

## ポリソルベート 20、ポリソルベート 60、ポリソルベート 65 及びポリソルベート 80 を添加物として定めることに係る 食品健康影響評価について

### 1 はじめに

ポリソルベートは、ソルビタン脂肪酸エステル（非イオン性界面活性剤）にエチレンオキシドを反応させて作り出されたもので<sup>2-1</sup>、現在、米国、EU をはじめとする諸外国で、乳化、分散化、可溶化剤としてパン、ケーキミックス、サラダドレッシング、ショートニングオイル、チョコレート等に広く利用されている<sup>2-2</sup>。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、1973 年の第 17 回会合において、ポリソルベート 20、同 60、同 65、同 80 のほか同 40（今回の指定検討の対象外）はグループ化合物として ADI 0～25 mg/kg 体重/日が設定され、コーデックスにおいてポリソルベートの使用基準案が提案されている<sup>2-3</sup>。

米国では、ポリソルベートは 1960 年代初頭より食品添加物として認可され、ポリソルベート 60、同 65 及び同 80 について、使用対象食品、使用最高濃度、成分規格等が定められており、ポリソルベート 20、同 60 及び同 80 は合成香料及び同助剤として使用できる<sup>2-4</sup>。EU では、食品添加物指令（1995 年）で、ポリソルベート 20、同 40、同 60、同 65 及び同 80 が認可され、使用基準が設定されている。

### 2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目について、指定に向けた検討を開始する方針を示しており、これに該当するポリソルベート 20、ポリソルベート 60、ポリソルベート 65 及びポリソルベート 80（以下「ポリソルベート類」という）について、食品安全基本法に基づき食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである（平成 15 年 10 月 8 日、関係書類を接受）。

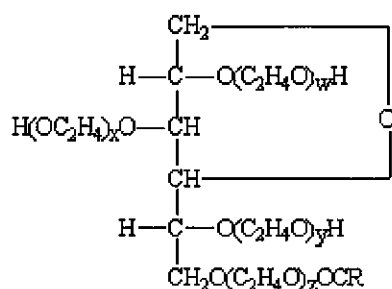
### 3 添加物指定の概要

今般、ポリソルベート類について、ミルク又はクリーム代替品、ドレッシング等への使用に関する基準を定め、JECFA の規格等を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

### 4 物理化学的性質等

ポリソルベート類は親水性の乳化剤で、ポリソルベート類の中で同 20 は同 60、80

に比べて親水性がより強く、同 65 は他に比べて親油性が相対的に強い。



RCO-は、ポリソルベート 20 では主としてラウリン酸  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO-}$  であり、他の脂肪酸も含む。ポリソルベート 60 では、主としてステアリン酸  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO-}$  であり、パルミチン酸を初め、他の脂肪酸を含む。ポリソルベート 80 では、主としてオレイン酸  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CO-}$  であり、他の脂肪酸も含む。

図 1 ポリソルベート 20, 60 及び 80 ( $w + x + y + z = \text{約} 20$ )

### ① ポリソルベート 20

英名 : Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monolaurate、Polysorbate 20

別名 : モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween 20)

CAS 番号 : 9005-64-5

化学式等 :  $w + x + y + z = 20$ 、脂肪酸がラウリン酸として  $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$

分子量 1227.72

ソルビトール及び無水ソルビトールの水酸基の一部を主としてラウリン酸でエステル化し、エチレンオキシド約 20 分子を縮合させたもの (脂肪酸が主としてラウリン酸でソルビタン 1 モルに対し 1 モル結合しているもの)。

オキシエチレン ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ) 70.0 ~ 74.0% を含む。

### ② ポリソルベート 60

英名 : Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monostearate、Polysorbate-60

別名 : モノステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween 60)

CAS 番号 : 9005-67-8

化学式等 :  $w + x + y + z = 20$ 、脂肪酸がステアリン酸として  $\text{C}_{64}\text{H}_{126}\text{O}_{26}$

分子量 1311.90

ソルビトール及び無水ソルビトールの水酸基の一部を主としてステアリン酸でエステル化し、エチレンオキシド約 20 分子を縮合させたもの (脂肪酸が主としてステアリン酸でソルビタン 1 モルに対し 1 モル結合しているもの)。

オキシエチレン ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ) 65.0 ~ 69.5% を含む。

### ③ ポリソルベート 80

英名 : Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monooleate、Polysorbate 80

別名 : オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween 80)

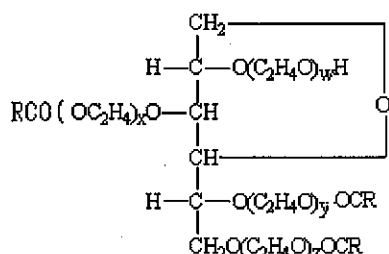
CAS 番号 : 9005-65-6

化学式等 :  $w + x + y + z = 20$ 、脂肪酸がオレイン酸として  $\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{O}_{26}$

分子量1309.68

ソルビトール及び無水ソルビトールの水酸基の一部を主としてオレイン酸でエステル化し、エチレンオキシド約 20 分子を縮合させたもの（脂肪酸が主としてオレイン酸で、ソルビタン 1 モルに対し 1 モル結合しているもの）。

オキシエチレン (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) 65.0 ~ 69.5%を含む。



RCO-は主としてステアリン酸であり、パ  
ルミチン酸をはじめ、他の脂肪酸を含む。

図2 ポリソルベート 65

(w + x + y + z = 約 20)

#### ④ ポリソルベート65

英名 : Polyoxyethylene (20) Sorbitan Tristearate、Polysorbate 65

別名 : トリステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween 65)

CAS番号 : なし

化学式等 : w + x + y + z = 20、脂肪酸がステアリン酸としてC<sub>100</sub>H<sub>194</sub>O<sub>26</sub>

分子量1842

ソルビトール及び無水ソルビトールの水酸基の一部を主としてステアリン酸でエステル化し、エチレンオキシド約 20 分子を縮合させたもの（脂肪酸が主としてステアリン酸でソルビタン 1 モルに対し 3 モル結合しているもの）。

オキシエチレン (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) 46.0 ~ 50.0%を含む。

### 5 安全性に関する検討

#### (1) 体内動態 (吸収、分布、代謝、排泄、分解)

ラットへの経口投与では、消化管内で胆汁中リパーゼでポリソルベート類のエステル結合部位が加水分解され、遊離した脂肪酸は消化管より吸収された後、酸化され、主として呼気中炭酸ガスとして排泄される。この動態は、通常の脂肪酸代謝と同様と推察されている<sup>5-3,4</sup>。ポリソルベート類の消化管内での加水分解率は、ポリソルベート 80 (100%)、同 60 (98%)、同 65 (84%) である<sup>5-5</sup>。加水分解により生成した polyoxyethylene sorbitan 構造部分の消化管からの吸収は極めて低く、ポリソルベート 20 では約 87%が、同 80 では約 91%がそのまま糞中に排泄され、尿中にはそれぞれ 8.5%及び 2.1%が排泄される<sup>5-4</sup>。Polyoxyethylene sorbitan 構造部分の胸腺リンパへの移行はみられていない<sup>5-6</sup>。投与後 24 時間では、解離した脂肪部分と polyoxyethylene sorbitan 構造部分の体内への残留はともに極めて少ない<sup>5-2</sup>。

脂肪酸 (ラウリル酸) を <sup>14</sup>C で標識したポリソルベート 20 のラットへの経口投与後 24 時間の放射能分布は、呼気炭酸ガス (80%)、屍体 (12%)、糞及び消化管内内容物 (4%)、尿 (2.5%)、肝 (1.2%) であり、polyoxyethylene 基を <sup>14</sup>C で標識した

ポリソルベート 20 経口投与後 24 時間の放射能分布は、糞 (90%)、尿 (8%) で、肝、屍体、呼気炭酸ガスでは検出されなかった<sup>5-2,3</sup>。

ラットでは、ポリソルベートの体内動態に雌雄差は認められていない<sup>5-3</sup>。

ヒトでのポリソルベート 20 の経口摂取では、投与物質の 90%以上は、糞中に polyoxyethylene sorbitan 構造を保持した代謝物として排泄され、それらの代謝物の尿中への排泄は 2 ~ 3%であった<sup>5-7</sup>。

被験者に、カプセルでポリソルベート 60 (4.5 g/日又は 6 g/日、12 日間(54 g 又は 72 g)) 及びポリソルベート 80 (4.5 g/日、12 日間(54 g)) を投与し、投与後 6 日間尿及び糞への排泄を調べたところ、総回収率はそれぞれ 92.7 ~ 99.2%及び 96.2 ~ 102.2%で、尿には polyoxyethylene 構造保有量としてそれぞれ 2.3 ~ 3.1%及び 3.9 ~ 5.8%が、糞にはそれぞれ 90.2 ~ 96.6%及び 90.4 ~ 98.3%が排泄された<sup>5-7</sup>。

## (2) 毒性試験

### ①単回投与毒性

ポリソルベート類の単回経口投与による毒性は極めて低く、ポリソルベート 80 を 22 g/kg 体重投与したラットで異常症状の発現はなく、肝、腎の障害もなかった<sup>6-1-4</sup>。一方、ポリソルベートを静脈内あるいは腹腔内に投与した試験では、眼瞼下垂 (マウス)、持続的な血圧低下 (イヌ)、筋強直 (ラット)、嘔吐 (イヌ) などの症状が発現した<sup>6-1-1,2,3,4</sup>。

ポリソルベート類の単回投与によるヒトへの影響について、約 4.4 g のポリソルベート 20 を 2 名の小児に与えたが、明確な有害影響はなく<sup>6-1-5</sup>、5%ポリソルベート 20 溶液を 6 名に皮内注射したが局所への影響は生理的食塩水と同等であった<sup>6-1-6</sup>。20 g のポリソルベート 60 を 6 名の患者に摂取させたところ、毒性症状はなく、胃酸の量の僅かな低下がみられた<sup>6-1-7</sup>。

### ②反復投与毒性

ラットへのポリソルベート 20 の 8 週間混餌投与 (3%及び 5%) では、両投与群に軽度な下痢と成長抑制がみられた<sup>6-2-8</sup>。ハムスターへのポリソルベート 20 の 10 週間混餌投与 (5% (約 5,000 mg/kg 体重/日)) では、著明な下痢と体重増加抑制がみられた<sup>5-2,6-2-9</sup>。マウスへのポリソルベート 20 の 22 ヶ月間混餌投与 (5%及び 10% (約 7.5 及び 15 g/kg 体重/日)) では 10%投与群に軽度の下痢がみられた<sup>6-2-10</sup>。1 日 1 g のポリソルベート 20 をサル 4 匹に 17 ヶ月間経口投与 (約 50 mg/kg 体重/日) したところ、有害影響はみられず、275 mg/kg 体重/日のポリソルベート 20 を 20 日間サル 4 匹に筋肉内、静脈内あるいは皮下注射したところ、肝及び腎に病理組織学的な変化はみられなかった<sup>6-2-6</sup>。

雌雄ラットにポリソルベート 60 を 13 週間混餌投与 (1%、2%及び 5% (500、1,000 及び 2,500 mg/kg 体重/日相当)) したところ、5%投与群で下痢と盲腸の拡張、1%及び 2%投与群で盲腸の拡張がみられた。5%ポリソルベート 60 添加飼料

によるラットでの下痢の発現は他の実験でもみられており<sup>6-2-13, 14</sup>、基礎飼料によって症状の発現が異なり、下痢はカゼイン食で起こり、大豆食では起こらないと報告されている<sup>6-2-13</sup>。ポリソルベート 60 による下痢の発現は飼料中の繊維量を増加させると抑制されるとの報告もある<sup>6-2-30</sup>。マウスへのポリソルベート 60 の 3 ~ 12 ヶ月間混餌投与試験 (2.5% (3.8 g/kg 体重/日)、5%及び 10%) で有害影響はみられていない<sup>6-2-16</sup>。ハムスターへのポリソルベート 60 の 12 ~ 13 ヶ月間混餌投与 (1%及び 5% (4 g/kg 体重/日)) で、慢性の下痢と脱水によると思われる腎変化 (間質性腎炎) と死亡率の増加がみられたが、1%投与群では有害影響はみられていない<sup>6-2-16</sup>。イヌではポリソルベート 60 の 1 年間混餌投与 (5%及び 10%) で下痢などの有害影響はみられていない<sup>6-2-16</sup>。

ラットへのポリソルベート 65 の 2 年間混餌投与試験 (2% (約 1 g/kg 体重/日)) で有害影響はなかった<sup>6-2-20</sup>。5%ポリソルベート 65 添加飼料 2 年間ラット多世代試験で成長と生存率に影響はなく、血液検査、尿検査、及び肝と腎の組織検査でも異常はみられず、雄の 12 例中 1 例に軽度の下痢がみられた<sup>5-5, 6-2-22, 24</sup>。

ラットへのポリソルベート 80 の 2 年間混餌投与試験 (5%、10%及び 20%) では 10%投与群の雌で下痢がみられた<sup>5-5, 6-2-22, 24</sup>。雌雄 F344 ラットへのポリソルベート 80 の 13 週間混餌投与試験 (0.31%、0.62%、1.25%、2.5%及び 5.0%) では、異常症状はみられず、諸器官に肉眼的及び組織学的な変化はみられなかった。同様の 13 週間試験が雌雄 B6C3F1 マウスについて実施されているが、異常はみられていない<sup>6-2-25</sup>。雌雄 F344 ラット及び B6C3F1 マウスへのポリソルベート 80 の 2 年間混餌投与試験 (2.5%及び 5.0%) が実施されているが、両動物種ともに臨床症状、生存率及び成長について投与の影響はみられていない<sup>6-2-25</sup>。

ラットに 1%、2%及び 3%のポリソルベート 80 溶液 1.5 ml の連日 3 ヶ月間強制経口投与で、心、肝、腎に変性病変がみられたと報告されている<sup>6-2-26</sup> が、同様の影響は NTP レポートを含む他の報告にはみられていない。

5 人の成人に 2 g のポリソルベート 20 を含有した食事を 1 日 3 回 1 週間摂取 (約 100 mg/kg 体重/日) させたが有害影響はみられていないとの報告があり<sup>6-2-11</sup>、13 人の未熟児と 2 人の乳児に 0.12 ~ 1.0 g のポリソルベート 20 (医薬品添加剤として使用) を 1 日 4 回投与 (未熟児: 250 ~ 2,000 mg/kg 体重/日) したところ有害影響はみられなかったとの報告がある<sup>6-2-12</sup>。

34 例の患者と 10 例の健常人に 6 g のポリソルベート 60 の 28 日間摂取で有害影響がみられなかったとの報告<sup>6-2-17</sup> があり、小児 4 名にポリソルベート 60 を 1 日 1 g 13 ~ 34 回経口投与<sup>6-2-18</sup>、及び幼児 9 名に 1 日 0.2 g の 5 ヶ月間経口投与 (9 名中 3 名には更に 0.4 g を 1 ~ 2 ヶ月経口投与)<sup>6-2-19</sup> で、有害影響がみられなかったとの報告もある。

ポリソルベート 65 の 1 日 9 g (0.15 g/kg 体重/日に相当) 男性 8 名及び女性 4 名 (ボランティア) への連日 13 日間経口摂取で、消化器障害の症状はみられていない<sup>6-2-21</sup>。

20 g/kg 体重/日のポリソルベート 80 の 2 日間摂取で生後 4 ヶ月の乳児に軽度の下痢がみられた<sup>6-2-27</sup>。健康ボランティア 12 例の 1 日量 9 g のポリソルベート 80 (0.15 g/kg 体重/日) の 13 日間摂取では消化管症状はみられなかった<sup>6-2-28</sup>。46 例の患者に 1 日量 4.5 ~ 6 g のポリソルベート 80 の 1 ~ 4 年間経口投与で、血液像、血圧、腎機能及び肝機能に影響がみられなかったとの報告もある<sup>6-2-29</sup>。

### ③変異原性

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いが、変異原性は認められていないとする総説がある。

ポリソルベート 60 について、DNA 修復試験として、*Bacillus subtilis* を用いた rec-assay が行われており、Kada et al の報告<sup>6-3-3</sup> では復帰突然変異が陽性であるが、Kawachi et al<sup>6-3-4</sup> 及び Morita et al<sup>6-3-5</sup> の報告では陰性である。Ames 試験では、*S. typhimurium* TA98 及び TA100 の 2 菌株を用いた試験が 3 回行われており、S9mix の有無に関わらず、陰性であった<sup>6-3-4,5,6</sup>。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、すべて陰性であった。

ポリソルベート 65 について、細菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *E. coli* WP2uvrA) を用いた復帰突然変異試験では、限界用量 5,000 µg/plate まで、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった<sup>6-3-14</sup>。染色体異常誘発性に関し、チャイニーズハムスター細胞株 (CHL/IU) で、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及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、短時間処理並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 5,000 µg/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<sup>6-3-15</sup>。また、マウスを用いる小核試験において、限界用量である 2,000 mg/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<sup>6-3-16</sup>。

ポリソルベート 80 について、DNA 損傷修復に関して *Bacillus subtilis* を用いた rec-assay は陰性であった<sup>6-3-4</sup>。また、*E. coli* を用いた rec-assay の結果は陰性であった<sup>6-3-1</sup>。*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株を用いた復帰突然変異試験では、S9mix の有無にかかわらず、すべて陰性であった<sup>6-3-4,5</sup>。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験に関しても代謝活性化系の存否にかかわらず陰性であった<sup>6-3-4,7</sup>。また、げっ歯類を用いる小核試験が 2 試験実施されており、いずれも陰性であった<sup>6-3-10,11</sup>。ほ乳類の生殖細胞に対する影響をみる優性致死試験も行われており、結果は陰性であった<sup>6-3-12</sup>。

#### ④発がん性

ポリソルベート 20 の発がん性を見た試験報告は少なく、経口投与試験は 1956 年の論文で、現在の発がん性試験の基準に準じた方法によるものではなく、動物数、投与期間等が評価を下すには必ずしも十分とは言えない。

ハムスター各 10 匹（雄 6 匹、雌 4 匹）へのポリソルベート 20 の 9 週間混餌投与試験（5%、10%及び 15%）並びにラット雄 10 匹への 25%混餌 21 週間投与試験で、腫瘍の発生は認められていない<sup>6-4-1</sup>。ハムスター 36 匹への 5%混餌 68 日間投与及びラット 14 匹への 25%混餌 59 日間投与で腫瘍の発生を認めていない<sup>6-4-2</sup>。マウスへの 0.18 mol 濃度で 1 日 1 回、週 6 日、30 日間及び 1 日 2 回、週 6 日、30 日間経皮投与、又は希釈溶液を 1 日 1 回、週 6 日、24 週間経皮投与試験では、いずれも腫瘍の発生は認められていない。一方、100%溶液（約 3 mg/kg 体重/日）の 1 日 1 回、週 6 日、52 週間経皮投与試験では、36 週目に 1 個の良性皮膚腫瘍の発生が認められている<sup>6-4-3</sup>。

ポリソルベート 60 についても、現在の発がん試験の基準を満たした試験は少ない。

各群雌 20 匹、雄 12 匹の Wistar ラットへのポリソルベート 60 の 2 年間混餌投与（5%、10%及び 20%）<sup>6-4-5</sup> 及び Osborne-Mendel 系雌雄ラット各 24 匹へのポリソルベート 60 の 2 年間混餌投与試験（2%、5%、10%及び 25%）<sup>6-2-16</sup> では、いずれの試験においてもがんの誘発は認められていない。イヌ（ビーグル）への 1 年間混餌投与（10%）、1 群 12 匹の雄ハムスターへの 13 カ月間混餌投与（1%及び 5%）及び 1 群 10 ~ 12 匹の雌雄マウスへの 4 カ月間混餌投与試験（2.5、5 及び 10%）においても発がん性は認められなかった<sup>6-2-16</sup>。ポリソルベート 60 原液を週 2 回あるいは 6 回マウス皮膚に塗布する試験では、30 週以上経過した動物の 40 ~ 50%に良性の皮膚腫瘍の発生を認めているが、投与を継続すると腫瘍の大部分は退縮した<sup>6-4-8, 9, 10</sup>。

Wistar 系ラット雄 12 匹、雌 20 匹へのポリソルベート 65 の 2 年間混餌投与試験（5%、10%及び 20%）では発がん性は認められなかった<sup>6-4-5</sup>。

雌雄ラットへのポリソルベート 80 の 2 年間混餌投与発がん性試験（5%、10%及び 20%）では、対照群を含め雌ラットの乳腺に偶発腫瘍として線維腺種の発生数のわずかな増加を認めたが、発がん性は認められなかった<sup>6-4-5</sup>。F344/N ラット雌雄各 50 匹へのポリソルベート 80 の 2 年間混餌投与発がん性試験（25,000 及び 50,000 ppm）では、それぞれ約半数のラットが生存し、50,000 ppm 飼料雄群において副腎髄質褐色細胞腫の発生率が増えたが、Fisher exact test では有意なものではなく、他の器官の腫瘍発生には実験群と対照群の間に差はみられなかった。B6C3F1 マウス雌雄各 50 匹へのポリソルベート 80 の 2 年間混餌投与発がん性試験（25,000 及び 50,000 ppm）で、約 50 ~ 60%の動物が生存し、雌雄マウスの 50,000 ppm 群で前胃粘膜の過形成病変が有意の増加を示したが、発がん性は認められなかった<sup>6-2-25</sup>。また、G57BL マウスにポリソルベート 80 含有実験

食により 100 mg/匹/日を 10 週間投与し、その後 8 週間基礎食を、その後市販飼料により 51 週まで飼育した実験では、腫瘍の発生を認めていない<sup>6-4-13</sup>。ポリソルベート 80 原液 80 mg をマウス 50 匹に週 6 回、52 週間皮膚塗布試験では、1 匹に良性皮膚腫瘍の発生をみた<sup>6-4-3</sup>。ラット 20 匹に 6%ポリソルベート 80 水溶液 2 ml を週 3 回 40 週間皮下注射試験で、11 匹に注射部位に繊維肉腫が形成された<sup>6-4-14</sup>。シリアンハムスター 50 匹に 5%ポリソルベート 80 水溶液 0.2 ml を週 1 回生涯にわたり気管内注入した試験では腫瘍の発生を認めていない<sup>6-4-14</sup>。

#### ⑤その他の発がん性(既知発がん物質との複合投与)

雄 Wistar ラットの飲水に 50 ppm の N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) と 0.4%のポリソルベート 20 (約 100 mg/kg 体重/日に相当) を加えて 26 週間経口摂取させた試験で、MNNG 単独投与と比較してラットの腺胃の腺がん発生頻度が高くなったほか、胃肉腫の発生を認めた<sup>6-4-4</sup>。ICR 及び Swiss マウスに 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 0.125 mg 経皮投与後ポリソルベート 20 の 0.3 ~ 3%溶液 0.2 ml を反復皮膚塗布した試験では、弱い皮膚腫瘍発生増強作用が、DMBA 経皮投与後ポリソルベート 20 の原液を皮膚に 1 年間塗布する試験では、皮膚腫瘍を 5 匹に認めたが、DMBA 単独群では発生を認めなかった<sup>6-4-3</sup>。

雄 Wistar ラットに 0.4%ポリソルベート 60 及び N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 100 ppm を含む飲水を 36 週間自由に摂取させ、その後 63 週まで飼育する複合発がん試験では、MNNG 単独投与群に比べて腺胃の高分化腺がんの若干の発生増加と MNNG 単独群には認められなかった低分化腺がん及び腺がん肉腫を合併する例が認められ、発がんの増強と悪性度の亢進が認められた<sup>6-4-11</sup>。また、雄 Wistar ラットに 50 ppm MNNG と 0.4%ポリソルベート 60 を含む水を 26 週間自由に摂取させ、その後 80 週まで水道水を与えた複合発がん性試験でも、腺胃に低分化腺がん 1/9 例を含む腺がんの発生増加と肉腫の発生を認めている<sup>6-4-4</sup>。

ポリソルベート 80 と既知の発がん物質の複合投与実験は多数報告があるが、その多くは皮膚腫瘍あるいは胃腫瘍の発がん促進作用をみることを主眼としたものである。

雄 C57BL マウスに 0.6 mg/匹/日の 3-methylcholanthrene (MC) とポリソルベート 80 を 100 mg10 週間投与後、引き続き 8 週間基礎飼料で飼育し、その後 51 週まで市販飼料で飼育する複合発がん試験では、肺腫瘍の発生は MC 単独投与群 44.4%、複合投与群では 74.1%であった。また、前胃の乳頭腫が 4.8%から 25.9%に、扁平上皮がんが 3.7%から 7.4%に増加したほか、発生総腫瘍数の増加と原発腫瘍の多発例の増加を認めている<sup>6-4-13</sup>。雄 Wistar ラットに 50 ppm MNNG とポリソルベート 80 を 0.4%含有する飲水を 26 週間自由摂水させ、その後 80 週まで水道水を与える複合投与実験では、MNNG 単独投与群と比較して腺胃の腺がん発生率の増加、腺がんの悪性度の増強、胃肉腫の発生の何れも特に認められ



ていない<sup>6-44</sup>。7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) をマウス皮膚に塗布した後、ポリソルベート 80 を連続皮膚塗布すると、DMBA 単独投与の場合と比較して皮膚腫瘍の発生が増加したが、腫瘍の性質についての記載はない<sup>6-4-14</sup>。

発がん抑制の報告としては、ベンツピレン(B(a)P)とポリソルベート 80 をハムスターに経気管的に投与すると、B(a)P 単独投与では 24/50 匹に気道腫瘍が発生したのに対し、複合投与では 12/50 と減少した<sup>6-4-14</sup>。また、SJL/J 雄マウスは高率に細網肉腫の自然発生を示すが、ポリソルベート 80 を腹腔内投与するとその発生が約 1/2 に抑えられた。SJL/L マウスに週 1 回ポリソルベート 80 と抗がん剤 cyclophosphamide を注射することにより対照群で 85%に認められた自然発生細網肉腫を 0%に抑えた報告もある<sup>6-2-25</sup>。

#### ⑥生殖発生毒性

1 群 24 ~ 25 匹の妊娠ラットにポリソルベート 20 を 6 ~ 15 日経口投与 (500 及び 5,000 mg/kg 体重/日) したところ、5,000 mg/kg 体重/日投与群において体重増加抑制がみられた。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、着床数及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ず、胎児の成長、発達に対照群との間に明らかな差はみられなかった<sup>6-5-5</sup>。

1 群 10 ~ 12 匹の雌ラットにポリソルベート 60 を妊娠 7 ~ 14 日混餌投与 (0.1%、1%及び 10% (99、960 及び 7,693 mg/kg 体重/日)) したところ、1%投与群で胎児の吸収率及び死亡率に統計学的に有意な増加が認められたが、0.1%及び 10%投与群では認められず、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投与群と対照群との間に明らかな差はみられなかった<sup>6-5-8</sup>。1 群 22 ~ 26 匹の雌性 Wistar 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 を強制経口投与した試験 (1 滴 (約 150 mg/kg 体重/日)) 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<sup>6-5-9</sup>。妊娠 6 ~ 13 日のマウスへのポリソルベート 60 の強制経口投与試験 (5.2 g/kg 体重/日) で、母動物の生存率、同腹児数、1 腹の同腹児数、新生児の出生時体重に影響はみられなかったが、出生後 3 日以降の新生児体重に増加抑制が認められた<sup>6-5-10</sup>。

1 群 12 匹の雄及び 20 匹の雌ラットにポリソルベート 65 を 3 世代混餌投与 (5%、10%及び 20%、F0 世代で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) したところ、5% (約 2.5 g/kg 体重/日) 投与群で、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、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%及び 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、観察者はこの結果を母動物の衰弱によるものと考察している。20%投与群で、親動物の死亡が増加し、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が減少した。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<sup>6-2-24</sup>。

1 群 12 匹の雄及び 20 匹の雌ラットにポリソルベート 80 を 3 世代にわたり混餌投与 (5%、10%及び 20% (約 2.5、5 及び 10 g/kg 体重/日)) した。なお、F0 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%投与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%及び 10%投与群では明らかな生殖機能への影響は認められていない<sup>6-5-6</sup>。ラットにポリソルベート 80 を混餌投与した 3 世代試験 (2% (約 1 g/kg 体重/日)) では受精能と成長に影響は認められなかった<sup>6-5-11</sup>。雌ラットに妊娠前 14 日間、妊娠及び授乳期間を通してポリソルベート 80 (1.35 g/L (約 85 mg/kg 体重/日)) の飲水による経口投与試験で、新生児の探索行動と身体活動が促進された<sup>6-5-12</sup>。30 匹の雌マウスへのポリソルベート 80 の妊娠 8 ~ 12 日強制経口投与 (2.5 g/kg 体重/日) で、新生児数、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<sup>6-5-13</sup>。1 群 25 匹の妊娠ラットにポリソルベート 80 を 6 ~ 15 日間強制経口投与 (500 及び 5,000 mg/kg 体重/日) したところ、投与群の体重及び子宮重量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、着床数及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みられなかった<sup>6-5-14</sup>。

#### ⑦局所刺激性

家兔にポリソルベート 60 の 5%水溶液を 30 日間連日塗布した試験では中等度の刺激性がみられ、10%溶液の場合には皮膚の壊死がみられた<sup>6-6-5</sup>。別の家兔の試験<sup>6-6-6</sup>によると、15%水溶液を 60 日間連日適用しても影響はなく、原液の適用により軽度の刺激性がみられた。マウス皮膚では、ポリソルベート 60 原液の長期間の塗布により局所に炎症性変化がみられている<sup>6-1-2</sup>。

マウスの皮膚に 30%ポリソルベート 65 水溶液を週に 6 日間、30 日適用した試験で局所の炎症と表皮の過形成がみられている<sup>6-1-3</sup>。

家兔の皮膚にポリソルベート 80 の 5%水溶液を 1 ヶ月間連日適用試験で、中等度の刺激性がみられたが、5%水溶液の 10 日間連日適用でははっきりした刺激性はみられていない<sup>6-6-5</sup>。

ヒトの皮膚に対する試験として、68 例の男性について、25%ポリソルベート 60 水溶液を 10 滴ずつ 1 日 2 回 16 週間にわたって頭皮に適用した臨床試験が実施され、1 例に軽度の発赤がみられたと報告されている<sup>6-6-7</sup>。

ポリソルベート 65 原液を閉鎖系で 48 時間適用した試験で、ヒトの皮膚に刺激性はみられていない<sup>6-6-13</sup>。また、60%の水性懸濁液を健常人 50 例に 72 時間適用を 7 日間隔 2 回反復した試験で刺激性がみられなかったとの報告もある<sup>6-6-4</sup>。

ポリソルベート 80 の 5%水溶液の 48 時間の閉鎖系適用でヒトの皮膚に軽度の刺激性がみられる例があったとの報告がある<sup>6-6-11</sup>。一方、50 例の健常人に 48 時間閉鎖系適用をした試験では刺激性はみられていない<sup>6-6-12</sup>。ヒトの眼粘膜に対する影響については、水溶液(pH5 ~ 7)を適用する試験が実施されているが、20%までの濃度では刺激性がみられなかったと報告されている<sup>6-1-4</sup>。

#### ⑧感作性

ポリソルベート 60 を基剤としたクリームもしくはポリソルベート 60 単独を前額皮膚に塗布し、20 分後にその部位に蕁麻疹が生じたとの報告がある<sup>6-7-3</sup>。なお、この報告によるとポリソルベート 60 及びクリームは背部及び腕の皮膚に対しては影響を示さなかった。

化粧品などによる接触皮膚炎が疑われる患者 737 例に 10%ポリソルベート 80 鉍物油溶液を閉鎖パッチにより 48 時間適用したところ、4 例に陽性反応がみられ、内 3 例はポリソルベート 40 にも陽性反応を示した<sup>6-7-11</sup>。湿疹患者を対象としたパッチテストでは、ポリソルベート 80 原液により 330 例中 3 例<sup>6-7-12</sup>、10%ポリソルベート 80 鉍物油溶液により 590 例中 1 例<sup>6-6-12</sup>、5%ポリソルベート 80 + 5%ポリソルベート 40 の鉍物油溶液により 1,206 例中 2 例<sup>6-7-14</sup> に陽性反応がみられている。ポリソルベート 80 に対して過敏性の病歴をもつ慢性鼻炎、鼻粘膜ポリープ及び喘息の患者 21 例に 5 g のポリソルベート 80 を経口投与したところ、鼻の症状の悪化がみられたとの報告がある。この調査では、健常人 19 例について同様の処置がおこなわれているが、反応はみられていない<sup>6-7-15</sup>。

モルモットを用いた試験は、総説に引用されているのみで、未発表の知見であるが、マクシミゼーション法により、ポリソルベート 20 について中等度ないし強度の陽性結果、ポリソルベート 65 について陰性の結果が示されている<sup>6-7-1</sup>。

#### (3) 国際機関等における ADI の設定状況

JECFA は第 17 回会議 (1973) においてポリソルベート 20、40、60、65 及び 80 を評価している<sup>5-2</sup>。JECFA はポリソルベート 60 の混餌投与による 2 年間慢性毒性試験<sup>6-2-14</sup> で 5%投与群 (2,500 mg/kg 体重/日に相当) に有害影響がみられないとの判断に基づき、2,500 mg/kg 体重/日を無毒性量とし、安全係数 100 を適用してポリソルベートのグループ ADI を 0 ~ 25mg/kg 体重/日と設定している。

欧州連合食品科学委員会 (SCF) は 1978 年に JECFA が取り上げたポリソルベート 60 の慢性毒性試験を中心にポリソルベートの評価を実施している<sup>7-4</sup>。SCF は JECFA と同様に下痢の発現を ADI の評価の根拠データとしているが、JECFA が有害影響としなかったラット 5%投与群での軽度の下痢を考慮に入れ、0 ~ 25 mg/kg 体重/日の値をポリソルベートの暫定グループ ADI とし、最終評価に必要な資料として 1 種の動物についての 90 日間経口投与試験と代謝試験のデータを要求した。1983 年に SCF はポリソルベート 60 の 1%、2%及び 5% (500、1,000 及び 2,500 mg/kg

体重/日相当) 添加飼料によるラット 13 週間経口投与試験に基づき再評価を行い、5%投与群で下痢が認められていることから、ポリソルベート類のグループ ADI として 0 ~ 10 mg/kg 体重/日を設定している。その後 SCF は米国の NTP がポリソルベート 80 について実施したラットとマウスによる 2 年間の発がん性試験結果 (1992) <sup>6-2-25</sup> に基づいて ADI を再評価し、ADI の変更の必要がないと結論している <sup>7-5</sup>。

米国 FDA はポリソルベートのグループ ADI として 1,500 mg/ヒト/日 (0 ~ 25 mg/kg 体重/日) を設定している <sup>7-6</sup>。FDA も反復投与毒性試験での下痢に関する無影響量を ADI 設定の根拠にしているが、評価に際しラットとイヌ (5%添加飼料で影響なし) に比べてハムスターの方が感受性が高い (5.0%添加飼料で著名な下痢の発現、2.5%添加飼料 (2,500 mg/kg 体重/日相当) で影響なし) 点を強調している <sup>7-7</sup>。ポリソルベート自身について、ヒトに対する発がんリスクはないと評価している。1999 年のポリソルベート 60 の再評価では、未反応の 1,4-ジオキサン及びエチレンオキシドの極微量の残留を認めているが、残留量から算定されるヒトでの暴露量が著しく低い (1,4-ジオキサン 19 ng/ヒト/日以下、エチレンオキシド 7.7 ng/ヒト/日以下) ことから、ヒトに対する発がんリスクはないと結論づけている <sup>7-6</sup>。なお、ポリソルベートの大量経口投与による下痢の原因として、難吸収性のポリオールの影響及び消化管粘膜に対するポリソルベートの局所刺激が考えられている。

## (6 評価結果)

ポリソルベート 65 及び 80 について、*in vitro* 染色体異常試験で一部陽性結果が報告されているが、発現頻度が低く、かつ、*in vivo* の骨髄小核試験では陰性の結果が得られていることから、ポリソルベート類の遺伝毒性は、生体にとって特段問題となるものではないと考えられる。

ラットを用いたポリソルベート 80 の 2 年間混餌試験において、主として雄に副腎髄質の褐色細胞腫の発生率の増加が報告されているが、カルシウム吸収の増加と共に、難吸収性の物質の大量投与に伴い雄ラットに発現する反応であり、類縁化合物といえるソルビトールやアルコール等の高用量暴露でも雄ラット副腎髄質に同様の影響が現れることが知られており、ヒトに対する発がんリスクを示唆する知見ではないと考えられる。

強力な発がん物質 MNNG (飲水中 50 ppm 及び 100 ppm) とポリソルベート 60 の同時投与で胃腺がんの発生増加と肉腫の発生及び発がんの増強と悪性度の亢進が報告されているが、その程度は大きくなく、試験の規模が小さいこと、*in vivo* 遺伝毒性試験成績が陰性であること等から、ADI の設定においてこれらの試験結果を考慮する必要はないと判断した。

今回、評価を行った 4 物質 (ポリソルベート 20、同 60、同 65 及び同 80) 間に、体内動態及び有害影響について本質的な相違はみられず、グループ ADI を設定することが適切と考えた。