

サッカリンカルシウム 指定のための検討報告書

財団法人 日本食品化学研究振興財団

報告書作成：財団法人 日本食品化学研究振興財団
新食品添加物安全性検討委員会

2006年4月

本報告書は、食品添加物の安全性など食品化学に関する調査、研究に対する助成等の活動を行っている財団法人日本食品化学研究振興財団が、厚生労働省の委託により作成したものであります。

この報告書の作成は、当財団内に食品添加物の安全性研究等に経験を有する専門家からなる、新食品添加物安全性検討委員会を組織し、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)で評価した際のデータなど、既存の学術文献を収集して議論を重ね、とりまとめたものであります。

新食品添加物安全性検討委員会委員

- * 林 裕造 元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長
- 蟹澤 成好 横浜市立大学名誉教授
- 鈴木 隆 元国立医薬品食品衛生研究所食品部第2室長
- 祖父尼 俊雄 元国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部長
- 古澤 康秀 明治薬科大学教授
- 山田 隆 元国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
- 吉田 緑 財団法人佐々木研究所病理部主任研究員
- 渡邊 淳 愛知学院大学薬学部長
- 石井 健二 前日本食品添加物協会常務理事安全性委員会担当
- 安原 加壽雄 (財)日本食品化学研究振興財団囑託

* リーダー

目 次 (案)

| | | |
|-----|-------------------------------|----|
| 1. | サッカリンカルシウムの指定の必要性 | 1 |
| 2. | 起源又は発見の経緯及び内外における使用状況 | 3 |
| 1) | 起源又は発見の経緯 | 3 |
| 2) | 外国における使用状況 | 3 |
| (1) | JECFA における評価 | 3 |
| (2) | 米国における使用 | 3 |
| (3) | 欧州連合における使用 | 4 |
| 3) | 日本における経緯と使用状況 | 4 |
| 3. | 物理化学的性質及び成分規格(案) | 6 |
| 1) | 物理化学的性質等 | 6 |
| (1) | 名称 | 6 |
| (2) | 構造式、組成式、分子量 | 6 |
| (3) | 性状 | 6 |
| (4) | 性質 | 6 |
| (5) | 製造方法 | 6 |
| (6) | 成分規格案・他の規格との対比表及び成分規格案の設定根拠 | 7 |
| (7) | サッカリンカルシウムの安定性 | 11 |
| (8) | 食品中の分析 | 11 |
| 4. | 有効性及び必要性 | 12 |
| 1) | 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較 | 12 |
| (1) | 基礎的知見及び食品への使用例 | 12 |
| 2) | 食品中での安定性 | 12 |
| 3) | 食品中の栄養成分に及ぼす影響 | 12 |
| 5. | 体内動態(吸収・分布・代謝・排泄) | 13 |
| 1) | まとめ | 13 |
| 2) | 個別データ | 13 |

| | | |
|-----|-----------------------------------|----|
| (1) | 吸収 | 13 |
| (2) | 排泄 | 14 |
| (3) | 分布 | 14 |
| (4) | 胎盤の通過 | 14 |
| (5) | 生体内変換 | 15 |
| (6) | 個別の代謝例 | 15 |
| 6. | 安全性 | 17 |
| 1) | 単回投与毒性試験 | 17 |
| 2) | 反復投与毒性試験 | 17 |
| (1) | ラット | 17 |
| (2) | マウス | 19 |
| (3) | イヌ | 20 |
| 3) | 変異原性 | 20 |
| (1) | まとめ | 20 |
| (2) | 概要 | 21 |
| 4) | 発がん性 | 24 |
| 5) | 生殖発生毒性試験 | 27 |
| (1) | 繁殖性 | 27 |
| (2) | 催奇形性 | 28 |
| 6) | 一般薬理試験 | 29 |
| 7) | ヒトについての知見 | 29 |
| 7. | 国際委員会などにおける安全性評価 | 31 |
| 1) | FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会(JECFA)における評価 | 31 |
| 2) | 米国 FDA における評価 | 32 |
| 3) | 欧州連合における評価 | 32 |
| 8. | 検討委員会における安全性評価と ADI の試算 | 34 |
| 9. | サッカリンカルシウムの使用基準(案) | 35 |

一日摂取量の推定について

1. サッカリンカルシウムの指定の必要性（案）

サッカリン及びその塩類（ナトリウム塩、カルシウム塩等）は食卓用甘味料、清涼飲料水等多くの食品、糖尿病患者向け食品等にノーカロリー（non-caloric）甘味料として広く欧米諸国などにおいて使用されている食品添加物である(6)(7)(92)。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、第 11 回会合（1967 年）において始めて評価され、ADI（Acceptable Daily Intake：一日摂取許容量）を 5mg/kg(bw)とし、ダイエット食品には 5～15mg/kg (bw)とした(37)。その後、第 18 回(1974 年)会合を経て、第 21 回(1978 年)会合においては雄ラットにおける高用量(5%)摂取での膀胱がん発生の評価には検討を要するとして暫定 ADI：2.5mg/kg (bw)とした(38)。

その後、第 24 回、第 26 回、第 28 回会合を経て、第 41 回(1993 年)の会合では、ラットでの 2 世代の長期毒性試験、上記病変の発症機構の研究結果や疫学調査データにもとづき、サッカリンナトリウムの雄ラットにおける膀胱がん発症はヒトにおいて毒性学的意義は少ないとし、サッカリンとそのナトリウム、カリウム、カルシウム塩のグループ ADI として 5.0 mg/kg (bw) が確定した(2)。

また、IARC(International Agency for Research on Cancer)では 1999 年、サッカリン及びその塩類の評価を行い、グループ 3（人に対する発がん性については分類できない）としている(6)。

一方米国において、サッカリンカルシウムは、サッカリン、同ナトリウム塩、同アンモニウム塩とともにグループ物質として甘味料用途（卓上用甘味料、清涼飲料水、粉末飲料など）に上限を定め、その範囲内で使用が認められている(7)。

また、欧州連合では、サッカリンカルシウム(E 954)はサッカリン、同カリウム塩、同ナトリウム塩とともに甘味料として使用が認められている。使用対象食品（非アルコール飲料、デザート類、菓子類など）毎に最高使用濃度が定められている(92)。サッカリン及びその塩類の安全性評価は欧州連合、食品科学委員会（SCF：Scientific Committee for Food）の 1977 年、1985 年、1988 年、1995 年会合での検討を経て最終的に 1997 年の報告書では、上記 JECFA、米国と同様の評価がされている(12)。

一方、日本では 1901 年からサッカリンが治療の目的で飲食物に使用され、次いで昭和 21 年（1946 年）サッカリンナトリウムが一般食品への使用が許可されている。

その後、食品衛生法の施行に伴いサッカリンナトリウムが昭和 23 年、食品添加物に指定され、甘味料として広く食品に使用されてきており、またサッカリン（acid type）は、昭和 36 年食品添加物に指定されているがサッカリンカルシウムは未指定の添加物である。そのためサッカリンカルシウムの食品への使用が禁止されており、これを使用した食品等は海外からの輸入が禁止されている。

厚生労働省は、平成 14 年 7 月、薬事・食品衛生審議会において国際的に安全性が評価され、かつ広く使用されている食品添加物については、企業からの指定要請を待つことなく国が主体

となつて安全性評価等を行い、指定の方向で検討していく方針を示している。

サッカリンカルシウムは前述のように国際的に安全性が評価され、かつ海外において広く使用されている食品添加物であることから、平成 14 年 12 月 19 日に開催された薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性・添加物合同部会において、上記の方針に従いサッカリンカルシウムは指定対象品目のグループ 2 として位置づけを行っている。

以上の理由からサッカリンカルシウムについても同様に国際的整合性を図る目的で、食品添加物として指定の可否を検討する必要がある。

2. 起源又は発見の経緯及び内外における使用状況

1) 起源又は発見の経緯

サッカリンは1879年にI. RemsenとC. Fahlbergによってオルトトルエンスルホンアミドの酸化反応中に強い甘味物質として発見され、同人らによりサッカリンと命名された。後述のように本品並びにその塩類は哺乳動物において吸収された後代謝されることなくそのまま排泄されることから、糖尿病患者など向けの栄養価のない人工甘味料として1880年代欧米において世界で一番早く実用化された。わが国では1901年に始めてサッカリンが疾病治療向け食品の甘味料として、次いで第2次大戦後1946年にサッカリンナトリウム塩も一般飲食物に使用が許可され、その後、1948年食品衛生法の施行に伴い、サッカリンナトリウムが食品添加物として指定された。(36)

2) 外国における使用状況

(1) JECFAにおける評価

サッカリンとそのカルシウム塩を含む塩類の安全性はFAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)の第11回会合(1967年)で始めて評価され、ADI(Acceptable Daily Intake: 一日摂取許容量)が、一般の食品に対し5 mg/kg(bw)、ダイエット食品には5-15 mg/kg(bw)とされた後(37)、第18回(1974年)(40)を経て、第21回(1978年)会合において高濃度サッカリンナトリウムによる雄ラットでの膀胱がん発現の評価に検討を要するとして、暫定ADI 2.5 mg/kg(bw)が設定された(38)。その後、第24回(1980年)(1)、第28回(1984年)(42)での検討を経て、第41回(1993年)(2)の会合において上記病変の発症機構の研究結果や疫学調査データにもとづき、サッカリンナトリウムの雄ラットにおける膀胱がん発症はヒトにおいて毒性学的意義は少ないとされ、サッカリンとそのナトリウム、カリウム、カルシウム塩のグループADIとして5.0 mg/kg(bw)が確定した。

(2) 米国における使用

サッカリンカルシウムは米国においてサッカリン、同ナトリウム塩、同アンモニウム塩とともにグループ物質として甘味料用途に使用が認められており、使用対象食品(卓上用甘味料、清涼飲料水、粉末飲料など) 最高使用濃度が定められている(21CFR180.37)(7)。成分規格はFood Chemicals Codex規格に従う(8)。

サッカリンは1971年まではGRAS物質(Generally Recognized as Safe Substance: 一般に安全と認められる物質)であったが、同年ラットにおける膀胱がん誘発の報告がサッカリンナトリウムについて発表されたため、GRAS物質リストから削除され、暫定食品添加物とされた(57)。その後、FDA(食品医薬品庁)は食品医薬品化粧品法のデラニー条項(安全性を評価するのに適切な、ヒト若しくは動物に於ける試験で発がん性が認められた物質は食品添加物若しくは色素添加物として使用してはならない、というもの)にもとづいて、1977年に食品添

加物としての使用を禁止する提案を行った。しかし、この膀胱がんのヒトでの意義が明らかでなく、また当時サッカリンに代わる適当な高甘味度甘味料(糖尿病患者用など)はなかったことなどから、議会は禁止提案の発効を一時停止する法律を採択(モラトリウム)、以後モラトリウム有効期限の延長が数回に亘りなされた(61)。また、サッカリンとその塩類を含む食品等には、動物で発がん性が知られている旨の警告表示が義務付けられた(61)。一方、膀胱がんについては、再現性試験、関連の毒性試験、製品中の不純物による可能性の研究、膀胱がん発現の機構研究、疫学的調査など多く試験・研究が米国・カナダを中心に実施された。その結果、高濃度のサッカリンナトリウムによる雄ラットでの膀胱がん発現は、尿の高ナトリウム濃度、高 pH によること、主にラットに限られることがなどから(後記 6.安全性参照) ヒトには適用できないことが次第に明らかになり、FDA は 1991 年、使用禁止提案を撤回した(61)(96)。また、米国国家毒性計画(National Toxicology Program)は 2000 年 5 月、サッカリン類を発がん物質リストから削除した(15)。これにもとづき、議会は前述の警告表示の削除法案を採択させた(96)(97)。

サッカリン類の使用量に関しては NAS/NRC 調査報告書(1989)がある。同報告書においてサッカリンカルシウムは以下のように報告されている(17)。

1970 年 15,200 ポンド(6.84 トン)、1975 年 20,800 ポンド(9.36 トン)、1976 年 1,930 ポンド(0.87 トン)、1982 年 24,200 ポンド(10.9 トン)、1987 年 12,800 ポンド(5.76 トン)
用途：甘味料

(3) 欧州連合

欧州連合においてもサッカリンカルシウムはサッカリン、同カリウム塩、同ナトリウム塩とともに甘味料として使用が認められている(E 954)。使用対象食品(非アルコール飲料、デザート類、菓子類など)毎に最高使用濃度(92) また成分規格が定められている(11)。サッカリン類の安全性評価は欧州連合、食品科学委員会(Scientific Committee for Food) 1977 年(55)、1985 年(9)、1988 年(10)、1990 年、1995 年会合での検討を経て最終的に 1997 年の報告書において、上記 JECFA、米国と同様の評価がなされた(12)。

英国における食品添加物の摂取量調査において(英国政府農林水産省食糧省、1984-1986 年調査) サッカリン関連物質の摂取量は合計量として 12.2mg/人/日、と報告されている(62)。

また、欧州連合の各国が最近実施した食品添加物の摂取量調査において、成人については理論最大摂取量は ADI(5 mg/kg(bw)) を超えないので詳細な摂取量の算定は不要であること、一方幼児については、使用対象食品の実喫食量に最高使用濃度を組み合わせた算定において、各国におけるサッカリン類の摂取量は上記 ADI の 2-51%と報告されている(39)。

3) 日本における経過と使用状況

わが国では 1901 年に始めてサッカリンナトリウムが疾病治療向け食品の甘味料として、次いで 1946 年にサッカリンナトリウムが一般飲食物に使用が許可された。

1948年、食品衛生法の施行に伴いサッカリンナトリウムが食品添加物として指定され、1961年にはサッカリン (acid type) がチューインガムの甘味料として食品添加物に指定されている(36)。

その後、我が国では1973年4月、雄ラットに高用量(5%)摂取での膀胱がん発生の疑いが生じたこと、及び欧米においては糖尿病患者用食品に限って使用を認めていることなどからサッカリンナトリウムの一般食品への使用を禁止し、当時の栄養改善法第12条の規定より特殊栄養食品の許可を受けたものに限り使用できることとした(57)。

次いで我が国では、同年12月食品衛生調査会毒性・添加物合同部会においてサッカリンの発がん性と有用性の検討を行い、発がん性を否定する資料が得られるまでの間、JECFAで定めているADI:5mg/kg(bw)の1/5を我が国のADIとして、サッカリンナトリウムをしょう油、たくあん、アイスクリームなど一部の食品に使用できるとする使用基準の改正を行った。同時にサッカリン (acid type) をチューインガムに使用する際の使用量に関する基準を設ける改正が行われた(58)(98)。

その後、1974年4月のJECFAの評価確認及び我が国のラットにおける長期毒性研究報告からADIを5mg/kg(bw)とし、1975年7月25日、サッカリンナトリウムの使用基準改正を行い現在の使用基準(後記9・使用基準(案))となっている(56)。

3. 物理化学的性質及び成分規格（案）

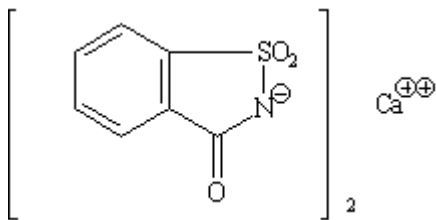
1) 物理化学的性質等 (3)(8)(63)(65)(66)

(1) 名称

サッカリンカルシウム (Calcium Saccharin)

CAS 番号 6485-34-3、INS 954

(2) 構造式、組成式、分子量



$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$; 分子量 (式量) 467.49

$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2$; 分子量 (式量) 404.43

(3) 性状

サッカリンカルシウムは、白色の粉末若しくは結晶性粉末である。無臭若しくは弱い芳香がある。

(4) 性質

ナトリウム塩よりわずかに劣るが、サッカリンカルシウムは水に良く溶ける (サッカリンカルシウム 1g は 1.5ml の水に溶解する。) エチルアルコール、油には溶解性が少ない。水溶液は中性付近 (5~8.5) である。

(5) 製造方法

サッカリンカルシウムは、トルエンとクロルスルホン酸 (Remzen, Fahlberg 法) 若しくは無水フタル酸とアンモニア (Maumee 法) を出発原料として化学合成により製造したサッカリンを水酸化カルシウムで中和して得られる。

(6) 成分規格案・他の規格との対比表及び成分規格案の設定根拠
成分規格(案)

サッカリンカルシウム

Calcium Saccharin

$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$

式量 467.49

Calcium salt hydrate(2:7) of 1,2-benzisothiazole-3-one-1,1-dioxide [6485-34-3] (無水物)

含量 本品を乾燥したものは、99.0%以上を含む。

性状 本品は、白色の粉末又は結晶性粉末である。

確認試験 (1) 本品の水溶液(1→10) 10ml に塩酸 1 ml を加え、生じた結晶性の沈殿をろ過し、冷水で洗い、105℃で2時間乾燥後、測定するとき、融け始める温度は 226℃以上であり、融け終わる温度は 230℃以下である。

(2) 本品 0.02g にレゾルシン 0.04g を混和し、硫酸 10 滴を加え、混合物が暗緑色となるまで穏やかに加熱する。冷後、水 10ml 及び水酸化ナトリウム溶液(1→25) 10ml を加えて溶かすとき、液は、緑色の蛍光を発する。

(3) 本品 0.1g に水酸化ナトリウム溶液(1→25) 5 ml を加えて溶かし、穏やかに加熱して蒸発乾固し、更に炭化しないように注意しながら融解し、アンモニアのにおいを発しなくなるまで加熱を続ける。冷後、水約 20ml を加えて溶かし、塩酸(1→10)で中和した後、ろ過し、ろ液に塩化鉄(Ⅲ)溶液(1→10) 1 滴を加えるとき、液は、紫～赤紫色を呈する。

(4) 本品の溶液(1→10)は、カルシウム塩の反応を呈する。

純度試験 (1) 鉛 Pb として 1.0µg/g 以下(10.0g, 第1法)

(2) セレン 30µg/g 以下

(i) 装置 概略は、次の図による

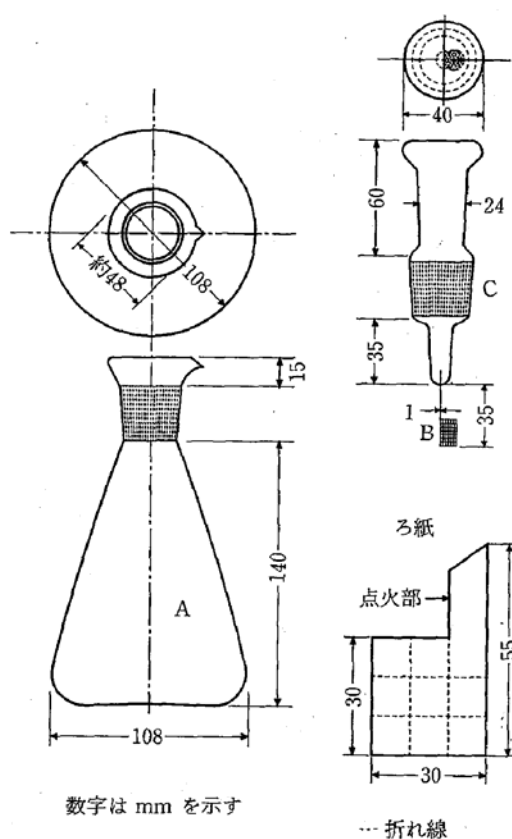
A: 内容量 500ml の無色、肉厚(約 2 mm)の硬質ガラス製のフラスコで、口の上部を受け皿状にしたもの。

B: 白金製のかご又は白金網筒(白金線を用いて栓Cの下端につるす。)

C: 硬質ガラス製の共栓

(ii) 操作法

乾燥した本品 0.20g を図に示す紙の中央部に正確に量り、こぼれないように折れ線に沿って包み、白金製のかご又は白金網筒Bの中に、点火部を外に出して入れる。吸収液として硝酸(1→30) 25ml をフラスコAに入れ、A内にあらかじめ酸素を充満し、栓Cのすり合わせを水で潤した後、点火部に点火し、直ちにA中に入れ、完全に燃焼が終わるまで気密に保持する。次に、A内の白煙が完全に消えるまで時々振り混ぜた後、15～30分間放置する。装置のAの上部に水を入れ、注意してCをとり、試料液をビーカーに移す。水 25ml でC、B及びAの内壁を洗い、洗液を試料液に合わせる。この液を 10 分間静かに煮沸した後、室



温まで冷却し，水を加えて正確に 100ml とし，検液とする。別にセレン 0.060g をとり，硝酸(1 2)100ml を加え，必用ならば水浴上で加熱して溶かし，水を加えて正確に 1,000ml とする。この液 5ml を正確に量り，水を加えて正確に 200ml とする。この液 2ml を正確に量り，硝酸(1 60)を加えて正確に 50ml とし，標準液とする。検液及び標準液 40ml ずつを正確に量り，ビーカーにとり，それぞれにアンモニア水を加え，pH を 1.8~2.2 とする。これに塩酸ヒドロキシアニモニウム 0.2g を加えて静かに振り混ぜて溶かし，次に 2,3-ジアミノナフタリン試液 5ml を加え，振り混ぜた後，100 分間放置する。それぞれの液を分液漏斗に入れ，ビーカーを水 10ml で洗い，洗液を合わせ，シクロヘキサン 5ml を正確に加えて，2 分間よく振り混ぜて抽出する。シクロヘキサン層をと

り，遠心分離して水分を除く。これらの液につき，硝酸(1 60)40ml を用いて同様に操作して得た液を対照とし，紫外可視吸光度測定法により試験を行う。標準液から得た液の波長 378nm 付近の極大吸収波長における検液から得た吸光度は，標準液から得た液の吸光度より大きくない。

- (3) ヒ素 As_2O_3 として 4.0 μ g/g 以下 (0.50g，第 1 法，装置 B)
- (4) 硫酸呈色物 本品 0.20g を 94.5~95.5%硫酸 5ml に溶かし，48~50 に 10 分間保つとき，液の色は，比色標準液 A より濃くない。
- (5) 安息香酸及びサリチル酸 本品 0.5g を量り，熱湯 15ml に溶かし，塩化鉄()溶液(1 →10) 3 滴を加えるとき，沈殿を生じず，紫~赤紫色も呈さない。
- (6) オルトトルエンスルホンアミド オルトトルエンスルホンアミドとして 25 μ g/g 以下

本品 10g を水 70ml に溶かす。酢酸エチル 30ml ずつで 3 回抽出を行い，全酢酸エチル層を合わせ，塩化ナトリウム溶液(1 →4) 30ml で洗い，無水硫酸ナトリウム約 10g を加え，振り混ぜた後，酢酸エチル層を定量的にナス型フラスコに移す。酢酸エチルを留去し，残留物にカフェイン・酢酸エチル溶液(1 →4,000) 1.0ml を加えて溶かし，検液とする。別に オルトトルエンスルホンアミド・酢酸エチル溶液(1 →4,000) 1.0ml を量り，水浴上で加熱して酢酸エチルを除

いた後，残留物にカフェイン・酢酸エチル溶液（1→4,000）1.0mlを加えて溶かし，比較液とする。検液及び比較液につき，次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき，検液のカフェインのピーク高さ（ H_s ）とオルトトルエンスルホンアミドのピーク高さ（ H ）との比 H/H_s は，比較液のカフェインのピーク高さ（ H'_s ）とオルトトルエンスルホンアミドのピーク高さ（ H' ）との比 H'/H'_s を超えない。

操作条件

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム充てん剤

液相 担体に対して3%のコハク酸ジエチレングリコールポリエステル

担体 177~250 μ mのガスクロマトグラフィー用ケイソウ土

カラム管 内径3~4mm，長さ1mのガラス管又はステンレス管

カラム温度 195~205 の一定温度

キャリアーガス 窒素

流量 カフェインのピークが約6分後に現れるように調整する。

乾燥減量 15%以下（120 ，4時間）

定量法 本品乾燥し，その約0.5gを精密に量り，水約10mlを用いて分液漏斗に移す。希塩酸2mlを加え，クロロホルム/エタノール混液（9：1）30ml，ついで，クロロホルム/エタノール混液（9：1）で5回抽出し，各抽出液をクロロホルム/エタノール混液（9：1）で湿らせた小さな紙を用いてろ過し，ろ液を合する。水浴中で蒸発乾固し，残留物に熱湯75mlを加えて溶かし，冷後，0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 フェノールフタレイン試液3滴）。

0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液1ml = 20.22 mg $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2$

試薬・試液

2,3-ジアミノナフタリン：淡黄褐色の結晶又は粉末である。

融点 193~198

感度 セレン標準液及び硝酸（1 60）40mlずつを正確に量り，それぞれにアンモニア水を加えてpHを1.8~2.2とする。これらの液に塩酸ヒドロキシアニモニウム0.2gを加えて静かに振り混ぜて溶かし，次に2,3-ジアミノナフタリン試液5mlを加え，振り混ぜた後，100分間放置する。それぞれの液を分液漏斗に入れ，ピーカーを水10mlで洗い，洗液は分液漏斗中にを合わせ，シクロヘキサン5mlを正確に加えて，2分間よく振り混ぜて抽出する。シクロヘキサン層をとり，遠心分離して水分を除く。セレン標準液から得た液につき，硝酸（1 60）から得たシクロヘキサン液を対照とし，紫外可視吸光度測定法により試験を行うとき，波長378nmにおける吸光度は0.08以上である。

2,3-ジアミノナフタリン試液：2,3-ジアミノナフタリン 0.10g 及び塩酸ヒドロキシアニモニウム

△ 0.50g を 0.1mol/L 塩酸に溶かし 100ml とする。使用する日に調製する。

セレン Se [K 8598]

標準液

セレン標準液：セレン 0.040g をとり，硝酸（1 2）100ml を加え，必用ならば水浴上で加熱して溶かし，水を加えて正確に 1,000ml とする。この液 5ml を正確に量り，水を加えて正確に 200ml とする。この液 2ml を正確に量り，硝酸（1 60）を加えて正確に 50ml とする。用時調製する。この液 1ml はセレン(Se)0.04 μg を含む。

他の規格との対比表

| | 本規格案 | JECFA(3) | EU(11) | FCC(8) |
|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|---------------------|-------------|
| 性状 | 白色結晶，又は結晶性粉末 | 同左 | 同左 | 同左 |
| 含量 | 99.0～100.5% | 99%以上 | 95%以上 | 98.0～101.0% |
| 確認試験 | | | | |
| (1) サッカリンの融解温度範囲 | 226～230 | 同左 | 無し | 同左 |
| (2) レゾルシンと反応して蛍光 | 採用 | 採用 | 無し | 採用 |
| (3) 塩化鉄()と反応して紫～赤紫 | 採用 | 採用 | 無し | 採用 |
| (4) カルシウム塩の反応 | 採用 | 採用 | 無し | 採用 |
| 確認試験 | | | | |
| 鉛 | 1.0μg/g 以下 | 1mg/kg 以下 | 1mg/kg 以下 | 2mg/kg 以下 |
| セレン | 30μg/g 以下 | 30mg/kg 以下 | 30mg/kg 以下 | 0.003%以下 |
| ヒ素 | As ₂ O ₃ として 4.0μg/g 以下 | As として 3mg/kg 以下 | As として 3mg/kg 以下 | 規格無し |
| 安息香酸及びサリチル酸の限度試験 | 採用 | 採用 | 採用 | 採用 |
| o-トルエンホルアミド* | 25μg/g 以下 | 25mg/kg 以下 | 10mg/kg 以下 | 0.0025%以下 |
| p-トルエンホルアミド* | 規格無し | 規格無し | 10mg/kg 以下 | 規格無し |
| 安息香酸 p-ホルアミド* | 規格無し | 規格無し | 25mg/kg 以下 | 規格無し |
| 乾燥減量 | 15%以下 | 同左 | 13.5%以下 | 15.0%以下 |
| 易炭化物 | 規格無し | 規格無し | 存在しないこと | 規格無し |

成分規格（案）設定の根拠

JECFA 及び FCC の規格に準じて設定した。

（ 7 ） サッカリンカルシウムの安定性

製品の吸湿性は少なく、安定に保存できる。サッカリンナトリウムは中性、アルカリ性溶液では安定であるが、酸性溶液では長時間加熱すると分解して、オルトスルファモイル安息香酸を生じ甘味を失う。カルシウム塩も同様の性質であると考えられる。

（ 8 ） 食品中の分析

食品中のサッカリンカルシウムは、透析抽出法又は溶媒抽出法により抽出精製し、液体クロマトグラフィーによりサッカリンナトリウムとして定量する。

この方法により、食品中のサッカリン、サッカリンナトリウムも同時に定量される。必要があれば、分子量比を乗じて、サッカリンカルシウムの量として求める。

方法は、「食品衛生検査指針 食品添加物編」による（87）。

4. 有効性及び必要性

1) 食品添加物としての有効性及び同種の添加物との効果の比較

(1) 基礎的知見及び食品への使用例 (36)(64)(65)

サッカリンとその塩類は高甘味の非栄養性の合成甘味料として約 100 年にわたる使用の歴史がある。10,000 倍希釈水溶液でも甘みを感じる。甘味度は砂糖 (10%溶液) と比べて 250 ~ 550 倍である。サッカリン (酸型) とそのナトリウム塩、カルシウム塩の甘味度はほぼ同等であるが、カルシウム塩の甘味の質は、ナトリウム塩に比べてまろやかで、わずかに後味が少ない (63)。サッカリンには若干の苦味・後味があるが、糖質系の甘味料と共用することにより味の矯正ができる (66)。

サッカリンカルシウムはサッカリン、サッカリンナトリウムと同様に、糖尿病患者や肥満者向けの砂糖代替甘味料のほか、一般人向けの卓上甘味料、清涼飲料、冷菓、ダイエット食品などに用いることができる。サッカリンカルシウムは、ナトリウムを含まないので減塩食摂取者向けの甘味料としても有用である。

2) 食品中での安定性 (36)

サッカリンカルシウムはナトリウム塩同様、中性付近の食品中では調理加工で変化することはない。但し、酸性食品中、長時間加熱すると分解し、甘味を失うと考えられる。

3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

サッカリンカルシウムは反応性が低く、炭水化物、たんぱく質、油脂、ビタミン類、ミネラル類への影響はないと考えられる。

5. 体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）

1) まとめ

サッカリン自身が僅かしか水に溶けない(2g/L、20℃)のに比べ、サッカリンカルシウムは弱酸と強塩基との塩であり水に良く溶解する(370g/L、20℃)(43)。従って、強酸である胃液と反応して容易にサッカリンを生成することから、サッカリンナトリウムと同様に扱うことが可能である。それ故、以下の記載はサッカリンナトリウムに基づいて行う。

胃では急速に吸収され、主たる排泄器官である尿中へ速やかに排泄される。pHの高い腸では吸収は遅く、血漿中サッカリン濃度の緩慢な減少の原因となっている。全般に吸収は良く、50~98%程度と考えられている。糞便中へは残りが排泄される。ラットでは吸収率は変動しやすく、高い糞便中濃度は高投与量と関係している。また、同時に摂取する餌の種類によっても吸収率は変わる。また吸収速度は投与量の減少と共に速くなる。

ラット及びヒトでは腎尿細管分泌が主たる排泄機構であり、投与量の増加により腎クリアランスは減少する。これと同時に体内残留量は増加する。

調査した全ての動物種（ヒト、ラット、サル、マウス、ハムスター、ウサギ、モルモット、イヌ）において尿中及び糞便中へはいずれも未変化のサッカリンとして排泄され、代謝を受けない。

ラットにおいて最も高い残留量が腎臓、膀胱及び肝臓で観察された。しかし、投与中止3日後、サッカリンは殆どの組織から速やかに消失し、残留性は認められなかった。

2) 個別データ

(1) 吸収

サッカリンのpKaは2.2でヒト胃液(pH 1.5~2.0)中では主として非イオン状態で存在し、その形でより容易に吸収される。胃液のpHが高い動物種（ラット、pH4.2）よりも低いpHの動物種（モルモット、pH 1.4；ウサギ、pH 1.9）の胃からより完全に吸収され、尿中への排泄は速やかとなる(4)。pHの高い腸では、サッカリンはより緩やかに吸収される(18)。一方、ラット及びヒトに静注されたサッカリンは急速に排泄される。即ち、小腸からの緩やか且つ不完全な吸収が経口投与後の血漿中サッカリンの長時間にわたる減少の原因となっている(18)。ヒトに経口投与したサッカリンの胃腸からの吸収は尿中排泄及びAUC（血中濃度曲線下面積）に基づいて計算すると85%だった(18)。

経口投与後の糞便中の排泄量は未吸収サッカリンの指標として使用されてきた。ラットへ経口投与したサッカリンの糞便中への排泄量は投与量の3-39%であり、胃腸からの吸収は不完全であり変動しやすいことを示している。大部分の場合、サッカリンの高い糞便中濃度は高投与量と関係していた。ヒトでは2g/ヒトの投与量で1-8%が糞中に排泄された(18)。

投与する餌によっても吸収率は変わる。市販の餌に5もしくは7.5%の濃度にサッカリン及びサッカリンの塩を添加した餌の投与実験ではほぼ同量が尿及び糞中に排泄された。これとは

対照的に配合飼料 (AIN-76A) に同じ濃度のサッカリンナトリウムを添加した場合には尿中排泄が 10-20 倍となった。即ち吸収が良くなっている (18)。

(2) 排泄

経口及び非経口投与のいずれにおいても、尿中排泄がサッカリンの基本的排泄ルートである (18)。ラット及びヒトにおいては腎尿細管分泌が主たる排泄機構である。このことはアニオンの腎尿細管分泌の阻害剤であるプロベネシドを投与したときサッカリンの血漿クリアランスの減少により明らかである。糸球体基底膜ろ過はサッカリンの血漿蛋白との高い結合のため、重要な機構と考えられていない。腎尿細管分泌は飽和し得る過程であり、ラットでは 200 µg/mL 以上の血漿中サッカリン濃度により飽和する。それ故、5% を超える食餌中のサッカリン濃度は腎臓でのクリアランスの減少のため血漿及び組織中に蓄積を生ずる。例えば、雄及び雌の麻酔ラットに [³H] サッカリン (1~1000mg/kg 体重) を静脈単回投与すると血漿クリアランスは用量に依存し、高用量では 60% のクリアランスの減少が観察された。また、7.5% あるいは 10% のサッカリンを含む飼料を雄ラットに与えた時の血漿及び組織中のサッカリン濃度は、低用量からの直線外挿に基づく予想値よりも高い (4)。しかしながら、ヒトでの 2g の経口投与 (40 µg/mL のピーク血漿濃度を生じる) 後の腎クリアランスの減少は観察されていない (18)。

その他、ヤギ及びラットではサッカリンはミルク中にも排泄される (4)。

(3) 分布

サッカリンは生理的 pH 条件下でほぼ完全にイオン化し、血漿中の蛋白質と可逆的に結合する。その割合はヒトで 70-80% である (18)。ラットに ¹⁴C- サッカリン (50 mg/kg 体重) を単回投与したのち、経時的に器官及び組織の放射能活性を調べたところ、投与 1 時間後に、痕跡の活性が殆ど全ての器官に観察された。脂肪、脳及び脾臓は極めて低い濃度の ¹⁴C 活性を、腎臓、膀胱及び肝臓は最も高い濃度の ¹⁴C 活性を有し、投与 4 時間及び 8 時間後にピークを示した (4) (18)。引き続き行った実験で、サッカリンを投与されたラット膀胱は 8 及び 0.5mL の 0.9% 食塩による洗浄後も、著しい ¹⁴C 活性がみられた (4)。ラットに ¹⁴C 標識サッカリン (¹⁴C=0 標識、1mg/kg 体重) を単回経口投与したところ腸管から急速に吸収され、投与 15 分以内に組織濃度はピークに達した。一方、1 - 7 日間に渡り繰り返し投与したラット膀胱は単回投与したラット膀胱に比べ、19 倍量を含んでいた。食餌からサッカリンを除くと、ほぼ 3 日で殆どの組織からサッカリンは消失した (4)。どの組織においても生体濃縮を示す証拠はない (18)。

雌ラットに 5% サッカリンを含む飼料を与えると、血漿中及び器官中のサッカリンの濃度は同一飼料を雄ラットに与えたより大きくなる。特に腎臓及び膀胱において著しい (4)。

(4) 胎盤の通過

ラット、サル及びヒトにおいてサッカリンの胎児への移行が認められた (18)。³⁵S サッカリン (100 µCi、266mCi/mmol) をサッカリン 100mg と混ぜ、妊娠 19 日のラット (妊娠 14 日以降

5%サッカリンを投与)に強制経口投与したところ、投与 5 時間後には胎児血液中に投与量の 0.008%が、一方母体の血液中には 0.03-0.04%がそれぞれ認められた(43)。サルでは少量であった(4)。

³H-サッカリンを用いた二世世代研究によれば、胎児組織のサッカリン濃度の減少は母体組織よりも緩やかであることが判明した。特に、母体への単回経口投与 48 時間後において、胎児膀胱壁のサッカリン濃度の減少は比較的緩やかであった。それにもかかわらず、母親が 5%サッカリン飼料を与えられた胎児の肝臓及び腎臓のサッカリン濃度は母親の値より低く、胎児膀胱中の濃度は同じ程度かあるいは僅かに高かったのみであった。雄ラットに関し、子宮中にある間あるいは授乳期間中に腫瘍形成の原因となる膀胱壁あるいは他の組織への過剰な蓄積の証拠はない(35)。

(5) 生体内変換

多くの研究に基づいた共通の結論によれば、ヒト及び多くの種でサッカリンは代謝されない。また、放射能標識したサッカリンは *in vivo* でラットの肝臓あるいは膀胱の DNA と結合しない(18)。

(6) 個別の代謝例

ラット

ドンリュウ系の雄(4 匹)及び雌(2 匹)ラットにベンゼン環を均一に標識した ¹⁴C-サッカリン(40 mg/kg)を投与した。投与 96 時間以内に 90%以上の放射活性が尿中に回収された。全尿の抽出物の TLC によれば、サッカリンの単一のスポットのみが検出された。48 時間以内に投与量の 3 - 4%が糞中に未変化のサッカリンとして回収された。最初の 48 時間で、経口投与量の 0.3%以下のサッカリンが未変化のまま胆汁中に排泄された。尿中抽出物中に、僅かな量の 2 位の加水分解物、オルトスルファモイル安息香酸、そのアンモニウム塩、あるいはベンゼンスルホンアミドと推定される物質が得られたが、³⁵S 標識サッカリンを投与したラット尿中には観察されなかった。結論として上記の物質が製品中の不純物である可能性を否定できない(4)(43)。フェノバルビタールによるラット肝臓の薬物代謝酵素の誘導を試みたが、サッカリン代謝に影響しなかった(4)。

¹⁴C=O 標識サッカリンナトリウムで処理したラットでは大部分の放射能は投与 24 時間以内に排泄され、呼気中の放射能活性はほんの僅かな量であった(4)。

ヒト

女性 6 人に平均して 100-300mg/日を経口投与したサッカリンの血漿中濃度は 0.5 ~ 1 時間でピークに達し、半減期は 7.5 時間であった(43)。また別の報告で、ヒトの尿中排泄半減期はラット(30 分)より長く 70 分であった(43)。

別の実験で 4 人の男性に 500mg の ¹⁴C-サッカリン(ベンゼン環に均一標識)を投与し排泄物を、96 時間にわたり、一定間隔で集めた。¹⁴C の 98%以上が 48 時間以内に回収された(尿

中、92.3%;糞中、5.8%)。更に0.3%が48~72時間に排泄された。その結果、ヒトは他の種同様サッカリンを代謝しないと結論された(4)。

6 . 安全性

1) 単回投与毒性試験

サッカリンカルシウムの急性毒性に関する試験成績を確認することは出来なかった。JECFA ではサッカリンやサッカリンのカリウムおよびナトリウム塩を含めグループとして ADI を評価しており、サッカリンナトリウムをラット、マウス、ハムスターあるいはウサギに経口投与した試験成績が報告されていることから、これらの試験成績からサッカリンカルシウムの安全性を推察することとした。

LD50 値はラットで 14,200 ~ 17,000mg/kg 体重、マウスで 17,500mg/kg 体重、ハムスターで 7,400 ~ 8,700mg/kg 体重、ウサギでは 5,000 ~ 8,000mg/kg 体重と報告されている(4)(43)。

| サンプル | 動物種・性別 | LD50 値 mg/kg 体重 |
|------------|-----------------|-----------------|
| サッカリンナトリウム | ラット (雑種) 不明 | 17,000 |
| | ラット (Wistar) 不明 | 14,200 |
| | マウス 不明 | 17,500 |
| | ハムスター 雄 | 7,400 |
| | ハムスター 雌 | 8,700 |
| | ウサギ 不明 | 5,000 ~ 8,000 |

2) 反復投与毒性試験

サッカリンカルシウムに関してはガイドラインに則った反復投与毒性試験成績を確認することは出来なかった。JECFA ではサッカリンやサッカリンのカリウムおよびナトリウム塩を含めグループとして ADI を評価しているから、サッカリンやサッカリンナトリウムの試験成績からサッカリンカルシウムの安全性を推察することとした。

なお、サッカリンおよびサッカリンナトリウム (NaS) に関しては多数の試験成績が報告されているが、JECFA は親ラットに NaS を 0 (対照群) 1、3、4、5、6.25 および 7.5% の濃度で交配前から妊娠、授乳期間を通して混餌投与し、離乳した雄性の新生児 (F1) にも引き続き各濃度の飼料を 29 ヶ月間投与した二世世代試験において、F1 動物で観察された膀胱腫瘍の発生率や膀胱重量において毒性影響が認められなかった 1% 群 (500mg/kg 体重) を無毒性量として ADI を 0 - 5mg/kg 体重/日と算出している (2)。

(1) ラット

雌雄各 14 匹のラットに 0.5% サッカリンナトリウム添加飼料あるいは基礎飼料を 38 日間投与した試験が実施されており、体重および摂餌量は被験物質投与群で低値を示したが、飼料効率や生存率においては群間に差は認められず、また、対照群を含む全群において一部で下痢

が観察されたが、行動においては群間に差は認められなかったと報告されている。一方、組織学的検査では被験物質投与群の肝臓および腎臓に炎症性病変や水腫性病変が観察されたと報告されている(4)(67)。なお、本試験成績は JECFA 報告書(4)にも記載されているが、これらの病変が被験物質投与の影響であるか否か不明であることから、JECFA 委員会では毒性評価には使用していない。

雌雄各 10 匹の SD 系ラットに 2.0% サッカリンナトリウム添加飼料あるいは基礎飼料を 13 週間投与した試験が実施されており、一般状態、体重および摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、肉眼的および組織学的検査において被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(4)(69)。

雌雄の SD 系ラットに サッカリンナトリウムを 0 (対照群)、0.01、0.1、1.0、5.0 および 7.5% の濃度で混餌投与、その後交配し、妊娠および授乳期間中も母動物を介して被験物質に暴露された各群の新生児、雌雄各 48 匹に親と同様の濃度の飼料を投与し、最終的に 28 ヶ月後に生存動物全例を剖検した慢性毒性試験が実施されており、試験開始時、5.0 および 7.5% 群では体重は雌雄とも低値を示し、また、試験期間においても低値を示したが、食事効率では群間に明らかな差は認められず、生存動物数や一般状態においても変化は認められなかったと報告されている。また、14、18 および 23 ヶ月目に実施した血液学的検査においても投与に起因した明らかな変化はみとめられず、剖検時に測定した臓器重量では雌において心臓、腎臓および脾臓で実重量が有意に減少したが、比重量において有意差は認められなかったと報告されている。さらに、組織学的検査では膀胱の過形成が 7.5% 群の雄で増加傾向および雌で有意な増加、移行上皮からなる腫瘍が 7.5% 群の雄で有意に増加した他、被験物質投与に起因した病変は観察されなかったと報告されている(4)(68)。

6 週齢の雌雄の CD ラットに サッカリンナトリウム (NaS) を 0 (対照群)、1、3、4、5、6.25 および 7.5% の濃度で 62 日間投与した後、雄 1 匹と雌 2 匹を交配、妊娠ならびに授乳期間も母動物には同様の飼料を投与し、雄の新生児 (F1) は離乳後、1 群 125~700 匹とし、各群それぞれ母動物と同様の飼料を 29 ヶ月間引き続き投与した二世世代試験が実施されており、F1 動物においては 3% 以上の群で膀胱重量が用量に相関して有意に増加し、また、膀胱腫瘍も用量に相関して増加したと報告されている。なお、著者は F1 動物で観察された膀胱腫瘍の発生率や膀胱重量から無毒性量を 1% 群と評価している(2)(74)。

膀胱に寄生虫がないことを確認した雌雄各 60 匹の CD ラットに サッカリンナトリウムを 0 (対照群)、90、270、810 あるいは 2,430mg/kg/day の用量で 26 ヶ月間混餌投与した試験が実施されており、雌雄の 2,430mg/kg 群では体重が低値および摂餌量が低値傾向を示し、一般状態では軽度な下痢が観察され、雄においては用量に相関して死亡率も増加したと報告されている。しかし、血液学的検査では被験物質投与による影響は認められず、尿検査においても影響は認められなかったと報告されている。また、肉眼的および病理組織学的検査では被験物質投与に起因した病変の誘発は認められず、膀胱結石の発生率においても群間に差は認められなかったと報告されている(4)(70)。

32日齢の雌雄各50匹のSD系ラット(F0世代)にサッカリンナトリウムを0(対照群)あるいは5.0%の濃度で142週間混餌投与し、試験期間中、試験開始90日に各群内において雌雄を1対1で交配し第一世代(F1世代)を出産させ、各群から生まれた新生児は生後4週で雌雄各50匹が選ばれ、F0世代と同様の飼料を127週間投与した試験が実施されており、試験期間中被験物質投与群で水分に富んだ糞便が観察されたが、一般状態は良好であり、体重はF0およびF1世代の雌雄とも有意な低値を示したが、摂餌量は群間に統計学的な有意差は認められなかったと報告されている。また、死亡に至るまでの概算日数に被験物質投与の影響は認められなかったと報告されている。定期的実施された血液学的検査では投与の影響と考えられる変化は認められていないが、尿検査ではナトリウムとリンの排泄が増加したと報告されている。なお、F1世代で実施した水分バランス試験では雌雄とも飲水量が増加し、尿量は1.5~2倍となり、尿は低張であったと報告されている。全動物について実施した組織学的検査では被験物質投与により腎臓でF0およびF1世代とも雌雄で広範に亘る腎盂上皮の過形成および雄で広範に亘る上皮内の石灰化、また、F0およびF1世代の雌およびF1世代の雄で腎盂上皮下の毛細血管拡張、F0およびF1世代の雄で膀胱の移行上皮由来の腫瘍が増加したと報告されている(4)(45)。

(2) マウス

Swiss マウスにサッカリンを0(対照群) 0.2および0.5%の濃度で6世代に亘り混餌投与した広範な試験が実施されており、この内、第一世代第一子(F1a)~第五世代第一子(F5a)の各群雄10匹および雌20匹に前記飼料を4ヶ月間投与した試験では、各世代の雌雄とも体重や組織学的検査において被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている。但し、第二世代第一子(F2a)では0.2%群雌の1例で3ヶ月以降、膀胱に乳頭腫が観察されたと報告されている(72)。

150匹の雌性Swiss系マウスに0.2mlのポリエチレングリコールを単回経口投与1週後、50匹には5%サッカリン添加飼料、また、100匹には基礎飼料を18ヶ月間投与する試験が実施されており、体重や生存率では群間に差は認められなかったと報告されている(4)(71)。

Swiss マウスにサッカリンを0(対照群) 0.2および0.5%の濃度で7世代に亘り混餌投与した広範な試験が実施されており、この内、親動物(F0)、第三世代第二子(F3b)および第六世代第一子(F6a)の各群雌雄各50匹に前記飼料を21ヶ月間投与した試験では、体重、摂餌量(F3bのみ実施)、血液学的検査、死亡率および病理組織学検査において被験物質投与による明らかな影響は認められなかったと報告されている。なお、対照群を含む各群に散発的に膀胱結石が観察され、また、F0世代の0.2%群雄およびF3b世代の0.5%群雄でそれぞれ1例の膀胱に移行上皮がんが観察されたが、膀胱結石と発がんとの関係は認められなかったと報告されている(4)(72)。

(3) イヌ

雌雄各3頭のビーグル犬に2.0%サッカリンナトリウム添加飼料あるいは基礎飼料を16週間投与した試験が実施されており、一般状態、体重および摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、肉眼的および組織学的検査において被験物質投与による明らかな影響は認められなかったと報告されている(4)(69)。

4匹のイヌにはサッカリンナトリウムを65mg/kgの用量で飲水に溶解して1週6日で11ヵ月間経口投与し、2匹は無処置で飼育した試験が実施されており、体重は正常の範囲内で、試験開始から6ヶ月間は全てのイヌにおいて行動、一般状態、食欲および刺激への反応は正常であり、試験終了前2ヶ月間においては軟便が観察されたが、摂餌量や飲水量あるいは全身状態への影響は認められなかったと報告されている。また、試験開始6ヶ月以降、被験物質投与群の1匹が食欲不振となり、衰弱し死に至ったが、剖検時に異常病変は観察されなかったと報告されている。試験開始1、3、9および11ヵ月目に実施したヘモグロビン量、白血球数、非蛋白性窒素およびPSP試験は正常の範囲内で、赤血球数、ビリルビン量および尿検査では被験物質の影響は認められず、試験終了時に実施した腹部臓器の肉眼的および組織学検査においても異常は認められなかったと報告されている(4)(67)。なお、本試験成績はJECFA報告書(4)にも記載されているが、死亡動物の死因を含め、本試験成績に関する詳細が不明であることから、JECFA委員会では毒性評価には使用していない。

3) 変異原性

(1) まとめ

サッカリンカルシウム(Calcium saccharin)についてはごく限られた変異原性試験が実施されているにすぎない。そのため、サッカリンとその塩類についての変異原性試験成績を合わせて記載し、サッカリン塩類の変異原性について総合的に評価を行った。IARC Monographs Vol. 73(43)の記載を中心に概要を以下にまとめる。

サッカリンカルシウムはチャイニーズ・ハムスター培養細胞で染色体異常を誘発するが、現在のガイドラインでの制限用量(10 mMまたは5,000 µg/ml)を超える高用量での誘発であり、イオンの不均衡に起因していると考えられている。

サッカリン(酸として)は酵母で異数性を誘発するが、体細胞組換えを誘発せず、細菌では復帰突然変異を誘発しない。ラット肝培養細胞ではDNA鎖切断を弱いながら誘発するが、ヒト培養リンパ球で姉妹染色分体交換を誘発せず、チャイニーズ・ハムスター培養細胞で染色体異常を誘発しない。

サッカリンナトリウムは酵母で陽性結果があるものの、細菌では復帰突然変異を誘発しない。ショウジョウバエを用いた試験では陰性と陽性の結果があるが、陽性結果の一部は不純物によるものと判断されている。ラット肝培養細胞でDNA損傷性を示さない。チャイニーズ・ハムスター培養細胞で姉妹染色分体交換の誘発がみられているが、いずれも高用量での誘発で、しかも用量依存性が明確でない。ヒト培養リンパ球での姉妹染色分体交換試験では陽性と陰性の

結果がある。チャイニーズ・ハムスター培養細胞及びヒト培養リンパ球で染色体異常の誘発がみられているが、いずれも高用量での誘発である。ヒト胚由来細胞株では極めて高用量で突然変異の誘発がみられているが、マウスリンフォーマ tk 試験では同程度の高用量まで試験が行われ、突然変異の誘発はない。

サッカリンナトリウムはマウスの肝・腎細胞でDNA鎖切断を誘発するが、ラット肝臓と膀胱のDNAと共有結合を示さず、DNA鎖切断も誘発せず、サッカリンナトリウム投与とラットの胆汁には変異原性がみられていない。チャイニーズ・ハムスター骨髄細胞で姉妹染色分体交換を誘発するが、妊娠マウスでは胎児に姉妹染色分体交換を誘発しない。マウス骨髄小核試験は2試験行われているが、いずれも陰性の結果が得られている。マウス骨髄染色体異常試験の1試験では陽性の結果が得られているが、他の1試験では陰性であり、チャイニーズ・ハムスター骨髄染色体異常試験も陰性である。マウススポットテストの1試験では陽性の結果が得られているが、用量依存性がみられておらず、他の1試験では陰性であった。マウスを用いた優性致死試験が7試験行われており、そのうち3試験で陽性結果が得られているが、WHO Food Additives Series 32(18)では、それらはいずれも市販の錠剤(純度等が不明)を用いており、高純度品での試験では陰性の結果が得られていることから不純物の関与を指摘している。さらに、一部の優性致死試験および精巢の染色体異常試験での陽性結果については、げっ歯類を用いた相互転座試験、精母細胞・胚を用いた染色体異常試験及び精子形態異常試験における陰性結果、並びにマウス混餌投与による多世代試験における陰性結果と矛盾することを指摘している。変異原性試験の総説(19)では、ほとんどの試験で用いられている用量はヒトの通常の摂取量に比べると極めて高いものであることを指摘している。

サッカリンマグネシウム及びサッカリンカリウムは、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験において現在のガイドラインの制限用量を超える高用量で陽性結果が得られている。

総合的にみると、変異原性試験結果には矛盾するものがあるが、1)DNAと結合する親電子的な化学発がん物質とは類似性がない、2)in vivoにおいてDNAと結合することがない、3)代謝を受けないため代謝活性体に変換することがない、4)in vitro試験の陽性結果、特に染色体異常の誘発は高用量におけるイオンの不均衡に起因している、5)in vivo試験の陽性結果には不純物の関与が疑われている、6)ラット尿路上皮細胞腫瘍の誘発には変異原性以外の要因が考えられている、7)生殖発生毒性試験において胎児への影響がみられていない、といえる。IARC Monographs Vol. 73(43)では最終的に「in vitro/in vivo 遺伝毒性活性を示さない」と結論しており、陽性結果が散在するものの、通常の摂取状況においてはヒトに変異原性をもたらすことを懸念するものではないと考えられる。

(2) 概要

IARC Monographs Vol. 73(43)を主体とすると、変異原性試験結果の概要は以下のようになる。但し、引用文献が多いため、主に EC Scientific Committee for Food, Annex III to

Document III/5157/97 (12) に引用された文献を収録した。

サッカリンカルシウム

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、8,000 µg/ml 以上の高用量で染色体異常の誘発がみられている(52)(53)が、そのような高用量での誘発にはイオンの不均衡が起因していると考えられている(52)。

サッカリン

Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA92, TA94, TA98 及び TA100 を用いた復帰突然変異試験は、S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている(51)(54)。酵母を用いた試験では異数性の誘発がみられているが、体細胞組換えはみられていない。ラット肝培養細胞を用いたアルカリ溶出法では DNA 単鎖切断が弱いながらみられている。ヒト培養リンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験において陰性の結果が得られている。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、S9 mix 非存在下で陰性の結果が得られている(51)(52)(53)。

サッカリンナトリウム

Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA1538, TA92, TA94, TA98 及び TA100 を用いた復帰突然変異試験では、S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている(27)(51)が、酵母を用いた試験では遺伝子変換、体細胞組換え及び復帰突然変異の誘発がみられている。ショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験の1試験では陽性の結果が得られているが、以下の2試験では陰性の結果が得られている。2種類のサッカリンナトリウムについて行われた試験では、1種類では突然変異頻度が増加しているが、他の1種類では突然変異頻度の増加はみられず、被験物質に含まれている不純物によると判断している(26)。5%ショ糖液に溶解して 400 mM の1用量で3日間投与して行われた試験では、陰性の結果が得られている(27)。

ラット肝培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験では2試験で陰性の結果が得られている。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(Don, CHO, V79)を用いた姉妹染色分体交換試験では3試験で陽性の結果が得られているが、1試験ではいずれの用量においても陰性対照の約2倍程度の値を示し、用量相関性は認められておらず(21)。1%の用量を用いた試験では陰性対照群の約1.5倍の増加で、用量依存性もみられ(23)。100 µg/ml と 1,000 µg/ml の用量を用いた試験では、100 µg/ml で陰性対照の1.32倍で有意差がみられたが、1,000 µg/ml では陰性対照の1.10倍で有意差はみられていない(24)。ヒト培養リンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験の2試験のうち1試験では、細胞分裂が得られた最高用量(0.5%)で陰性対照群の2倍弱程度に増加し、用量依存性もみられている(23)が、他の1試験では陰性の結果が得られている。

チャイニーズ・ハムスターの雄胎児肺由来培養細胞(CI-1-15)を用いた染色体異常試験では、100 と 1,000 µg/ml の間の用量で1～3日間の連続処理で試験が行われ、ギャップ及び切断を含む細胞の出現頻度が用量に依存して増加している(20)。チャイニーズ・ハムスター培

養細胞株(Don)を用いた染色体異常試験では、細胞分裂を明らかに抑制する(陰性対照の50%以上)最高用量(5×10^{-2} M)でのみ明らかな染色体異常の誘発が認められている(21)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、8,000 µg/ml以上の高用量で染色体異常の誘発が認められている(50)(51)(52)(53)。ヒト培養リンパ球を用いた染色体異常試験では、2,000 µg/mlの用量でのみ染色体異常(主に染色分体切断)の明らかな増加が認められている(22)。ヒト胚由来細胞株(RSa)を用いた突然変異(ウアバイン抵抗性)試験では15,000 µg/ml以上の高用量で変異体の増加がみられ、同じ細胞株でのK-rasのcodon 12に点突然変異がみられている。精製及び非精製品を用いたマウスリンフォーマ tk 試験では12,500及び19,000 µg/mlの高用量まで試験が行われているが、S9 mixの有無にかかわらず突然変異の誘発はみられていない。

経口投与したラットの肝臓と膀胱ではDNAとの共有結合がみられておらず、腹腔内投与したラットの膀胱でもDNA鎖切断がみられていないが、腹腔内投与したマウスの肝臓と腎臓ではDNA鎖切断がみられている。チャイニーズ・ハムスター骨髄細胞を用いた姉妹染色分体交換試験では、1,000 mg/kg～10,000 mg/kg間の4用量を強制経口投与して試験が行われており、7,500 mg/kgの用量で陰性対照群の1.5倍となり、用量相関性もみられている(25)。妊娠10日目に雌マウスに2,000 mg/kgを腹腔内投与した試験では胎児に姉妹染色分体交換の誘発はみられていない。

マウス骨髄を用いた小核試験では、205、410、1025 mg/kgの3用量を24時間間隔で2回腹腔内投与と並びに1025 mg/kgの1用量を24時間間隔で2回強制経口投与して試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(27)。マウス骨髄を用いた小核試験では、2,000 mg/kgの1用量を腹腔内単回投与して試験が行われ、陰性の結果が得られている(34)。

マウス骨髄を用いた染色体異常試験では、1,000、2,000、4,000 mg/kgの3用量を腹腔内単回投与して試験が行われ、陰性の結果が得られている(34)。チャイニーズ・ハムスター骨髄細胞を用いた染色体異常試験の1,500 mg/kg経口3日間投与でも陰性の結果が得られているが、マウス骨髄を用いた染色体異常試験の1,000 mg/kg24週間混餌投与では陽性の結果が得られている。

マウスを用いたスポットテストでは、75～7,500 mg/kg間の6用量で強制経口投与し、750 mg/kg以上の用量で陽性の結果が得られたが、用量依存性はみられなかった(28)。マウスを用いたスポットテストでは、1,000 mg/kgの1用量を妊娠10日目に妊娠雌マウスに腹腔内投与し、3回繰り返して試験が行われたが、陰性の結果が得られている(29)。

マウスを用いた優性致死試験では、1.72%の用量で雄マウスに30日間飲水摂取させ、その24時間後に雌マウスと4週間にわたって交配させて試験が行われ、陽性の結果が得られている(30)。マウスを用いた優性致死試験および精巣を用いた染色体異常試験は、1000 mg/kgの単回、200 mg/kgを24時間間隔で5回、50、100、200 mg/kgを12時間間隔で5回雄マウスに腹腔内投与し、投与後8週間にわたって雌マウスと交配させ優性致死を調べ、200 mg/kgを12時間間隔で5回腹腔内投与した雄マウスについて投与12週後に精巣の染

色体異常を調べ、いずれも陽性の結果が得られている(31)。マウスに240 mg/kg 単回皮下投与した優性致死試験において陽性結果が得られている。5,000 mg/kg の1用量を雄マウスに5日間連続経口投与し、雌マウスと1週間毎に8週間にわたって交配させた優性致死試験では、陰性の結果が得られている(32)。2,000 mg/kg の1用量で10週間混餌投与したマウス優性致死試験では、陰性の結果が得られている。雌マウスを用いた優性致死試験では、10,000 mg/kg の1用量で単回経口投与し、直ちに雄マウスと交配させて調べたが、陰性の結果が得られている(33)。雄マウスを用いた優性致死試験では、2,000 mg/kg の1用量で腹腔内単回投与6時間後に雌マウスと1週間毎に3週間にわたって交配させて調べ、さらに投与後3ヶ月後の雄マウスについて精母細胞における染色体異常を調べたが、いずれも陰性の結果が得られている(34)。20,000 mg/L の用量で100日間飲水摂取させた雄マウスを雌マウスと1週間交配させ、優性致死を調べ、交配後に雄マウスの骨髄及び精母細胞について染色体異常を調べたが、いずれにおいても陰性の結果が得られている(34)。妊娠10日目に雌マウスに2,000 mg/kg 腹腔内単回投与した試験では胎児に染色体異常の誘発がみられていない。5,000 mg/kg を2回経口投与したチャイニーズ・ハムスターの精母細胞で染色体異常の誘発がみられていない。500 mg/kg を10日間経口投与した雄マウスを用いた相互転座試験では陰性の結果が得られている。

サッカリンマグネシウム

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、8,000 µg/ml 以上の高用量で染色体異常の誘発が認められている(52)(53)。

サッカリンカリウム

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、最高用量の8,000 µg/ml で染色体異常の誘発が認められている(52)(53)。

4) 発がん性

サッカリンの発がん性試験は主としてサッカリンナトリウムもしくはサッカリンについて実施されており、サッカリンカルシウムについての知見はCohenらがサッカリンとその塩類の膀胱発がんに対するプロモーション作用を検索した試験のみである(14)。しかし、サッカリンカルシウムはサッカリンナトリウムと同様に水によく溶解し、胃液と反応して容易にサッカリンを生成することから、サッカリンあるいはサッカリンナトリウムによる試験成績をもってサッカリンカルシウムの発がん性を代替することには問題がないと判断してよいと思われる。

サッカリンについてラットによる長期間の経口発がん性試験は、1951年のFitzhughらの報告が最初である(59)。この試験の結果によると、1%もしくはそれ以下の投与量ではサッカリン投与によりラットに病的変化は認められていない(44)が、この報告に対しては使用動物数の少ないことや膀胱が検索されていない等多くの不適切性が指摘されている(43)。

膀胱発がんの最初の報告は、Allenら(60)のマウス膀胱へのサッカリン含有ペレット埋植試験で、膀胱腫瘍の有意の発生増加を認めているが、食品添加物の評価の観点からは方法的に

適切な試験ではない。その後、多くの研究者により発がん性試験が1970年代から1990年代初めにかけて行われている。マウスでは、Roe et al. (71), Kroes et al. (72), Homburger, et al. (75), Fukushima et al. (76), Prasad & Rai (77), Frederick et al. (46)が、ラットではLessel (78), Schmaehl (79), Ulland et al. (80), Furuya et al. (81), Munro et al. (70), Homburger (75), Chowanec & Hicks (82), Arnold et al. (45), Hooson et al. (83), Fukushima et al. (76), Hibino et al. (84), Homma et al. (85)などの報告があり、それらの報告の多くは発がん性が陰性であるが、一部については十分な評価に耐えうるデータとして認められないことが指摘されている(43)。その他、ハムスター、モルモット、サルを用いた実験がおこなわれているが、いずれも、膀胱に腫瘍の発生を認めていない(43)。これらのうち、霊長類であるサルを用いた実験では、サッカリンナトリウムを20、100あるいは500mg/kgbw/dayの用量でアカゲザルに週6回、79ヶ月間投与したMcChesneyらの実験結果において膀胱、腎、あるいは精巣に異常所見を認められなかったと報告されている(47)。また、Thorgeirssonらは、1961年以降の32年間にNational Cancer Inst.(NCI)において行われたヒトを除く霊長類を用いた化学発がん性試験の成績を報告している(48)。実験には霊長類の中で自然発生悪性腫瘍の発生率が比較的に高いことが知られているアフリカミドリザル(8%)を使った発がん性試験の中でサッカリンも検索されている。その結果、サッカリンには全く発がん性を示す証拠が得られなかったと報告している。さらに、Takayamaらは、ミドリサルとアカゲザルほかを用いて25mg/kg bwのサッカリンナトリウムを含む食餌を週5日、生まれて24時間以内から最長24年間連続投与する実験を行っているが、膀胱腫瘍は認められず、また顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡による観察でも膀胱粘膜に過形成の証拠も認められなかったと報告している(13)。

膀胱腫瘍の発生試験として、多世代にわたる生涯サッカリン投与試験を行った成績の報告も認められる。マウスでは、Kroesらは、0.5%オルトトルエンスルホンアミドを含むサッカリンをSwissマウスに多世代の生涯にわたり0, 0.2あるいは0.5%含有飼料で21ヶ月間飼育する実験を行っている。F0, F3bおよびF6a世代の雌雄各50匹を用いた試験では、0.2%サッカリンの投与を受けたF0雄マウス1匹の膀胱に非浸潤性の移行上皮がん、0.5%飼料投与を受けたF3b世代の雄マウス1匹に膀胱の移行上皮がんが、また、F0の対照群雌の1匹に膀胱の低分化がんの発生を認めている(72)。ラットでは、1974年にTisdellらが、雌雄各20匹のF1新生児SD系ラットに0, 0.05, 0.5, あるいは5%のサッカリンナトリウム含有飼料を100週間まで投与したところ、F1雄動物では、それぞれ12, 10, 11および15匹が、また雌ラットでは16, 14, 14および19匹が80週以上生存し、膀胱の移行上皮細胞がんが7例に、一方、5%サッカリン投与F1雄では全例に移行上皮がんの発生を認め、腫瘍発生動物の総数は、0%群では雄2例、雌8例、0.05%群では雄1例と雌5例、5%群では雄7例、雌13例であったという(43)。また、Arnoldらは0-トルエンスルホンアミドを含まない5%サッカリンナトリウム飼料を雌雄SDラットに一生投与する群と、3ヶ月後に交配させてF1世代を作り、それに親と同じ飼料を与え、67週間以上生存したものの腫瘍発生を観察している。その結果、F1世代

の生涯試験ではサッカリン投与群で雄 49 匹中 8 匹(16.3%)に膀胱移行上皮がんの発生が認められ ($p < 0.05$)、雌では 50 匹中 2 匹に膀胱移行上皮がんの発生が認められており、ほかに雄 4 匹に移行上皮乳頭腫(良性腫瘍)が見られている。しかし対照群において膀胱腫瘍の発生は雌雄ともに認められていない(45)。

一方、Taylor らは、サッカリンナトリウムをラットの胎仔期から投与する発がん性試験を行っており、7.5%添加飼料の雄では膀胱がんの発生増加を認めたが、5.0%以下の投与濃度群では雌雄とも発生増加は認められなかったと報告している(68)。このような中で、Schoenig らは、CD(CharlesRiver)雄ラット 2500 匹を用いて、膀胱腫瘍発生におけるサッカリンナトリウムの投与量 腫瘍発生相関を求めべく、1.0%から 7.5%の投与レベル 6 群による 2 世代投与試験を行ったほか、妊娠中のみ母体経由で 5.0%添加飼料を与えて飼育する試験、その他種々の投与方式による試験を行っている。その結果、膀胱腫瘍に対する明確な用量相関は、第 2 世代において認められたが、投与量を低下させると膀胱腫瘍の発生率は急速に低下し、700 匹を用いた試験から 1.0%飼料添加レベルが膀胱腫瘍発生における無作用レベルであることが示唆されている(74)。

以上の成績を通覧すると、サッカリンとその塩類による発がん性試験が実質的に陽性と判断し得るのは、ラット(ことに雄)に限られ、そこにきわめて明確な種特異性が存在すると判断される。次になぜラットに特異的に膀胱腫瘍が発生するかという機序について検討した研究報告を示す。

膀胱がんの発生では、膀胱発がん物質を投与した場合に尿管を閉塞すると発がんが見られないことから、発がん刺激は尿を通じて膀胱上皮に働くとの考えが 1970 年にはほぼ確立された(86)。Hasegawa & Cohen(88)は、塩の異なるサッカリンの投与がラットの尿路移行上皮の増殖に及ぼす影響を検索しているが、ナトリウム塩およびカリウム塩で増殖能の亢進を認め、ことにナトリウム塩では最も顕著な増殖能の亢進を認めたのに対し、カルシウム塩では有意な増殖能の亢進は認めていない。また、研究者は尿分析からサッカリンナトリウム投与群の尿の pH とナトリウムイオン濃度が増加していることを見出しているが、サッカリンカルシウムおよび酸性サッカリン投与では逆に pH の低下を認めている。

一方、Fukushima らは、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine で initiate しクエン酸ナトリウムで promote する 2 段階膀胱発がん実験で、明らかな pH の上昇とナトリウムイオン濃度の増加を認めている(89)。更に、DE Groot らは食餌中の過剰の酸あるいは塩基によるラット膀胱上皮の過形成誘導の毒性学的意義を検索し、その結果、ラットの膀胱上皮の過形成は尿の酸性化によってもアルカリ性化によっても共にもたらされることを見出している(90)。さらに、Otoshi & Fukushima らは、コハク酸のナトリウム塩の膀胱発がんプロモーション作用を見る実験で尿の pH を同一にした場合にナトリウムイオン濃度と発がん性の関連を検索し、腫瘍発生はナトリウムイオン濃度レベルと関連することを見出している(91)。Cohen は広範な論文を総合して膀胱発がんにおける尿の役割に関する詳細な総説を発表し、動物に見られる尿成分の異常な状況での膀胱がんの発生は、ヒトでの発がんリスクとして懸念される条件では

ないと述べている(49)。

IARC は膨大な資料を参照して精細な検討の結果を 1999 年発行のモノグラフ (43)において発表し、サッカリンは non-genotoxic であり、結論的に サッカリンナトリウムの発がん性に関しては動物実験において十分な証拠があるが、 サッカリンおよびサッカリンカルシウムの発がん性に関する証拠は不十分であるとし、ワーキンググループの総合評価として最終的にサッカリンとその塩類はヒトへの発がん性に関して "Group 3" に分類している。

また、JECFA (2) では、高濃度のサッカリンナトリウムを用いた場合には、染色体異常誘発性 (clastogenic) についての知見がみられるが、DNA に結合する親電子的な化学発がん物質とは類似性が無く、in vivo で DNA との結合を示さないし、染色体異常誘発活性もサッカリンナトリウムを用いた長期試験の結果や、がんのイニシエーション/プロモーション試験の成績と一致しないとしているほか、ナトリウムイオン濃度の増大や pH の上昇を指摘し、このような変化はサッカリンナトリウムに限ったことではなく、高濃度の他の陰イオン有機化合物含有飼料投与時に共通の影響であることを指摘している。

黒川らの解説記事 (16) によれば、人工甘味料の消費量が健常人に比べて高いと考えられる糖尿病患者を対象にした疫学調査において、膀胱がん発生との関連性は認められないことがアメリカやフランスの研究でみとめられており、また、日本の厚生省の調査でも、日本人のサッカリンの 1 日摂取量は 0.906mg で、FAO/WHO が 1984 年に定めた ADI 値 2.5mg/kgbw をはるかに下回る値であると述べている。これらの疫学調査ならびに毒性試験の結果を総合すると、サッカリンおよびその塩類のヒトに対する発がん性には問題がないと判断される。

5) 生殖発生毒性試験

サッカリンカルシウムについての繁殖性や催奇形性試験成績を確認することは出来なかった。JECFA ではサッカリンやサッカリンのアンモニウムおよびナトリウム塩を含めグループとして ADI を評価していることから、ラット、マウスあるいはイヌにより試験が実施されているサッカリンやサッカリンナトリウムの試験成績からサッカリンカルシウムの繁殖性や催奇形性を推察することとした。

(1) 繁殖性

ラットでは、32 日齢の雌雄各 50 匹の SD 系ラットにサッカリンナトリウムを 0 (対照群) あるいは 5.0% の濃度で 90 日間混餌投与した後に各群内において雌雄を 1 対 1 で交配し、第一世代 (F1 世代) を出産させ、生後 4 日に新生児を雌雄それぞれ 4 匹に選定し保育した試験が実施されており、受精率、妊娠率、生存胎児数および胎児体重に被験物質投与の影響は認められなかったと報告されている(4)(45)。

雌雄の SD 系ラットにサッカリンナトリウムを 0 (対照群)、0.01、0.1、1.0、5.0 および 7.5% の濃度で混餌投与した 3 世代に亘る試験が実施されており、第一世代 (F1) では対照群に比べ 5.0 および 7.5% 群で体重が雄で 12~20%、雌で 17~29% 低値を示し、第二世代第一

子(F2a)では受精率および新生児の生存率に被験物質投与による影響は認められなかったが、同腹児数の軽度な減少や離乳時の生存率および体重の低値が5.0および7.5%群で認められたと報告されている。しかし、第二世代第二子(F2b)では5.0および7.5%群で離乳時の体重が低値を示したのみであったと報告されている(4)。

Swiss マウスにサッカリンを0(対照群) 0.2および0.5%の濃度で親動物(F0)~第五世代の動物(F5)に混餌投与、各世代の雌雄を交配し6世代に亘る繁殖性試験を実施した結果、各世代とも妊娠率や出生時、5日および20日齢時生存胎児数、5日および20日齢時新生児体重あるいは性比に被験物質投与による明らかな影響は認められなかったと報告されている(4)(72)。

(2) 催奇形性

ラットでは1群20匹のWistar ラットに妊娠7~13日の間サッカリンナトリウムを α (対照群) 0.48、0.95、1.9および3.8g/kgの用量で蒸留水に溶解して投与、妊娠20日に各群15匹については帝王切開あるいは0(対照群) 0.95、1.9および3.8g/kg 群各5匹については分娩させた試験が実施されており、母動物では3.8g/kg 群で被験物質投与期間体重および摂餌量が減少したが、投与終了後には対照群と同様な増加傾向を示し、帝王切開した動物では子宮重量、黄体数、着床数、着床率、胎盤重量、胎盤遺残、同腹児数、胎児体重、胎児および尾の長さ、死亡胎児数、吸収胚数、奇形数、外表ならびに内臓検査および骨格検査において被験物質投与による影響は認められず、催奇形性は認められなかったと報告されている。また、分娩した動物では、妊娠期間、新生児の21日齢までの体重、出生時および離乳時同腹児数、離乳児体重、胎児および尾の長さ、離乳児に実施した運動および感覚器検査、さらに、離乳時に実施した外表ならびに内臓検査および骨格検査において被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(73)。

Swiss マウスにサッカリンを0(対照群) 0.2および0.5%の濃度で7世代に亘り混餌投与した試験において、この内、第二世代第二子(F2b)は離乳児に剖検し、第三世代第三子(F3c)、第四世代第二子(F4b)、第五世代第二子(F5b)および第六世代第二子(F6b)に関しては妊娠20日に帝王切開した試験が実施されており、平均着床数、生存胎児率、吸収胚数および平均胎児体重においては各世代に共通した被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている。また、第六世代第二子(F6b)では対照群と0.5%群において卵巣重量、平均着床数、平均生存胎児数および生存胎児率、死亡と吸収胎児数を合算した平均数および出現率、雌雄の胎児割合、胎児体長、胎児体重ならびに胎盤重量に被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている。さらにF6b胎児で実施した内臓ならびに骨格検査においても異常は認められず、催奇形性は認められなかったと報告されている(4)(72)。

マウスでは1群10匹のICR系マウスに妊娠6日にサッカリンナトリウムを0(対照群) 62.3、125、250、500および1,000mg/kgの用量で単回投与し、妊娠18日に帝王切開した試験が実施されており、母体重、子宮重量、着床数、胎盤重量、胎盤遺残、同腹児数、胎児体重、

胎児および尾の長さ、死亡動物数、吸収胚数および奇形数に被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(73)。

6) 一般薬理試験

サッカリンが生体に及ぼす作用に関しては、急性毒性や膀胱がんとの関連研究結果の報告が多く見られるのに対して、その他の作用では副作用、酵素に対する作用、味覚に対する効果が若干見られているに過ぎない。

副作用については、ヒトでの光過敏性発疹や実験動物における低血糖作用などがあるとする報告(4)や、血糖値、腎機能、ビタミン利用、血液凝固や酵素への有害な影響はないとする報告(5)が見られている。

酵素に対する作用に関しては、経口投与後のサッカリンナトリウムが膵臓や腸管から出される多くの消化酵素を阻害するという報告があり、*in vitro*での成績でサッカリンがアミラーゼ、スクラーゼ(インベルターゼ)やイソマルターゼを阻害することが認められている。また、サッカリンが炭化水素の消化を阻害するため、糞便中への多糖類の排泄が見られるようになったとする報告がある。ラットにおける試験で、サッカリンナトリウムは薬物代謝酵素の誘導をしないが、ジメチルニトロソアミン-N-デメチルラーゼの活性を増大させることが示されている(18)。ヒトにおいて、サッカリンナトリウムがアラニン アミノトランスフェラーゼ、アスパルテート アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスフェラーゼやアルカリン フォスファターゼの活性を増大させるとする報告がある。また、実験動物においてサッカリンナトリウムがタンパク質消化に影響を及ぼすとされている(43)。

味覚に対する評価に関しては、ショ糖に比較して300倍の甘味とする評価(9)や約500倍の甘味(36)(63)(64)とする文献が見られているが、甘味が認められる濃度は、10,000倍希釈の水溶液であるとする文献(36)と100,000でも感知されるとする文献(63)が知られている。また、サッカリンの甘味度は濃度によって異なり、高い濃度では苦味が増してくるのに対して、低い濃度の方がかえって甘味が強く感じられる性質がある。それは非解離型の分子が甘味を示さずかえって苦くなり、解離した陰イオンが強い甘味を示すので濃度の低い方がより強く甘味が感じられるとする記載が認められている(36)。

7) ヒトについての知見

7名の志願者が1日当たり0.15 - 0.3gのサッカリンを1.3ヶ月摂取したが、尿量の増加以外には影響がみられなかった(4)。糖尿病患者がサッカリンを1日当たり4.8gずつ5ヶ月間、あるいは0.4 - 0.5gずつ15 - 24年間摂取したが有害影響がなかった(4)。

1985年以前には、サッカリンの摂取と膀胱がんの発生に相関があるとする研究がある。例えば、Howeらによると、サッカリン摂取は男性での膀胱がんリスクを高めるが、女性にはそのような影響はみられない(18)。1985年以降の研究の多くは両者の関係を否定する結果を示している。

Auerbach らの研究では、282 名の患者の膀胱から採取した組織標本について、人工甘味料の摂取と上皮の病理組織変化（細胞層の数，異型細胞核の出現頻度）の関係が精査されているが、相関はみられていない（18）。

病理組織学的に膀胱がんと診断された 826 名について実施された症例対象研究においては、サッカリンを含めた人工甘味料の使用と膀胱がんの発生との間には男女共に相関が認められない（18）。

Elcock らは 15 の疫学研究を総合してメタアナリシス（別々な研究結果を組み合わせるのに用いられる統計的方法）を実施し、サッカリンの摂取と膀胱がんの発生との間に関係がないとの結論を得ている（18）。

7. 国際委員会などにおける安全性評価

1) FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会 (JECFA) における評価

JECFA は 1967 年の 11 回会議においてサッカリンの安全性について検討し、1%の混餌 (500mg/kg/day に相当) による 36 週間および 2 年間の投与でラットに有害影響がみられなかったことから、サッカリンとそのナトリウム塩およびカルシウム塩について、無条件 ADI (Unconditional ADI) として 0 - 5mg/kg/day , ダイエット食品用の条件付 ADI (Conditional ADI) として 0 - 15mg/kg/day を設定している(5)(37)。1974 年の 18 回会議では、サッカリンの 5%および 7%混餌による長期投与試験では、ラットに膀胱腫瘍がみられたというデータが検討された。委員会はこの膀胱の病変が投与物質もしくは不純物の影響で尿の pH が変化したために形成された結石による 2 次的な影響と判断し、ADI は前回のままとしている(4)(40)。1978 年の 21 回会議では、ラットの膀胱がんの発生にはサッカリンの主要な不純物オルトルエンスルホンアミドが関与していないと判断されたが、発生メカニズムについて、サッカリンがプロモーターとして作用しているのか、発がん性をもつ不明の不純物が存在するのか、ラット以外の動物には膀胱がんがみられないのは何故かなどの不明な点のある事が指摘された。その他、不十分な研究ではあるが、サッカリンを使用している糖尿病患者で膀胱がんのリスクが高いとの疫学的データが検討された (38)。

これらの情報に基づいて、委員会はサッカリンについてのこれまでの ADI (無条件 ADI) 0 - 5mg/kg/day を暫定 ADI (Temporary ADI) 0 - 2.5mg/kg/day とし、ダイエット食品用の条件付 ADI (Conditional ADI) 0 - 15mg/kg/day を撤廃している(4)(38)。1980 年の 24 回会議において、サッカリンの消費量と膀胱がんの発生に関係が認められないとする疫学調査データが委員会に提出されている (1)。1982 年の 26 回会議において、委員会はサッカリンとそのナトリウム塩およびカリウム塩について暫定 ADI を 0 - 2.5mg/kg/day としている (41)。引き続き 1984 年の 28 回会議において、委員会はラットの膀胱発がんについての用量反応データを検討し、3%添加飼料の長期投与では膀胱がんが発生し、1%添加飼料が無毒性量に相当すると判断している。委員会は 1%添加飼料の摂取が 500mg/kg/day の用量に相当することから、この値に安全係数 200 を適用して、サッカリンとそのナトリウム塩、カリウム塩およびカルシウム塩についての暫定グループ ADI として 0 - 2.5mg/kg/day を設定した (42)。

1993 年の 41 回会議において、JECFA は関連情報を解析して次の見解を示している： サッカリンナトリウムの長期投与による膀胱発がんはラット、特に雄ラットに特異的な反応であって、マウスにはみられない、サッカリンは生理的な pH の条件では陰イオンとして存在するので、電子親和性物質として DNA と反応することはない、サッカリンナトリウムは高濃度の条件で培養細胞に染色体異常を誘発するが、これはイオン不均衡に起因する影響と考えられる、サッカリンナトリウムを高濃度に添加した飼料の長期間の摂取によって雄ラットの膀胱粘膜に起こる上皮細胞の増殖性変化あるいは発がん促進は尿中のナトリウムイオン濃度の増加に伴う pH の上昇に起因し、サッカリンそのものによるものではない。このような影響は

サッカリンだけではなく、他の有機陰イオンのナトリウム塩の場合にも起こりうるものである、疫学研究においてもサッカリンの摂取量が増加すると膀胱がんの発生率が高くなるという事実は認められていない。これらのデータに基づいて、委員会はサッカリンナトリウムの摂取による雄ラットの膀胱発がんをヒトでの有害影響と結びつけるのは不適切であるとの見解を認めることにした。

以上の観点から、委員会はサッカリンナトリウムについての2世代混餌投与試験での無影響量、1%添加飼料(500mg/kg相当)を基礎に、安全係数を100として、ADIを0-5mg/kg/dayに設定した(2)。

2) 米国 FDA における評価

米国 FDA はサッカリンおよびそのアンモニウム塩、ナトリウム塩ならびにカルシウム塩について、食品添加物の規制にしたがって適切に用いられる限り、甘味剤として安全に使用している(7)。

なお、米国の国立環境保健科学研究所(NIEHS)は国立毒性研究計画の研究成果に基づいて、発がん物質報告書を定期的に刊行し、その中でヒトについての研究によって、ヒトに対する発がん性が認められている物質、およびヒトについての研究は不十分であるが、動物実験などの知見からヒトに対する発がん性が予想される物質のリストを公表しているが、第9版の報告書(2000年)のリストからサッカリンを除いている(15)。

3) 欧州連合における評価

欧州においても食品安全委員会(SCF)は1977年にサッカリンとそのナトリウム塩、カリウム塩およびカルシウム塩について安全性を評価し、0-2.5mg/kg/dayの暫定ADIを設定し(55)、1985年の会議でその数値を継続している(9)。

SCFは1995年6月付け報告書(12)においてサッカリンについての毒性試験および疫学調査の新しい情報を評価し、次の知見を確認している：マウス、ハムスター、サルを用いたサッカリンナトリウム添加飼料による長期混餌投与試験では膀胱がんの発生はみられない、高濃度のサッカリンナトリウムを添加した飼料を長期間摂取した雄ラットの尿には、ナトリウムイオン濃度の増加、pHと浸透圧の上昇がみられる。サッカリン以外の有機酸のナトリウム塩で、大量長期投与により雄ラットに膀胱腫瘍の発生がみられる例では、尿中のナトリウムイオン濃度の増加とpHの上昇がみられる、サッカリンナトリウムについてのラット2世代投与試験における雄ラットに対する無影響量(NOEL)は1.0%飼料(500mg/kg/day相当)とみなされる、高濃度のサッカリンナトリウムにより軽度ではあるが染色体異常が誘発されるとの知見があるが、この変化はイオン不均衡による非特異的な影響によるものと判断される、最近の疫学調査によるとサッカリンを主体とした人工甘味料の摂取量とヒトにおける膀胱がんの発生との間には関連性が検出できない。

これらの知見に基づいて、SCFは安全係数を100としてサッカリンナトリウムについて

0 - 5mg/kg/day の ADI を設定し、ADI をサッカリンとして示す必要がある場合には、サッカリン (MW : 183) とサッカリンナトリウム (MW : 241) の分子量の違いを計算に入れて、遊離酸 (free acid) としてのサッカリンの ADI を 0 - 3.8mg/kg/day としている (12)。

8 . 検討委員会における安全性評価と ADI の試算

サッカリンカルシウムについて実施された毒性試験は変異原性試験に限られているが、サッカリンカルシウムは弱酸と強塩基の塩で水溶性が高く、水に溶けるとサッカリンとカルシウムイオンに解離することから、サッカリン部分の生体内挙動について、サッカリンカルシウムはサッカリンナトリウムと同様に扱おうと判断される。以上の観点から、検討委員会はサッカリンナトリウムおよびサッカリンに関する情報を基に、サッカリンカルシウムが食品添加物として使用される際の安全性を評価しようと判断した。

今回の調査で入手し得たサッカリンナトリウムを中心とする試験データを総合するとサッカリンカルシウムは経口投与による単回投与毒性および反復投与毒性は低く、生殖毒性試験および変異原性試験は陰性とみなされる。サッカリンナトリウムの発がん性については、高濃度添加飼料をラットに長期間与えた試験で膀胱上皮に過形成、乳頭腫およびがんの発生が知られているが、JECFA、EU および IARC においてこれらの変化は高濃度のナトリウムイオンを長期間摂取した際のラットに特有の反応でヒトに対する発がんリスクを意味しないとの見解が示されている。米国においても 2000 年版の発がん物質報告書の中からサッカリンを削除している。なお、ミドリザル、アカゲザルを用いたサッカリンナトリウムもしくはサッカリンの長期投与実験では膀胱の病変はみられていない(13)。ヒトの疫学研究においてもサッカリンの摂取と膀胱がんの発生に関係がないとの結論が得られている(18)。これらの科学的知見に基づいて、検討委員会は JECFA、EU、米国 FDA と同様に、サッカリンおよびサッカリン塩類はヒトに対する発がん性を有しないと判断し、サッカリンカルシウムの ADI を次の方式で算定した。

サッカリンナトリウムについて実施されたラットの 2 世代試験において、1%添加飼料群(500mg/kg/day に相当)に有害影響がみられなかったとの知見を基盤データとして、安全係数を 100 とすると遊離酸としてのサッカリンの ADI が 3.8mg/kg/day と算定されることから、分子量の違いを計算に入れてサッカリンカルシウムの ADI を 4.2mg/kg/day とした。

9. サッカリンカルシウムの使用基準（案）

サッカリンカルシウムは、アイスクリーム類（原料たる液状ミックス及びミックスパウダーを含む。）、あん類、海藻加工品、菓子（原料たる液状ミックス及びミックスパウダーを含む。）、魚介加工品、ジャム、しょう油、シロップ、酢、清涼飲料水、ソース、つくだ煮、漬物、煮豆、乳飲料、乳酸菌飲料、はっ酵乳、氷菓（原料たる液状ミックス及びミックスパウダーを含む。）、フラワーペースト類（小麦粉、でん粉、ナッツ類若しくはその加工品、ココア、チョコレート、コーヒー、果肉又は果汁を主要原料とし、これに砂糖、油脂、粉乳、卵、小麦粉等を加え、加熱殺菌してペースト状とし、パン又は菓자에充てん又は塗布して食用に供するものをいう。）、粉末清涼飲料及びみそ、これらの食品以外の缶詰又は瓶詰食品並びに特別用途表示の許可又は承認を受けた食品以外の食品に使用してはならない。

サッカリンカルシウムの残存量はサッカリンナトリウムとして、下記の量以上あってはならない。

ただし、サッカリンナトリウム、サッカリンカルシウム又はこれらのいずれかを含む製剤を併用する場合は、サッカリンナトリウムとしての使用量の合計量が下記の量以上残存しないように使用しなければならない。

サッカリンナトリウムに換算して

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| こうじ漬、酢漬及びたくあん漬の漬物 | 2.0 g / kg |
| 粉末清涼飲料 | 1.5g / kg |
| かす漬、みそ漬及びしょう油漬の漬物並びに魚介加工品 （魚肉ねり製品、つくだ煮、漬物及び缶詰又は瓶詰食品を除く。） | 1.2g / kg |
| 海藻加工品、しょう油、つくだ煮及び煮豆 | 0.50g / kg |
| 魚肉ねり製品、シロップ、酢、清涼飲料水、ソース、 乳飲料、乳酸菌飲料及び氷菓 （5倍以上に希釈して飲用に供する清涼飲料水及び乳酸菌飲料 の原料に供する乳酸菌飲料又ははっ酵乳にあつては 1.5g / kg、 3倍以上に希釈して使用する酢にあつては 0.90 g / kg） | 0.30g / kg |
| アイスクリーム類、あん類、ジャム、漬物（かす漬、こうじ漬、 しょう油漬、酢漬、たくあん漬又はみそ漬を除く。）、 はっ酵乳（乳酸菌飲料の原料に供するはっ酵乳を除く。） | 0.20g / kg |
| フラワーペースト類及びみそ | |
| 菓子 | 0.10g / kg |
| これらの食品以外の食品及び魚介加工品の缶詰又は瓶詰 | 0.20g / kg |

ただし、特別用途表示の許可又は承認を受けた場合は、この限りでない。

一日摂取量の推定について

サッカリンカルシウムの用途は現在指定添加物であるサッカリン、サッカリンナトリウムと同様に甘味料としての利用である。サッカリンカルシウムの物理化学的性質はナトリウム塩と類似していること、安全性上もサッカリン及び同ナトリウムとのグループ化合物として評価することが適当であるとされていること（第8章）などから、使用基準（案）は前記のようにサッカリンナトリウムと同様とし、認可食品における最大使用量はサッカリンナトリウムとの合計量で示されている。従って、本品の一日摂取量は、現在のサッカリンとしての摂取量を基本に推定することが適当である。

厚生労働省調査による現在のサッカリンの摂取量

サッカリンは天然には存在しない合成化学物質であり、マーケットバスケット調査によるサッカリンの摂取量は、食品向けに使用され、人が食したサッカリン及びサッカリンナトリウムの摂取量を示している。一日1人摂取量は、1982年から1994年まで0.5 -1 mg前後、1997年に2.88mgと高値を示した後(93)、2002年0.65mg、2006年0.18mgであり(95)、全体として減少傾向が認められる。かような減少傾向は、近年合成品も天然由来品も新規甘味料の上市が続き、サッカリンの代替えが進行したことを反映していると思われる。なお、生産流通調査方式による調査では、調査年1998年、2001年の1人一日摂取量は、サッカリンナトリウムはそれぞれ3.70 mg、2.68 mg、サッカリンは0.0015mg、0.0015mgと報告されており(94)(99)、上記マーケットバスケット調査に比べ数値が高い。かような差の原因は、生産流通調査方式では食品添加物として出荷されたが、実際には食品以外の用途にも使用されたものも含まれていることによる可能性がある。なお、上記マーケットバスケット調査による最新のデータである、0.18 mg/人/日はJECFA ADI 5mg/kg 体重/日の0.07%（体重50kgとして）に相当する。

参考文献

| No. | 著者等 | タイトル | 出典・研究施設等 |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Twenty-fourth Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives (抜粋) | WHO Technical Report Series 653, pp.22-23, 30-32, 1980 |
| 2 | Forty-first Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋) | WHO Technical Report Series 837, pp.16-19, 40-48, 1993 |
| 3 | 24th JECFA (1980) | Calcium Saccharin | Published in FNP 17 (1980) and in FNP 52 (1992) http://apps3.fao.org/jecfa/additive_specs/docs/0/additive-0096.htm |
| 4 | JECFA | 545. Saccharin | WHO Food Additives Series 17 (1982) http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je25.htm |
| 5 | JECFA | Toxicological Evaluation of Some Flavouring Substances and Non-Nutritive Sweetening Agents | FAO Nutrition Meetings Report Series No. 44A WHO/Food Add./68.33 (1967) http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje38.htm |
| 6 | International Agency for Research on Cancer (IARC) | Saccharin and Its Salts (Group 3) | IARC Summary & Evaluations, Vol.73, 1999 |
| 7 | Food and Drug Administration, HHS | § 180.37 Saccharin, Ammonium Saccharin, Calcium Saccharin, and Sodium Saccharin. | 21CFR Ch.1 (4-1-05 Edition) |
| 8 | Institute of Medicine of the National Academies | Calcium Saccharin | Food Chemical Codex Fifth Edition, pp.79-2004 |
| 9 | Commission of the EC | Report of the Scientific Committee for Food (抜粋) | Report of the SCF Sixteenth Series, pp.1-8, 14, 19, 20, 1985 |
| 10 | Commission of the EC | Report of the Scientific Committee for Food (抜粋) | Report of the SCF Twenty-first Series, pp.19-25, 29, 37, 1989 |
| 11 | Office for Official Publications of the EC | Commission Directive 95/31/EC of 5 July 1995 Laying Down Specific Criteria of Purity Concerning Sweeteners for Use in Foodstuffs | Consleg: 1995L0031-11/05/2004 |
| 12 | EC Scientific Committee for Food | Opinion on Saccharin and Its Sodium, Potassium and Calcium Salts | Annex to Document /5157/97 CS/ADD/EDUL/14/-FINAL Feb. 1997 |
| 13 | Takayama,S., Sieber,S.M., Adamson,R.H., Thorgeirsson,U.P., Dalgard,D.W., Arnold,L.L., Cano,M., Eklund,S., Cohen,S.M. | Long-term Feeding of Sodium Saccharin to Nonhuman Primates : Implications for Urinary Tract Cancer | Journal of the National Cancer Institute Vol.90, No.1, pp.Articles.19-25, Jan. 1998 |
| 14 | Cohen,S.M., Ellewein,L.B., Okamura, T., Masui,T., Johansson,S.L., Smith,R.A., Wehner,J.M., Khachab,M., Chappel,C., Schoenig,G.P., Emerson,J.L. | Comparative Bladder Tumor Promoting Activity of Sodium Saccharin, Sodium Ascorbate, Related Acid, and Calcium Salts in Rats | Cancer Research Vol.51, pp.1766-1777, April 1991 |
| 15 | National Institutes of Health (NIH) | Fact Sheet : The "Report on Carcinogens" - 9th Edition (抜粋) | NIH News Release |
| 16 | 黒川雄二, 梅村隆志 | サッカリンのリスクアセスメント | 食衛誌, Vol.37, No.5, pp.341-342, Oct. 1996 |
| 17 | National Research Council, Washington, DC Prepared for : FDA | 1987 Poundage and Technical Effects Update of Substances Added to Food | NTIS PB91-127266, Dec 89 |
| 18 | 41th JECFA | 791.Saccharin and Its Salts | WHO Food Additives Series 32 (1993) IPCS INCHEM http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v32je09.htm |
| 19 | Kramers,P.G.N. | The Mutagenicity of Saccharin | Mutation Research Vol.32, pp.81-92, 1975 |
| 20 | Kristofferson,U.L.F. | The Effect of Cyclamate and Saccharin on the Chromosomes of a Chinese Hamster Cell Line | Hereditas Vol.70, pp.271-282, 1972 |
| 21 | Abe,S., Sasaki,M. | Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cell Exposed to Various Chemicals | Journal of the National Cancer Institute Vol.58, No.6, pp.1635-1641, 1977 |
| 22 | Chang,P., Stacey,T. | Sodium Saccharin : Cytogenetic Effect on Human Lymphocytes in Vitro | Proceedings of the Pennsylvania Academy of Sciences Vol.48, pp.50-51, 1974 |
| 23 | Wolf,S., Rodin,B. | Saccharin-Induced Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster and Human Cells | Science Vol.200, pp.543-545, May 1978 |
| 24 | Ray-Chaudhuri,R., Currens,M., Lype,P.T. | Enhancement of Sister-chromatid Exchanges by Tumour Promoters | British Journal of Cancer Vol.45, pp.769-777, 1982 |
| 25 | Renner,H.W. | Possible Mutagenic Activity of Saccharin | Experientia Vol.35, pp.1364-1365, 1979 |
| 26 | Kramers,P.G.N. | Mutagenicity of Saccharin in Drosophila : The Possible Role of Contaminants | Mutation Research Vol.56, pp.163-167, 1977 |

| No. | 著者等 | タイトル | 出典・研究施設等 |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 27 | Eckhardt,K., King,M.T., Gocke,E., Wild,D. | Mutagenicity Study of Remsen-Fahlberg Saccharin and Contaminants | Toxicology Letter Vol.7, pp.51-60, 1980 |
| 28 | Mahon,G.D.T., Dawson,G.W.P. | Saccharin and the Induction of Presumed Somatic Mutations in the Mouse | Mutation Research Vol.103, pp.49-52, 1982 |
| 29 | Fahrig,R. | Effects in the Mammalian Spot Test : Cyclamate Versus Saccharin | Mutation Research Vol.103, pp.43-47, 1982 |
| 30 | Rao,M.S., Qureshi,A.B. | Induction of Dominant Lethals in Mice by Sodium Saccharin | Indian Journal of Medical Research Vol.60, pp.599-603, 1972 |
| 31 | Sram,R.J., Zudova,Z. | Mutagenicity Studies of Saccharin in Mice | Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology Vol.12, pp.186-192, 1974 |
| 32 | Machemer,L., Lorke,D. | Dominant Lethal Test in the Mouse for Mutagenic Effects of Saccharin | Humangenetik Vol.19, pp.193-198, 1973 |
| 33 | Machemer,L., Lorke,D. | Experiences with the Dominant Lethal Test in Female Mice : Effects of Alkylating Agents and Artificial Sweeteners on Pre-Ovulatory Oocyte Stages | Mutation Research Vol.29, pp.209-214, 1975 |
| 34 | Leonard,A., Leonard,E.D. | Mutagenicity Test with Saccharin in the Male Mouse | Journal of Environmental Pathology and Toxicology Vol.2, pp.1047-1053, 1979 |
| 35 | JECFA | 584. Saccharin, Calcium, Potassium and Sodium Salts | WHO Food Additives Series 19 (1984) IPCS INCHEM http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je11.htm |
| 36 | | サッカリン, サッカリンナトリウム | 第7版 食品添加物公定書解説書, D-534-D-544, 1999, 廣川書店 |
| 37 | Eleventh Report of the JECFA | Specification for the Identity and Purity of Food Additives and Their Toxicological Evaluation : Some Flavouring Substances and Non-Nutritive Sweetening Agents (抜粋) | WHO Technical Report Series 383, pp.13-18, 1967 |
| 38 | Twenty-first Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives (抜粋) | WHO Technical Report Series 617, pp.23-26, 1978 |
| 39 | EU Commission | Report From The Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union | http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/additives/flav15_en.pdf |
| 40 | Eighteenth Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives (抜粋) | WHO Technical Report Series 557, pp.26-27, 33-35, 1974 |
| 41 | Twenty-sixth Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋) | WHO Technical Report Series 683, pp.28, 40-44, 1982 |
| 42 | Twenty-eighth Report of the JECFA | Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋) | WHO Technical Report Series 710, pp.20, 21, 34, 37, 39, 1984 |
| 43 | International Agency for Research on Cancer (IARC) | Saccharin and Its Salts | IARC Monographs Vol.73, pp.517-624, 1999 |
| 44 | Bryan,G.T., Erturk,E., Yoshida,O. | Production of Urinary Bladder Carcinomas in Mice by Sodium Saccharin | Science Vol.168, pp.1238-1240, 1970 |
| 45 | Arnold,D.L., Moodie,C.A., Grice,H.C., Charbonneau,S.M., Stavric,B., Collins,B.T., McGuire,P.F., Zawidzka,Z.Z., Munro,I.C. | Long-Term Toxicity of ortho-Toluenesulfonamide and Sodium Saccharin in the Rat | Toxicology and Applied Pharmacology Vol.52, pp.113-152, 1980 |
| 46 | Frederick,C.B., Dooley, K.L., Kodell,R.L., Sheldon,W.G., Kadlubar,F.F. | The Effect of Lifetime Sodium Saccharin Dosing on Mice Initiated with the Carcinogen 2-Acetylaminofluorene | Fundamental and Applied Toxicology Vol.12, pp.346-357, 1989 |
| 47 | McChesney,E.W., Coulston,F., Benitz,K.F. | Six-Year Study of Saccharin in Rhesus Monkeys | Toxicology and Applied Pharmacology Vol.42, pp.164, 1977 |
| 48 | Thorgeirsson,U.P., Dalgard,D.W., Reeves,J., Adamson,R.H. | Tumor Incidence in a Chemical Carcinogenesis Study of Nonhuman Primates | Regulatory Toxicology and Pharmacology Vol.19, pp.130-151, 1994 |
| 49 | Cohen,S.M. | Role of Urinary Physiology and Chemistry in Bladder Carcinogenesis | Food Chemical Toxicology Vol.33, No.9, pp.715-730, 1995 |
| 50 | Ishidate,M.Jr., Odashima,S. | Chromosome Tests with 134 Compounds on Chinese Hamster Cells in Vitro-A Screening for Chemical Carcinogens | Mutation Research Vol.48, pp.337-354, 1977 |
| 51 | Ishidate,M.Jr., Sofuni,T., Yoshikawa,K., Hayashi,M., Nohmi,T., Sawada,M., Matsuoka,A. | Primary Mutagenicity Screening of Food Additives Currently Used in Japan | Food Chemical Toxicology Vol.22, No.8, pp.623-636, 1984 |
| 52 | Ashby,J., Ishidate,M.Jr. | Clastogenicity in Vitro of the Na, K, Ca and Mg Salts of Saccharin ; and of Magnesium Chloride ; Consideration of Significance | Mutation Research Vol.163, pp.63-73, 1986 |
| 53 | 祖父尼俊雄, 林真, 松岡厚子 | 染色体異常試験データ | 染色体異常試験データ集 改訂1998年版 |
| 54 | 石館基, 能美健彦, 松井道子 | 微生物を用いる変異原性試験データ | 微生物を用いる変異原性試験データ集, Life-science Information Center, 1991 |

| No. | 著者等 | タイトル | 出典・研究施設等 |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 55 | Commission of the EC | Report of the Scientific Committee for Food | Report of the SCF Fourth Series 1977 |
| 56 | 厚生省環境衛生局食品化学課 | サッカリンナトリウム等の規格基準の改正等について | 食品衛生研究 Vol.25, No.9, 1975 |
| 57 | 厚生省環境衛生局食品化学課 | 食品、添加物等の規格基準の一部改正について | 食品衛生研究 Vol.23, No.23, 1973 |
| 58 | 厚生省環境衛生局食品化学課 | 食品・添加物の告示の解説 [サッカリンについて] | 食品衛生研究 Vol.24, No.3, 1974 |
| 59 | Fitzhugh,O.G., Nelson,A.A., Frawley,J.P. | A Comparison of the Chronic Toxicities of Synthetic Sweetening Agents | Journal of the American Pharmaceutical Association Vol.40, No.11, pp.583-586, 1951 |
| 60 | Allen,M.J., Boyland,E., Dukes,C.E., Horning,E.S., Watson,J.G. | Cancer of the Urinary Bladder Induced in Mice with Metabolites of Aromatic Amines and Tryptophan | British Journal of Cancer Vol.11, pp.212-228, 1957 |
| 61 | Copyright 2005 : Calorie Control Council | Backgrounder on Saccharin (Benefits/Safety/Public Policy) | http://www.saccharin.org/backgrounder.html |
| 62 | Ministry of Agriculture, Fisheries and Food | Dietary Intake of Food Additives in the UK:Initial Surveillance | Food Surveillance Paper No.37, HMSO |
| 63 | | Saccharin | The Merck Index Thirteenth Edition, pp.1492 |
| 64 | Wursch,P., Daget,N. | Sweetness in Product Development | Sweetness, Springer-Verlag, pp.247-259, 1987 |
| 65 | | カルシウムサッカリン Saccharin Calcium | 愛三化学工業株式会社 社内資料 |
| 66 | | Calcium Saccharin, Special Powder | Aisan Chemical Co., Ltd. 社内資料 |
| 67 | Taylor,J.D., Richards,R.K., Wiegand,R.G., Weinberg,M.S. | Toxicological Studies with Sodium Cyclamate and Saccharin | Fd Cosmet Toxicol Vol.6, pp.313-327, 1968 |
| 68 | Taylor,J.M., Weinberger,M.A., Friedman,L. | Chronic Toxicity and Carcinogenicity to the Urinary Bladder of Sodium Saccharin in the in Utero-Exposed Rat | Toxicology and Applied Pharmacology Vol.54, pp.57-75, 1980 |
| 69 | Kennedy,G.L.Jr., Fancher,O.E., Caladra,J.C. | Subacute Toxicity Studies with Sodium Saccharin and Two Hydrolytic Derivatives | Toxicology Vol.6, pp.133-138, 1976 |
| 70 | Munro,I.C., Moodie,C.A., Krewski,D., Grice,H.C. | A Carcinogenicity Study of Commercial Saccharin in the Rat | Toxicology and Applied Pharmacology Vol.32, pp.513-526,1975 |
| 71 | Roe,F.J.C., Levy,L.S., Carter,R.L. | Feeding Studies on Sodium Cyclamate, Saccharin and Sucrose for Carcinogenic and Tumour-promoting Activity | Fd Cosmet Toxicol Vol.8, pp.135-145, 1970 |
| 72 | Kroes,R., Peters,P.W.J., Berkvens,J.M., Verschuuren,H.G., de Vries,TH, VanEsch,G.J. | Long Term Toxicity and Reproduction Study (Including a Teratogenicity Study) with Cyclamate, Saccharin and Cyclohexylamine | Toxicology Vol.8, pp.285-300, 1977 |
| 73 | Tanaka,S., Kawashima,K., Nakaura,S., Nagao,S., Kuwamura,T., Omori,Y. | Effects of Saccharin Sodium on the Development of Rats and Mice | J Food Hyg Soc Vol.14, No.4, pp.371-379, 1973 |
| 74 | Schoenig,G.P., Goldenthal,E.I., Geil,R.G., Frith,C.H., Richter,W.R., Carlborg,F.W. | Evaluation of the Dose Response and In Utero Exposer to Saccharin in the Rats | Food Chemical Toxicology Vol.23, No.4/5, pp.475-490, 1985 |
| 75 | Homburger,F. | Negative Lifetime Carcinogen Studies in Rats and Mice Fed 50,000 PPM Saccharin | Chemical Toxicology of Food, pp.359-373, 1978 |
| 76 | Fukushima,S., Arai,M., Nakanowatari,J., Hibino,T., Okuda,M., Ito,N. | Differences in Susceptibility to Sodium Saccharin Among Various Strains of Rats and Other Animal Species | Gann, Vol.74, pp.8-20, Feb., 1983 |
| 77 | Presad,O., Rai,G. | Induction of Papillary Adeno carcinoma of Thyroid in Albino Mice by Saccharin Feeding | Indian Journal of Experimental Biology, Vol.24, pp.197-199, 1986 |
| 78 | Lessel,B. | Carcinogenic and Teratogenic Aspects of Saccharin | SOS/70 Proc Third Int Congr Food Sci Technol, pp.764-770, 1971 |
| 79 | Schmahl,V.D. | Lack of Carcinogenic Effects of Cyclamate, Cyclohexylamine and Saccharin in Rats | Arzneim Forsch, Vol.23, pp.1466-1470, 1973 |
| 80 | Ulland,B., Weisburger,E.K., Weisburger,J.H. | Chronic Toxicity and Carcinogenicity of Industrial Chemicals and Pesticides | Toxicol Appl Pharmacol, Vol.25, pp.446, 1973 |
| 81 | Furuya,T., Kawamata,K., Kaneko,T., Uchida,O., Horiuchi,S., Ikeda,Y. | Long-term Toxicity Study of Sodium Cyclamate and Saccharin Sodium in Rats | Jpn J Pharmacol, suppl.25, pp.55-56, 1975 |
| 82 | Chowaniec,J., Hicks,R.M. | Response of the Rat to Saccharin with Particular Reference to the Urinary Bladder | Br J Cancer, Vol.39, pp.355-375, 1979 |
| 83 | Hooson,J., Hicks,R.M., Grasso,P., Chowaniec,J. | Ortho-toluene Sulphonamide and Saccharin in the Promotion of Bladder Cancer in the Rat | Br J Cancer, Vol.42, pp.129-147, 1980 |
| 84 | Hibino,T., Hirasawa,Y., Arai,M. | Morphologic Changes in the Urinary Bladder and Stomach After Long-term Administration of Sodium Saccharin in F344 Rats | Cancer Letters, Vol.29, pp.255-263, 1985 |

| No. | 著者等 | タイトル | 出典・研究施設等 |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 85 | Homma,Y., Kondo,Y., Kakizoe,T., Aso,Y., Nagase,S | Lack of Bladder Carcinogenicity of Dietary Sodium Saccharin in Analbuminaemic Rats, Which are Highly Susceptible to N-NITROSO-n-BUTYL-(4-HYDROXYBUTYL) AMINE | Fd Chem Toxic, Vol.29, No.6, pp.373-376, 1991 |
| 86 | Clayson,D.B., Cooper,E.H. | Cancer of the Urinary Tract | Advances in Cancer Research, Vol.13, 1970 |
| 87 | | サッカリン及びサッカリンナトリウム | 食品衛生検査指針・食品添加物編, pp.233-239, 2003, 社団法人日本食品衛生協会 |
| 88 | Hasegawa,R., Cohen,S.M. | The Effect of Different Salts of Saccharin on the Rat Urinary Bladder | Cancer Letters, Vol.30, pp.261-268, 1986 |
| 89 | Fukushima,S., Thamavit,W., Kurata,Y., Ito,N. | Sodium Citrate : A Promoter of Bladder Carcinogenesis | Jpn J Cancer Res (Gann), Vol.77, pp.1-4, 1986 |
| 90 | DeGroot,A.P., Feron,V.J., Immel,H.R. | Induction of Hyperplasia in the Bladder Epithelium of Rats by a Dietary Excess of Acid or Base : Implications for Toxicity / Carcinogenicity Testing | Fd Chem Toxic, Vol.25, No.5, pp.425-434, 1988 |
| 91 | Otoshi,T., Iwata,H., Yamamoto,S., Murai,T., Ymaguchi,S., Matsui-Yuasa,I., Otani,S., Fukushima,S. | Severity of Promotion by Sodium Salts of Succinic Acid in Rat Urinary Bladder Carcinogenesis Correlates with Sodium Ion Concentration Under Conditions of Equal Urinary pH | Carcinogenesis Vol.14, No.11, pp.2277-2281, 1993 |
| 92 | EC | European Parliament and Council Directive 94/35/EC of 30 June 1994 on Sweeteners for Use in Foodstuffs | OJ No.237, 10.9.1994 |
| 93 | 食品添加物研究会編 | マーケットバスケット調査対象食品添加物の摂取量 - 甘味料- | あなたが食べている食品添加物、食品添加物一日摂取量の実態と傾向、本編版, pp.12-14, 日本食品添加物協会, 平成13年 |
| 94 | 日本食品添加物協会「生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」研究グループ | 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定 その1指定添加物品目(第7回最終報告) 第1章 甘味料(抜粋) | 平成16年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全性高度化推進事業) pp.1001,1003,1005,1006, 平成17年3月31日 |
| 95 | 佐藤恭子、久保田浩樹、建部千絵、古庄紀子、棚元 憲一 | 平成18年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査 マーケットバスケット方式による甘味料の推定摂取量 | 平成18年度 食品等試験検査費 |
| 96 | | Congress Gives Saccharin a Clean "Bill" of Health: Warning Label to be Removed | Calorie Control Council, 2006 |
| 97 | | To Repeal Provisions of Federal Law Requiring Labeling on Saccharin Containing Foods. | 106th Congress 2d Session H.R.5668, Dec.15, 2000 |
| 98 | | 厚生省告示第341号(サッカリンの使用基準改正) | 官報第14102号, 昭和48年12月27日 |
| 99 | 日本食品添加物協会「生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」研究グループ | 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定 その1指定添加物品目(第6回最終報告) 第1章 甘味 | 平成13年度厚生労働科学研究費補助金 pp.1001 ~ 1006, 平成14年3月31日 |