

平成 18 年 4 月

ポリソルベート類に関する補足資料について

厚生労働省食品安全部基準審査課

1. 食品健康影響評価の補足資料について

ポリソルベート 20、同 60、同 65 及び同 80 (以下「ポリソルベート類」)の添加物指定等に関する食品健康影響評価について、食品安全委員会添加物専門調査会における審議の結果、内閣府食品安全委員会事務局評価課より下記の事項について補足資料の提出を求められたもの。

- ・中枢神経系への影響を示唆する Brubaker らの報告(1982)について、再現性を確認した試験成績及びそれに関連する資料

2. その対応について

上記報告の再現性を確認するにあたり、下記の点に留意しつつ本試験の条件設定に向けた予備試験を実施してきたところ。

- ・ OECD のガイドライン及び G L P に準拠
- ・ 適切な投与量の設定
- ・ 自発運動量測定条件の設定

(参考) ポリソルベート類について

ポリソルベート類は、ソルビトール及び無水ソルビトールの水酸基の一部を脂肪酸(主としてポリソルベート 20 ではラウリン酸、同 60 及び 65 ではステアリン酸、同 80 ではオレイン酸)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で、米国、EU、韓国等の諸外国で広く食品添加物として認められている非イオン性の界面活性剤であり、諸外国では添加物(乳化剤、分散化剤、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などに広く利用されている。

ポリソルベート類は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(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(いわゆる国際汎用添加物)に該当する。

ポリソルベート80のラット における神経発生毒性試験 予備実験

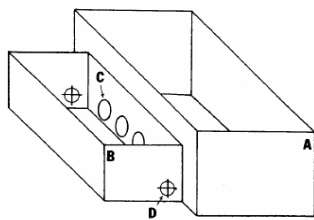
国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
総合評価研究室
江馬 眞

1

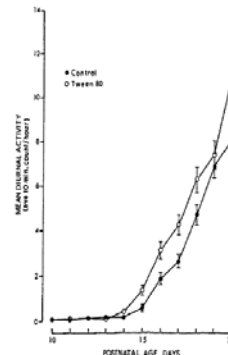
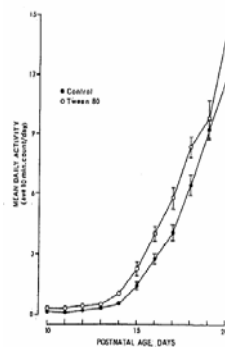
追加試験を必要とする根拠となった論文

Brubaker et al. (1982) Effect of Tween 80 on exploratory behavior and locomotor activity in rats.
Life Sci, 30, 1965-1971.

雌SDラットの妊娠前14日間、交配・妊娠中及び授乳21日まで 0.125% (1.25 mL/L) のTween 80を飲水投与(約100 mg/kg bw/day)したところ、生後10-20日の新生児の探索行動と運動量の増加が観察された。



Crofton et al. (1980) Life Sci, 26, 823-831.



本試験の概要（案）

- OECD Draft TG426 (Developmental Neurotoxicity study) に準拠し、GLP下にて実施する
- 雌雄の動物数（20匹 / 群を推奨）
- 投与用量： 最高投与量は母体重増加の低下が10%を超えない程度の母体毒性発現量とする。投与量間で10倍以上の開きがある場合には、検体投与群を4群とすることが望ましい
- 投与日： 少なくとも着床時期（妊娠6日）から授乳中（生後21日）とする。妊娠0日から投与を行う際には、着床前胚致死作用に注意する
分娩が完了していない場合には、分娩日の投与は行わない
- 児動物の観察：
運動： 離乳日を含めて離乳前3回以上の測定が望ましい、自動化した装置で測定、個々の動物で試験を行う

3

本試験における試験動物数（案）

(OECD Draft TG426における離乳前 / 後の児検査の推奨最小動物数)

Clinical observations & body wt	All animals
Detailed clinical observations	20 / sex
Brain wt (post fixation) PND 11 - 22	10 / sex
Brain wt (unfixed) PND -70	10 / sex
Neuropathol. (immersion/perfusion) PND 11 - 22	10 / sex
Neuropathol. (perfusion) PND -70	10 / sex
Sexual maturation	20 / sex
Other developmental landmarks (optional)	All animals
Behavioral ontogeny	20 / sex
Motor activity	20 / sex
Motor & sensory function	20 / sex
Learning & memory	10 / sex

4

本試験における児動物の割り当て(案)
(OECD Draft TG426のTable 1)

児番号	児の割り当て数	検 査
1 5	-20 + ~20 10 + 10	行動発生 脳重量 / 神経病理学的検査 / 形態計測 (PND 22)
2 6	-20 + ~20 -20 + ~20 -20 + ~20 -20 + ~20 10 + 10	機能 / 行動試験 運動 性成熟 音響驚愕 脳重量 / 神経病理学的検査 / 形態計測 (~PND 70)
3 7	10 + 10	学習、記憶 (PND 23-27)
3 7	10 + 10	学習、記憶 (young adults)
4 8	- -	予備又は追加試験用の動物

5

予備実験：投与液の濃度測定室温下の安定性

- 分光光度計を用い, 360 ~ 200 nmの吸収スペクトル及び234 nmの吸光度を測定
- 0.01%溶液の室温5日間の安定性を確認

6

予備実験：投与量設定のための予備検討

- Crl:CD(SD) 成熟雌ラット
- 各濃度3匹, 2週間投与
- 一般状態, 体重, 摂餌量及び摂水量
- 検討1)
0 (蒸留水), 0.125, 0.375, 1.25, 3.75及び12.5 %
- 検討2)
0 (蒸留水), 5.0, 7.5及び10.0 %

7

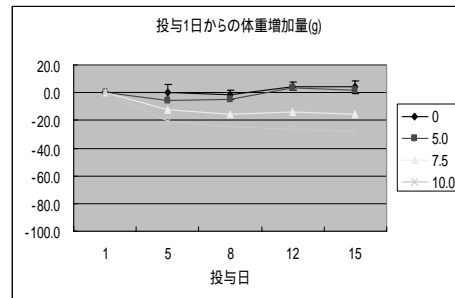
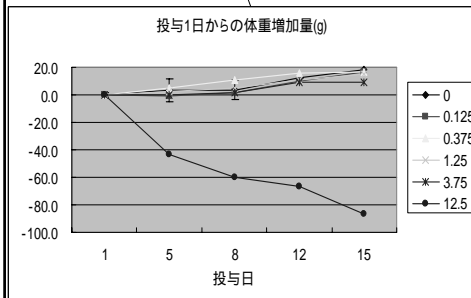
予備実験：一般状態

- 12.5 %: 削瘦, 軟便
- 10.0 %以下: 異常なし

8

予備実験：体重

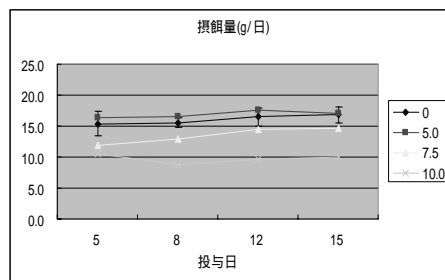
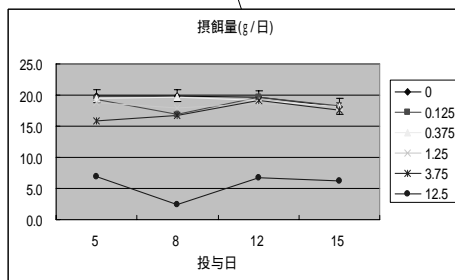
- 12.5%: 著明な減少
- 10.0及び7.5%: 減少
- 5.0%以下: 異常なし



9

予備実験：摂餌量

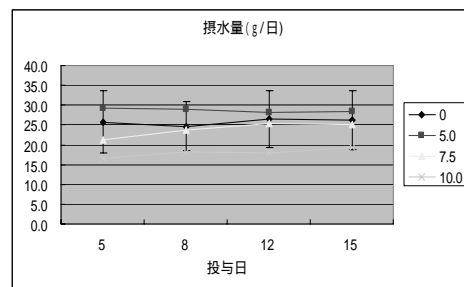
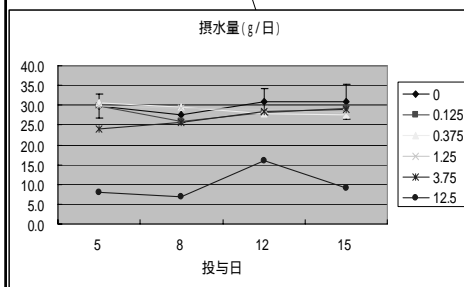
- 12.5%: 著明な減少
- 10.0%: 減少
- 7.5%: 軽度に減少
- 5.0%以下: 異常なし



10

予備実験：摂水量

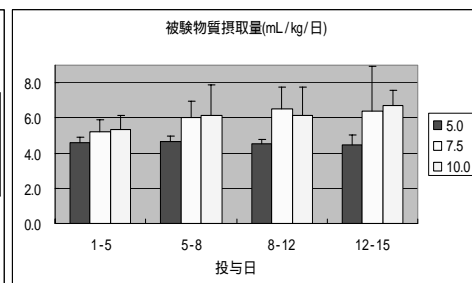
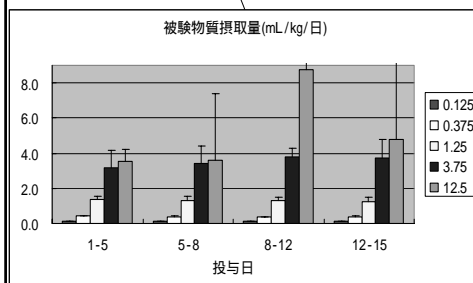
- 12.5%: 著明な減少
- 10.0%: 減少
- 7.5%以下: 異常なし



11

予備実験：被験物質摂取量

- 10.0 及び12.5%: 摂水量の減少に伴い摂取量が増加しない
- 7.5%以下: 濃度相関性に増加



12

投与量の決定

- 高用量: 7.5% (自発運動の亢進が報告されている0.125%の60倍量に相当)
摂水量に影響なく、母動物の摂餌量や体重に軽度な影響が予測される
- 中～低用量: 1.0, 0.13, 0.018% (公比7.5)
- 対照群 (水のみ投与)
- 投与は妊娠0日から分娩後21日とする

13

予備実験: 自発運動量測定

自動化による多数(雌雄各100)の児動物の測定

- 米国Actimetrics社
(ビデオ式行動・運動解析装置、Big Brother)



14

自発運動量測定条件の決定

- 授乳期間中：生後14～15日，17～18日及び20～21日
- 離乳後：生後33～37日 及び60～70日
- 測定時刻：暗期20時及び2時，明期8時及び14時
- 測定時間：10分間

15

試験実施予定

- 発注日： 2006年5月2日
- 動物入手日： 2006年6月6日
- 検疫： 2006年6月6日～12日
- 交配開始日： 2006年6月12日
- 投与開始日： 2006年6月13日
- 分娩観察期間： 2006年7月3日～8月1日
- 離乳時剖検期間： 2006年7月26日～8月20日
- 70日齢剖検期間： 2006年9月12日～10月7日
- 病理組織学的検査： 2006年9月1日～12月8日

16