al., 1988)。妊娠 6~13 日のマウスに 5.2 g/kg 体重/日のポリソルベート 60 を強制投与した試験において、母動物の生存率、同腹児数、一腹の同腹児数、新生児の出生時体重に影響は見られなかったが、出生後 3 日以降の新生児体重に増加抑制が認められたと記載されている (Hardin et al., 1987)。

### ③ ポリソルベート 65

一群 12 匹の雄および 20 匹の雌ラットに、ポリソルベート 65 を 5、10、20%の濃度で 3 世代にわたり混餌投与した。なお、F<sub>0</sub>世代においては雌雄のラットに各濃度の飼料を 12 週間混餌投与した後交配した。5% (約 2.5 g/kg bw/day) 投与群では受精能、妊娠 (生存同腹児数)、新生児数/同腹、新生児の生存率に 2 世代では影響はみられなかったが、第 3 世代では新生児の 4 日間生存数がわずかに減少した。10%あるいは 20%投与群ではすべての世代において新生児の 4 日間生存数はより顕著に減少した。なお、観察者はこの結果を母動物の衰弱によるものであると考察している。親動物の死亡が増加した 20%投与群では、全ての世代で新生児の 4 日間生存率とそれ以後の生存率も減少した。今回の世代試験では他のパラメーターでもわずかに変化がみられたが、投与に起因する影響か否かは明らかではないと述べられている (Oser & Oser, 1956 & 1957)。

### ④ ポリソルベート 80

一群 12 匹の雄および 20 匹の雌ラットに、ポリソルベート 80 を飼料中 5、10、20%の濃度で 3 世代にわたり混餌投与した。なお、F<sub>0</sub>世代においては雌雄のラットに各濃度の飼料を 12 週間混餌投与した後交配した。20% (約 10 g/kg 体重/日) 群ではラットの受精能と出生後 4 日間の新生児生存率にわずかな減少が観察された。生存率の減少に関して観察者は母動物の衰弱によるものであろうと考察している。しかし、5% (約 2.5 g/kg 体重/日) あるいは 10%群では明らかな生殖機能への影響は認められていない (Oser & Oser, 1956)。

ラットにポリソルベート 80 を飼料中 2% (約 1g/kg 体重/日) の濃度で混餌投与した 3 世代試験では受精能と成長に影響は認められなかった (Krantz, 1951)。

雌ラットに妊娠前 14 日間、妊娠および授乳期間をとおしてポリソルベート 80 を 1.35 g/L (約 85 mg/kg 体重/日) の濃度で溶解した飲水による経口投与試験が実施され、新生児の探索行動と身体活動が促進されたと述べられている (Brubaker, et al., 1982)。

30 匹の雌マウスにポリソルベート 80 を 2.5 g/kg 体重の用量で妊娠 8~12 日の期間毎日強制経口投与した試験では、新生児の数、同腹児と新生児の重量に有意な影響は認められなかった。この投与用量は予備試験で母動物にわずかに毒性を引き起こす用量であったと記載されている (Kavlock, et al., 1987)。

ポリソルベート 80 を 500 あるいは 5000 mg/kg/日の用量で一群 25 匹の妊娠ラットに 6~15

日の期間強制経口投与した試験が報告されている。投与群の体重および子宮重量には対照群との間に差を認めなかった。また、母動物あたりの黄体数、着床数および着床前胚損失率において対照群との間に差は認められなかった。さらに、胎児の成長、発達についても対照群との間に明らかな差は見られなかった。(NTP Study:TER91009, 1992)。

#### 参考文献

- 6-5-1) Wickramaratne, G.A. The Chernoff-Kavlock Assay: Its validation and application in rats. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 7, 73-83 (1987)
- 6-5-2) Harris, R.S., Sherman, H. and Jetter, W.W. Nutritional and pathological effects of sorbitan monolaurate, polyoxyethylene sorbitan monolaurate, polyoxyethylene monolaurate and polyoxyethylene monostearate when fed to rats. *Arch. Biochem. Biophys.*, 34, 249-258 (1951)
- 6-5-3) Harris, R.S., Sherman, H. and Jetter, W.W. Nutritional and pathological effects of sorbitan monolaurate, polyoxyethylene sorbitan monolaurate and polyoxyethylene monolaurate when fed to hamsters. *Arch. Biochem. Biophys.*, 34, 259-265 (1951)
- 6-5-4) Kocher-Becker, U., Kocher, W. and Ockenfels, H. Thalidomide-like malformations caused by Tween surfactant in mice. *Z. Naturf.*, 36, 904-906 (1981) (Cited in toxicity profile polysorbate 20. TNO BIBRA international Ltd, 1989)
- 6-5-5) NTP Study:TER91010 Developmental Toxicology of Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate in Sprague-Dawley CD Rats
- 6-5-6) Oser, B.L. and Oser, M. Nutritional studies on rats on diets containing high levels of partial ester emulsifiers II reproduction and lactation. *J. Nutrition*, 60, 489-505 (1956)
- 6-5-7) Peters, F.N. Unpublished data (Cited in toxicity profile polysorbate 60. TNO BIBRA international Ltd, 1989)
- 6-5-8) Ema, M., Itami, T., Kawasaki, H. and Kanoh, S. Teratology study of TEEN60 in rats. *Drug and chemical toxicology*, 11, 249-260 (1988)
- 6-5-9) Merkle, J., Schulz, V. and Gelbke, H.P. An embryotoxicity study of the fungicide tridemorph and its commercial formulation Calixin. *Teratology*, 29, 259-269 (1984)
- 6-5-10) Hardin, B.D., Schuler, R.L., Burg, J.R., Booth, G.M., Hazelden, K.P., MacKenzie, K.M., Piccirillo, V.J. and Smith, K.N. Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test, *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*. 7, 29-48 (1987)
- 6-5-11) Krantz, J.C. Jr., Culver, P.J., Carr, C.J. and Jones, C.M. Sugar alcohols-XXVIII. toxicologic, pharmacodynamic and clinical observations on TWEEN 80. *Bull. Md. Univ.*

Sch. Med., 36, 48-56 (1951)

6-5-12) Brubaker, C.N., Taylor, D.H. and Bull, R.J. Effect of TWEEN 80 on exploratory behavior and locomotor activity in rats. Life Sciences, 30, 1965-1971 (1982)

6-5-13) Kavlock, R.J., Short, R.D. Jr. and Chernoff, N. Further evaluation of an In vivo teratology screen. Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis, 7, 7-16 (1987)

6-5-14) NTP Study: TER91009 Developmental toxicology of Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate in Sprague-Dawley CD Rats

## 6) 局所刺激性

### (1) まとめ

ポリソルベート 20, 60, 65, 80について、実験動物(主に家兔)およびヒトの皮膚あるいは眼粘膜に対する局所刺激性に関する試験・調査の報告が公表されている。報告者により試験条件がことなるが、結果を総合すると、原液の反復投与を除くといずれの物質も局所刺激性は軽度と判断される。なお、ポリソルベート 65 については長期間の連日塗布により マウスの皮膚に表皮の過形成を伴う炎症がおこるとの報告がある。

### (2) 個別データ

#### ① ポリソルベート20

家兔の正常皮膚および擦過皮膚(abraded skin)にポリソルベート20の原液を24時間適用(covered contact)したが極めて軽度(minimal)の刺激がみられたのみであった(Bibra, 1989)。

家兔の皮膚にポリソルベート20の原液を反復塗布した Mezei らの実験では、10日目に軽度の刺激性、30日目に中等度の刺激性がみられている。しかし、10%親水軟膏 10%水溶液 あるいは1%ワセリン製剤では、30日までの連日塗布による刺激は軽度と記載されている。(Mezei et al., 1966)。家兔眼粘膜に対する刺激性について報告があり、原液の適用による刺激性は軽度と判定されている(Bibra, 1989)。

家兔眼粘膜に対する試験においても原液の適用で軽度の刺激性がみられた程度と報告されている(Bibra, 1989)。

ヒトの皮膚に対する刺激性を調べるために、Idenらは772例の皮膚炎の症例にポリソルベート20の5%水溶液を閉鎖パッチで24時間適用し、13例に刺激性がみられたと報告している(Iden & Schroeter, 1977)。

又、健常人の擦過皮膚に20%の水溶液を3日間適用した試験で軽度な刺激性がみられている(Frosh & Kligman, 1976)。一方、50例の健常人の皮膚に原液を72時間にわたって適用するパッチ試験を7日間の間隔で2回反復した臨床試験では刺激性がみられなかったと述べられている(Schwartz 1970-71)。