

## アガリクス（カワリハラタケ）を含む粉末剤型の加工食品 に係るリスクプロファイル

### 1. 食品健康影響評価の対象となるアガリクスを含む加工食品の特徴

今回、健康影響評価を依頼したアガリクス（和名：カワリハラタケ、学名：*Agaricus blazei* Murrill）を含む顆粒状の加工食品3製品である。アガリクスは、キノコの種類であり、この乾燥物を粉末、顆粒及び錠剤にした食品、また乾燥物に栄養補助成分を添加後に粉末、顆粒、錠剤、カプセル状等の形状にした食品、及び菌糸体培養物を粉末、顆粒、錠剤、カプセル状等の形状にした食品が広く販売されている。

3製品のラットによる中期多臓器発がん性試験の結果、製品の製造方法、分析試験成績等は提出資料のとおり。

（キノコは子実体と菌糸体に分けられる。子実体とは傘と軸の部分の名称で、菌糸体とは根の部分の細い糸のような形状をいう）<sup>資料4</sup>。

### 2. 経緯

アガリクス属のキノコに含まれるアガリチンについて、その毒性がかねてより指摘されていたことから、平成12年度厚生科学研究においてアガリクス属のキノコの毒性情報に関する文献検索を実施していたが、アガリクスに関して毒性報告はなかった。

その後、平成14年度にはアガリクスを含む製品のアガリチン含有量の実態調査に着手し、さらに平成15年度からキノコ中のアガリチン及びその誘導体の分析法の開発に関する研究を行い、アガリクス含有製品の一部にアガリチンが比較的高く含有するものがあることが初めて確認された。

一方、アガリクスを含む製品による健康被害が明らかとなった事例は報告されていないが、①アガリクスを含む製品による肝障害の疑い等の複数の事例が、学術雑誌等に掲載されていること ②アガリクスを含む製品が広域流通していることから、厚生労働省では平成15年度より、国立医薬品食品衛生研究所において、アガリクスを含む3製品の遺伝毒性試験及び発がんスクリーニング試験として中期多臓器発がん性試験を実施している。

この結果、国立医薬品食品衛生研究所の研究において、中期多臓器発がん性試験を実施している3製品のうち、1製品（キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒）に発がん促進作用が認められたとの中間報告があったため、今般、アガリクスを含む製品について、食品安全委員会に対し、食品健康影響調査を依頼した。

なお、その他の2製品（仙生露顆粒ゴールド、アガリクス K<sub>2</sub>ABPC 細粒）については、遺伝毒性試験の結果は陰性であり、中期多臓器発がん試験においては、発がん促進作用は認められていない。結果の詳細は提出資料のとおり。

### 3. 遺伝毒性試験及び中期多臓器発がん性試験の概要

(1) 遺伝毒性試験及び中期多臓器発がん性試験に供試した製品

- ・ 仙生露顆粒ゴールド 販売者：(株)サンドリー(※) (以下「製品A」という)
- ・ キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒 販売者：キリンウエルフーズ(株)  
(以下「製品B」という)
- ・ アガリクス K<sub>2</sub>ABPC 細粒 販売者：(株)サンヘルス (以下「製品C」という)

(※) 試験対象とされた「仙生露顆粒ゴールド」は、(株)サンドリーが販売したものであるが、現在、(株)S. S. Iに経営譲渡されている。

(2) 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌 4 株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537) 及び大腸菌 1 株 (WP2 uvrA/pKM101 株) を用いてプレインキュベーション法による復帰突然変異試験を実施し、チャイニーズハムスター肺由来の CHL/IU 細胞株を用いて培養細胞に対する染色体異常誘発性を検索した。

また、雄の 7 週齢の ICR 系 (Crj:CD-1) マウスを用い、骨髄細胞における小核試験を実施した。

(3) 中期多臓器発がん性試験

本試験における試験法、投与量、検体は以下の考えに基づき選定した。

- 中期多臓器発がん性試験は、スクリーニング的意味合いが強いものの、ICH (日・米・EU 医薬品規制調和国際会議) においても発がん性評価における *in vivo* 追加試験のひとつとして推奨されており、国際的にも認められた方法であること、比較的短時間で腫瘍臓器に対する発がん性に関する情報が得られることから、本試験を選択した。
- 投与用量は、本検体の人における摂取様態を勘案し、混餌投与とし、その場合の一般的に毒性が低いと思われる検体について設定する最高用量 5% (\*) を本試験での最高用量とした。
- 低毒性であることが事前に明らかであることから、用量設定試験は行っていない。5%混餌群が正常に摂取されるか否かのみを短期間 (1 週間程度) 確認した。
- 検体の選定は、市販製品の中から、広域かつ一定期間継続的に市場に流通している製品のうち、製造法を大きく 3 種類に大別し、それぞれ、1 製品ずつ、合計 3 製品を選択した。

(\*) 5%最高用量は、混餌により (飼料が希釈されることなどから) 栄養障害を生じることが無いようにするために、経験的に設定された上限である。栄養価の低下した飼料を摂取させると、動物は総摂取量を増やして自動的に摂餌バランスを保とうとするが、5%を超えると飼料の希釈のみの影響で体重増加に差を生じることが経験的にわかっている。

(食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針：厚生省生活衛生局食品化学課

監修)

その結果、中期多臓器発がん性試験において、1製品（製品B）に、1.5%以上の用量で前胃、腎及び甲状腺において発がん促進作用が明らかになり、これらの臓器に対する発がん性が示唆された。この用量はヒト推定暴露量の5～10倍程度であり、また、当該製品は遺伝毒性試験のうち、小核試験は陰性であったが、細菌を用いた復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験が陽性であった。そのため、当該製品の安全性について、食品安全委員会に、食品健康影響評価を依頼したものである。

なお、その他2製品については、遺伝毒性試験は全て陰性であり、中期多臓器発がん性試験において、発がん促進作用は認められていない。結果の詳細は提出資料のとおり。

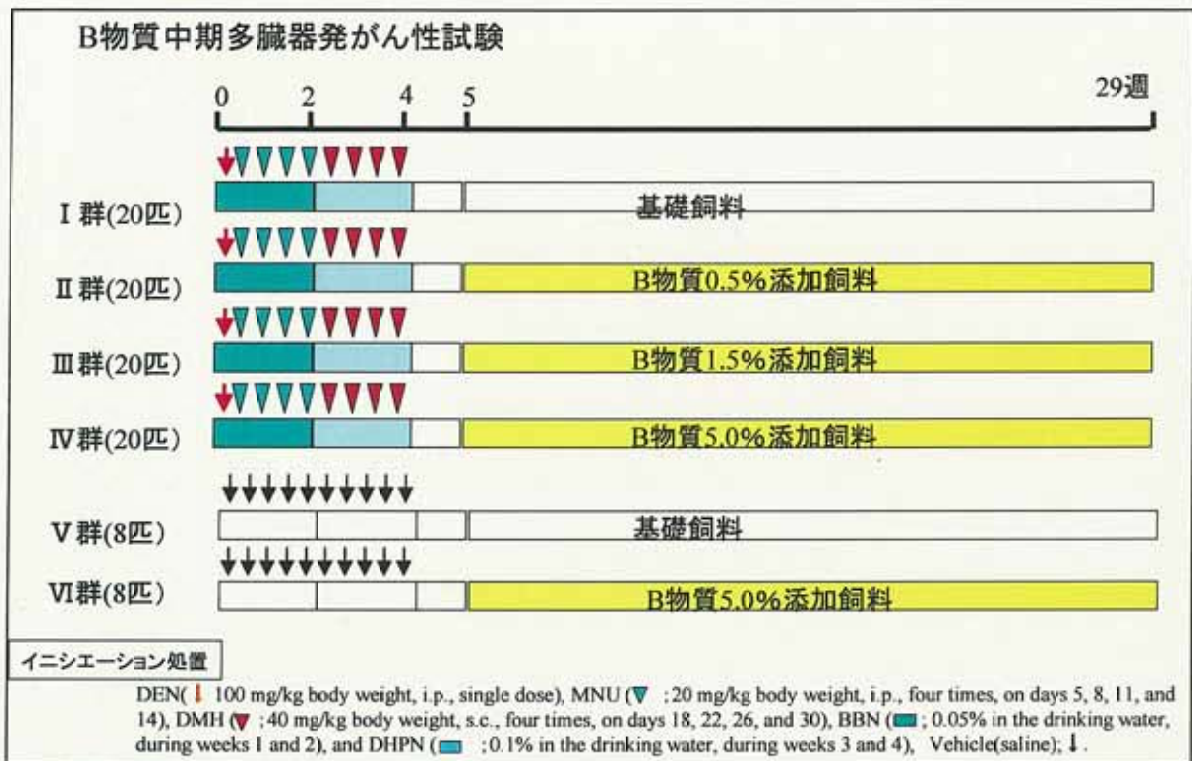
#### (4) 試験結果

##### ① 遺伝毒性試験

	遺伝毒性試験		
	復帰突然変異試験	染色体異常試験	小核試験
A 仙生露顆粒ゴールド	—	—	—
B キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒	+	+	—
C アガリクス K <sub>2</sub> ABPC 細粒	—	—	—

##### ② 中期多臓器発がん性試験

i) 試験方法概略:



F344 系雄ラットに、DEN (N-nitrosodiethylamine)MNU (N-methyl-N-nitrosourea), BBN (N-n-butyl-N- (4-hydroxybutyl)nitrosamine), DMH (1,2'-dimethylhydrazine dihydrochloride (sym, N, N' -))および DHPN (diisopropanolnitrosamine)による多臓器イニシエーション処置 (DMBDD 処置) を行った後、被験物質を 24 週間、0.5%、1.5%、及び 5.0%混餌投与した。対照群にはイニシエーション処置のみの群を置いた。また、参照群としてイニシエーション処置を施さない 2 群を用意し、その 1 群に 5.0%混餌投与を行った。

DMBDD 処置期間および被験物質投与期間を通じて一般状態の観察、体重、摂餌量および摂水量の測定を行い、被験物質投与期間終了時に臨床検査、病理学検査および肝臓の前癌病変の指標である GST-P 陽性細胞巢の免疫組織学的検査を行った。

腫瘍発生等有害事象に関する有意差検定は、対照群との間のフィッシャー直接確率検定 (片側) によった。

ii) キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒 (製品 B) の試験結果 (詳細は提出資料参照)

DMBDD 処置期間中 (第 1~4 週) に死亡例は認められず、DMBDD 処置を行った群では DMH 皮下投与部位である頸部に潰瘍が観察された。

途中死亡例が、DMBDD+0%被験物質 B 投与群で 4 例、DMBDD+5.0%被験物質 B 投与群で 1 例認められた。その内、8 週目で肝障害により死亡した一例と 18 週目に胸腺リンパ腫で死亡した 1 例を以降の解析に当たっての有効匹数から除外することとした。

DMBDD 処置による発がんに起因すると考えられる症状には、腹腔内、下顎部皮下、腋窩部皮下、鼠径部皮下及び左前肢皮下の腫瘍、赤色尿、軟便及び肛門からの出血が認められた。DMBDD 処置を行わなかった群では、一般状態の変化も死亡例も認めら

れなかった。

被験物質 B 投与において、全ての試験群で順調に体重が増加し、被験物質 B の投与が体重増加に影響を及ぼすことはなかったが、DMBDD 処置をした群としなかった群との体重差が回復することはなかった。被験物質 B 投与各群では、被験物質 B 添加による摂餌量の軽微な増加が認められている（最大 6%増）。摂水量では、被験物質 B 投与による明らかな影響は認められなかった。

被験物質の平均摂取量は DMBDD+0.5%被験物質投与群で 231.0 (184~384) mg/kg/day、DMBDD+1.5%被験物質投与群で 685.7 (559~1,147) mg/kg/day、DMBDD+5.0%被験物質投与群で 2323.2 (1,818~3,715) mg/kg/day、無処置+5.0%被験物質投与群で 1979.5 (1,721~2,833) mg/kg/day であった。

血液学検査では、DMBDD+1.5%被験物質 B 群で平均赤血球血色素濃度の増加が認められた。統計学的有意差はなかったが、DMBDD 処置各群において、被験物質 B 投与によりヘマトクリット値が増加する傾向があったことから、被験物質 B は血漿中水分量を減少させることが考えられ、病理組織学検査における腎臓の腫瘍発生に伴う変化と考えられた。

被験物質 B を投与した試験群で用量相関性をもって増加した増殖性・腫瘍性病変は、肉眼的に前胃の白色斑として観察された前胃の扁平上皮過形成、肉眼的に腎臓の嚢胞として観察された腎細胞腺腫・腺癌及び悪性腎間葉性腫瘍/腎芽腫、及び甲状腺濾胞細胞腺腫・腺癌であった。この内、腎細胞腺腫・腺癌ならびに甲状腺濾胞細胞腺腫・腺癌は、DMBDD+1.5%被験物質 B 投与群及び DMBDD+5.0%被験物質 B 投与群で有意な増加が認められた。また、同様に発生頻度の増加を示した非腫瘍性病変は、心臓の単核細胞浸潤、胸骨の軟骨基質粘液変性及び肝細胞脂肪化であった。このうち胸骨の軟骨基質粘液変性は、DMBDD+5.0%被験物質 B 投与群で用量相関的に変性の程度の有意な増強が観察された。

肝臓の GST-P 免疫組織学的検査では、GST-P 陽性巢の数及びその面積に被験物質 B 投与による影響は認められず、肝に対する発がん促進作用は無いと判断された。

以上の結果から、DMBDD 処置による多臓器発がんモデルにおいて、被験物質 B は前胃、腎臓及び甲状腺に対し発がん促進作用があると考えられた。

被験物質 B の発がん促進作用の機序に関しては、以下の考察が可能であると考えられる。ほとんどの遺伝毒性発がん物質及び非遺伝毒性発がん物質は、ともにプロモーター活性を持っていると考えられている。従って本実験で陽性と判断された場合、発がん物質である可能性があるが、遺伝毒性発がん物質とプロモーター作用のみをもつ非遺伝毒性発がん物質を明確に区別することは困難であり、遺伝毒性試験等の結果を参考にする必要がある。被験物質 B の場合、遺伝毒性試験が陽性であるため、遺伝毒性発がん物質である可能性を否定できない。なお、プロモーター活性を示す物質の多くは、標的臓器に細胞増殖などの変化を誘発することが多いため、その作用を確認するための参照群として、イニシエーションを行わないサテライト群を設けている。そうした病変としては、例えば、甲状腺については、血中 TSH の上昇による瀰漫性濾胞過形成 (diffuse follicular hyperplasia)、肝については、アポトーシス、核分裂像や変異

細胞巢、腎臓では再生尿細管の増加などがある。甲状腺濾胞上皮由来の腫瘍の発生機序としては、化学物質が直接濾胞上皮細胞に作用する場合と甲状腺ホルモンの合成を阻害もしくは代謝を促進することにより negative-feedback 機構が持続的に働き、濾胞上皮の過形成を経て腫瘍性病変へと発展する間接作用による場合がある。今回の試験では、参照サテライト群に於ける背景像として、被験物質による濾胞上皮細胞の明瞭な過形成性反応は見られず、ごく軽微な濾胞上皮細胞の細胞の丈の増加（おそらく、画像解析による定量を行って、検出されるかどうかぎりぎりの程度）が観測されたのみである。即ち、下垂体を介した刺激による発がん促進作用以外の作用が働いた可能性がある。

前胃の上皮性腫瘍はニトロソ化合物により誘発されることが知られている。被験物質 B の投与により観察された所見のほとんどは扁平上皮過形成であり、用量相関的に発生数が増加したが、腫瘍の増加は認められなかった。同じ扁平上皮の消化管組織としては食道が挙げられるが、食道の扁平上皮過形成は群による発生数の差異はなかった。これは、被験物質の標的性、食道粘膜における暴露時間や投与形態に起因するのではないかと考えられた。

腎尿細管に於ける変性病変（ $\alpha 2u$ -グロブリンと腎腫瘍発生の関連性の有無の確認の意味を含む）についても、被験物質による（慢性腎症の）増悪所見は明らかでない。このことから、腎発がん促進作用がラット特有の  $\alpha 2u$ -グロブリン関連のものではない可能性が指摘される。

非腫瘍性病変には、心臓の単核球浸潤、胸骨の軟骨基質粘液変性、及び肝細胞の脂肪化を認められている。軟骨基質粘液変性は DMBDD 処置の有無に関わらず観察され、被験物質 B の投与量に依存して病変の程度も増強することから、被験物質 B の作用によるものと考えられた。一方、大腿骨の骨端軟骨や関節軟骨には著変は観察されず、その作用機序や毒性学的意義は不明である。心臓の単核細胞浸潤及び肝細胞脂肪化は、DMBDD 処置を行った群で発生数の増加が認められることと DMBDD 処置を行わなかった群での心臓の単核細胞浸潤は被験物質 B を投与しても発生数や程度に差がないことから、DMBDD 処置による作用を修飾する被験物質 B の作用によるものと考えられた。

### iii) 仙生露顆粒ゴールド（製品 A）の結果（詳細は提出資料参照）

DMBDD 処置期間中（第 1～4 週）に、死亡例は認められなかった。一般状態では DMBDD 処置の影響として、皮下投与部位における皮膚の潰瘍もしくは痂皮形成が多くの動物に観察された。DMBDD 非処置動物では、異常所見は観察されなかった。

実験終了の 29 週経過後における生存率は、DMBDD 処置の対照群（第 1 群）の 81%（17/21 例）に対し、被験物質 A の 0.5%群（第 2 群）で 90%（19/21 例）、1.5%群（第 3 群）で 90%（19/21 例）、5.0%群（第 4 群）で 95%（20/21 例）であり、被験物質投与の生存率に対する影響を認めなかった。なお、死亡例は 22 週以降に認められたことから、解析に当たっての有効匹数に含める事とした。

被験物質投与期間中においては DMBDD 処置群（第 1～4 群）で消瘦、呼吸困難、皮膚の蒼白、腹部膨満などが少数例に認められたが、いずれも対照群（第 1 群）との間に差を認めず、被験物質投与の影響と考えなかった。また、第 1～4 群では DMBDD 処置に

起因する皮膚の潰瘍及び痂皮は、被験物質投与 12 週までに回復した。DMBDD 非処置群（第 5 及び 6 群）では、第 6 群の 1 例に斜頸を認めた以外に異常所見は観察されなかった。

体重、摂餌量及び摂水量に被験物質 A 投与による影響を認めなかった。

DMBDD 処置各群の平均被験物質摂取量は 0.5%群（第 2 群）で 285 mg/kg/day、1.5%群（第 3 群）で 829 mg/kg/day、5.0%群（第 4 群）で 2756 mg/kg/day であった。また、DMBDD 非処置 5.0%群（第 6 群）で 2320 mg/kg/day であった。

腎臓の絶対重量及び相対重量は用量相関性をもって 1.5%及び 5.0%群（第 3 及び 4 群）で有意な増加を示した。この変動は発生した腫瘍の大きさが、高用量群に多い傾向によるものと考えられた。

肉眼的病理所見として、腎臓の変色結節（片側性）の発生頻度が、対照群（第 1 群）と比較して 5.0%群（第 4 群）で統計学的に有意な高値を示した。

病理組織学的検査において、腎芽腫の発生頻度が対照群（第 1 群）に対して 1.5%群（第 3 群）で有意な増加を示したものの、用量依存性が明らかでなく、また、コックラン・アルミテージ傾向検定で有意差が認められなかった。また、腎上皮由来の腫瘍性病変（腎細胞腺腫・腺癌）に用量依存的な増加傾向が見られたが、群間比較及びコックラン・アルミテージ傾向検定において有意差は認められなかった。

本法における腎の腫瘍性病変の誘発に関する過去の報告では、腎細胞性腫瘍の発生増加と腎芽腫の発生が乖離する例と、並行して増加する例とがあり、また、発生活源が異なるとされることから、両病変を合計して評価することの科学的妥当性が明らかとなっていない。以上により、被験物質 A 投与による腎発がん促進作用は無いと考えられた。

甲状腺濾胞性腫瘍の病理組織学的診断については、米国 NTP 診断基準のほか、2 段階発がんモデルにおいて高率に発生する背景病変を排除する診断基準による非退縮性病変 (non-regressive lesion) と退縮性病変 (regressive lesions) の発生頻度によっても検討された。前者の基準による濾胞細胞腺腫の発生頻度は 5.0%群（第 4 群）で統計学的に有意な増加が認められているが、濾胞細胞腺癌は増加せず、濾胞細胞腺腫・腺癌を合わせた発生頻度では有意差を認めなかった。後者の診断基準では、退縮性病変及び非退縮性病変の発生頻度には有意差がなかった。1 個体当たりの病変数については、濾胞細胞腺腫及び退縮性病変に有意な増加が認められたが、濾胞細胞腺癌及び非退縮性病変には有意な増加が認められないことから、総合的には、被験物質 A には甲状腺発がん促進作用は無いと考えられた。

肝臓の GST-P 免疫組織学的検査では、GST-P 陽性細胞巢の数及びその面積に被験物質 A 投与による影響は認められず、肝に対する発がん促進作用は無いと判断された。

その他の臓器においても、被験物質 A 投与による腫瘍性及び非腫瘍性病変の発生促進作用は認められなかった。

以上の結果から、被験物質 A は中期多臓器発がん性試験において発がん促進作用を示さないと考えられた。

iv) アガリクス K<sub>2</sub>ABPC 細粒（製品 C）の結果（詳細は提出資料参照）

DMBDD 処置期間中 (第 1~4 週) に DMBDD 処置群の 1 例で死亡が認められた。この死亡例は、被験物質投与前の死亡であることから本試験から除外した。一般状態の観察では、DMBDD 処置を行った群では DMH 皮下投与部位である頸部に脱毛、頸背部皮膚の糜爛・潰瘍及び痂皮形成が観察された。

被験物質処置期間 (6-29 週) における途中死亡例が、DMBDD 処置の対照群 (I 群) で 4 例、0.5%群 (II 群) で 3 例及び 5.0%群 (IV 群) で 2 例認められた。いずれの死亡例も 24 週以降に認められ、有効匹数に含めることとしたが、食失動物 1 例 (IV 群、No. 668) についてのみ、以後の解析に当たっての有効匹数から除外することとした (その結果、有効匹数は、第 I 群から、それぞれ 20、20、20、19、8 及び 8 となった)。

一般状態、体重及び摂餌量に被験物質 C の投与に関連付けられる異常は認められなかった。

DMBDD 処置各群の平均被験物質摂取量は 0.5%群 (II 群) で 235 mg/kg/day、1.5%群 (III 群) で 713 mg/kg/day、5.0%群 (IV 群) で 2400 mg/kg/day。また、DMBDD 非処置 5%群 (VI 群) で 2174mg/kg/day であった。

DMBDD 処置 5.0%群 (IV 群) では、有意な飲水量の増加が認められた。また、DMBDD 非処置群 5.0%群 (VI 群) でも、軽微な飲水量の増加が認められ、被験物質投与の影響であることが考えられたが、毒性学的意義は不明であった。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検及び臓器重量測定では被験物質 C の投与に関連付けられる異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、DMBDD 処置による様々な増殖性病変がみられたが、対照群 (I 群) と比較して発生頻度や程度の増加、発生の早期化などがみられたものはなかった。

肝臓の免疫組織学的検査では GST-P 陽性細胞巢の数及びその面積に被験物質 C 投与の影響はみられなかった。

以上の結果から、被験物質 C は中期多臓器発がん性試験において、発がん促進作用を示さないと考えられた。

#### 4. 対象となる危害要因の科学的特性と分析法

##### (1) 概要

アガリクスは、地面から生え、柄が長くて太く、香りが強いキノコの一つである。現在では「アガリクス」という名称が一般的であるが、日本ではカワリハラタケ (学名: *Agaricus blazei* Murrill) として知られている。1965 年にブラジルで日本人が初めて栽培に成功したキノコで、ブラジル産、中国産のものが多いが、国内でも人工栽培されるようになった。

##### (2) 成分



他のキノコに比べて粗タンパク質が43%と多い。多糖類、ビタミンB2、ビタミンD、マグネシウム、カリウムなどを多く含む。また、アガリクス属キノコには、アガリチンというフェニルヒドラジン誘導体が含まれている<sup>資料1</sup>。

### (3) 分析方法

アガリクスは他のキノコ製品・酵母製品と同様にβ-D-グルカンを含有している。β-D-グルカンの構造特性や分子量分布はキノコの種類により大きく異なり、その構造と活性の関連については一致した見解が得られていない。特異検出キットによるキノコ中β-グルカン総量が測定されている。アガリクス特有のβ-D-グルカンに関しては構造決定に関する報告がある。

ビタミンD前駆物質であるエルゴステロールについてはガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)を用いた分析法の報告がある。

アガリチン分析法は、LC/MS/MSを用いた方法により分析した。

(平成15年度厚生労働科学研究の「担子菌類中の有害物質の評価に関する研究」報告書)

### (4) 毒性関連情報

#### ① 構造及び物性

- ・ アガリクス属キノコに含まれるアガリチンそのものには毒性が報告されていないが、アガリチンが生体内のγ-glutamyl transpeptidaseにより分解され、4-(Hydroxymethyl)phenylhydrazine(HMPH)を産生し、さらにHMPHが酸化されて4-(Hydroxymethyl)benzenediazonium ion(HMBD)が生成されると考えられている<sup>資料1,資料2</sup>。アガリチンの前駆物質として4-Hydrazinobenzoic acid(CPH)、β-N-[g-L-(+)-glutamyl]-4-(carboxy)-phenylhydrazine(GCPH)が考えられている。
- ・ マッシュルーム中のアガリチン量については、加熱加工(煮る、揚げる、電子レンジによる加熱)により減衰されるという報告がある。またアガリチンは開放系の水溶液中では、2日間で完全に分解されることが明らかになっている<sup>資料4</sup>。
- ・ マッシュルーム中のアガリチン量については、種々報告されている<sup>資料5</sup>。平成15年度厚生労働科学研究の調査ではマッシュルーム中のアガリチン量は湿重量で198 μg/gと測定された。

#### ② 体内動態

- ・ マウスやラット等の動物実験で経口投与された放射同位元素標識アガリチンの代謝は速やかに行われ、消失する。数時間で血中放射活性レベルはピークに達し、3時間後消化管内には検出されなくなる。アガリチンの代謝体で考えられる毒性が強い第一候補としてHMBDがあるが、動態研究では血液からは検出されていない。
- ・ アガリクス経口投与マウスでは、アガリチンは20分で血中濃度が最大となり、その後急速に消失、90分以降は検出されなかった。アガリチン標準品を用いた実

験においても同様の傾向が見られた。(平成 16 年度厚生労働科学研究)

- ・ 経口投与された放射同位元素標識アガリチンを用いた代謝実験では、投与後数日たっても、肝臓、腎臓、胃などで共有結合された放射活性が残存する。最も高い放射活性が残存するのは胃である。 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase はアガリチンを 2 化合物に分解する。そのうち主要のものが HMPH であり、次に強い変異原性のある HMBD に代謝すると考えられている。<sup>資料 2-1</sup>

### ③ DNA 結合性と変異原性

- ・ アガリチンの代謝体で考えられる HMBD は強い変異原性及び発がん性が示唆されている。
- ・ HMBD は aryl diazenyl ラジカルと aryl ラジカルの 2 種のラジカルを産生し、DNA の deoxyribose 単位の C や、プリン環の N に反応し、DNA 損傷を起こすと考えられている<sup>資料 2-2</sup>。
- ・ Ames テストでマッシュルームの水抽出・エタノール抽出に弱い活性があることが示されている。また精製されたアガリチンにおいても弱い変異原性があることが示されている。そのためマッシュルーム抽出物の遺伝毒性はアガリチンやその代謝誘導体によるものと示唆されている<sup>資料 6, 資料 7</sup>。なお、アガリチンの変異原性は、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase の高い腎ホモジネートを代謝活性化系として用いた場合の方が肝ミクロソームを用いた場合より強く現れることが確認されている。
- ・ また、トランスジェニックマウス (LacI gene を挿入した組換えマウス) を用いた粗抽出アガリチン経口投与実験において、粗抽出アガリチンは前胃、腎臓に変異を誘発したとの報告がある。また HMBD が末梢のリンパ球に小核を誘発するとの報告がある。

### ④ 毒性試験

- ・ 発がん性の観点としてアガリクスの慢性毒性実験は行われていないが、マッシュルームとそのフェニルヒドラジンのマウスを用いた長期発がん性試験研究が以下の論文で行われており、発がん性を示すことが示されている<sup>資料 8-1, 2, 3</sup>。肺、前胃、肝臓、卵巣、腺胃等で腫瘍発生が高い。

Toth B. and Ericson, Cancer Research 46, 4007-4011 (1986), Toth B. et al. Oncology Rep. 4,931-936 (1997a), Toth B. et al. in vivo. 11,227-232 (1997b), Toth B. et al. in vivo. 12,239-244 (1998), McManus et al., Laboratory Invest., 57, 78-85 (1987), Toth B. et al. Anticancer Research. 6,917-920 (1986a), Toth B. et al. Bt. J. Cancer. 46,417-422 (1982)

- ・ マッシュルームの長期発がん性動物実験の 4 つの研究のうち、信頼性のあると思われる 3 つの研究で発がん性があることが示されている<sup>資料 9-1, 2, 3</sup>。残りの 1 つの研究では加工したマッシュルームを用いたもので、腫瘍発生の増加は有意ではないと結論している。

- ・ 一方、ラットの長期毒性試験では、腫瘍が発生しなかったと報告されている。しかし試験動物数が少なく、腫瘍発生の頻度が低いケースは検出できなかったとされている。またこれらの研究では、マッシュルームを加工した飼料をもちいており、そのような加工過程で顕著に活性フェニルヒドラジン誘導体は分解されると考えられている。
- ・ アガリチンの水溶液での溶解したものを長期投与した実験では、発がん性が見られていない。しかし近年、水溶液中で比較的酸化分解することがわかり、この実験の信頼性が疑問視されている<sup>資料9-1</sup>。
- ・ 関連代謝物 CPH, GCPH, HMBD は高い投与量で発がん性があることが示されている<sup>資料9-2, 3, 4</sup>。
- ・ 信頼性のあるマッシュルーム及び関連毒性物質の慢性毒性研究をまとめたものを資料 10 に示す。また北欧のマッシュルーム及び関連毒性物質のリスク評価を資料 11 に示す。

#### (5) その他アガリクスに関する毒性情報

- ・ *Agaricus* の熱水抽出物をマウスに経口投与した場合、脾臓細胞中の Thy1.2 (pan T cells)、L3T4 (CD4, helper T cells) および Lyt2 (CD8, cytotoxic T cells) 陽性の細胞集団の割合が有意に増加した。
- ・ マウスにおいて、double-grafted tumor system を用い、アガリクス子実体の酸処理画分(ATF)で原発性腫瘍(primary tumor)を処理したところ、抗腫瘍活性の著しく上昇したNK細胞が、腫瘍部位へ浸潤した。また、ATFは、試験管内においてアポトーシス誘導によって腫瘍細胞の増殖を直接抑制した。
- ・ 一部のアガリクス製品には、カドミウムの含有量が高いものが見られたが、自主的な基準等を持って対応が図られている。
- ・ 食品添加物であるヒメマツタケ (アガリクス) の水抽出物 (*Agaricus blazei* Murrill) の菌糸体および子実体より水で抽出して得られたもの) をラットに投与し、90日間反復投与毒性試験を行った報告では、ヒメマツタケ水抽出物のNOAEL (無毒性量) は食餌中に5%、すなわち2654mg/kg/日 (雄)、2965mg/kg/日 (雌) であった。また、遺伝毒性試験は陰性であった。

### 5. 対象となる危害要因の海外及び国内における含有実態調査等

#### (1) これまでの国内外の試験結果

アガリクス属のキノコには、アガリチン ( $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxy- methyl phenylhydrazine, Agaritine) <sup>資料2</sup> というフェニルヒドラジン誘導体が含まれており、その毒性についてかねてから指摘されていた。

平成12年度厚生科学研究費補助金生活総合安全研究事業「食品中の有害物質等の評価に関する研究(主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所 合田幸広)」において、アガリクス属キノコ27種のヒドラジン誘導体の存在及びその毒性情報に関する文献調査が行われ、アガリクス (*Agaricus blazei* Murrill) に関しては、アガリチンを含め

たヒドラジン誘導体の存在、及びその毒性情報に関する報告は見受けられていなかった<sup>資料12</sup>。また、マッシュルーム (*Agaricus bisporous*) にはアガリチンが含まれており、マウスを用いた動物実験において発がん性が確認されているとの文献報告があった。

平成14年度厚生労働省により、アガリクスを含む食品について簡易分析によるアガリチン含有量の実態調査が行われ、市販の粉末、顆粒及び錠剤等の形状のアガリクスを含む食品の一部にアガリチンが比較的高く含有されていることが認められた。平成15年度から平成17年度の厚生労働科学研究費補助金食品の安全性高度化推進研究事業「担子菌類中の有害物質の評価に関する研究(主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所 穠山浩)」において開発した、LC/MS/MSを用いた高選択的高感度分析法により、種々のキノコ及びアガリクスを含む食品中のアガリチン含有量を調査したところ、一部のアガリクスを含む製品にアガリチンがN.D.~最大2,017 µg/g dry の範囲でアガリチンが含まれているものがあることが確認された<sup>資料3</sup>。また、マッシュルーム (*Agaricus bisporous*) 中には198 µg/g wet, のアガリチンが検出された。シイタケ (*Lentinus edodes*)、マイタケ (*Grifola frondosa*)、ブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*)、エリンギ (*Pleurotus eryngii*) 中にはアガリチンは検出されなかった。また、平成17年度厚生労働省により、下記のアガリクスを含む製品において、アガリチンの前駆物質の1つであるβ-N-[g-L-(+)glutamyl]-4-(carboxy)-phenylhydrazine (GCPH)について調査したところ、アガリチンより含有量は低いN.D.~24.8 µg/g dry の範囲で検出された(下記参考を参照)。

(2) 評価依頼した当該製品中のアガリチン含量<sup>資料3</sup>

(µg/g dry)

	H17年度調査
製品A 仙生露顆粒ゴールド	408
製品B キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒	1348
製品C アガリクス K <sub>2</sub> ABPC 細粒	N. D.

N. D. : 検出限界以下

(参考) 評価依頼した当該製品中の GCPH 含量

(µg/g dry)

	H17年度調査
製品A 仙生露顆粒ゴールド	5.0
製品B キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒	24.8
製品C アガリクス K <sub>2</sub> ABPC 細粒	N. D.

N. D. : 検出限界以下

(3) アガリチン摂取状況

### ① 北欧のマッシュルームからのアガリチン暴露評価

- ・ デンマーク、アイスランド、ノルウェー、スウェーデンの北欧の国々では、マッシュルームを食用習慣として摂取している。
- ・ アガリチンの1日摂取量は  $2.1-36 \mu\text{g/day/kg body weight}$  (北欧人の平均体重 60 kg で換算) 年間 48-788 mg/year の摂取量
- ・ マウスの慢性投与毒性実験のデータからリスク評価が平均して  $200 \times 10^6$  と計算されている。これは生やフリーズドライのマッシュルームを1日に  $0.1 \text{ g/kg body weight}$  (1日摂取量 6 g) を一生涯食べ続けると 1/5000 の確率でがんが発生する危険性があると評価されている<sup>資料12</sup>。(がん発生リスクは Linear extrapolation 法によって計算された。マウスの平均体重を 25g、ヒトの平均体重を 60kg で、マウスの平均寿命を 70 weeks とし、加工による影響などは考慮していない。)

### ② 我が国のマッシュルームからのアガリチン暴露評価

- ・ 国民栄養摂取の調査のキノコ類内訳から1日に摂取する平均マッシュルーム量は下記となっている。マッシュルーム 0.062 g、マッシュルーム(ゆで) 0.019 g、マッシュルーム水煮缶詰 0.283 g
- ・ 調査したマッシュルーム及び缶詰の測定データから、缶詰中のマッシュルームは乾燥重量で  $6.7 \mu\text{g/g}$  でマッシュルームは湿重量で  $198 \mu\text{g/g}$  となる。缶詰のマッシュルームは乾燥重量の値なので若干多く見積もることになるが、この測定値を用いてアガリチン摂取量を計算すると、合計で  $14.3 \mu\text{g/g}$  になる。これを日本人の平均体重 50 kg として、kg body weight に計算すると  $0.29 \mu\text{g/day/kg body weight}$  になる。
- ・ 北欧のマッシュルーム中アガリチンの摂取量  $2.1-36 \mu\text{g/day/kg body weight}$  なので、1日に約 5-6 g マッシュルームを摂取する北欧人に比べて、約 1/10 以下の摂取量になる。

### ③ アガリクス乾燥物食品からのアガリチン摂取試算

- ・ キリン細胞壁破碎アガリクス顆粒の推奨される1日摂取量 (5 g) とアガリチンの定量値 ( $1.35 \text{ mg/g}$ ) から1日摂取量を計算すると、 $1.35 \text{ mg/g} \times 5 \text{ g} = 6.75 \text{ mg}$  になり、日本人の平均体重を 50 kg として1 kg あたりで計算すると  $6.75 \text{ mg} / 50 \text{ kg} = 135 \mu\text{g/day/kg body weight}$  となる。
- ・ 仙生露顆粒ゴールドの推奨される1日摂取量 (1.8-5.4 g) とアガリチンの定量値 ( $0.41 \text{ mg/g}$ ) から1日摂取量を計算すると、 $0.41 \text{ mg/g} \times 1.8-5.4 \text{ g} = 0.74-2.21 \text{ mg}$  になり、日本人の平均体重を 50 kg として1 kg あたりで計算すると  $0.74-2.21 \text{ mg} / 50 \text{ kg} = 14.8-44.3 \mu\text{g/day/kg body weight}$  となる。

## 6. 対象となる危害要因の既知の食品からの低減方法

過剰摂取しないこと (バランスのよい食事に気をつけること。)

## 7. 対象となる危害要因のリスクに対する消費者の認識

リスクに対する認識はおそらくないと思われる。

#### 8. 対象となる危害要因に対する国際的及び各国の取り組み状況

アガリクスに関する規制はないと考えられる。

#### 9. その他の参考事項 (アガリチンについて)

##### (1) 対象となる危害要因の既知の食品からの低減方法

マッシュルーム中のアガリチン量については、加熱加工(煮る、揚げる、電子レンジによる加熱)により減衰されるという報告がある。

##### (2) 対象となる危害要因のリスクに対する消費者の認識

一般に認識されていないと考えられる。

##### (3) 対象となる危害要因に対する国際的及び各国の取り組み状況

###### ① 国際がん研究機関 (IARC)

アガリチン ( $\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)Glutamyl]-4-hydroxy- methyl phenylhydrazine ) について、グループ 3 (人に対する発がん性について分類できないもの) とされている。

###### ② FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合 (JECFA)

これまでに評価は行われていない。Phenylhydrazines (Agaritine を含む) について、PRIORITY LIST に掲載されている。

##### (4) その他

物質の特定	
CAS No.	2757-90-6
英名	Agaritine
和名	アガリチン
分子式	$C_{12}H_{17}N_3O_4$
分子量	267.28
別名(英名)	$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)Glutamyl]-4-hydroxy- methyl phenylhydrazine
別名(和名)	$\beta$ -N-[ $\gamma$ -L-(+)グルタミル]-4-ヒドロキシ-メチル フェニルヒドラジン

#### 10. 現時点で不足しているデータ

被験物質 B の遺伝毒性におけるアガリチンの関与を検証するため、細菌を用いた復帰突然変異試験を実施する必要がある。

アガリチン、被験物質 B について滅菌水に懸濁直後のものと、調製液を数日間放置しアガリチン含量の低下したものを検体とし、大腸菌 (WP2 uvrA/pKM101 株) を用いてプレインキュベーション法による復帰突然変異試験を実施中。