

サッカリンカルシウムについての  
補足資料提出依頼に関する調査報告書

2011年4月20日

厚生労働省食品全部基準審査課

## 目 次

I.	サッカリン及びその塩類の安全性と国際評価の経緯	1
II.	補足資料要求に対する調査結果	5
	1. 要求事項 1、2 について	5
	2. 要求事項 3 について	15

[別添 1] サッカリン及びその塩類に含有する不純物又は代謝物の個別データ

[別添 2] サッカリンに含有される不純物の毒性試験一覧

[別添 3] サッカリンに含有される不純物の変異原性試験一覧

[別添 4] 食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について  
(府食第 1075 号, 平成 19 年 10 月 31 日)

[補足文献一覧]

報告書文献：平成 18 年（2006 年）に取りまとめた検討報告書の引用文献

補足文献：この報告書で新たに引用した文献

## 1 サッカリンカルシウムの補足資料提出依頼に関する調査結果

2  
3 サッカリンカルシウムの安全性評価について、食品安全委員会から要求されてい  
4 る補足資料提出依頼[別添4]について厚生労働省として調査した結果を以下に報告  
5 します。

### 7 I. サッカリン及びその塩類の安全性と国際評価の経緯

#### 8 1) 発見、内外における食品への使用

9 サッカリン(およびその塩類)は1879年Fahlberg(独)らがオルトスルファモイ  
10 ル安息香酸の製造中に発見し、1884年に米国で、翌年英国で工業化され市販された。  
11 米国では1958年GRAS制度発足と同時にGRAS物質(一般に安全と認められる物質)  
12 に認定された。

13 日本では治療上の目的で使用する人工甘味料として1901年にサッカリンナトリウ  
14 ムの使用が認められたのに続き、1941年たくあん漬けに、1946年一般飲食物に、1948  
15 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のひとつとして指定  
16 された(補足文献1)。

#### 17 2) サッカリンの製法と不純物

18 サッカリンの製造法は、レムゼン法(Remsen-Fahlberg法、かつて日本でも用いら  
19 れた、別添1の13頁参照)、とマウミー法(Maumee法、Sherwin-Williams法、現在  
20 の主流、別添1の8頁参照)などが知られている(報告書文献4)(補足文献1、3)。

21 レムゼン法は、トルエンをクロルスルホン酸でスルホン化し、一部生成するパラ  
22 体をろ過して除き、オルトトルエンスルホニルクロリドをアンモニア水中に注入し、  
23 アミド化して得られるオルトトルエンスルホンアミド(OTS)を電解酸化により酸化  
24 しサッカリンを製する。サッカリンを当量の炭酸ナトリウムまたは水酸化ナトリウ  
25 ム溶液に溶解し、減圧濃縮すると、サッカリンナトリウム2水和物の結晶が得られ  
26 る。この方法は比較的単純であるが、不純物としてOTSを含有しやすい。しかし、  
27 OTS以外の不純物は少ない。

28 マウミー法は、無水フタル酸とアンモニアから生成したフタル酸イミドに、ホフ  
29 マン反応、ジアゾ化、二硫化ナトリウム処理、メチルエステル化、塩素酸化、アン  
30 モニアとの反応を順次行ってサッカリンアンモニウム塩を得、これを酸性化、ろ別、  
31 アルカリ処理してサッカリンナトリウムとする。工程がレムゼン法の2倍近くあり  
32 複雑である。N-メチルサッカリン、アントラニル酸メチル(以上有機溶媒に可溶性  
33 の不純物)、アミノサッカリン(温水可溶性の極性のある不純物で、5-6-、およ  
34 び7-アミノサッカリンの3種類の異性体が知られている)など不純物の種類が多  
35 いが、OTSの生成・混入は少ない。

36

### 3) サッカリンの膀胱発がん と OTS

1 サッカリンは1974年にTisdellらが雄ラットでの膀胱がん誘発を発表するまで(報  
2 告書文献43)、動物における長期摂取試験で特段の毒性は報告されていなかった(報  
3 告書文献1、5、38、40(なお、Tisdellら(1974)の原著を入手することはできな  
4 かった。))。Tisdellらの試験(最高用量、餌中5%)による雄ラット膀胱がん誘発は、  
5 その後実施されたTaylorらによる胎仔期からの投与試験でも最高用量7.5%群にお  
6 いて再現された(報告書文献68)。両試験ではレムゼン法で製造された製品が使用さ  
7 れ、製品には不純物として、オルトトルエンスルホンアミド(OTS)が最高で4660ppm  
8 と多く含まれていたことから(報告書文献4)、サッカリンナトリウム自身の影響の  
9 可能性のほか、OTS原因説が提起された(報告書文献4、40、68)。更に、げっ歯類  
10 動物の膀胱に寄生虫トリコソモイデス・クラシカウダ(*Trichosomoides crassicauda*)  
11 が共存すると膀胱がん発生に影響を及ぼす可能性がある、との報告があることから  
12 寄生虫原因説も取り上げられた(報告書文献70)(補足文献4)。これらの確認を兼ね、  
13 Arnoldらは、膀胱に寄生虫がいないCDラットにOTS混入が少ないマウミー法による  
14 サッカリンナトリウム(サッカリンナトリウム濃度餌中5%)、もしくはOTS(2.5-250  
15 mg/kg体重/日)を混餌で与え、2世代試験を実施した結果、サッカリンナトリウム  
16 投与群でF1雄ラットに膀胱がんの発症を認める一方、OTS投与群では膀胱がんの発  
17 症はなかったことから、OTSは原因物質ではないと判断され、同時に寄生虫原因説も  
18 除外された(報告書文献4、38、45)。

### 4) サッカリンの変異原性

21 膀胱がん発症の原因追求の観点もありサッカリン類および不純物の変異原性の検  
22 討が種々行われた。サッカリン自身に関しては、報告書にも記したように、IARCモ  
23 ノグラフでは最終的に「*in vivo/in vitro*で遺伝毒性を示さない」と結論されてい  
24 る(報告書文献43)。

25 当初、サッカリンに関する試験の結果が一定しなかったため、サッカリン中の不  
26 純物による影響が考えられ(1977年第21回JECFA)(報告書文献38)、レムゼン法  
27 で製造されたサッカリンの不純物である、オルトおよびパラトルエンスルホンアミ  
28 ド(有機溶媒溶解物質)、オルトおよびパラスルファモイル安息香酸(水溶性物質)  
29 などにつき、エームス試験、ショウジョウバエ試験、マウス小核試験等が実施され  
30 たが、強力な陽性結果は認められなかった(報告書文献4)。一方、不純物の種類が  
31 多いマウミー法で製造されたサッカリン製品についても、異なる製造ロットでの変  
32 異原活性、個々の不純物の分離・精製、単離精製した不純物での変異原性の検討が  
33 多くなされた。若干の変異原性が認められた不純物も散見されたが、いずれも毒性  
34 学的有意な個別変異原物質は認められないとされている(報告書文献35)(補足文献  
35 5)。

1

2 **5) サッカリン安全性の国際評価の経緯**

3 (ラット膀胱がん問題を含めた最終的な国際評価)

4 JECFA におけるサッカリン類の安全性の評価は、雄ラット膀胱がん誘発問題を含  
5 め、第 41 回会議 (1993 年) において完結している。この結論に至る経過ならびに第  
6 41 回会議における評価の要点を以下に紹介する。

7 サッカリンとその塩類の安全性は JECFA 第 11 回会議 (1967 年) で初めて評価さ  
8 れ、ラットへの 1% の混餌 (500 mg/kg 体重/日に相当) による 36 週間および 2 年間  
9 のラット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  
10 トリウム塩およびカルシウム塩について、一般食品に対して ADI:5 mg/kg 体重/日、  
11 ダイエット食品で ADI:15 mg/kg 体重/日とされた (報告書文献 37)。雄ラット膀胱  
12 がん誘発問題は 1974 年の第 18 回会議ではじめて検討され、この病変はサッカリン  
13 ナトリウム 5% もしくは 7.5% という高濃度でのみ認められる、同じげっ歯類動物で  
14 もラットに特異的である。糖尿病患者等のヒトでの疫学的研究ではサッカリン摂取  
15 と膀胱がん発症の因果関係は認められないことが指摘されると共に、原因物質とし  
16 て製品中の不純物、特に OTS の可能性が指摘された。また、発症機作として、前が  
17 ん病変の検討や、2 次的に膀胱がんを誘発することが知られている結石の形成、結  
18 石形成に関連する尿 pH の変化などの影響の可能性の検討が示唆された (報告書文献  
19 40)。これらのうち、OTS 原因説は前述の試験結果に基づき、第 21 回会議 (1977 年)  
20 において排除されたが、OTS 以外の不純物の影響の検討、疫学研究の充実も必要とさ  
21 れ (報告書文献 38)、一日摂取許容量 (ADI) は、それまでの 5 mg/kg を暫定 ADI と  
22 して 2.5 mg/kg と改訂された (報告書文献 38)。

23 第 24 回会議 (1980 年) (報告書文献 1) および第 26 回会議 (1982 年) (報告書文  
24 献 4、41) では疫学研究が追加検討され、因果関係は認められないとされた。引き続  
25 き 1984 年の第 28 回会議においては、ラットで新たに実施された大規模な 2 世代試  
26 験の一環として実施された、膀胱発がんにかかる用量反応データが検討され、飼料  
27 中にサッカリンナトリウムを飼料に添加する長期投与試験では 3% 以上の添加飼料  
28 群で膀胱がんが発生する一方、1% 添加飼料群では発生なく、無毒性量に相当すると  
29 判断された。1% 添加飼料の摂取が 500 mg/kg 体重/日の用量に相当することから、  
30 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  
31 よびカルシウム塩についての暫定グループ ADI、2.5 mg/kg 体重/日が再度設定され  
32 た (報告書文献 35、42、74)。

33 第 41 回 (1993 年) JECFA 会議では、日本において実施されたものを含め、多種多  
34 様な膀胱がん発症機作に係る研究、体内動態、薬力学、遺伝毒性、大規模な疫学研  
35 究などの結果に基づき以下のように評価された (報告書文献 2、18)。①サッカリン  
36 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

1 であって、他の動物にはみられない、②サッカリンは生理的な pH の条件では陰イオン  
2 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、③サッ  
3 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  
4 オン不均衡に起因する影響と考えられる、④サッカリンナトリウムを高濃度に添加  
5 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  
6 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及び pH の上昇に起因し、  
7 サッカリンに限らず、他の有機陰イオンのナトリウム塩の場合にも起こると考えら  
8 れる、⑤疫学研究において、サッカリンの摂取により、膀胱がんの発生率が高くな  
9 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、1993 年 JECFA は  
10 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  
11 びつけるのは不適切であるとした。サッカリンナトリウムについての 2 世代混餌投  
12 与試験での無影響量、1%添加飼料 (500 mg/kg 相当) に、安全係数を 100 として、  
13 ADI は 5 mg/kg 体重/日に設定された (報告書文献 2)。

14 サッカリンの発がん性については、国際がん研究機関 (IARC) は、「ヒトへの発がん  
15 性は認められない (グループ 3) (Vol. 73, 1999 年)」と評価 (報告書文献 43)、米  
16 国国家毒性評価計画 (National Toxicology Program, NTP) も 2000 年 5 月、サッカ  
17 リン類を発がん物質リストから削除している (報告書文献 15)。また、欧州連合にお  
18 いても「食品科学委員会 (Scientific Committee on Food)」は 1995 年、上述の第  
19 41 回 JECFA 会議報告と同様の報告書を公表している (報告書文献 12)。

20

21

## 1 II. 補足資料要求に対する調査結果

### 3 1. 要求事項 1.2 について

4 サッカリンの製造法は、レムゼン法とマウミー法が知られている（報告書文献 4）  
5（補足文献 3）。これらの製法により確認された不純物、または代謝物について、そ  
6 れぞれ化学名称、由来、安全性評価等にかかる情報を収集・整理した。調査が要求  
7 されているベンゼンスルホンアミドについては、Lethco 等による 1 件の報告がある  
8（補足文献 43）。著者等はサッカリンの代謝過程における脱炭酸による微量の生  
9 成物として推察しているが、当該物質の確認はなされていない。その後、本物質に  
10 ついてサッカリンの代謝物として取り上げられた報告は見当たらず、JECFA 等国際  
11 機関においても言及されていない。これらのことからベンゼンスルホンアミドにつ  
12 いては調査対象から除外し、要求に掲げられた 6 物質のうち 5 物質について調査を  
13 行なった。

14 また、JECFA によるサッカリン類の評価書を再点検し、上記 5 物質のほか主とし  
15 てレムゼン法によるサッカリン製造時の不純物としてパラスルファモイル安息香  
16 酸、マウミー法によるサッカリン製造時の不純物として N-メチルサッカリン、ア  
17 ントラニル酸メチル、及びアミノサッカリンのそれぞれについても由来・含有量・  
18 毒性、安全性評価等にかかる情報を収集・整理し、サッカリンカルシウムの安全性  
19 について再度考察した。

20 なお、上記以外にも、サッカリン類縁の不純物が文献上確認されているが、これ  
21 らはサッカリン類の JECFA による最終評価（1993 年、報告書文献 2、18）よりも数  
22 年以上前に報告されたものがある。国際的ながん研究機関である IARC もサッカリン  
23 ナトリウムの発がんの機構が未解明であった 1980 年の評価報告書で不純物につい  
24 て詳細に記しているものの（補足文献 30）、1999 年の最新報告書ではオルトル  
25 エンスルホンアミド (OTS) 以外の不純物はその種類を羅列するに止めている（報告  
26 書文献 43）。

27  
28  
29 ○サッカリン及びその塩類に含有する不純物又は代謝物

30 (1) オルトスルファモイル安息香酸

31 (2) パラスルファモイル安息香酸

32 (3) オルトカルボキシベンゼンスルホン酸及び同アンモニウム

33 (4) 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)

34 (5) オルトトルエンスルホンアミド (OTS)

35 (6) パラトルエンスルホンアミド (PTS)

36 (7) N-メチルサッカリン

1 (8) アントラニル酸メチル

2 (9) アミノサッカリン

3 なお、要求事項1のオルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウムについて

4 IARCではオルトカルボキシベンゼンスルホン酸も同じ不純物としているので(報告

5 書文献43)、同アンモニウム塩とともに調査対象とした。

6

7 1) 調査結果の概要

8 上記9物質について、それぞれ化学名称、由来、安全性評価に関わる一般毒性試

9 験、変異原性試験、生殖毒性試験等に関する調査を行なった結果、各試験項目の評

10 価概要は以下のとおりである。なお、上記9物質の個別データは[別添1]に示した。

11

12 (1) 化学名称、由来等

13 上記9物質の化学名、化学構造、由来、製品中の含有量等は[別添1]に示すと

14 りである。また、上記9物質について各製法の違いによる由来と含有量等の概要を

15 下表に示した。

16

物質名	製造方法		備考
	レムゼン法	マウミー法	
オルトスルファモイル安息香酸	該当 製造過程中間体 (0-181 mg/kg) (補足文献 1、44、50)	該当 製造過程中間体 (21-41 mg/kg) (補足文献、6、 44、50)	サッカリンの代謝物であるとの報告があるが未確認(報告書文献4、69)ほか、製品加熱時の分解生成物でもある(補足文献1)
パラスルファモイル安息香酸	該当 オルトスルファモイル安息香酸の不純物 (10-1057 mg/kg) (補足文献 44、50)		添加物サッカリン類成分規格で上限値：25 mg/kg 以下 (当初要請資料参考文献11、補足文献51)
オルトカルボキシベンゼンスルホン酸及び同アンモニウム	いずれの方法に由来する不純物か特定する情報がない(報告書文献43)		アンモニウム塩はサッカリンの代謝物である可能性があるが未確認(報告書文献4、69)
1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン(BIT)	非該当	該当 (平均 200 mg/kg)(補足文献2)、(1-2	



		mg/kg) (補足文 献 5)	
オルトトルエンスル ホンアミド (OTS)	該当 製造過程中間体 最高 4000-6000 mg/kg (1970 年代) (報告書文献 4、40)	非該当	日(サッカリン Na 塩)規格: 25 µg/g 以 下 (OTS として); 米、JECFA 規格: 25 µg/g 以下 (トルエンルホンアミド <sup>*</sup> とし て); EU 規格: 10 µg/g 以下 (OTS として) (報告書文献 3、8、11) (補足文献 1)
パラトルエンスルホ ンアミド (PTS)	該当 (報告書文献 43) (補足文献 1)	非該当	オルト体の 2-3% (補足文献 1) 米、JECFA 規格: 25 µg/g 以下 (ト ルエンルホンアミド <sup>*</sup> として) EU 規格: 10 µg/g 以下 (PTS として) (報告書文献 3、8、11)
N-メチルサッカリン	非該当	該当 (0.15 mg/kg) (報告書文献 35) (補足文献 5)	
アントラニル酸メチ ル	非該当	該当 (0.05 mg/kg) (報告書文献 35) (補足文献 5)	
アミノサッカリン	非該当	該 当 ( 5- 体 59-92 mg/kg、6- 体 40-60 mg/kg) (補足文献 6)	3 種類の構造異性体 (5, 6, 7 位) が ある (報告書文献 35) (補足文献 6)

- 1  
2 これらはいずれもサッカリン製品の不純物として確認されているものである。  
3 代謝物に関しては、それらが尿中に認められないとする報告 (補足文献 42) と  
4 オルトスルファモイル安息香酸がラット尿中に認められたとする Lethco らの報告  
5 (補足文献 43) があり、それらを引用した報告が見られる (報告書文献 4、69)。  
6 Lethco ら自身の報告 (補足文献 43) では、尿中に微量検出されたオルトスルフ  
7 アモイル安息香酸は尿にサッカリンナトリウム検体を添加・放置した実験において  
8 認められなかったことから体内での化学的分解物と考えられており、この Lethco  
9 らの考えはその後の総説においても紹介されている (補足文献 7)。

10

## 1 (2) 毒性試験

### 2 ①一般毒性試験 (発がん性試験を含む)

3 サッカリンの不純物または代謝物として掲げられた、9物質について単回投与な  
4 らびに反復投与毒性試験や発がん性試験等に関する試験成績を調査したところ、パ  
5 ラスルファモイル安息香酸、N-メチルサッカリンならびにアミノサッカリンについ  
6 ては何れの試験成績も見出すことは出来なかった。今回、何等かの試験成績を見出  
7 すことが出来た「オルトスルファモイル安息香酸、オルトカルボキシベンゼンスル  
8 ホン酸アンモニウム、1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)、オルトトルエンス  
9 ルホンアミド(OTS)、パラトルエンスルホンアミド(PTS)およびアントラニル酸メチ  
10 ル」についての試験成績を解析し、それらを基にサッカリンの安全性について総合  
11 的に評価を行った。

12 オルトスルファモイル安息香酸ならびにオルトカルボキシベンゼンスルホン酸ア  
13 ンモニウムに関しては、同様のプロトコールにより、投与用量が一用量 (共に  
14 20,000ppm) ではあるが、雌雄のラットに13週間、また、雌雄のビーグル犬に16週  
15 間混餌投与した反復投与試験が実施されており、両物質ともラットならびにイヌに  
16 被験物質投与に起因した影響は認められなかったと報告されている(報告書文献69)。

17 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT) のラットにおける  $LD_{50}$  値は雄で 2,100  
18 mg/kg 体重、雌で 1,050 mg/kg 体重と報告されている(補足文献8)。また、雌雄の  
19 ラットに BIT を 28 あるいは 90 日間強制経口投与した試験および 90 日間混餌投与し  
20 た反復投与試験が実施されており、28 日間あるいは 90 日間の経口投与においては  
21 37.9 および 25.3 mg/kg 体重の用量で被験物質投与に起因した刺激性による影響が前  
22 胃に観察されており、無毒性量 (NOAEL) は 28 日試験で 12.6 mg/kg 体重、また、90  
23 日試験では 8.42 mg/kg 体重と推定されている(補足文献2、8(なお、原著を入手す  
24 ることはできなかった。))。さらに、90 日間の混餌投与においては体重の低下が雄で  
25 900ppm 以上の群および雌では 4000ppm 群で観察され、組織学的に雌雄の 4000ppm 群  
26 で前胃/腺胃境界縁に扁平上皮過形成が観察されたことから無影響量 (NOEL) は雄  
27 で 200ppm (15.3 mg/kg 体重/日相当)、雌で 900ppm (78 mg/kg 体重/日相当) と推定  
28 されている(補足文献2)。

29 オルトトルエンスルホンアミド (OTS) のラットにおける  $LD_{50}$  値は雄で 2,000 mg/kg  
30 体重を上回り、雌では 1,000~2,000 mg/kg 体重の間であったと報告されている(補  
31 足文献9)。反復投与試験に関しては、5 週齢の雌雄の SD 系ラットに 0、4、20 およ  
32 び 100 mg/kg 体重で 28 日間経口投与し、その後 14 日間の回復期間を設けた試験が  
33 実施されており、100 mg/kg 群の雌雄で、投与第 2 週から投与期間を通して流涎や活  
34 動性の低下が認められ、また、病理組織学的検査では、100 mg/kg 群の雄で尿細管上  
35 皮に好酸性小体が増加する傾向であり、以上のことから、本試験条件下における OTS  
36 の無影響量は雌雄とも 20 mg/kg 体重と推定されている(補足文献10)。また、8 週

1 例の雌雄のSD系ラットにOTSを0、20、100、および500 mg/kg体重の用量で交配前  
2 2週から雄には42日間、雌には分娩後哺育3日まで強制経口投与した反復投与毒性・  
3 生殖発生毒性併合試験（以下、併合試験）が実施されており、100 mg/kg以上の投与  
4 群において、投与後、自発運動の減少や流涎が認められ、また、体重増加量や摂餌  
5 量が減少しており、雄では死亡動物は認められなかったが、雌では500 mg/kg群に  
6 において3匹が死亡し、2匹が瀕死動物として剖検されたと報告されている。剖検時に  
7 雄で実施した血液生化学的検査では、すべての被験物質投与群においてALPが低下  
8 し、100 mg/kg以上の投与群で総コレステロールの増加がみられた。病理学的検査で  
9 は雄で100 mg/kg体重以上の投与群の肝臓および腎臓に暗色化あるいは肥大等が認  
10 められ、病理組織学的検査では曇りガラス様を呈する小葉中心性肝細胞肥大が100  
11 mg/kg以上の投与群で観察され、腎臓において好酸性小体が頻度および程度ともに全  
12 ての投与群で増加して認められた。雌では病理組織学的検査で100 mg/kg以上の群  
13 において曇りガラス様を呈する小葉中心性肝細胞肥大が観察されたが、20 mg/kg群  
14 では、いずれの検査・観察項目にも、被験物質投与の影響は認められていなかった。  
15 以上のことから本試験条件下におけるOTSの無影響量は雄で20 mg/kg体重未満、雌  
16 では20 mg/kg体重と推定されている（補足文献11）。さらに、9週齢のSD系ラッ  
17 トにOTSを0、4、20および100 mg/kg体重の用量で併合試験とほぼ同様の期間経口  
18 投与した簡易生殖毒性試験が実施されており、雌雄ともいずれの投与群においても  
19 死亡はみられず、一般状態では100 mg/kg群において、雌雄とも投与直後に活動性  
20 の低下および流涎が観察され、体重増加が抑制されたが、肉眼的および病理組織学  
21 検査では被験物質投与によると考えられる異常は認められず、以上のことから、本  
22 試験条件下におけるOTSの無影響量は雌雄とも20 mg/kg体重と推定されている（補  
23 足文献12）。

24 また、長期試験として、雌雄のSD系ラットに2世代に亘りOTSを0、2.5、25お  
25 よび250 mg/kg体重で生涯自由に摂取させたところ、試験期間を通じてF<sub>0</sub>ならびに  
26 F<sub>1</sub>動物とも一般状態は良好であったが、250 mg/kg群で体重は低値を示した。本試験  
27 で使用した動物では膀胱の寄生虫であるTrichosomoides crassicaudaの虫体ならび  
28 に虫卵は確認されず、病理組織学的検査では非腫瘍性ならびに腫瘍性病変はともに  
29 対照群と同様な発生率を示しており、本試験条件下ではOTS投与に起因した腫瘍の  
30 誘発はいずれの臓器においても認められなかったと報告されている（報告書文献83）。  
31 なお、上記の反復投与試験でOTSの100 mg/kg体重以上の投与群で観察された流涎  
32 が本試験において観察されたとの記載は認められていない。

33 さらに、OTSの膀胱発がんプロモーション作用を明らかにする目的で雌のWistar  
34 系ラットにN-methyl-N-nitrosourea(MNU)(1.5 mg/個体)を膀胱内に注入した後、  
35 0.1% (70 mg/kg体重/日相当)のOTSを2年間飲水投与した試験や79 mg/kg体重/  
36 日のOTSを2年間混餌投与した試験が実施されており、膀胱にOTS投与に起因した

1 腫瘍の誘発やプロモーション作用は認められず、腎臓を含むその他の臓器において  
2 も OTS 投与に起因した腫瘍の誘発は認められなかったと報告されている（報告書文  
3 献 83）。

4 パラトルエンスルホンアミド（PTS）のラットにおける LD<sub>50</sub> 値は雌雄とも 2,000  
5 mg/kg 体重を上回る量（補足文献 13）および 2,330 mg/kg 体重（性別は不明）（補足  
6 文献 47）と報告されている。また、OTS（41%）と PTS（51%）の混合物ではラット  
7 で 2,400 mg/kg 体重（性別は不明）と報告されている（補足文献 47）。

8 パラトルエンスルホンアミド（PTS）の反復投与毒性として雌雄の SD 系ラットに  
9 PTS を 0、120、300 および 750 mg/kg 体重の用量で交配前 2 週から雄には 42 日間、  
10 雌には分娩後哺育 3 日まで強制経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験  
11 が実施されており、雌雄とも 120 mg/kg 以上の群で流涎が用量依存的に観察される  
12 と共に、病理組織学的検査においては膀胱粘膜上皮の肥厚や粘膜固有層への細胞浸  
13 潤を伴う動物が散見され、また、雄において実施した血液学および血液生理学的  
14 検査において 300 mg/kg 以上の群でリンパ球の減少に伴う白血球数の減少、尿素窒  
15 素や塩素の増加、GOT と GPT の軽度な増加が認められており、以上の成績より本試験  
16 条件下における PTS の無影響量は 120 mg/kg 体重を下回る量であると推定されてい  
17 る（補足文献 14）。また、OTS(32%)と PTS (68%) の混合物をラットに 0、300、1,000  
18 及び 3,000ppm（0、15、50 あるいは 150 mg/kg 体重/日相当）で 90 日間混餌投与し  
19 たところ、3,000ppm 群で体重増加量および摂餌量の軽度な減少がみられたが、イヌ  
20 では、3,000ppm（75 mg/kg 体重/日相当）までの用量で 90 日間混餌投与しても被検  
21 物質投与の影響はみられなかったと報告されている（補足文献 47）。アントラニル酸  
22 メチルの LD<sub>50</sub> 値はラットで 2,910 mg/kg 体重、マウスで 3,900 mg/kg 体重およびモ  
23 ルモットで 2,780 mg/kg 体重と報告されている（補足文献 15）。また、系統ならびに  
24 性別は不明であるがラットで 3,000 mg/kg 体重（補足文献 40）あるいは 5,825 mg/kg  
25 （補足文献 24）、モルモットで 4,000 mg/kg 体重（補足文献 40）と報告されている。

26 反復投与試験に関しては、雌雄のラットにアントラニル酸メチルを 0（対照群）、  
27 1,000 および 10,000ppm の濃度（0.5、50、500 mg/kg 体重/日相当）で 13 週間混餌  
28 投与した試験が実施されており、体重、血液学的検査、臓器重量ならびに肉眼的検  
29 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ず、また、10,000ppm 群で実  
30 施した病理組織学的検査においても被験物質投与による明らかな影響は認められな  
31 かったと報告されている（補足文献 16）。また、雌雄のラットにアントラニル酸メチ  
32 ルを 0（対照群）、3,000 および 10,000ppm（0、150-300 および 500-1,000 mg/kg  
33 体重/日相当）で 115 日間投与したところ、10,000ppm 群で平均肝および腎重量の増  
34 加と腎臓に軽度な組織学的変化が観察されており、無影響量（NOEL）は 3,000ppm（150  
35 mg/kg 体重/日）と報告されている（補足文献 40）。

36 以上の試験成績から、サッカリンの不純物または代謝物として掲げられた物質の

1 大量投与により、被験物質投与に起因した影響が観察された物質もみられるが、低  
2 用量域においてはその安全性を懸念すべき問題点は見出されていないと判断された。  
3 (別添2：不純物の毒性試験一覧表参照)

#### 4 ② 変異原性

5 サッカリンの不純物または代謝物として、オルトスルファモイル安息香酸、パラ  
6 スルファモイル安息香酸、オルトカルボキシベンゼンスルホン酸および同アンモニ  
7 ウム、1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)、オルトトルエンスルホンアミド (O  
8 TS)、パラトルエンスルホンアミド (PTS)、N-メチルサッカリン、アントラニル酸メ  
9 チル、アミノサッカリン (5-および 6-アミノサッカリン) についての変異原性試験  
10 成績を記載し、それらを基にサッカリンの不純物または代謝物の変異原性について  
11 総合的に評価を行った。

12 オルトスルファモイル安息香酸についての *Salmonella typhimurium* を用いた復帰  
13 変異試験、ヒト由来細胞株を用いた遺伝子突然変異試験、*Drosophila melanogaster*  
14 を用いた伴性劣性致死試験並びにマウス骨髄小核試験ではいずれも陰性の結果が得  
15 られている (報告書文献 27) (補足文献 5、17、18、19)。

16 パラスルファモイル安息香酸についての *Salmonella typhimurium* を用いた復帰変  
17 異試験、ヒト由来細胞株を用いた遺伝子突然変異試験、*Drosophila melanogaster*  
18 を用いた伴性劣性致死試験並びにマウス骨髄小核試験ではいずれも陰性の結果が得  
19 られている (報告書文献 27) (補足文献 17、19、36)。

20 オルトカルボキシベンゼンスルホン酸についての *Salmonella typhimurium* を用い  
21 た復帰変異試験およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO-K1) を用いた染色  
22 体異常試験ではいずれも陰性の結果が得られている (補足文献 5、17、20、23)。ま  
23 た、オルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウムについての *Salmonella*  
24 *typhimurium* を用いた復帰変異試験では陰性の結果が得られている (補足文献 20)。

25 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT) についての *Salmonella typhimurium* お  
26 よび *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験では陰性の結果と抗菌性のため評価に  
27 用いるべきではないとの結論が得られ (補足文献 5、8、48)、*Bacillus subtilis* を  
28 用いた DNA 修復試験 (Rec-assay) では陰性と陽性の両結果が得られている (補足文  
29 献 22、48)。ヒト白血病由来の培養細胞株 HL-60 を用いたコメットアッセイ (DNA 損  
30 傷試験) では陽性の結果が得られている (補足文献 22)。チャイニーズ・ハムスター  
31 培養細胞株 (CHO-K1) を用いた遺伝子突然変異試験並びに染色体異常試験では前者で  
32 陰性、後者で陽性の結果が得られている (補足文献 8)。一方、マウス骨髄小核試験  
33 では陰性の結果が得られ、骨髄での細胞毒性も認められており、in vivo ラット肝 U  
34 DS 試験でも陰性の結果が得られている (補足文献 8)。以上の結果から in vitro 試  
35 験の一部において陽性結果が得られているものの、in vivo 試験ではいずれも陰性の  
36 結果が得られていることから、変異原性が生体内で発現する可能性は殆んどないも

1 のと判断される。

2 オルトトルエンシルホンアミド (OTS) についての *Salmonella typhimurium* また  
3 は *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験では一部陽性結果があるものの、ある特  
4 定の条件下のもので、しかも再現性が確認されていないことから (報告書文献 27)  
5 (補足文献 5、17、18、20、21、31、32、46)、総合的には陰性と判断される。チャ  
6 イニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO-K1 または CHL/IU) を用いた染色体異常試験お  
7 よびヒト由来細胞株を用いた遺伝子突然変異試験ではいずれも陰性の結果が得られ  
8 ている (補足文献 19、21、23、33)。酵母を用いた遺伝子突然変異試験では陰性の結  
9 果が得られている (補足文献 21)。

10 *Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性致死試験では一部陽性反応がみられた  
11 が、再現性がえられておらず、同様の条件で行われた他の試験で陰性結果が得られ  
12 ていることから (報告書文献 26、27) (補足文献 21)、総合的には陰性と判断される。  
13 マウス骨髄小核試験では陰性の結果が得られている (報告書文献 27) (補足文献 21)。  
14 マウス毛色スポットテストでは、3回の試験のうち1回で突然変異頻度の増加傾向  
15 がみられているが、再現性が確認されていないことから (報告書文献 29) (補足文献  
16 21)、総合的には陰性と判断される。

17 パラトルエンシルホンアミド (PTS) についての *Salmonella typhimurium* または *E*  
18 *scherichia coli* を用いた復帰変異試験では一部陽性結果があるものの、ある特定の  
19 条件下のもので、しかも再現性が確認されていないことから (報告書文献 27) (補足  
20 文献 17、35、36)、総合的には陰性と判断される。チャイニーズ・ハムスター培養細  
21 胞株 (CHO-K1 または CHL/IU) を用いた染色体異常試験およびヒト由来細胞株を用いた  
22 遺伝子突然変異試験ではいずれも陰性の結果が得られている (補足文献 19、23、37)。  
23 *Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性致死試験では一部陽性反応がみられた  
24 が、再現性がえられておらず、同様の条件で行われた他の試験で陰性結果が得られ  
25 ていることから (報告書文献 26、27)、総合的には陰性と判断される。マウス骨髄小  
26 核試験では陰性の結果が得られている (報告書文献 27)。

27 N-メチルサッカリンについての *Salmonella typhimurium* を用いた復帰変異試験で  
28 は陰性の結果が得られている (補足文献 5)。

29 アントラニル酸メチルについての *Salmonella typhimurium* あるいは *Escherichia*  
30 *coli* を用いた復帰変異試験ではいずれも陰性の結果が得られている (補足文献 5、2  
31 4、25、26、28、38、49) が、TA98 の S9 mix 存在下で norharman と共に処理した場合  
32 に陽性の結果が得られている (補足文献 49)。 *Bacillus subtilis* を用いた DNA 修復試  
33 験 (Rec-assay) では陰性と弱い陽性の結果が得られているが、後者は極めて高用量  
34 (23, 300 µg/disk) での結果であり (補足文献 24、27、38)、その生物学的意義はな  
35 いものと考えられる。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (B241) を用いた染色体  
36 異常試験では陽性結果が示されているが、標準的な試験方法ではなく、試験条件等

1 に不明な点があることから(補足文献 24、28)、この試験結果を評価に用いるべきで  
2 はないと判断される。ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では  
3 陰性の結果が得られている(補足文献 24、29)。WHO の報告書におけるアントラニル  
4 酸メチルを含めたアントラニレイト誘導体 10 物質についての総合評価では、意義の  
5 ある変異原活性は見出されていないと結論されている(補足文献 24)。

6 5-および6-アミノサッカリンについての *Salmonella typhimurium* を用いた復帰変  
7 異試験ではいずれも陰性の結果が得られている(補足文献 6、18)。7-アミノサッカ  
8 リンについては変異原性に関する試験成績を確認することは出来なかった。

9 以上の試験成績を基にすると、BIT では in vitro 試験の一部において陽性結果が  
10 得られているものの、in vivo 試験ではいずれも陰性の結果が得られており、変異原  
11 性が生体内で発現する可能性は殆んどないことから、サッカリンの不純物または代  
12 謝物について変異原性の面から安全性を懸念すべき点は見出されていないと判断さ  
13 れる。(別添 3 : 不純物の変異原性試験一覧表参照)

### 14 ③ 生殖発生毒性

15 サッカリンの不純物について、レムゼン法による製造工程で生成される、オルト  
16 トルエンスルホンアミド(OTS) およびパラトルエンスルホンアミド(PTS) の生殖  
17 発生毒性を、公表されている試験(下表)の成績に基づき評価した。また、オルト  
18 カルボキシベンゼンスルホン酸およびそのアンモニウム塩ならびにオルトスルファ  
19 モイル安息香酸、OTS を、それぞれ 0.1% の濃度で Wistar 系妊娠ラットの混餌投与し、  
20 妊娠 9 日に開腹して着床状況を観察した後、同じ動物を妊娠 20 日に帝王切開し、そ  
21 の間の胎児の生存率ならびに形態を観察した成績が報告され(Lederer 1977)(補足  
22 文献 54)、IARC モノグラフに引用されている(補足文献 30)。この実験は、レムゼン  
23 法で合成されたサッカリンを 0.3 および 3% の濃度で Wistar 系雌ラットに交配前から  
24 混餌投与すると、胎児の水晶体に異常が増加したこと(Lederer & Pottier-Arnould  
25 1969)(補足文献 52)から実施されたもので、同時に調べられたマウミー法で合成  
26 されたサッカリン、ならびに OTS は、それぞれ 3 ならびに 1% の濃度を混餌投与して  
27 も胎児に影響は認められていない。一方、オルトカルボキシベンゼンスルホン酸お  
28 よびそのアンモニウム塩、オルトスルファモイル安息香酸ならびにレムゼン法で合  
29 成されたサッカリンは胎児の生存率を低下させ水晶体の異常を増加させることが報  
30 告されている(Lederer 1977)(補足文献 54)。なお、IARC モノグラフには、水晶体  
31 の変化が対照群にも認められていることから、組織標本作製時の人工産物である可  
32 能性も否定できないと注記されている。この報告は、妊娠初期の開腹処置など、通  
33 常の催奇形性評価では採用されていない手法が用いられていること、ならびに第 26  
34 回 JECFA 会議(1982 年)の毒性評価報告書(報告書文献 4)には採用されていないこ  
35 とから、参考データとした。

36 マウミー法による製造工程で生成される不純物の 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-

- 1 オン (BIT)、N-メチルサッカリン、アントラニル酸メチルについては、生殖発生毒  
 2 性に関する報告を見出すことができなかった。  
 3 下表の試験では、両物質ともに親動物の生殖能力に悪影響は認められていない。  
 4 出生児については、親動物に対する毒性量において、産児数の低下あるいは出生児  
 5 体重の低下が認められているが、形態の異常は報告されていない。従って、これら  
 6 のサッカリン不純物について、安全性の面から懸念すべき生殖発生毒性は認めら  
 7 れていないと判断された。代謝物については、生殖発生毒性に関する報告を見出す  
 8 ことはできなかったが、サッカリンに生殖発生毒性が認められていないことから、  
 9 サッカリンの摂取により生成される量の代謝物について、懸念すべき生殖発生毒  
 10 性はないものと判断された。

11

12

13 表 評価対象試験の概要および生殖発生毒性に関する無毒性量

投与経路	動物種	試験種	動物数	用量	投与期間	無毒性量 (親)	無毒性量 (児)	文献 No.
オルトトルエンスルホンアミド(OTS)								
経口	ラット	反復投与 毒性生殖 発生毒性 併合試験	雌雄 各 13 匹	0, 20, 100, 500 mg/kg 体重/日	交配前 2 週間 から 42 日間 (雄)あるいは 分娩後 4 日 まで(雌)	500 mg/kg 体重/ 日(雌雄)	100 mg/kg 体 重/日	補足文 献 11
経口	ラット	簡易生殖 毒性試験	雌雄 各 13 匹	0, 4, 20, 100 mg/kg 体重/ 日	交配前 2 週間 から 42 日間 (雄)あるいは 分娩後 4 日 まで(雌)	100 mg/kg 体 重/日(雌雄)	100 mg/kg 体重/日	補足文 献 12
混餌	ラット	二世世代長 期毒性試 験	雌雄 各 50 匹	0, 2.5, 25, 25 0 mg/kg 体重/ 日	交配前 90 日か ら親、出生児と もに生涯	25 mg/kg 体重/日(親・児 の区別なし)		報告書 文献 45
パラトルエンスルホンアミド(PTS)								
経口	ラット	反復投与 毒性生殖 発生毒性 併合試験	雌雄 各 13 匹	0, 120, 300, 750 mg/kg 体 重/日	交配前 2 週間 から 42 日間 (雄)あるいは 分娩後 3 日 まで(雌)	300 mg/kg 体重/ 日	300 mg/ 体重/日	補足文 献 14



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31

## 2) 厚生労働省としての考察

厚生労働省は、提出を依頼された補足資料要求 1、2 についてサッカリン及びその塩類の不純物に関する JECFA 等国際機関による評価を含め、関係の資料を収集し検討した。

その結果、先に提出した「サッカリンカルシウム 指定のための検討報告書」に記したとおり、サッカリン類の毒性発現に関する情報は高用量のサッカリンナトリウムによる雄ラットにおける膀胱発がん以外に特記すべき知見は認められていない。

当膀胱発がんは雄ラットに限られ、またその発現は高用量のサッカリンナトリウムを摂取した際に起きる高ナトリウム尿及び尿の高 pH 化に起因するとしている JECFA 等国際機関の評価結果を追認した。

また、サッカリン及びその塩類の不純物については、資料要求 1 に記載された物質以外のものも含めて、サッカリン製品による膀胱がんの発症原因の究明、不純物等の一般毒性試験、変異原性試験、生殖発生毒性試験について種々調査検討を行なったが特記すべき毒性影響は認められないことを確認した。

なお、サッカリンの代謝物の存在の有無に関しては明確な報告は見られなかったが、1) 調査結果の概要 (1) 化学名称、由来等に記したとおり、不純物と同じ化合物への分解物 (誘導體) とされている。

これらの結果からサッカリンカルシウムに関しても安全性が確認されていると考えられ、先に提出した「サッカリンカルシウム指定のための検討報告書」の安全性評価結果を特に変更すべき要因は見当たらないと考える。

## 2. 要求事項 3 について

上記に関連して評価に有益と思われる資料については、厚生労働科学研究費補助金による調査研究「平成 16 年の生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」の調査結果が平成 20 年 3 月に公表され、また、旧欧州委員会指令 (報告書文献 11) が新たな指令 (補足文献 51) に置き換わったので参考文献として添付します。また、IARC モノグラフ (1980) (補足文献 30) で引用されている Lederer ほか関係者の生殖発生毒性に関する 4 報を一部和訳とともに添付します (補足文献 52~55)。

以上

サッカリン及びその塩類に含有する不純物又は代謝物の個別データ

目次

1. オルトスルファモイル安息香酸	1
2. パラスルファモイル安息香酸	5
3. オルトカルボキシベンゼンスルホン酸及び同アンモニウム	7
4. 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)	10
5. オルトトルエンスルホンアミド (OTS)	15
6. パラトルエンスルホンアミド (PTS)	26
7. N-メチルサッカリン	31
8. アントラニル酸メチル	32
9. アミノサッカリン	35

1  
2  
3 サッカリン及びその塩類に含有する不純物又は代謝物の個別データ

4  
5 1. オルトスルファモイル安息香酸

6  
7 1) 化学名、化学構造、由来

8 ○ オルトスルファモイル安息香酸 (*o*-Sulfamoylbenzoic acid)

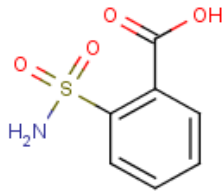
9 2-sulfamoylbenzoic acid(IUPAC)

10 2-Sulfamoylbenzoic acid (CAS)

11 他に *o*-sulphonamidobenzoic acid

12 ○ CAS NO. 632-24-6

13 ○ 化学構造



14  
15 ○ 分子量：201.201

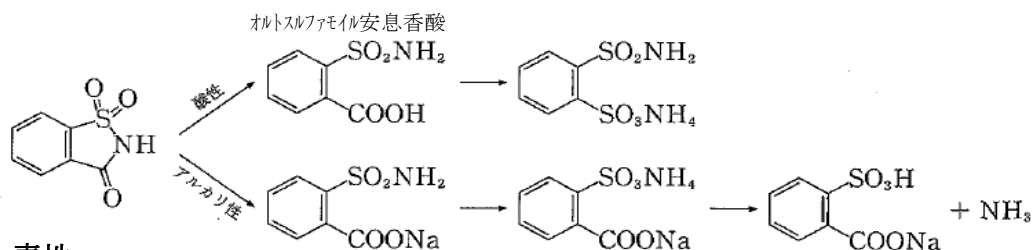
16 ○由来、製品中含有量等

17 酸性溶液 (pH3.8 以下) での (特に加熱時) サッカリン分解生成物。中性溶液でも  
18 長時間の加熱により生成する。アルカリ溶液では比較的安定だが、長時間の煮沸によ  
19 り一部生成する (補足文献 1)。ほかに、サッカリン合成の中間体であって (補足文献  
20 1)、サッカリン製品中の微量不純物でもある。レムゼン法サッカリン製品中のオルト  
21 スルファモイル安息香酸含有量として、0-181ppm (補足文献 44、50)、マウミー法サ  
22 ッカリン製品中のオルトスルファモイル安息香酸の含有量としては、21-41 ppm の報  
23 告がある (但し、分析操作中の分解による可能性が指摘されている) (補足文献 6、44、  
24 50)。

25 サッカリンは報告書第 5 章体内動態で記したように、動物及びヒトにおいて摂取後  
26 殆どが尿中及び糞便に未変化のまま排泄され则认为されている。ラットにおいて尿  
27 中に本物質及びオルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウム (下記 2) が微量  
28 検出され、代謝物でもある可能性が指摘されたが、<sup>35</sup>S 標識サッカリンを用いた代謝試  
29 験では検出されず、未確認である (報告書文献 4、69) (補足文献 42)。また、ラット  
30 に {3-<sup>14</sup>C} サッカリンを経口投与した実験で、尿へ排泄された総放射活性のうち、オル  
31 トスルファモイル安息香酸がラット尿中に 0.43~1.78%程度認められたとする  
32 Lethco らの報告 (補足文献 43) があり、それらは JECFA 報告書 (報告書文献 4) に  
33 引用されているが、Lethco ら自身の報告 (補足文献 43) では、尿中に微量検出され

1 オルトスルファモイル安息香酸は5種の動物での種差、ラットでの性差、5～  
2 500mg/kgの投与量の差によって排泄率に本質的な差が無いことから、酵素による代  
3 謝物でなく体内での化学的分解物と考えられており、この考えはその後の総説にお  
4 いても紹介されている（補足文献7）。

5 ・化学分解経路（補足文献1）



## 12 2) 毒性

13 オルトスルファモイル安息香酸の毒性関連試験について検索した結果、入手出来た  
14 データについての概要は以下のとおりである。

### 15 (1) 単回投与毒性試験

16 経口投与による試験成績を見出すことは出来なかった。

### 17 (2) 反復投与毒性試験

18 用量段階が一用量ではあるが、20,000ppmの濃度で雌雄のラットおよび雌雄のビー  
19 グル犬に13週間あるいは16週間混餌投与した試験が実施されており、共に被験物質  
20 投与に起因した影響は認められなかったと報告されている（報告書文献69）。

#### 21 ①ラットを用いた13週間反復投与毒性試験

22 雌雄のSD系ラット（雌雄各10匹/群）に純度99%のオルトスルファモイル安息香  
23 酸を0（対照群）および20,000ppmの濃度で13週間混餌投与した結果、一般状態、体  
24 重および摂餌量に被験物質投与による影響はみられず、また、試験開始直前、試験期  
25 間の中間時期および屠殺時に実施した血液学的検査（赤血球数、白血球数、ヘモグロ  
26 ビン濃度、ヘマトクリット値）、血液生化学的検査（空腹時血中グルコース、血中尿素  
27 窒素、血清アルカリホスファターゼ、血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナー  
28 ゼ）および尿検査（アルブミン、グルコース、尿沈査、pH、比重）においても被験物質  
29 投与による明らかな影響はみられなかった。さらに、剖検時に実施した実重量ならび  
30 に比重量（肝臓、腎臓、脾臓、精巣・卵巣、心臓、脳）や肉眼的および病理組織学的  
31 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（報告書文献69）。

#### 32 ②イヌを用いた16週間反復投与毒性試験

33 雌雄のビーグル犬（4～5週齢、雌雄各3匹/群）にラットと同様に純度99%のオル  
34 トスルファモイル安息香酸を0（対照群）および20,000ppmの濃度で16週間混餌投与  
35 した試験においても、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿  
36 検査、臓器重量（犬の場合はラットでの測定項目に加え、甲状腺および副腎を追加）、  
37 肉眼的および病理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  
38 なかった（報告書文献69）。

### 39 (3) 変異原性

40 *Salmonella typhimurium*を用いた復帰変異試験、ヒト由来細胞株を用いた遺伝子突

1 然変異試験、*Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性致死試験並びにマウス骨髄  
2 小核試験が実施されており、いずれも陰性の結果が報告されている。

#### 3 4 ○個別データ

5 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復  
6 帰変異試験では、Vogel-Bonner E 培地および ZLM 培地によるプレート法を用いてラッ  
7 ト肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、7,200 µg/plate の用量まで試験が行わ  
8 れており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書文献 27）。

9 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
10 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、2,500  
11 µg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足  
12 文献 17）。

13 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1538 を用いた復帰変異試  
14 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下で、4~2,500 µg/plate の  
15 用量範囲の 5 用量段階で試験が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献  
16 18）。

17 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
18 ット肝由来の S9 mix 存在下で、400 と 2,000 µg/plate の 2 用量で試験が行われてお  
19 り、陰性の結果が得られている（補足文献 5）。

20 ヒト由来細胞株 (RSa) を用いたウアバイン抵抗性を指標とする遺伝子突然変異試験  
21 では、S9 mix 非存在下の 450 と 900 µg/ml の 2 用量で 24 時間処理をして試験が行わ  
22 れており、陰性の結果が得られている（補足文献 19）。

23 *Drosophila melanogaster* Basc 系♀とその野生型♂を用いた伴性劣性致死試験では、  
24 50.25 mg/ml の 1 用量で、5%の蔗糖液を媒体として飲水投与で 3 回の交配の試験が行  
25 われており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書文献 27）。マウス骨髄小核  
26 試験では、NMRI マウス各群 4 匹用いて 400、1,000 mg/kg の 2 用量での腹腔内投与並  
27 びに 1,000 mg/kg の 1 用量での経口投与で、24 時間間隔で 2 連投後 6 時間に標本作製  
28 して試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書文献 27）。

#### 29 (4) 生殖発生毒性

30 IARC モノグラフには、オルトスルファモイル安息香酸を 0.1%の濃度で Wistar 系妊  
31 娠ラットに混餌投与すると、水晶体の異常および死亡率の増加を招くとする報告  
32 [Lederer (1977)] が引用されている（補足文献 30）。この実験は、レムゼン法で合成  
33 されたサッカリンを 0.3 および 3%の濃度で Wistar 系雌ラットに交配前から混餌投与  
34 した際に胎児水晶体の異常が増加したこと (Lederer & Potter-Arnould 1969) から、  
35 不純物等の影響を検討するために行われたものである。

### 36 37 3) 国際機関等における言及・評価

38 (1) 第 26 回 JECFA 会議 (1982 年) の毒性評価報告書 (報告書文献 4) Metabolism  
39 の項で、放射ラベルしたサッカリンもしくはサッカリンナトリウムをラットに投与後、

1 尿、糞便、体内組織等へのサッカリンなどラベル化合物の排泄・分布を調べた試験研  
2 究において、尿中にオルトスルファモイル安息香酸を認めたとする報告 (Kennedy ら  
3 (1972), Lethco ら(1975))、認めなかったとする報告 (Minegishi ら(1972), Matthews  
4 ら(1973)) それぞれが引用されている。

5 (2) 第 28 回 JECFA 会議 (1984 年) の毒性評価報告書 (報告書文献 35) Special  
6 studies on mutagenicity of impurity in saccharin の項で、オルトスルファモイル  
7 安息香酸を含む不純物の毒性は問題ない、との Riggan ら報告 (補足文献 5) を引用して  
8 いる。

9

## 2. パラスルファモイル安息香酸

### 1) 化学名、化学構造、由来

○ パラスルファモイル安息香酸

○ CAS NO. 138-41-0

○由来、製品中含有量等

Riggin & Kinzer (1983) の報告によれば、レムゼン法で製造されたサッカリン類に最大 1,057 ppm、マウミー法で製造されたサッカリン類に痕跡量検出との報告があるとされている。(補足文献 50)

EU のサッカリン類成分規格では、乾燥重量ベースで 25 ppm 以下と規定。(報告書文献 11、補足文献 51)

### 2) 毒性

パラスルファモイル安息香酸の毒性関連試験について検索した結果、入手出来たデータについての概要は以下のとおりである。

#### (1) 単回投与毒性試験

経口投与による試験成績を見出すことは出来なかった。

#### (2) 反復投与毒性試験

経口投与による試験成績を見出すことは出来なかった。

#### (3) 変異原性

○個別データ

Eckhardt ら (1980) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 3.6 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。また、VB 培地を ZLM 培地に代えても、代謝活性化系存在下の全ての菌株で陰性であったとされている。(報告書文献 27)

Poncelet ら (1980) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 0.04 mol/plate) が実施されている。その結果、被験物質は TA98 及び TA1538 に対し細胞毒性を示したが、自然発生によるものを上回る突然変異頻度の誘発は認められなかったとされている。(補足文献 36)

Herbold (1981) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2.5 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。(補足文献 17)

Eckhardt ら (1980) の報告によれば、PSBA についてのショウジョウバエ (*D. melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) を用いた伴性劣性致死試験 (0、500 mM) が実施されており、劣性致死発生率の増加は認められなかったとされている。(報告書文献 27)

1 Suzuki & Suzuki (1988) の報告によれば、PSBA についての RSa を用いた  
2 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 遺伝子座突然変異によるウアバイン耐性獲得を指標とする遺伝子突  
3 然変異試験 (最高濃度 0.9 mg/mL) が実施されており、突然変異の誘発は認められ  
4 なかったとされている。(補足文献 19)

5 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、NMRI マウス (各群雌雄各 4 匹) に PSBA を  
6 2 日間強制経口投与 (胃内挿管) 又は腹腔内投与する *in vivo* 骨髓小核試験 (経口 0、  
7 1,000 mg/kg 体重/日、腹腔内 0、400、1,000 mg/kg 体重/日) が実施されており、  
8 いずれにおいても小核多染性赤血球の割合の有意な増加は認められなかったとされ  
9 ている。(報告書文献 27)

#### 10 11 (4) 生殖発生毒性

12 Colson ら (1984) らによる報告がある。(補足文献 55)

13



3. オルトカルボキシベンゼンスルホン酸及び同アンモニウム

1) 化学名、化学構造、由来

○ オルトカルボキシベンゼンスルホン酸

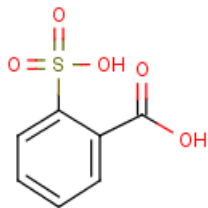
2-sulfobenzoic acid (IUPAC))

2-Sulfobenzoic acid (CAS)

ほかに *o*-sulfobenzoic acid

○ CAS NO. 632-25-7

○ 化学構造



○ 分子量 : 202.185

○ オルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウム

(Ammonium *o*-carboxybenzenesulfonate)

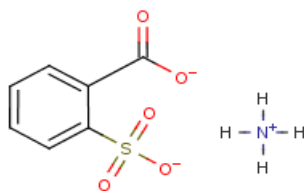
azanium 2-sulfonatobenzoate (IUPAC)

Benzoic acid, 2-sulfo-, ammonium salt (1:1) (CAS)

他に、Ammonium *o*-sulfobenzoic acid

○ CAS NO. 6939-89-5

○ 化学構造



○ 分子量 : 218.208

○ 由来・製品中含有量等

オルトカルボキシベンゼンスルホン酸及び同アンモニウムはサッカリンもしくはサッカリン製品中の微量不純物として報告されている(報告書文献 43 (p519))。また、アンモニウム塩はラットでのサッカリン代謝物(尿)の1つの可能性があるが確認されていない(報告書文献 4、69) (補足文献 7)。

## 2) 毒性

### (1) 単回投与毒性試験

経口投与による試験成績を見出すことは出来なかった。

### (2) 反復投与毒性試験

用量段階が一用量ではあるが、20,000ppm の濃度で雌雄のラットおよび雌雄のビーグル犬に13週間あるいは16週間混餌投与した試験が実施されており、共に被験物質投与に起因した影響は認められなかったと報告されている（報告書文献69）。

#### ①ラットを用いた13週間反復投与毒性試験

雌雄のSD系ラット（雌雄各10匹/群）に純度99%のオルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウムを0（対照群）および20,000ppmの濃度で13週間混餌投与した結果、一般状態、体重および摂餌量に被験物質投与による影響はみられず、また、試験開始直前、試験期間の中間時期および屠殺時に実施した血液学的検査（赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値）、血液生化学的検査（空腹時血中グルコース、血中尿素窒素、血清アルカリホスファターゼ、血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ）および尿検査（アルブミン、グルコース、尿沈査、pH、比重）においても被験物質投与による明らかな影響はみられなかった。さらに、剖検時に実施した実重量ならびに比重量（肝臓、腎臓、脾臓、精巣・卵巣、心臓、脳）や肉眼的および病理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（報告書文献69）。

#### ②イヌを用いた16週間反復投与毒性試験

雌雄のビーグル犬（4～5週齢、雌雄各3匹/群）にラットと同様に純度99%のオルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウムを0（対照群）および20,000ppmの濃度で16週間混餌投与した試験においても、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量（犬の場合はラットでの測定項目に加え、甲状腺および副腎を追加）、肉眼的および病理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（報告書文献69）。

### (3) 変異原性

#### ① オルトカルボキシベンゼンスルホン酸 (*o*-sulfobenzoic acid)

*Salmonella typhimurium* を用いた復帰変異試験およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHO-K1)を用いた染色体異常試験ではいずれも陰性の結果が得られている。

#### ○個別データ

*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来のS9 mix 存在下および非存在下で、2,500 μg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献17）。

*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来のS9 mix 非存在下の202～2,020 μg/plate の用量範囲で、Arochor 1254 誘導S9mix 存在下の0.202～20,200 μg/plate の用量範囲で、Phenobarbital 誘導S9 mix 存在下の202～2,020 μg/plate の

1 用量範囲で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 20）。  
2 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
3 ット肝由来の S9 mix 存在下で、400 と 2,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の 2 用量で試験が行われてお  
4 り、陰性の結果が得られている（補足文献 5）。

5 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CH0-K1) を用いた染色体異常試験では、S9 mix  
6 非存在下の 0.9、14、200、400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 4 用量で 24 時間の連続処理後直ちに標本作  
7 製して試験が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献 23）。

8 ② オルトカルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウム (Ammonium *o*-sulfobenzoic  
9 acid)

10 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537 および TA1538 を  
11 用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 非存在下の 219  
12  $\sim$ 2,190  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲で、Arochor 1254 および Phenobarbital 誘導 S9 mix 存  
13 在下の 219 $\sim$ 2,190  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲で試験が行われており、いずれも陰性の結果  
14 が得られている（補足文献 20）。

#### 15 (4) 生殖発生毒性

16 IARC モノグラフには、オルトカルボキシベンゼンスルホン酸および同アンモニウ  
17 ムを 0.1%の濃度で Wistar 系妊娠ラットに混餌投与すると、水晶体の異常および死亡  
18 率の増加を招くとする報告 [Lederer (1977)] が引用されている（補足文献 30）。この  
19 実験は、レムゼン法で合成されたサッカリンを 0.3 および 3%の濃度で Wistar 系雌ラ  
20 ットに交配前から混餌投与した際に胎児水晶体の異常が増加したこと (Lederer &  
21 Pottier-Arnould 1969) から、不純物等の影響を検討するために行われたものである。  
22

#### 23 3) 国際機関等における評価

24 前述のように本物質 [オルトカルボキシベンゼンスルホン酸および同アンモニウ  
25 ム] がサッカリン製品中の不純物であることが IARC によるサッカリン評価書に（報告  
26 書文献 43）、また、本物質はサッカリン代謝物の可能性が JECFA による毒性評価書 (1  
27 982 年) (報告書文献 4)、言及されているが、毒性に関しては国際機関における特段の  
28 評価を確認することは出来なかった。

29

30

1 4. 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)

2

3 1) 化学名、化学構造、由来

4 ○ 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン

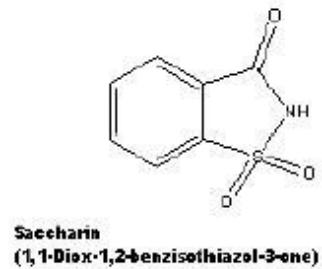
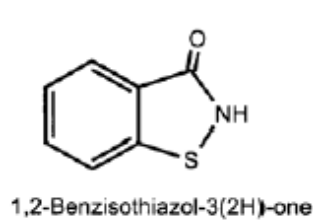
5 (1,2-Benzisothiazolin-3-one)

6 1,2-benzothiazol-3-one (IUPAC)

7 1,2-Benzisothiazoline-3-one (CAS)

8 他に、1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one

9 ○ CAS NO. 2634-33-5



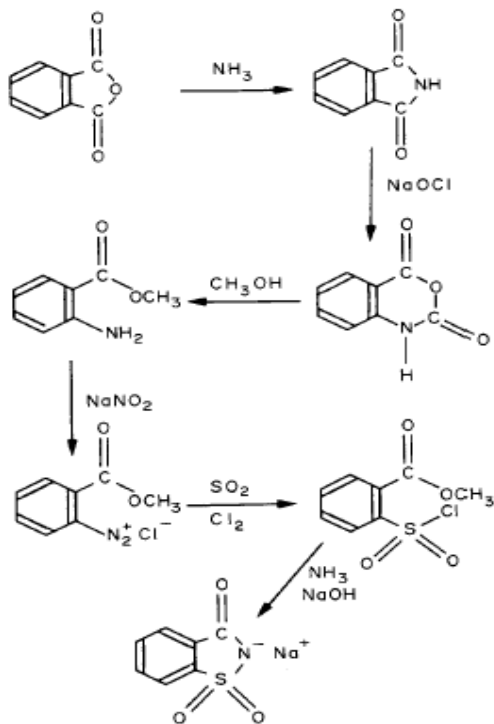
10 ○ 化学構造

11 ○ 分子量 : 151.189

12 ○ 由来・製品中含有量等

13 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BIT)は、マウミー法 (合成経路図の例を下に  
14 記す) によるサッカリン製品の不純物のひとつで、含量として 40~800mg/kg(平均  
15 200mg/kg) (補足文献 2) 及び 1~2mg/kg (補足文献 5) の報告がある。

16



マウミー法によるサッカリンナトリウムの合成経路 (Radford ら報告 (補足文献 6) より引用)

## 1 2) 毒性

2 1,2-Benzisothiazolin-3-one (BIT)の毒性関連試験について検索した結果、入手出  
3 来た報告についての概要は以下のとおりである。

### 4 (1) 単回投与毒性試験

5 BITの急性毒性に関してはBITとして純度82.3% (その他、水分:17.7%) のもの  
6 を雌雄のWistarラット(雌雄各5匹)に蒸留水に懸濁し1,000、2,000および5,000mg/kg  
7 体重の用量で経口投与した結果、LD<sub>50</sub>値は雄で2,100mg/kg 体重、雌で1,050mg/kg 体  
8 重と報告されている(補足文献8)。

### 9 (2) 反復投与毒性試験

10 雌雄のラットにBITを28あるいは90日間強制経口投与した試験および90日間混餌  
11 投与した反復投与試験が実施されており、28日間あるいは90日間の経口投与におい  
12 ては25.3および37.9mg/kg 体重の用量で被験物質投与に起因した刺激性による影響が  
13 前胃に観察されており、無毒性量(NOEL)は28日試験で12.6mg/kg 体重、また、90  
14 日試験では8.42mg/kg 体重と推定されている(補足文献2、8)。さらに、90日間の混  
15 餌投与においては体重の低下が雄で900ppm以上の群および雌では4000ppm群で観察さ  
16 れ、組織学的に雌雄の4000ppm群で前胃/腺胃境界縁に扁平上皮過形成が観察された  
17 ことから無影響量(NOEL)は雄で200ppm(15.3mg/kg 体重)、雌で900ppm(78mg/kg  
18 体重)と推定されている(補足文献2)。

#### 19 ①ラットを用いた28日間反復投与毒性試験

20 雌雄のWistarラット(雌雄各6匹/群)に純度84.3% (その他、水分:15%) の  
21 BITを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)に懸濁して0(対照群)、15、45およ  
22 び135mg/kg 体重、(BITとして12.6、37.9および113.7mg/kg 体重)で28日週間経口  
23 投与(GLP準拠)したところ、高用量とした135mg/kg 群では被験物質投与期間中流涎  
24 が全ての雄と一部の雌で観察されたが、回復期間においてはこれらの症状は消失して  
25 いた。また、45mg/kg 群では被験物質投与による影響として、前胃に刺激性/腐食性  
26 によると考えられる病変が観察されていた。一方、低用量の15mg/kg 群では一般状態、  
27 神経学的影響、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的  
28 および病理組織学的検査等において被験物質投与による影響は認められていなかった。  
29 以上のことより、本試験条件化における無毒性量(NOEL)は15mg/kg(12.6mg/kg 体  
30 重)と推定されている(補足文献2、8)。

#### 31 ②ラットを用いた90日間反復投与毒性試験

32 雌雄のWistarラット(雌雄各10匹/群)に純度84.3% (その他、水分:15%) の  
33 BITを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)に懸濁して0(対照群)、10、30およ  
34 び75mg/kg 体重、(BITとして8.42、25.3および63.2mg/kg 体重)の用量で90日間経  
35 口投与(GLP準拠)したところ、75mg/kg 群では摂餌量の有意な減少が認められたが、  
36 回復期間中には対照群のレベルに戻ったとされている。また、30mg/kg 群では一般状  
37 態に被験物質投与による影響は認められなかったが、肉眼的および組織学的検査で前  
38 胃に被験物質投与に起因した刺激性の影響と考えられる病変が観察されたが、これら  
39 の病変は可逆的であった。一方、低用量の10mg/kg 群では一般状態、神経学的影響、

1 体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的および病理組織  
2 学的検査等において被験物質投与による影響は認められていなかった。以上のことよ  
3 り、本試験条件化における無毒性量 (NOAEL) は 10mg/kg 体重 (8.42mg/kg 体重) と推  
4 定されている (補足文献 2、8)。

### 5 ③ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験

6 雌雄の SD 系ラット(雌雄各 12 匹/群)に BIT を 0(対照群)、200、900 および 4,000ppm  
7 の濃度で 90 日週間混餌投与 (GLP 準拠) し、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的  
8 検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的検査および組織学的検査等を含む一般的  
9 な検査を実施したところ、被験物質投与の影響としては体重の低値が雄で 900ppm 以上  
10 の群および雌では 4,000ppm 群でみられ、組織学的検査では前胃/腺胃境界縁の扁平上  
11 皮過形成が雌雄とも 4,000ppm 群で 12 匹中 11 匹に観察されたが、900ppm 群では観察  
12 されなかったと報告されており、EPA は本試験条件化における無影響量 (NOEL) は雄  
13 で 15.3mg/kg (200ppm 群)、雌で 78mg/kg (900ppm 群) と推定されている (補足文献 2)。

### 14 (3) 変異原性

15 *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験では陰性  
16 の結果と抗菌性のため評価に用いるべきではないとの結論が得られ、*Bacillus*  
17 *subtilis* を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay) では陰性と陽性の両結果が得られてい  
18 る。ヒト白血病由来の培養細胞株 HL-60 を用いたコメットアッセイ (DNA 損傷試験)  
19 では陽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 (CHO-K1) を用  
20 いた遺伝子突然変異試験並びに染色体異常試験では前者で陰性、後者で陽性の結果が  
21 得られている。一方、マウス骨髄小核試験では陰性の結果が得られ、骨髄での細胞毒  
22 性も認められており、in vivo ラット肝 UDS 試験でも陰性の結果が得られている。以  
23 上の結果から in vitro 試験の一部において陽性結果が得られているものの、in vivo  
24 試験ではいずれも陰性の結果が得られていることから、変異原性が生体内で発現する  
25 可能性は殆んどないものと判断される。

#### 26 ○個別データ

27 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2  
28 *uvrA* pKM101 を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラッ  
29 ト肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1 回目は 20~175  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲  
30 の 5 用量段階で、2 回目は 30~180  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲の 5 用量段階で試験が行わ  
31 れており、低用量で抗菌作用がみられたことから評価に用いるべきでない結論され  
32 ている (補足文献 8)。

33 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
34 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、10~500  
35  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲の 4 用量段階で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られてい  
36 る (補足文献 48)。

37 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
38 ット肝由来の S9 mix 存在下で、10 と 100  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の 2 用量で試験が行われ、陰性の  
39 結果が得られており、100  $\mu\text{g}/\text{plate}$  では強い抗菌作用を示している (補足文献 5)。

1 *Bacillus subtilis* H17 (rec+) 株および M45 (rec-) 株を用いた DNA 修復試験  
2 (Rec-assay) では、分散 (重層) 法を用いて 1,200 µg/disk の用量で試験が行われ、  
3 明確な阻止帯がみられているものの、両株間に差異はみられず、陰性の結果が得られ  
4 ている (補足文献 48)。

5 *Bacillus subtilis* H17 (rec+) 株および M45 (rec-) 株を用いた DNA 修復試験  
6 (Rec-assay) では、孢子法を用いて 0.06~6.0 µg/disk の用量範囲の 5 用量段階で  
7 試験が行われ、陽性の結果が得られており、0.3 µg/disk 以上から生育阻害がみられ  
8 ている (補足文献 22)。孢子法では再現性のある結果が得られ難いとされており、上  
9 記の重層法で陰性の結果が得られていること、さらに下記に示すラット肝不定期 DNA  
10 合成 (UDS) 試験で陰性の結果が得られていることから、生体内で DNA 損傷が生じる可能  
11 性は殆んどないものと考えられる。

12 ヒト白血病由来の培養細胞株 HL-60 を用いたコメットアッセイ (DNA 損傷試験) で  
13 は、0.5, 1.0, 5.0 µg/ml の 3 用量で 2 時間処理をして試験が行われ、陽性の結果が  
14 得られており、5.0 µg/ml では強い細胞毒性 (生存率 5%) がみられている (補足文献  
15 22)。下記に示すラット肝不定期 DNA 合成 (UDS) 試験で陰性の結果が得られていること  
16 から、生体内で DNA 損傷が生じる可能性は殆んどないものと考えられる。

17 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO-K1) を用いた遺伝子突然変異 (HPRT 座位)  
18 試験では、S9 mix 存在下および非存在下で 0.65, 1.30, 2.6, 5.2 µg/ml の 4 用量の  
19 5 時間処理で 2 回の試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている (補足  
20 文献 8)。

21 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO-K1) を用いた染色体異常試験では、S9 mix  
22 存在下で 1.6, 3.2, 6.4 µg/ml の 3 用量の 3 時間処理、並びに S9 mix 非存在下で 1.25,  
23 2.5, 5.0 µg/ml の 3 用量の 3 時間処理および 19 時間処理で試験が行われており、S9 mix  
24 存在下では最高用量でのみ陽性の結果が得られ、S9 mix 非存在下ではいずれの用量に  
25 おいても陽性の結果が得られている (補足文献 8)。下記に示すマウス骨髄小核試験で  
26 は陰性の結果が得られ、骨髄での細胞毒性も認められていることから、生体内で染色  
27 体異常が発現する可能性は殆んどないものと判断される。

28 マウス骨髄小核試験では、Swiss albino MF1 マウスを用いて 63.15, 126.3, 210.5  
29 mg/kg の 3 用量で、24 時間間隔で 2 回経口投与し、最終投与後 24 時間に標本作製し  
30 て試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている。尚、いずれの用量においても  
31 幼弱赤血球の割合が用量依存的に低下しており、骨髄赤血球に対する細胞毒性の兆候  
32 がみられている (補足文献 8)。

33 ラット肝不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では、Wistar ラットを用いて 375 および 750 mg/kg  
34 の 2 用量で単回経口投与後 2 時間および 16 時間に肝臓を摘出して試験が行われ、い  
35 ずれも陰性の結果が得られている (補足文献 8)。

#### 36 (4) 生殖発生毒性

37 生殖発生毒性に関する試験成績を確認することは出来なかった。

38  
39

1 **3) 国際機関等における評価**

2 2006年、欧州連合の食品安全庁科学パネルは、次の(1)ISA及び(2)SCCNEPの評  
3 価等を引用して、BITの経口摂取時のリスク評価を行い次の(3)のように結論して  
4 いる(補足文献2)。

5 (1)ISA(International Sweeteners Association:国際甘味料協会)による評価(2004  
6 年)

7 BITのNOEL(ラット90日混餌投与試験): 15.3mg/kg体重(雄)~78mg/kg体重(雌)  
8 →安全率1000として許容量TDI 0.015mg/kg体重/日

9 サッカリン中のBIT残留量: 最大800mg/kg

10 サッカリンのADI: 5mg/kg体重/日

11 ADIレベル中のBIT量:  $5 \times 8 \times 10^{-4} = 0.004\text{mg/kg}$ 体重・・・TDIの約25%

12 (2)SCCNEP(Scientific Committee On Cosmetic Products And Non-Food Products  
13 Intended For Consumers:化粧品等成分の評価委員会)による評価(2004年)

14 BITが香粧品の成分(保存料)として使用される場合があることから、欧州連合の  
15 SCCNEPは、別途リスク評価を行い、ラット90日胃管投与試験に基づくBIT無毒性  
16 量(NOEL)10mg/kg体重/日を報告している(補足文献8)。

17 (3)EFSA科学パネルによる評価

18 サッカリンをADIレベルで摂取した場合のBITの摂取量は過大に見積って、  
19 0.004mg/Kg体重/日である。この摂取量は、ラットの90日間経口投与毒性試験の  
20 NOEL(上記(2))の約0.05%(2000分の1)に過ぎず、安全性の懸念はない。

21  
22



## 5. オルトトルエンスルホンアミド (OTS)

### 1) 化学名、化学構造、由来

○ オルトトルエンスルホンアミド (*o*-Toluenesulfonamide)

2-methylbenzenesulfonamide (IUPAC)

*o*-Toluenesulfonamide (CAS)

他に、2-Toluenesulfonamide

○ CAS NO. 番号 88-19-7

○ 化学構造

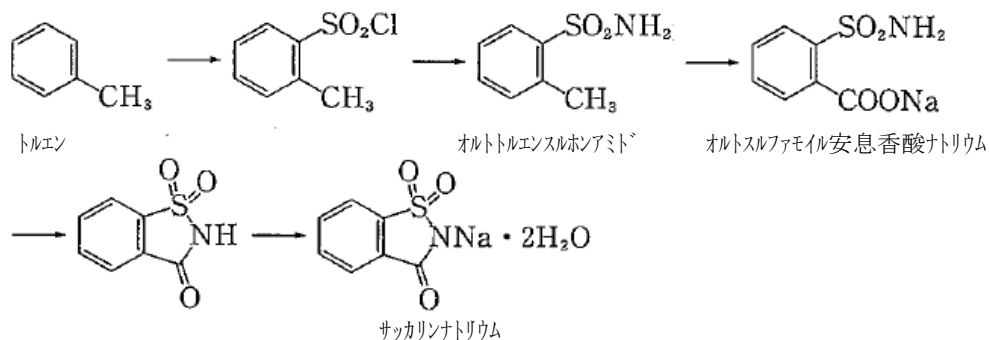


○ 分子量 : 171.219

○ 由来・製品中含有量等

レムゼン法によるサッカリン (\*) 合成の中間体。不純物としてサッカリン製品中に混入する可能性がある。1970年代には最高 4000-6000ppm 混入した製品もあった。現在、日、米、JECFA 規格では  $25 \mu\text{g/g}$  以下、EU では  $10\text{mg/kg}$  以下の限量が設定されている (報告書文献 3、8、11)。

・合成法概略 (補足文献 1)



\* サッカリン : 1,2-Benzisothiazole-3-one-1,1-dioxide

### 2) 毒性

オルトトルエンスルホンアミドの毒性関連試験について検索した結果、入手出来た報告についての概要は以下のとおりである。

#### (1) 単回投与毒性試験

5週齢の雌雄のSD系ラット(雌雄各5匹/群)に0.5%カルボキシメチルセルロース

1 ナトリウム (CMC-Na) 水溶液に懸濁し、700、1,000、1,400 および 2,000mg/kg 体重の  
2 用量で単回経口投与したところ、雌では 1,400mg/kg 群で 3 匹、また、2,000 mg/kg 群  
3 で 2 匹が 2 日目までに死亡したが、雌のその他の群や雄には死亡動物は認められず、  
4 LD<sub>50</sub> 値は雄で 2,000mg/kg 体重を上回り、雌では 1,000~2,000mg/kg 体重の間であった  
5 と報告されている (補足文献 9)。

## 6 (2) 反復投与毒性/発がん性試験

7 オルトトルエンスルホンアミド (OTS) の反復投与試験に関しては雌雄の SD 系ラッ  
8 トに 0 (対照群)、4、20 および 100mg/kg 体重の用量で 28 日間経口投与し、対照群と  
9 最高用量群 (100mg/kg 体重) については 14 日間の回復試験を設定した試験 (補足文  
10 献 10) や 8 週例の雌雄の SD 系ラットに OTS を 0 (対照群)、20、100、および 500mg/kg  
11 体重の用量で交配前 2 週から雄には 42 日間、雌には分娩後哺育 3 日まで経口投与した  
12 反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (以下、併合試験) (補足文献 11)、また、9 週  
13 齢の SD 系ラットに OTS を 0 (対照群)、4、20 および 100 mg/kg 体重の用量で併合試  
14 験とほぼ同様の期間経口投与した簡易生殖毒性試験 (補足文献 12) に関する報告を見  
15 出すことが出来た。また、ラットに二世代に亘り OTS を 0 (対照群)、2.5、25 および  
16 250mg/kg 体重となるように調製した飼料を生涯自由に摂取させ試験 (報告書文献 45)、  
17 さらに、OTS の膀胱発がんプロモーション作用を明らかにする目的で膀胱内に  
18 N-methyl-N-nitrosourea (MNU) (1.5mg/個体) を注入した後、0.1%OTS を 2 年間飲水  
19 投与した試験や 75mg/kg 体重の OTS を 2 年間混餌投与した試験 (報告書文献 83) に関  
20 する報告が見出されており、いずれの試験においても、低用量域においては安全性を  
21 懸念すべき問題は認められていない。

### 22 ①ラットによる 28 日間反復経口投与毒性試験

23 5 週齢の雌雄の SD 系ラット (雌雄各 5 匹/群、但し、対照群と 100mg/kg 群は雌雄  
24 各 10 匹/群) に 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na) 水溶液に懸  
25 濁した OTS を 0 (対照群)、4、20 および 100mg/kg 体重の用量で 28 日間強制経口投与  
26 後、対照群と 100mg/kg 群 (雌雄各 5 匹/群) はその後 14 日間無処置で飼育したとこ  
27 ろ、投与期間ならびに回復期間中に死亡した動物は認められなかった。一般状態では、  
28 100mg/kg 群において雌雄ともに投与開始 7~10 日以降で投与期間を通して、投与 15  
29 ~20 分を経過した後に流涎や活動性の低下が観察されたが、いずれも 2 時間半を経過  
30 した時点においては回復していた。体重ならびに摂餌量とも投与期間中は被験物質投  
31 与による明らかな影響は認められなかったが、回復期間においては 100mg/kg 群の雌が  
32 一時的に低値を示した。尿検査では投与終了後の検査において、100mg/kg 群の雌で pH  
33 が高い傾向にあったが、雄では明らかではなく、回復期間終了後の検査も含め、いず  
34 れの検査項目においても被験物質投与による影響は認められなかった。血液学的検査  
35 では投与終了後の検査において雌雄ともいずれの項目においても対照群と被験物質投  
36 与群との間に有意な差は認められなかったが、回復期間終了後の検査では雄で赤血球  
37 数が有意な低値を示し、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量が有意な高値を示  
38 した。血液生化学的検査では投与期間終了後の検査において雌の 100mg/kg 群で尿素窒  
39 素が有意な高値を示したが、その他の検査項目においては被験物質投与による影響は

1 認められなかった。また、回復期間終了後の検査では尿素窒素に対照群との間に差は  
2 みられなかったが、その他の検査項目において散発的に変動が認められた。臓器重量  
3 では投与期間終了後の検査においては雌雄ともいずれの項目においても対照群と被験  
4 物質投与群との間に有意な差は認められなかったが、回復期間終了後の検査では雄の  
5 脾相対重量が有意に高値を示した。また、回復期間終了後の検査では散発的に変動が  
6 確認されたが、被験物質投与に起因したと考えられる明らかな変化は認められなかつ  
7 た。病理組織学的検査では統計学的に有意ではないが、100mg/kg 群の雄で腎尿細管上  
8 皮に好酸性小体が増加する傾向にあり、本変化は回復期間終了後においても同様の傾  
9 向がみられた。また、この他、いくつかの組織に変化が散見されたが、いずれの所見  
10 も群間でその発生頻度および程度に差はみられなかった。以上のように 100mg/kg 群の  
11 雌雄で流涎や活動性の低下が観察され、また、雄では腎尿細管上皮に好酸性小体が増  
12 加する傾向にあったことから、本試験条件下における OTS の無影響量は雌雄とも  
13 20mg/kg 体重と推定されている（補足文献 10）。

#### 14 ②ラットによる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

15 8 週齢の雌雄の SD 系ラット（雌雄各 13 匹/群）に 0.5%カルボキシメチルセルロー  
16 スナトリウム（CMC-Na）水溶液に懸濁した OTS を 0（対照群）、20、100、および 500mg/kg  
17 体重の用量で交配前 2 週から雄には 42 日間、また、雌には妊娠期間を通して分娩後哺  
18 育 3 日まで強制経口投与した。体重は、雌雄とも、100mg/kg 体重以上の群で有意な低  
19 値あるいは低値傾向を示したが、20mg/kg 体重群では対照群と同様の推移を示した。  
20 摂餌量では雄の 500mg/kg 群で投与 1~8 日、100mg/kg で投与 1~8 と 8~15 日におい  
21 て、雌では交配前の 1~8 日と妊娠期間の 0~7 日に有意な低値を示した以外は雌雄と  
22 も対照群との間に明らかな差は認められなかった。雄では死亡動物は認められず、一  
23 般状態では 100 および 500mg/kg 群において投与直後から自発運動の減少および腹臥姿  
24 勢が認められ、投与期間の中頃から流涎が観察されたが、いずれも翌朝までには消失  
25 していた。雄で実施した尿検査では、被験物質投与に起因したと考えられる異常は認  
26 められなかった。血液学的検査では平均赤血球血色素量がすべての被験物質投与群に  
27 おいて、平均赤血球血色素濃度が 100mg/kg 以上の群において、また、血小板数が  
28 500mg/kg 群においてそれぞれ高値を示した。血液生化学的検査では、すべての被験物  
29 質投与群においてアルカリフォスファターゼ活性が低下し、100mg/kg 以上の群の総コ  
30 レステロールが増加した。また、500mg/kg 群では総蛋白が増加し、A/G 比、グルコー  
31 スおよびトリグリセライドが低値を示した。雄の臓器重量では肝および腎の実重量が  
32 500mg/kg 群において、それらの比重量は 100mg/kg 以上の群において有意に増加し、  
33 また、副腎の比体重値が 100mg/kg 以上の群において有意に増加した。肉眼的検査では、  
34 肝臓において、暗色化が 100mg/kg 以上の投与群に、肥大が 500mg/kg 投与群に認めら  
35 れ、腎臓は肥大および暗色化が 100mg/kg 以上の投与群において認められた。また、病  
36 理組織学検査では、曇り硝子様を呈する小葉中心性の肝細胞肥大が 100mg/kg 以上の群  
37 において観察され、腎臓では好酸性小体（eosinophilic body）が被験物質投与群で頻  
38 度および程度ともに用量に関係して増加して認められた。

1 雌では 500mg/kg 群において投与直後より自発運動の減少および腹臥姿勢が認めら  
2 れ、一部の動物においてはこれらの症状が回復しないまま推移し、さらに、鎮静、紅  
3 涙、呼吸困難、流涎あるいは着色尿等を示した後の 3-5 日に、13 匹中 3 例が死亡し、  
4 2 例が瀕死動物として剖検された。100mg/kg 群では投与直後より自発運動の減少およ  
5 び腹臥姿勢が認められ、また、投与期間の中頃から流涎が観察されたが、いずれも翌  
6 朝までには消失していた。肉眼的検査から、死亡あるいは瀕死となった動物には剖検  
7 の数日前から胸腔内諸組織に炎症性的変化が生じていたものと推測された。病理組織  
8 学的検査では、胸腔内諸組織の炎症性変化の他に、腎臓の近位尿細管の脂肪変性なら  
9 びに脾臓における白脾髄および赤脾髄の萎縮も認められた。生存例では、100mg/kg 以  
10 上の群において、投与開始後、雄と同様の一般状態の変化が観察され、さらに、500mg/kg  
11 群では、それらが翌日まで持続する例、四肢の伸展およびよろめき歩行を示す例、ま  
12 た、途中剖検例にも認められた種々の一般状態の変化が、いずれも投与初期に認めら  
13 れた。体重の低値が 100mg/kg 群の妊娠初期および 500mg/kg 群の投与初期に、また、  
14 摂餌量の低下が 500mg/kg 群の投与初期および妊娠初期に認められた。分娩した動物は  
15 哺育 4 日に、交尾は確認されたが分娩しなかった動物は妊娠 25 日相当日にそれぞれペ  
16 ントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させて剖検した結果、臓器重量では、  
17 肝臓は 100mg/kg 以上の群において、また、腎臓、脳および副腎は 500mg/kg 群におい  
18 て実重量あるいは比重量が増加し、肉眼的検査では 100mg/kg 以上の群の肝臓に腫大あ  
19 るいは暗色化が認められ、胸腺は萎縮していた。また、100mg/kg 以上の群で肺と肋骨  
20 胸膜あるいは横隔膜との癒着が認められ、さらに、500mg/kg 群では、心外膜と心嚢の  
21 癒着、心嚢と肺、胸腺あるいは肋骨胸膜との癒着、心嚢の白濁ならびに心嚢の肥厚が  
22 観察された。病理組織学検査では、100mg/kg 以上の群に曇り硝子様を呈する小葉中心  
23 性の肝細胞肥大が、また、500mg/kg 群では心外膜の線維化および細胞浸潤、胸腺の萎  
24 縮ならびに被膜の線維化および細胞浸潤が観察された。これらの他に途中剖検例の多  
25 くに認められた胸腺被膜の水腫が 100mg/kg 以上の群で、腎臓の近位尿細管の脂肪変性  
26 および脾臓における白脾髄の萎縮が 500mg/kg 群で、また、胸腺被膜上の好中球を含む  
27 滲出物が 100mg/kg 群にそれぞれ少数例認められた。しかし、20mg/kg 群では、いずれ  
28 の検査・観察項目にも、被験物質投与の影響は認められなかった。

29 以上の成績から、本試験条件下における OTS の無影響量は、雄では 20mg/kg 体重以  
30 下であったが、雌においては 20mg/kg 体重と推定されている（補足文献 11）。

### 31 ③経口投与簡易生殖毒性試験

32 9 週齢の雌雄の SD 系ラット（雌雄 13 匹／群）に 0（対照群）、4、20 および 100mg/kg  
33 の  $\alpha$ -トルエンスルホンアミド（OTS）を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム  
34 （CMC-Na）水溶液に懸濁し、交配前 2 週から雄に対しては 47 日間、雌に対しては妊娠  
35 期間を通して分娩後の哺育 3 日までの 41~44 日間、毎日 1 回経口投与した。その結果、  
36 雌雄ともにいずれの投与群にも死亡あるいは瀕死動物は認められなかったが、一般状  
37 態では雌雄ともに 100mg/kg 投与群の全例において投与後一過性に活動性の低下が観  
38 察されたほか、流涎が雄の 12 例、雌の 11 例に観察された。活動性の低下および流涎  
39 は投与後 4 時間以内に回復した。体重では雌雄ともに 100mg/kg 群で体重増加量が一時

1 期低値を示したが、20 mg/kg 以下の群では被験物質投与の影響は認められず、摂餌量  
2 においては雌雄ともに被験物質投与の影響はみられなかった。試験終了時に全ての動  
3 物をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させ、剖検した。雄では、下  
4 垂体、甲状腺、精巣および精巣上体の重量を測定し、また、高用量群および対照群の  
5 全例については病理組織学検査を実施したが被験物質投与による影響は認められな  
6 かった。雌では、下垂体、甲状腺および卵巣について高用量群および対照群の全例につ  
7 いて病理組織学検査を実施したが被験物質投与による影響は認められなかった。

8 以上の成績から、本試験条件下における OTS の無影響量は雌雄とも 20 mg/kg 体重と  
9 推定されている（補足文献 12）。

#### 10 ④OTS の長期毒性試験

11 32 日齢の雌雄の SD 系ラット（雌雄各 50 匹/群）（F<sub>0</sub>動物）に純度 99.9%以上の OTS  
12 を 0（対照群）、2.5、25 および 250mg/kg 体重となるように調製した飼料を生涯自由に  
13 摂取させた。また、OTS を 250mg/kg 体重の用量で混餌投与すると共にアルカリ尿の生  
14 成を抑える目的で塩化アンモニウム（NH<sub>4</sub>Cl）を 1%の濃度で飲水投与する群（OTS+  
15 NH<sub>4</sub>Cl 群）（雌：38 匹、雄：40 匹）を設けた。これらの動物は試験開始 90 日後に各群  
16 内で雌雄を 1 対 1 で 1 週間交配し F<sub>1</sub>動物を設けた。F<sub>1</sub>動物は分娩後 4 日に一腹の児を  
17 8 匹（雌雄各 4 匹）に調整し、21 日で離乳して各群の飼料を与え、28 日齢で雌雄各 50  
18 匹（但し、雄の OTS+NH<sub>4</sub>Cl 群は 49 匹）に群分して各群の餌ならびに水を生涯自由に  
19 摂取させた。F<sub>0</sub>動物は、生存動物が試験開始時の 3%未満になった 142 週、また、F<sub>1</sub>  
20 動物では試験開始時の 20%になった 127 週に剖検し、病理組織学的検査をおこなった。  
21 試験期間を通じて F<sub>0</sub>ならびに F<sub>1</sub>動物とも一般状態は良好であったが、体重は F<sub>0</sub>なら  
22 びに F<sub>1</sub>動物の雌雄とも OTS-250mg/kg 群および OTS+NH<sub>4</sub>Cl 群で対照群に比べ低値を示  
23 し、また、これらの群の摂餌量は対照群に比べ減少傾向を示した。定期的に尾動脈よ  
24 り採取して実施した血液学的検査では被験物質投与の影響はみられなかった。雄の  
25 OTS-250mg/kg 群、OTS+NH<sub>4</sub>Cl 群および対照群について 6 ヶ月間隔で実施した尿検査で  
26 は、OTS+NH<sub>4</sub>Cl 群の尿の pH が他の群に比べ酸性を示した他、測定した尿中のカルシ  
27 ウム、ナトリウム、リン、クレアチニン、塩素およびカリウム量には対照群と比べ明  
28 らかな差は認められなかった。本試験で使用した動物には膀胱の寄生虫である  
29 *Trichosomoides crassicauda* の虫体ならびに虫卵は試験期間中に確認されず、膀胱の  
30 組織学的検査においても認められなかった。F<sub>0</sub>ならびに F<sub>1</sub>動物について実施した病理  
31 組織学的検査では、膀胱においては移行上皮の乳頭種が雄の F<sub>0</sub>観物で、対照群、  
32 2.5mg/kg 群および 250mg/kg 群で各 1 例、F<sub>1</sub>動物では雌の 2.5mg/kg 群で 2 例、また、  
33 粘膜下に平滑筋腫が F<sub>0</sub>観物の雌の 2.5mg/kg 群で 1 例と被験物質による影響はみられ  
34 ず、その他の非腫瘍性ならびに腫瘍性病変においても対照群と同様な発生率を示して  
35 おり、本試験条件下では腫瘍の誘発はいずれの臓器においても認められていない（報  
36 告書文献 45）。

#### 37 ⑤OTS の膀胱発がんプロモーション作用

38 OTS の膀胱発がんプロモーション作用を明らかにする目的で 4 群からなる雌の  
39 Wistar 系ラット（63 匹/群）の 2 群に N-methyl-N-nitrosourea (MNU)（1.5mg/個体）

1 を膀胱内に注入した後、一方には MNU 注入 2 週後から 0.1%OTS を 2 年間飲水投与し、  
2 (70mg/kg 体重相当)、他方には飲料水のみを 2 年間自由に摂取させた。他の 2 群の一  
3 方には 0.1%OTS のみを 2 年間飲水投与、残る 1 群は対照群として無処置で 2 年間飼育  
4 した結果、膀胱に OTS 投与に起因した腫瘍の誘発や MNU で処置した膀胱の増殖性病変  
5 に対するプロモーション作用は認められず、腎臓を含むその他の臓器においても OTS  
6 投与に起因した腫瘍の誘発は認められなかったと報告されている（報告書文献 83）。  
7 また、2 群からなる雌の Wistar ラット（各 50 匹/群）の 1 群に MNU（1.5mg/個体）を  
8 膀胱内に注入した後 2 週より、他方には無処置で 75mg/kg 体重の OTS を 2 年間混餌投  
9 与したところ、1 例（2%）に軽度な過形成が誘発されたが、飲水投与同様 OTS 投与に  
10 起因した腫瘍の誘発や MNU で処置した膀胱の増殖性病変に対するプロモーション作用  
11 はいずれの臓器においても認められなかったと報告されている（報告書文献 83）。

### 12 (3) 変異原性

13 *Salmonella typhimurium* または *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験では一部  
14 陽性結果があるものの、ある特定の条件下のもので、しかも再現性が確認されていな  
15 いことから、総合的には陰性と判断される。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株  
16 (CHO-K1 または CHL/IU) を用いた染色体異常試験およびヒト由来細胞株を用いた遺伝  
17 子突然変異試験ではいずれも陰性の結果が得られている。酵母を用いた遺伝子突然変  
18 異試験では陰性の結果が得られている。*Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性  
19 致死試験では一部陽性反応がみられたが、再現性が得られておらず、同様の条件で行  
20 われた他の試験で陰性結果が得られていることから、総合的には陰性と判断される。  
21 マウス骨髄小核試験では陰性の結果が得られている。マウス毛色スポットテストでは、  
22 3 回の試験のうち 1 回で突然変異頻度の増加傾向がみられているが、再現性が確認さ  
23 れていないことから、総合的には陰性と判断される。

#### 24 ○個別データ

25 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復  
26 帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、  
27 270~18,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われており、通常の Vogel-Bonner E 培  
28 地を用いた場合はいずれも陰性の結果が得られている。一方、ZLM 培地を用いた場合  
29 は TA98 の S9 mix 存在下のみで、3,600 µg/plate より変異コロニー数が陰性対照値の  
30 2 倍強程増加していたが、用量依存性はみられていない（報告書文献 27）（補足文献  
31 21）。

32 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
33 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、18,000  
34 µg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足  
35 文献 17、21）。通常の Vogel-Bonner E 培地の代わりに ZLM 培地を用いて *Salmonella*  
36 *typhimurium* TA98 による試験も行っており、プレート法を用いてラット肝由来の S9  
37 mix 存在下で、著者らの持っているロットおよび報告書文献 27 のロットの被験物質で  
38 18,000 µg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られてい  
39 る（補足文献 17、21）。

1 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2  
2 *uvrA* を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラット肝由来  
3 の S9 mix 存在下および非存在下で、312.5~5,000 µg/plate の用量範囲の 5 用量段階  
4 で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 21、31）。

5 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537 および TA1538 を  
6 用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 非存在下の 171  
7 ~1,710 µg/plate の用量範囲で、Arochor 1254 誘導 S9 mix 存在下の 171~17,100  
8 µg/plate の用量範囲で、Phenobarbital 誘導 S9 mix 存在下の 171~17,100 µg/plate  
9 の用量範囲で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 20、  
10 21）。

11 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
12 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、100~  
13 1,000 µg/plate の用量範囲の 4 用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結果  
14 が得られている（補足文献 21、32）。

15 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1538 を用いた復帰変異試  
16 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下で、4~2,500 µg/plate の  
17 用量範囲の 5 用量段階で試験が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献  
18 18、21）。

19 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
20 ット肝由来の S9 mix 存在下で、400 と 2,000 µg/plate の 2 用量で試験が行われてお  
21 り、陰性の結果が得られている（補足文献 5）。

22 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 および *Escherichia*  
23 *coli* WP2 *uvrA* を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラ  
24 ット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、20~5,000 µg/plate の用量範囲の 8  
25 用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 46）。

26 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHO-K1)を用いた染色体異常試験では、S9 mix  
27 非存在下の 0.9、14、200、400 µg/ml の 4 用量で 24 時間の連続処理後直ちに標本作  
28 製して試験が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献 21、23）。

29 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  
30 存在下および非存在下の 375、750、1,500、3,000 µg/ml の 4 用量で 6 時間処理後 18  
31 時間の標本作製で、S9 mix 非存在下の 375、750、1,500 µg/ml の 3 用量で 24 時間お  
32 よび 48 時間の連続処理後直ちに標本作製して試験が行われており、いずれも陰性の結  
33 果が得られている（補足文献 21、33）。

34 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*, D4) を用いた遺伝子突然変異試験では、ラット  
35 肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1,000 µg/plate の用量まで試験が行われ  
36 ており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 21）。

37 ヒト由来細胞株(RSa)を用いたウアバイン抵抗性を指標とする遺伝子突然変異試験  
38 では、S9 mix 非存在下の 900 と 1,800 µg/ml の 2 用量で 24 時間処理をして試験が行  
39 われており、陰性の結果が得られている（補足文献 19、21）。

1 *Drosophila melanogaster* Basc 系♀とその野生型♂を用いた伴性劣性致死試験では、  
2 427.5 µg/ml の1用量で、5%の蔗糖液を媒体として飲水投与で3回の交配の試験が行  
3 われており、1回目の交配で劣性致死の有意な増加がみられたが、2回目と3回目の  
4 交配では有意な増加はみられていない（報告書文献 27）（補足文献 21）。

5 *Drosophila melanogaster* Basc 系♀とその野生型♂を用いた伴性劣性致死試験では、  
6 855 µg/ml の1用量で、0.7%の食塩水を媒体として腹腔内投与で3回の交配の試験が  
7 2回繰返して行われ、5%の蔗糖液を媒体として飲水投与で3回の交配の試験が1回行  
8 われており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書文献 26）（補足文献 21）。

9 マウス骨髄小核試験では、NMRI マウス各群4匹用いて171、342、685、1,026 mg/kg  
10 の4用量での腹腔内投与並びに1,026 mg/kg の1用量での経口投与で、24時間間隔で  
11 2連投後6時間に標本作製して試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られて  
12 いる（報告書文献 27）（補足文献 21）。

13 マウス毛色スポットテストでは、80匹の妊娠マウスに妊娠10日目に1,000mg/kg の  
14 用量で経口投与し、生まれてきた仔マウス約200匹についてその毛色を生後20日目に  
15 観察している。試験は3回行われており、そのうち1回の試験で突然変異頻度の増加  
16 傾向がみられており、結果については結論付けられない(inconclusive)とされている。  
17 陰性対照の背景データが示されておらず、3回の試験で再現性が確認されていないこ  
18 とから、生物学的な意義は殆んどないものと考えられる（報告書文献 29）（補足文献  
19 21）。

#### 20 (4) 生殖発生毒性

21 生殖発生毒性試験としては、Sprague-Dawley 系雌雄ラット（13匹/群）に0、20、  
22 100あるいは500mg/kg 体重/日の用量を交配前2週間から雄には42日間、雌には分娩  
23 後4日まで強制経口投与した反復投与毒性生殖発生毒性併合試験（補足文献 11）（以  
24 下、併合試験）、ならびに同系統の雌雄ラット（13匹/群）に0、4、20あるいは100m  
25 g/kg 体重/日の用量を併合試験と同様の期間強制経口投与した簡易生殖毒性試験（補  
26 足文献 12）が、GLPに準拠して行われている。両試験ともに、100mg/kg 体重/日以上  
27 の用量によって、親動物に体重増加抑制などの悪影響が認められ、併合試験では、50  
28 0mg/kg 体重/日投与によって、雌の一部に死亡も認められているが、生殖能力に悪影  
29 響は認められず、生殖器の病理組織学検査にも悪影響を示唆する変化は認められてい  
30 ない。出生児については、併合試験の500mg/kg 体重/日投与群において、リッターサ  
31 イズに低下傾向が認められ、雌雄体重は対照群と比較して低値を示していたが、形態  
32 に影響は認められず、簡易生殖毒性試験を含めて100mg/kg 体重/日以下の用量で出生  
33 児に悪影響は認められていない。いずれもスクリーニング試験であるが、生殖発生毒  
34 性に関する無毒性量は親動物では500mg/kg 体重/日、出生児では100mg/kg 体重/日と  
35 推定されている。

36 これらの他に、発がん性の評価を目的として、Sprague-Dawley 系雌雄ラット（50  
37 匹/群）に0、2.5、25あるいは250mg/kg 体重/日の用量を、親動物には交配前90日か  
38 ら、また、それらの出生児には離乳から混餌投与し、親動物および出生児ともに生涯  
39 にわたり混餌投与を継続した長期毒性試験が行われている（報告書文献 45）。この試



1 験において、250mg/kg 体重/日は、投与動物の摂餌量を抑制し成長率を低下させる用  
2 量であるが、親動物の生殖能力に悪影響は認められないことが報告されている。出  
3 生児については、250mg/kg 体重/日投与群において新生児期のリッターサイズが低下  
4 し、体重が低値を示すことが報告されているが、寿命については影響が認められな  
5 いことが報告されている。OECD SIDS では、この試験における生殖発生毒性に関す  
6 る無毒性量を 25mg/kg 体重/日と推定している（補足文献 21）。

7 OTS の催奇形性については、レムゼン法で合成されたサッカリンを 0.3 および 3% の  
8 濃度で Wister 系雌ラットに交配前から混餌投与した際に胎児水晶体の異常が増加し  
9 たこと（(Lederer & Pottier-Arnould 1969) から不純物の影響を検討するために、  
10 Wister 系雌ラット 20 匹に OTS を 0.1% の濃度で混餌投与したものであるが、胎児の形  
11 態あるいは生存に影響を及ぼさないとする報告[Lederer (1977)]が IARC モノグラフ  
12 （補足文献 30）に引用されている。これ以外に、OTS の催奇形性に関する報告を見出  
13 すことはできなかった。一方、出生児の泌尿器系に及ぼす影響の評価を目的として、S  
14 prague-Dawley 系雌雄ラット（24-27 匹/群）に妊娠 0 日から分娩後 21 日まで 0、40、  
15 100 あるいは 250mg/kg 体重/日の OTS を強制経口投与し、離乳後の出生児には OTS を  
16 混餌投与した試験（補足文献 34）が行われているが、出生児の形態に異常は認められ  
17 ず、リッターサイズにも影響は認められていない。

18 以上のように、OTS の生殖発生毒性に関して入手し得た報告は、いずれもラットを  
19 用いた試験であるが、いずれの報告においても親動物の生殖能力ならびに胎児および  
20 出生児の形態に異常は認められていない。

#### 21 ○個別データ

##### 22 ・OTS のラットにおける併合試験（補足文献 11）

23 OTS（純度 99%）を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）に懸濁  
24 して、Sprague-Dawley 系雌雄ラット（13 匹/群）に、0、20、100 あるいは 500mg/kg  
25 体重/日の用量で交配前 2 週間から強制経口投与を開始した。OTS は、雌には妊娠期間  
26 を経て分娩後 3 日まで、雄には 42 日間反復投与し、投与終了日の翌日、これらの動物  
27 を剖検した。この間、親動物に対する生殖発生毒性の指標としては、性周期、交配成  
28 績、分娩状態ならびに分娩後 4 日までの哺育状態、着床数、妊娠黄体数、妊娠期間お  
29 よび産児数が調べられ、また、出生児に対しては 4 日齢までの一般状態、生存、性比、  
30 体重増加ならびに外表および内部器官の肉眼的変化が調べられている。併合試験では、  
31 これらの他に親動物に対する反復投与毒性も検討され、一般状態観察ならびに体重お  
32 よび摂餌量の測定他に、主要器官の重量測定および病理組織学検査が行われた。さ  
33 らに雄動物については尿検査、血液学検査および血液生化学検査も行われた（結果は  
34 一般毒性試験の項参照）。

35 OTS の反復投与による全身状態の変化としては、100mg/kg 体重/日以上投与群の  
36 雌雄に、投与後、自発運動の減少および流涎などが観察され、体重増加抑制および摂  
37 餌量の減少が認められた。さらに 500mg/kg 体重/日投与群では、雌において投与 5 日  
38 までに 3 例が死亡し、2 例が瀕死剖検された。その後死亡する例はなく、雄は全例が  
39 生存した。生殖発生毒性については、500mg/kg 体重/日投与群も含めて、いずれの投

1 与群においても、性周期、交尾、受胎、着床および妊娠期間に投与の影響は認められ  
2 ず、分娩および哺育状態にも異常は観察されなかった。500mg/kg 体重/日投与群にお  
3 いて着床数に対する産児数の割合がやや低い傾向を示していたが、対照群との間に有  
4 意差は認められていない。出生児については、500mg/kg 体重/日投与群の雌雄の体重  
5 が低値を示していたが、外表観察および剖検を含むその他の指標には、投与の影響は  
6 認められなかった。これらの結果から、OTS の生殖発生毒性に関する無影響量は、親  
7 動物では雌雄ともに 500mg/kg 体重/日、出生児では 100mg/kg 体重/日と推定されてい  
8 る。

9 ・OTS のラットにおける簡易生殖毒性試験（補足文献 12）

10 OTS（純度 99.95%）を、0.5% CMC-Na に懸濁して、Sprague-Dawley 系雌雄ラット（1  
11 3 匹/群）に、0、4、20 あるいは 100mg/kg 体重/日の用量で交配前 2 週間から強制経口  
12 投与を開始した。OTS は、雌には妊娠期間を経て分娩後 3 日まで、雄には 47 日間反復  
13 投与し、最終投与の翌日、これらの動物を剖検した。この間、親動物に対しては、一  
14 般状態の観察ならびに体重および摂餌量の測定を行い、剖検時には精巣および精巣上  
15 体の重量測定ならびにそれらの病理組織学検査を行った。また、性周期、交配、分娩  
16 状態および分娩後 4 日までの哺育状態の観察ならびに着床数、妊娠黄体数、妊娠期間  
17 および産児数の算定が行われた。出生児については、4 日齢までの一般状態、生存、  
18 体重増加ならびに外表および内部器官の肉眼的変化が調べられ、さらに対照群と 100m  
19 g/kg 体重/日投与群の出生児については眼球の病理組織学検査が行われた。

20 その結果、全身状態の変化としては、100mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に、投  
21 与後、活動性の低下および流涎などが観察され、体重増加抑制が認められたが、生殖  
22 発生毒性の評価項目については、出生児の眼球組織検査も含めて投与の影響は認めら  
23 れなかった。精巣および精巣上体にも投与の影響は認められなかった。これらの結果  
24 から、OTS の生殖発生毒性に関する無影響量は、雌雄親動物ならびに出生児ともに 10  
25 0mg/kg 体重/日と推定されている。

26 ・OTS のラットにおける混餌投与による二世世代長期毒性試験（報告書文献 45）

27 雌雄各 50 匹/群の Sprague-Dawley 系ラットに、32 日齢から、2.5、25 あるいは 25  
28 0mg/kg 体重/日の OTS（純度 99.5%）を摂取するように飼料に混入して、投与を開始し  
29 た。また、これらの群の他に、雄 40 匹および雌 38 匹に、250mg/kg 体重/日の OTS と  
30 ともにアルカリ尿の予防を目的として塩化アンモニウムを 1%の濃度で添加した飲水  
31 を与える群、あるいは雌雄各 50 匹にマウミー法で製造したサッカリンナトリウムを  
32 5%の濃度で混餌投与する群が設定され、標準飼料を摂取させた対照群と比較した。こ  
33 れらの雌雄動物（F0）は、90 日間の投与後に同群内で 1 週間を限度として交配し、産  
34 児（F1）を得た。分娩後 4 日に産児のリッターサイズを 8 に調整し、21 日齢に離乳して、  
35 F1 にも親世代と同じ条件で投与を行った。F1 の一部については、28 日齢に選抜して  
36 亜急性毒性試験に供したが、その他は F0 とともに生涯にわたって投与を継続し、死亡  
37 までの期間を調べるとともに、全身状態の観察、定期的な尿および血液の検査を行っ  
38 た。F0 動物は、生存動物が開始時の 3%未満になった 142 週まで投与を継続した。F1  
39 は生存動物が開始時の約 20%になった 127 週に剖検し、死亡例および最終剖検例のい

1 ずれについても各器官の病理組織学検査を行った。  
2 その結果、250mg/kg 体重/日投与群では、塩化アンモニウム併用の有無にかかわら  
3 ず、各世代の摂餌量が低下し、成長率の低下が認められた。成長率低下はサッカリン  
4 投与群でも認められた。しかし、繁殖能、寿命あるいは血液学的検査結果には、いず  
5 れの群も投与の影響は認められなかった。膀胱あるいは腎臓の肉眼観察で結石を認め  
6 る例があったが、投与との関連性は認められなかった。また、動物の膀胱に線虫の寄  
7 生はなかった。膀胱腫瘍の出現頻度は OTS 投与群では雌雄ともにいずれの世代におい  
8 ても対照群との間に有意差は認められなかった。サッカリン 5%投与群では、雄におい  
9 て F0 および F1 のいずれの世代においても対照群との間に有意差が認められたが、雌  
10 では有意差は認められなかった。

11 亜急性毒性試験に供した動物は、8、15、21 および 105 日齢に、尿道における亜急  
12 性の変化が調べられ、出生前および出生後投与試験（補足文献 34）とともに報告され  
13 ているが、OTS 投与群において 8 日齢における腎臓結石および膀胱の病変の発現頻度  
14 に用量依存性が認められたものの、塩化アンモニウムを飲水添加した群では有意差は  
15 認められず、日齢が進んだ動物ではこのような変化が認められていない。

16 ・OTS のラットにおける出生前および出生後投与試験（補足文献 34）

17 Sprague-Dawley 系雌ラット(24~27 匹/群)を同系統の雄と同居させ、精子確認日か  
18 ら分娩後 21 日の離乳まで、0、40、100 あるいは 250mg/kg 体重/日の OTS を、コーン  
19 油を媒体として強制経口投与した。離乳後の出生児には親動物と同じ用量を混餌投与  
20 し、出生児は、8、15、21 および 105 日齢に、腎臓および膀胱ならびに尿の濾過物に  
21 ついて結石の有無を光学顕微鏡下で観察し、病理組織学検査も行った。また、105 日  
22 齢で剖検する動物については、4~5 週齢および 8~9 週齢で尿の pH が調べられた。そ  
23 の結果、100mg/kg 体重/日以上以上の投与群で離乳後の出生児体重の低値が散見された。  
24 また、21 日齢および 105 日齢の雌雄において膀胱結石の出現頻度が増加した。

25 OTS のラットにおける混餌投与による二世世代長期毒性試験（報告書文献 45）で得ら  
26 れた F1 動物の一部についても 8、15、21 および 105 日齢に、同様の観察を行われた  
27 が、OTS 投与群において 8 日齢における腎臓結石および膀胱の病変の発現頻度に用量  
28 依存性が認められたものの、塩化アンモニウムを飲水添加した群では有意差は認めら  
29 れず、日齢が進んだ動物ではこのような変化が認められていない。

30

### 31 3) 国際機関等における評価

32 第 21 回 JECFA 会議(1978 年)では（報告書文献 4、38）、サッカリンのラット膀胱が  
33 ん誘発原因が検討され、OTS については、Arnold らによる、ラット 2 世代試験におい  
34 て OTS 混入が少ないサッカリン（餌中 5%）でも雄ラットに膀胱がんの発症を認めた一  
35 方、OTS 単独では(2.5-250mg/kg 体重/日)単独群で膀胱がんの発症はなかったことか  
36 ら（報告書文献 45）、OTS は膀胱がん原因物質から除外している。

37

## 6. パラトルエンスルホンアミド (PTS)

### 1) 化学名、化学構造、由来

○ パラトルエンスルホンアミド (p-Toluensulfonamide)

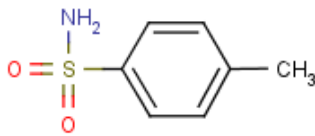
4-methylbenzenesulfonamide (IUPAC)

p-Toluensulfonamide (CAS)

他に、4-Toluensulfonamide

○ CAS NO. 70-55-3

○ 化学構造



○分子量 : 171.219

○ 由来・製品中含有量等

パラトルエンスルホンアミド (PTS) はレムゼン法によるサッカリン製品の不純物の一つであって、前述〔4. オルトトルエンスルホンアミド〕の構造異性体である (報告書文献 43)。このパラ-体は常温で油状であり、固体のオルト-体と同時に生成されるが、容易に除去できるため、オルト-体中に2~3%程度以内しか残存しない。従ってオルト-体の限量 (25 μg/g 以下) の規制によりパラ-体も結果として規制されることになる (補足文献 1)。日、米、JECFA では特に限量の規定はないが EU では 10mg/kg に規制している (報告書文献 11)。

### 2) 毒性

#### (1) 単回投与毒性試験

雌雄の SD 系ラット (雌 : 各群 5 匹、雄 : 5 匹) に 5% アラビアガム水溶液に懸濁し、雌では 889、1,333、2,000 および 3,000mg/kg 体重、雄では 2,000mg/kg 体重の用量で単回経口投与したところ、雌の 2,000mg/kg 群で 2 匹および 3,000mg/kg 群で 1 匹が 3 日目までに死亡したが、雌の 889 および 1,333mg/kg 群と雄の 2,000mg/kg 群では死亡は認められず、LD<sub>50</sub> 値は雌雄とも 2,000mg/kg 体重を上回ると報告されている (補足文献 13)。また、系統および性別は不明であるがラットで 2,300mg/kg 体重、さらに、OTSA (41%) と PTSA (51%) の混合物では、2,400mg/kg 体重と報告されている (補足文献 47)。

## 1 (2) 反復投与毒性試験

2 8週齢の雌雄のSD系ラットにパラトルエンスルホンアミド(PTS)を0(対照群)、  
3 120、300および750mg/kg体重の用量で交配前2週から雄には42日間、雌には妊娠期  
4 間を通して分娩後哺育3日まで強制経口投与した反復投与毒性・生殖発生併合試験が  
5 報告されており、雌雄とも120mg/kg以上の群で流涎が用量依存的に観察されると共に、  
6 病理組織学的検査においては膀胱粘膜上皮の肥厚や粘膜固有層への細胞浸潤を伴う動  
7 物が散見された。また、雄において実施した血液学および血液生理学的検査では  
8 300mg/kg以上の群でリンパ球の減少に伴う白血球数の減少、尿素窒素や塩素の増加、  
9 GOTとGPTの軽度な増加等が認められており、以上の成績より本試験条件下における  
10 PTSの無影響量は120mg/kg体重を下回る量であると推定されている(補足文献14)。

11 また、OTS(32%)とPTS(68%)の混合物をラットに0、300、1,000及び3,000ppm(0、15、50  
12 あるいは150mg/kg体重相当)で90日間混餌投与したところ、3,000ppm群で体重増加量お  
13 よび摂餌量の軽度な減少がみられたが、イヌでは、3,000ppm(75mg/kg体重相当)までの用  
14 量で90日間混餌投与しても被検物質投与の影響はみられなかったと報告されている(補足  
15 文献47)。

### 16 ①ラットを用いた反復投与毒性・生殖発生併合試験

17 8週齢の雌雄のSD系ラット(雌雄各13匹/群)に5%アラビアガム水溶液に懸濁し  
18 たPTSを0(対照群)、120、300および750mg/kg体重の用量で交配前2週から雄には  
19 42日間、また、雌には妊娠期間を通して分娩後哺育3日まで強制経口投与したところ、  
20 死亡動物は雌雄ともいずれの群においてもみられなかったが、一般状態では750mg/kg  
21 群の雄で4例に投与初期に一過性の血尿が観察され、また、雌雄とも750mg/kg群では  
22 投与第1週、300mg/kg群では投与第2週、120mg/kg群では投与第3週より流涎が観察  
23 されており、発症例数は用量依存的に増加していた。体重は雄の750mg/kg群で有意な  
24 低値を示し、摂餌量は雄の750mg/kg群で投与第1週に有意な低値を示したほかは、対  
25 照群と各投与群との間に有意な差は認められなかった。雌では750mg/kgで妊娠期間中  
26 に体重、また、投与初期に摂餌量が有意な低値を示した。雄で実施した血液学的検査  
27 では、300mg/kg以上の群において白血球数が用量依存的でかつ有意に減少し、リンパ  
28 球の比率が減少傾向を示したほか、分葉核好中球が300mg/kg群で増加傾向、また、  
29 750mg/kg群では有意に増加していた。血液生化学的検査では300mg/kg以上の群でGOT、  
30 尿素窒素および塩素が用量依存的に増加し、750mg/kg群でGPTが有意に増加、カリウ  
31 ムが有意に低下していた。臓器重量では、雄で750mg/kg群の腎臓および精巣比重量が  
32 有意な高値を示し、胸腺重量が低値傾向を示した。雌では300mg/kg以上の群の腎比重量  
33 が用量依存的に有意な高値を示し、また、750mg/kg群で肝比重量が有意な高値を示  
34 したほか、300mg/kg以上の群の胸腺重量が低値傾向を示した。病理組織学的検査では、  
35 精巣において750および300mg/kg群の各3例および120mg/kg群の5例が萎縮してお  
36 り、精細胞の減少した精細管が点在していた。雄の膀胱では粘膜上皮の剥離が被験物  
37 質投与群で各1例にみられ、そのうちの750および120mg/kg群の各1例では出血およ  
38 び粘膜固有層の水腫を伴っていた。また、粘膜上皮の肥厚が750および300mg/kg群の  
39 各11例および120mg/kg群の6例に観察され、粘膜固有層にリンパ球やマクロファ-

1 ジなどの細胞浸潤を伴う例が多く認められた。雌の膀胱では粘膜上皮の肥厚が  
2 750mg/kg 群の 7 例および 300mg/kg 群の 12 例にみられ、120mg/kg 群の 1 例にも軽度な  
3 変化が認められた。また、被験物質投与群においてそれぞれ 2~4 例の粘膜固有層に細  
4 胞浸潤がみられた。さらに、雌の胸腺では対照群を含む各群に萎縮がみられたが、  
5 750mg/kg 群の 5 例および 300mg/kg 群の 4 例では強い萎縮が認められた。しかし、脳、  
6 心、肝、腎および脾を含むその他の臓器においては被験物質投与による明らかな影響  
7 は認められなかった。以上のことより本試験条件化における無影響量 (NOEL) は  
8 120mg/kg 体重を下回る量と推定されている (補足文献 14)。

9 ラット (系統および性別不明) に OTS (32%) と PTS (68%) の混合物を 0、300、1,000  
10 および 3,000ppm (0、15、50、および 150mg/kg 体重相当) で 90 日間混餌投与したと  
11 ころ 3,000ppm 群で唯一被検物質の投与の影響として体重増加量および摂餌量の軽度  
12 な減少がみられた。血液学的検査、尿の生化学的検査および病理組織学的検査を 1,000  
13 および 3,000ppm で実施していないので、この試験から NOEL を見出すことは出来な  
14 かった (補足文献 47)。

15 OTSA (32%) と PTSA (68%) の混合物をイヌに 3,000ppm (75mg/kg 体重相当) まで  
16 の用量で 90 日間混餌投与したが、被検物質投与の影響はみられなかった (補足文献  
17 47)。

### 18 (3) 変異原性

19 *Salmonella typhimurium* または *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験では一部  
20 陽性結果があるものの、ある特定の条件下のもので、しかも再現性が確認されていな  
21 いことから、総合的には陰性と判断される。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株  
22 (CHO-K1 または CHL/IU) を用いた染色体異常試験およびヒト由来細胞株を用いた遺伝  
23 子突然変異試験ではいずれも陰性の結果が得られている。*Drosophila melanogaster*  
24 を用いた伴性劣性致死試験では一部陽性反応がみられたが、再現性がえられておらず、  
25 同様の条件で行われた他の試験で陰性結果が得られていることから、総合的には陰性  
26 と判断される。マウス骨髄小核試験では陰性の結果が得られている。

#### 27 ○個別データ

28 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復  
29 帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、  
30 270~18,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われており、通常の Vogel-Bonner E 培  
31 地を用いた場合はいずれも陰性の結果が得られている。一方、ZLM 培地を用いた場合  
32 は TA98 の S9 mix 存在下のみで、9,600 µg/plate より変異コロニー数が陰性対照値の  
33 3 倍程度増加していたが、用量依存性はみられていない (報告書文献 27)。

34 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
35 験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、18,000  
36 µg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている (補足  
37 文献 17)。通常の Vogel-Bonner E 培地の代わりに ZLM 培地を用いて *Salmonella*  
38 *typhimurium* TA98 による試験も行っており、プレート法を用いてラット肝由来の S9  
39 mix 存在下で、著者らの持っているロットおよび報告書文献 27 のロットの被験物質で

1 18,000 µg/plate の用量まで試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られてい  
2 る（補足文献 17）。

3 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2  
4 *uvrA* を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在  
5 下および非存在下で、312.5~5,000 µg/plate の用量範囲の 5 用量段階で試験が行わ  
6 れており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 35）。

7 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1530, TA1535 および TA1538 を用いた復  
8 帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、  
9 0.171~17,100 µg/plate の用量範囲で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得  
10 られている（補足文献 36）。

11 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHO-K1)を用いた染色体異常試験では、S9 mix  
12 非存在下の 14、200、400 µg/ml の 3 用量で 24 時間の連続処理後直ちに標本作製して  
13 試験が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献 23）。

14 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  
15 存在下および非存在下で 430、850、1,700 µg/ml の 3 用量で 6 時間処理後 18 時間の  
16 標本作製で、S9 mix 非存在下で 330、650、1,300 µg/ml の 3 用量で 24 時間および 48  
17 時間の連続処理後直ちに標本作製して試験が行われており、いずれも陰性の結果が得  
18 られている（補足文献 37）。

19 ヒト由来細胞株(RSa)を用いたウアバイン抵抗性を指標とする遺伝子突然変異試験  
20 では、S9 mix 非存在下の 900 と 1,800 µg/ml の 2 用量で 24 時間処理をして試験が行  
21 われており、陰性の結果が得られている（補足文献 19）。

22 *Drosophila melanogaster* Basc 系♀とその野生型♂を用いた伴性劣性致死試験では、  
23 427.5 µg/ml の 1 用量で、5%の蔗糖液を媒体として飲水投与で 3 回の交配の試験が行  
24 われており、1 回目の交配で劣性致死の有意な増加がみられたが、2 回目と 3 回目の  
25 交配では有意な増加はみられていない（報告書文献 27）。

26 *Drosophila melanogaster* Basc 系♀とその野生型♂を用いた伴性劣性致死試験では、  
27 855 µg/ml の 1 用量で 0.7%の食塩水を媒体として腹腔内投与で 3 回の交配の試験が  
28 行われており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書文献 26）。

29 マウス骨髄小核試験では、NMRI マウス各群 4 匹用いて 425、855 mg/kg の 2 用量で  
30 の腹腔内投与並びに 855 mg/kg の 1 用量での経口投与で、24 時間間隔で 2 連投後 6 時  
31 間に標本作製して試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（報告書  
32 文献 27）。

#### 33 (4) 生殖発生毒性

34 パラトルエンスルホンアミド(PTS)の生殖発生毒性に関する報告は、Sprague-Dawley  
35 系雌雄ラット (13 匹/群) に 0、120、300 あるいは 750mg/kg 体重/日の用量を経口投  
36 与した併合試験（補足文献 14）が GLP に準拠して行われているが、この他に公表され  
37 ている報告を見出すことができなかった。同試験では、300mg/kg 体重/日以上  
38 によって親動物に流涎が認められ、750mg/kg 体重/日投与で、体重増加抑制などの毒  
39 性変化が認められている。生殖発生毒性については、750mg/kg 体重/日投与群で分娩

1 および哺育に悪影響が認められているものの、雌雄動物の交尾、着床などの生殖能力  
2 に影響は認められていない。

3 出生児については、750mg/kg 体重/日投与群において、生下時生存率および体重に  
4 低下が認められたものの一過性で、骨格を含む形態に投与の異常は認められていない。  
5 これらのことから、PTS の生殖発生毒性に関する無毒性量は 300mg/kg 体重/日と推定  
6 されている。

#### 7 ①パラトルエンスルホンアミド (PTS) のラットにおける併合試験 (補足文献 14)

8 Sprague-Dawley 系雌雄ラット (13 匹/群) に、5%アラビアゴムに懸濁したパラトル  
9 エンスルホンアミド (PTS) を、0、120、300 あるいは 750mg/kg 体重/日の用量で交配  
10 前 2 週間から強制経口投与を開始した。PTS は、雌には妊娠期間を経て分娩後 3 日ま  
11 で、雄には 42 日間反復投与し、投与終了日の翌日、これらの動物を剖検した。この間、  
12 親動物については、生殖発生毒性の指標として交配成績、分娩状態ならびに分娩後 4  
13 日までの哺育状態、着床数、妊娠黄体数、妊娠期間および産児数が調べられ、また、  
14 出生児については 4 日齢までの一般状態、生存、性比、体重増加ならびに外表および  
15 内部器官の肉眼的変化が調べられ、対照群および 750mg/kg 体重/日投与群については  
16 骨格検査を行って骨格異常および骨格変異の有無が調べられた。併合試験では、これ  
17 らの他に親動物に対する反復投与毒性も検討され、一般状態観察ならびに体重および  
18 摂餌量の測定他に、主要器官の重量測定および病理組織学検査が行われた。さらに  
19 雄動物については血液学検査および血液生化学検査も行われた (結果は一般毒性試験  
20 の項参照)。

21 PTS の反復投与による全身状態の変化としては、300mg/kg 体重/日以上投与群の雌  
22 雄に、流涎が観察され、750mg/kg 体重/日投与群では、体重増加抑制および摂餌量の  
23 減少が認められた。交尾、受胎、着床および妊娠期間については投与の影響は認めら  
24 れなかった。一方、出生日における出生児の生存率が 750mg/kg 体重/日投与群で低値  
25 を示し、体重についても、低値の傾向が認められ、雌では対照群との間に有意差が認  
26 められたことから、子宮内での発育抑制ならびに分娩に及ぼす影響が疑われている。4  
27 日齢までの生存率に有意差は認められず、骨格を含む出生児の形態にも投与の影響は  
28 認められなかった。

29 これらの成績から、生殖発生毒性に関する無影響量は 300mg/kg 体重/日と推定され  
30 ている。

31

### 32 3) 国際機関等における評価

33 サッカリンによる雄ラットでの膀胱がん誘発に対する不純物、パラトルエンスルホ  
34 ンアミド (PTS) の関与、もしくは、PTS 自身の毒性について、JECFA、EU などの国際  
35 機関が評価・言及した資料を確認することは出来なかった。

36

37

38



1 7. N-メチルサッカリン

2

3 1) 化学名、化学構造、由来

4 ○ N-メチルサッカリン (N-Methylsaccharin)

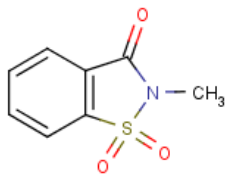
5 2-methyl-1,1-dioxo-1,2-benzothiazol-3-one (IUPAC)

6 2-Methyl-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one1,1-dioxide (CAS)

7

8 ○ CAS NO. 15448-99-4

9 ○ 化学構造



10

11 ○ 分子量 : 197.213

12 ○由来等

13 N-メチルサッカリンはマウミー法によるサッカリン製品の不純物のひとつであって、  
14 製品中の濃度、0.15ppmの報告がある(報告書文献35)(補足文献5)。

15

16 2) 毒性

17 (1) 急性毒性、反復投与毒性

18 N-メチルサッカリンの経口投与による急性毒性、反復投与毒性ならびに発がん性  
19 に関する試験成績を確認することは出来なかった。

20 (2) 変異原性

21 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
22 ット肝由来のS9 mix存在下で、400と2,000 μg/plateの2用量で試験が行われてお  
23 り、陰性の結果が得られている(補足文献5)。

24 (3) 生殖発生毒性

25 N-メチルサッカリンの生殖発生毒性に関する試験成績を確認することは出来なかつ  
26 た。

27

28 3) 国際機関等における評価

29 第28回JECFA会議(1984年)のサッカリン毒性評価報告書(報告書文献35)Special  
30 studies on mutagenicity of impurity in saccharinの項で、N-メチルサッカリンを  
31 含むマウミー法サッカリンの有機溶媒で抽出される不純物の変異原性は特段の問題な  
32 い、とのRigginら報告(補足文献5)を引用している。

33

## 8. アントラニル酸メチル

### 1) 化学名、化学構造、由来

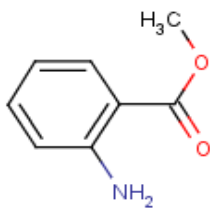
○ アントラニル酸メチル (Methyl anthranilate)

methyl 2-aminobenzoate (IUPAC)

Methyl anthranilate (CAS)

他に、2-aminobenzoic acid, methyl ester,

○ CAS NO. 134-20-3



○ 分子量 : 151.16

○ 由来等

アントラニル酸メチルはマウミー法によるサッカリン製品の不純物のひとつであって、製品中の濃度、0.05ppmの報告がある(報告書文献35)(補足文献5)。

### 2) 毒性

#### (1) 単回投与毒性試験

急性毒性に関しては、ラット (Osborne-Mendel 系)、マウス (系統不明) およびモルモット (系統不明) の試験成績が報告されており、LD<sub>50</sub> 値はラットで 2,910 (2,500-3,400) mg/kg、マウスで 3,900 (3,260-4,680) mg/kg 体重およびモルモットで 2,780 (2,210-3,500) mg/kg 体重 (いずれも性別不明) とされている (補足文献15)。

また、系統ならびに性別は不明であるがラットで 3,000mg/kg 体重 (補足文献40) あるいは 5,825mg/kg 体重 (補足文献24)、モルモットで 4,000mg/kg 体重 (補足文献40) と報告されている。

#### (2) 反復投与毒性試験

雌雄の Osborne-Mendel 系ラット (各群 10 匹) にアントラニル酸メチルを 0 (対照群)、1,000 および 10,000ppm (0, 50, および 500mg/kg 体重) で 13 週間混餌投与した試験が実施されており、1,000 および 10,000ppm 群とも体重、血液学的検査 (赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値)、臓器重量 (肝臓、腎臓、脾臓、心臓、精巣) および肉眼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ず、また、10,000ppm 群で実施した病理組織学的検査 (肝臓、腎臓、脾臓、心臓、精巣、前記以外の胸腔・腹腔内臓器、後肢の骨・骨髄、筋肉) においても被験物質投与による明らかな影響は認められず、NOEL は 10,000ppm (500mg/kg 体重) と報告され

1 ている（補足文献 16、24）。

2 離乳した雌雄のラット（各群 10 匹）にアントラニル酸メチルを 0（対照群）、3,000  
3 および 10,000ppm（0、150–300 および 500–1,000mg/kg 体重相当）で 115 日間混餌投  
4 与した試験が実施されており、3,000ppm 群では一般状態、行動、成長、死亡率、試験  
5 終了時の血液学的検査、体重、肉眼眼的および組織学的検査において被検物質投与に  
6 よる明らかな影響は認められなかったが、10,000ppm 群では平均肝および腎重量の増  
7 加と腎臓に軽度な組織学的変化が観察され、NOEL は 3,000ppm（150mg/kg 体重）と報  
8 告されている（補足文献 40）。

### 9 (3) 変異原性

10 *Salmonella typhimurium* あるいは *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験ではい  
11 ずれも陰性の結果が得られている。尚、TA98 の S9 mix 存在下で norharman と共に処  
12 理した場合では陽性の結果が得られたとの報告がある。*Bacillus subtilis* を用いた  
13 DNA 修復試験（Rec-assay）では陰性と弱い陽性の結果が得られているが、後者は極め  
14 て高用量（23,300  $\mu\text{g}/\text{disk}$ ）での結果であり、その生物学的意義はないものと考えられ  
15 る。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株（B241）を用いた染色体異常試験では陽性結  
16 果が示されているが、標準的な試験方法ではなく、試験条件等に不明な点があること  
17 から、この試験結果を評価に用いるべきではないと判断される。ラット肝初代培養細  
18 胞を用いた不定期 DNA 合成（UDS）試験では陰性の結果が得られている。WHO の報告書に  
19 おけるアントラニル酸メチルを含めたアントラニレイト誘導体 10 物質についての総  
20 合評価では、意義のある変異原活性は見出されていないと結論されている。

#### 21 ○個別データ

22 *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラ  
23 ット肝由来の S9 mix 存在下で、400 と 2,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の 2 用量で試験が行われてお  
24 り、陰性の結果が得られている（補足文献 5）。

25 *Salmonella typhimurium* TA97 および TA102 を用いた復帰変異試験では、プレイン  
26 キュベーション法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、10～  
27 1,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲の 5 用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結果  
28 が得られている（補足文献 24、25）。

29 *Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート  
30 法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、0.05～500  $\mu\text{g}/\text{plate}$   
31 の用量範囲で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている（補足文献 24、  
32 28）。

33 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試  
34 験では、プレインキュベーション法を用いてラットおよびシリアン・ハムスター肝由  
35 来の S9 mix 存在下および非存在下で、33～1,800  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲の 5 用量段階  
36 で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られ、最高用量（ $\pm$ S9 mix）ではい  
37 ずれの菌株にも抗菌作用がみられている（補足文献 24、26）。

38 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラッ  
39 ト肝由来の S9 mix 非存在下で、250～2,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲の 4 用量段階で試験

1 が行われており、陰性の結果が得られている（補足文献 24、38）。

2 *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, TA2637,  
3 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* および WP2 *uvrA*/pKM101 を用いた復帰変異試験では、プ  
4 レインキュベーション法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1  
5 ~5,000 µg/plate の用量範囲の 7 用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結  
6 果が得られているが、TA98 の S9 mix 存在下で norharman と共に処理した場合には陽  
7 性の結果が得られている（補足文献 49）。

8 *Bacillus subtilis* H17 (rec+) 株および M45 (rec-) 株を用いた DNA 修復試験  
9 (Rec-assay) では、ストリーク法を用いて 23 µg/disk の用量で試験が行われ、陰性  
10 の結果が得られている（補足文献 24、27）。

11 *Bacillus subtilis* H17 (rec+) 株および M45 (rec-) 株を用いた DNA 修復試験  
12 (Rec-assay) では、孢子プレート法を用いて 23,300 µg/disk の用量で試験が行われ、  
13 弱い陽性結果が得られている（補足文献 24、38）。

14 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(B241)を用いた染色体異常試験では、S9 mix  
15 存在下および非存在下で 24 時間の連続処理後新鮮な培養液でさらに 24 時間培養した  
16 後に標本作製して試験が行われており、陽性の結果が得られている。異常細胞の出現  
17 頻度の最高値として 0.008 µg/ml で 14.6%であり、ある用量域で用量依存性があると  
18 記しているが、具体的な用量段階が示されておらず、S9 mix 存在下の結果であるのか  
19 非存在下での結果であるのかも不明である（補足文献 24、28）。

20 ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では、0.15~151 µg/ml の  
21 用量範囲の 4 用量段階の 20 時間処理で試験が行われ、陰性の結果が得られている（補  
22 足文献 24、29）。

#### 23 (4) 生殖発生毒性

24 アントラニル酸メチルの生殖発生毒性に関する試験成績を確認することは出来なかつ  
25 った。

### 27 3) 国際機関等における評価

28 第 28 回 JECFA 会議(1984 年)のサッカリン毒性評価報告書(報告書文献 35)Special  
29 studies on mutagenicity of impurity in saccharin の項で、アントラニル酸メチル  
30 を含むマイミー法サッカリンの有機溶媒で抽出される不純物の変異原性は特段の問題  
31 ない、との Riggan ら報告(補足文献 5)を引用している。

32 別に、アントラニル酸メチル自身は香料物質として使用されることから、JECFA に  
33 よりグループ評価の一環としての評価なされている。すなわち、第 65 回 JECFA 会議  
34 (2006 年)におけるアントラニル酸メチルを含めたアントラニレイト誘導体 10 物質に  
35 ついての総合評価では、意義のある変異原活性は見出されていない、と結論されてい  
36 る(補足文献 24)。また、ラットへの 115 日間混餌投与した試験結果からの無影響量  
37 (NOEL)、150mg/kg 体重/日から、ADI:0-1.5mg/kg 体重/日を定めている(補足文献  
38 39、40、41)。

1 9. アミノサッカリン

2

3 1) 化学名、化学構造、由来

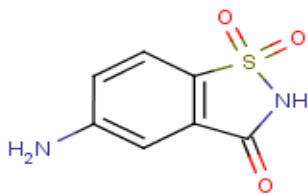
4 ○ 5-アミノサッカリン (5-Aminosaccharin)

5 5-amino-1,1-dioxo-1,2-benzothiazol-3-one (IUPAC)

6 5-Aminosaccharin (CAS)

7 他に、1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one, 5-amino, 1,1-dioxide ○ CAS NO. 22094-61-7

8



9

10 ○ 分子量 : 198.201

11

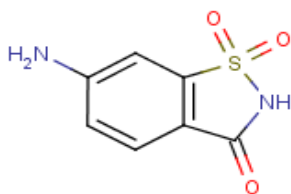
12 ○ 6-アミノサッカリン (6-Aminosaccharin)

13 6-amino-1,1-dioxo-1,2-benzothiazol-3-one (IUPAC)

14 6-Aminosaccharin (CAS)

15 他に、1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one, 6-amino, 1,1-dioxide

16 ○ CAS NO. 22094-62-8



17

18 ○ 分子量 : 198.20

19

20 ○ 7-アミノサッカリン (7-Aminosaccharin)

21 データ検索したが確認できず。

22

23 ○ 由来等

24 アミノサッカリンはマウミー法によるサッカリン製品の不純物のひとつであって、  
25 温水で抽出され、Ion-pair HPLC で分離される極性物質である。上記のように3種類  
26 の構造異性体があり、製品中の濃度として、5位、6位異性体合わせて、150ppmの報  
27 告がある(報告書文献35)(補足文献6)。

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

## 2) 毒性

### (1) 急性毒性、反復投与毒性

アミノサッカリンの急性毒性、反復投与毒性ならびに発がん性に関する試験成績を確認することは出来なかった。

### (2) 変異原性

5-および6-アミノサッカリンについての *Salmonella typhimurium* を用いた復帰変異試験ではいずれも陰性の結果が得られている。7-アミノサッカリンについては変異原性に関する試験成績を確認することは出来なかった。

○個別データ

#### ① 5-アミノサッカリン(5-Aminosaccharin)

*Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1.0~10,000 µg/plate の用量範囲の8用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている(補足文献6)。

#### ② 6-アミノサッカリン(6-Aminosaccharin)

*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1538 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下で、4~2,500 µg/plate の用量範囲の5用量段階で試験が行われており、陰性の結果が得られている(補足文献18)。

*Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1.0~10,000 µg/plate の用量範囲の8用量段階で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている(補足文献6)。

### (3) 生殖発生毒性

アミノサッカリンの生殖発生毒性に関する試験成績を確認することは出来なかった。

## 3) 国際機関等における評価

第28回 JECFA 会議(1984年)のサッカリンの毒性評価報告書(報告書文献35) Special studies on mutagenicity of impurity in saccharin の項で、5-及び6-アミノサッカリンは Ames 法による変異原性試験の結果、陰性であったことが記されている。

## サッカリンに含有される不純物の毒性試験一覧

### 1. オルトスルファモイル安息香酸

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
反復投与	ラット (SD系)	13週間	混餌	雌雄各10	オルトスル ファモイル安 息香酸	0、 20,000ppm	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、肉眼のおよび病理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	報告書文献 69
	イヌ (ビーグル)	16週間	混餌	雌雄各3		0、 20,000ppm	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、肉眼のおよび病理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	

### 2. パラスルファモイル安息香酸

該当なし

### 3. オルトカルボキシベンゼンスルホン酸

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
反復投与	ラット (SD系)	13週間	混餌	雌雄各10	オルトカル ボキシベン ゼンスルフ オン酸アン モニウム	0、 20,000ppm	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、肉眼のおよび病理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	報告書文献 69
	イヌ (ビーグル)	16週間	混餌	雌雄各3		0、 20,000ppm	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、肉眼のおよび病理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	

4. 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
急性毒性	ラット (ウイスター)		経口	雌雄各5匹	1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (純度 82.3%)	1,000、2,000、5,000mg/kg体重	LD50値 雄: 2,100mg/kg体重 雌: 1,050mg/kg体重	補足文献8
反復投与	ラット (ウイスター)	28日間	経口	雌雄各6匹	1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (純度 84.3%)	0、15、45、135mg/kg体重 (BITとして12.6、37.9、113.7 mg/kg体重)	135mg/kg群: 被験物質投与期間中流涎が観察されたが、回復期間には消失 45mg/kg群: 前胃に刺激性/腐食性によると考えられる病変が観察された 15mg/kg群: 被験物質投与による影響は認められなかった NOAEL: 15mg/kg体重 (12.6mg/kg体重)	補足文献2、8
	ラット (ウイスター)	90日間	経口	雌雄各10匹		0、10、30、75mg/kg体重 (BITとして8.42、25.3、63.2 mg/kg体重)	75mg/kg群: 摂餌量の有意な減少が認められたが、回復期間中には対照群のレベルに戻った 30mg/kg群: 組織学的検査で前胃に病変が観察されたが、これらの病変は可逆的であった 10mg/kg群: 被験物質投与による影響は認められなかった。 NOAEL: 10mg/kg体重 (8.42mg/kg体重)	
	ラット (SD系)	90日間	混餌	雌雄各12匹	1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン	0、200、900、4,000ppm	雄で900及び4,000ppm、雌では4,000ppm群: 体重の低値 4,000ppm群: 組織学的検査で前胃/腺胃境界縁の扁平上皮過形成 無影響量 (NOEL): 雄で200ppm群 (15.3mg/kg体重)、雌で900ppm群 (78mg/kg体重)	補足文献2



5. オルトトルエンシルホンアミド

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
急性毒性	ラット (SD系)	単回	経口	雌雄各5匹	オルトトルエンシルホンアミド	700、1,000、1,400、2,000 mg/kg体重	LD50値 雄: 2,000mg/kg体重 雌: 1,000~2,000mg/kg体重	補足文献9
反復投与	ラット (SD系)	28日間投与、14日間回復	経口	4、20mg/kg体重: 雌雄各5匹、0、100 mg/kg体重: 雌雄各10匹	オルトトルエンシルホンアミド	0、4、20、100 mg/kg体重	100mg/kg群: 雌雄とも流涎や活動性の低下が観察され、また、雄では腎尿管上皮に好酸性小体が増加する傾向にあった。 NOEL: 雌雄とも20mg/kg体重	補足文献10
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験	ラット (SD系)	雄: 42日間 雌: 交配2週間前から妊娠期間、分娩後保育3日まで	経口	雌雄各13匹	オルトトルエンシルホンアミド	0、20、100、500 mg/kg体重	雄: 500mg/kg群: 血小板数の増加、総蛋白の増加、A/G比、グルコース及びトリグリセライドの低下、肝及び腎重量の増加。 100mg/kg以上の群: 自発運動の減少、流涎、平均赤血球色素濃度及び総コレステロールの増加、副腎比重量の増加、病理組織学的に小葉中心性の肝細胞肥大。 20mg/kg以上の群: 平均赤血球色素量の高値、アルカリフォスファターゼ活性の低下および病理組織学的に腎臓で好酸性小体が用量に関係して増加。 雌: 500mg/kg群: 自発運動の減少、鎮静、紅涙、呼吸困難、流涎等を示した後の3-5日に13匹中3例が死亡、2例が瀕死動物として剖検された。 100mg/kg及び生存した500mg/kg群: 自発運動の減少、流涎、体重の低値、肝重量の増加、肉眼的に肝臓肥大、胸腺萎縮、病理組織学的に小葉中心性の肝細胞肥大等。 NOEL: 雄で20mg/kg体重以下、雌では20mg/kg体重	補足文献11
簡易生殖毒性試験	ラット (SD系)	雄: 47日間 雌: 交配2週前から妊娠期間、分娩後保育3日までの41~44日間	経口	雌雄各13匹	オルトトルエンシルホンアミド	0、4、20、100 mg/kg体重	100mg/kg: 投与後一過性に活動性の低下、流涎が雄の12例、雌の11例に観察され、雌雄とも体重増加量が一時期低値を示したが、病理組織学検査では被験物質投与による影響は認められなかった。 NOEL: 雌雄とも20 mg/kg体重。	補足文献12
長期毒性試験	ラット (SD系)	親世代: 142週間 仔世代: 127週間	経口	雌雄各50匹	オルトトルエンシルホンアミド	0、2.5、25、250mg/kg体重、 250mg/kg+1%塩化アンモニウム	本試験条件下では親および児世代ともいづれの臓器においても被験物質投与に起因した腫瘍の誘発は認められなかった。	報告書文献 45

膀胱発がんプロモーション作用	ラット (Wistar)	2年間	MNU 膀胱内、 OTS 飲水	雌 各63匹	オルトトルエ ンスルホン アミド	対照群、 MNU、 MNU + 0.1%OTS、 0.1%OTS	OTS投与に起因した腫瘍の誘発やMNUで 処置した膀胱の増殖性病変に対するプロ モーション作用は認められなかった。	報告書文献 83
	ラット (Wistar)	2年間	MNU 膀胱内、 OTS 混餌	雌 各50匹	オルトトルエ ンスルホン アミド	MNU + 79mg/kg bw OTS、 79mg/kg bw OTS	OTS投与に起因した腫瘍の誘発やMNUで 処置した膀胱の増殖性病変に対するプロ モーション作用は認められなかった。	

6. パラトルエンシルホンアミド

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
急性毒性	ラット (SD系)	単回	経口	雌雄各5匹	パラトルエン シルホンアミ ド	雄: 2,000mg/kg 体重 雌: 889、1,333、 2,000、3,000 mg/kg体重	雌: 2,000mg/kg群で2匹、3,000mg/kg群で 1匹が3日目までに死亡した。 LD50値 雌雄: 2,000mg/kg体重	補足文献13
	ラット (系統不明)	単回	経口	不明		不明	LD50値 2,330mg/kg体重	補足文献47
	ラット (系統不明)	単回	経口	不明	オルトルエン シルホンアミ ド(41%) + パラトルエン シルホンアミ ド(51%) 混合物	不明	LD50値 2,400mg/kg体重	補足文献47
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験	ラット (SD系)	雄: 42日間 雌: 交配2 週間前から 妊娠期間、分娩 後保育3日 まで	経口	雌雄各13匹	パラトルエン シルホンアミ ド	0、120、300、 750 mg/kg体重	120mg/kg以上の群で雌雄とも用量依存的 に流産が観察された。病理組織学的検査 においては雄で膀胱粘膜上皮の肥厚が 750および300mg/kg群の各11例および 120mg/kg群の6例、また、粘膜固有層にリン パ球やマクロファージなどの細胞浸潤を伴 う例が多く認められた。雌では粘膜上皮の 肥厚が750mg/kg群で7例および300mg/kg 群で12例、120mg/kg群でも1例に認めら れ、また、120mg以上の群においてそれぞ れ2~4例で粘膜固有層に細胞浸潤がみら れた。 NOEL: 120mg/kg体重以下	補足文献14
反復投与毒性試験	ラット (系統不明)	90日間	混餌	性別・匹数 不明	オルトルエン シルホンアミ ド(32%) + パラトルエン シルホンアミ ド(68%) 混合物	0、300、1,000、 3,000ppm (0、15、50、150 mg/kg体重)	3,000ppm: 体重増加量および摂餌量の軽 度な減少 NOEL: 血液学的検査、尿の生化学的検査 および病理組織学的検査を実施してい ないので、NOELを求めることは出来なかつ た。	補足文献47
	イヌ (系統不明)	90日間	混餌	性別・匹数 不明	オルトルエン シルホンアミ ド(32%) + パラトルエン シルホンアミ ド(68%) 混合物	3,000ppm (75mg/kg体重) まで	被験物質投与の影響はみられなかった。	補足文献47

7. メチルサッカリン

該当なし

8. アントラニル酸メチル

試験種類	動物種	試験期間	投与方法	動物数群	被験物質	投与量	実験結果	参照No.
急性毒性	ラット (Osborne-Mende系)	単回	経口 (投与前18時間絶食)	雌雄 各10匹	アントラニル酸メチル	不明	LD50値 2,910mg/kg体重 (2,500-3,400mg/kg体重)	補足文献15
	ラット (系統不明)	単回	経口	不明		不明	LD50値 3,000mg/kg体重	補足文献40
	ラット (系統不明)	単回	経口	不明		不明	LD50値 5,8250mg/kg体重	補足文献24
	マウス (系統不明)	単回	経口 (飽食)	不明		不明	LD50値 3,900mg/kg体重 (3,260-4,680mg/kg体重)	補足文献15
	モルモット (系統不明)	単回	経口 (投与前18時間絶食)	雌雄 (匹数不明)		不明	LD50値 2,780mg/kg体重 (2,210-3,500mg/kg体重)	補足文献15
	モルモット (系統不明)	単回	経口	不明		不明	LD50値 4,000mg/kg体重	補足文献40
反復投与	ラット (Osborne-Mende系)	13週間	混餌	雌雄 各10匹	アントラニル酸メチル	0、1,000、 10,000 ppm (0、50、500 mg/kg体重)	体重、血液学的検査、臓器重量、肉眼的検査において被験物質投与の影響はみられず、10,000ppm群で実施した病理組織学的検査においても被験物質による影響は観察されなかった。 無影響量 (NOEL) : 10,000ppm (500mg/kg体重)	補足文献 16、24
	ラット (系統不明)	115日間	混餌	雌雄 各10匹	アントラニル酸メチル	0、3,000、 10,000 ppm (0、150-300、 500- 1,000mg/kg体 重)	10,000ppm群: 肝及び腎重量の増加と腎臓に軽度な組織学的変化が観察された。 NOEL: 3,000ppm (150mg/kg体重)	補足文献40

9. アミノサッカリン

該当なし

### サッカリンに含有される不純物の変異原性試験一覧

In vitro/ 生物種	試験の名称	使用種/株/系 の名称	披験物質	用量	試験結果	参照No
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, A1537, TA1538	オルトスルファ モイル安息香酸	~7,200 $\mu$ g/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	報告書文献 27
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, A1537	オルトスルファ モイル安息香酸	~2,500 $\mu$ g/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献17
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1538	オルトスルファ モイル安息香酸	4~2,500 $\mu$ g/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献18
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98	オルトスルファ モイル安息香酸	400、2,000 $\mu$ g/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献5
In vitro	遺伝子突然変異試験	ヒト由来細胞株 Rsa	オルトスルファ モイル安息香酸	450、900 $\mu$ g/mL	非代謝活性化法の みの試験で陰性	補足文献19
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	Basc系と野生型	オルトスルファ モイル安息香酸	50.25 mg/mL	3回の交配でいずれ も陰性	報告書文献 27
マウス	骨髄小核試験	NMRI系	オルトスルファ モイル安息香酸	400、1000 mg/kg(腹腔内投 与)、1000 mg/kg(経口投 与)	腹腔内投与および経 口投与いずれも陰性	報告書文献 27
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, A1537, TA1538	パラスルファモ イル安息香酸	最高用量3.6 mg/plate	代謝活性化系の有 無にかかわらず陰 性。また、VB培地を ZLM培地に代えて も、代謝活性化系存 在下の全ての菌株で 陰性。	Eckhardtら (1980) 報告書文献 27
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1530, A1535, TA1538	パラスルファモ イル安息香酸	最高用量0.04 mol/plate	TA98及びTA1538に 対し細胞毒性を示し たが、自然発生によ るものを上回る突然 変異頻度の誘発は 認められなかった。	Ponceletら (1980) 補足文献36
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, A1537	パラスルファモ イル安息香酸	最高用量2.5 mg/plate	代謝活性化系の有 無にかかわらず陰 性。	Herbold (1981) 補足文献17
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	<i>D. melanogaster</i> Basc系雌と野生 型雄	パラスルファモ イル安息香酸	0、500 mM	劣性致死発生率の 増加は認められな かった。	Eckhardtら (1980) 報告書文献 27
In vitro	遺伝子突然変異試験	Rsa	パラスルファモ イル安息香酸	最高濃度0.9 mg/mL	突然変異の誘発は 認められなかった。	Suzuki & Suzuki (1988) 補足文献19
マウス	小核試験	NMRI	パラスルファモ イル安息香酸	経口0、1,000 mg/kg 腹腔内0、400、1,000 mg/kg	小核多染性赤血球 の割合の有意な増加 は認められなかつ た。	報告書文献 27

In vitro/ 生物種	試験の名称	使用種/株/系 の名称	被験物質	用量	試験結果	参照No
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	オルトカルボキ シベンゼンスル フオン酸	~2,500 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性。	補足文献17
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537, TA1538	オルトカルボキ シベンゼンスル フオン酸	202~2,020 µg/plate (- S9)、0.202~20,200 µg/plate (+S9 induced by Aroclor)、 202~2,020 µg/plate (+S9 induced by phenobarbital)	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献20
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98	オルトカルボキ シベンゼンスル フオン酸	400、2,000 µg/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献5
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター細胞株 CHO-K1	オルトカルボキ シベンゼンスル フオン酸	0.9, 14, 200, 400 µg/mL	非代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献23
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537, TA1538	オルトカルボキ シベンゼンスル フオン酸アンモ ニウム	219~2,190 µg/plate (- S9)、219~21,900 µg/plate (+S9 induced by Aroclor and phenobarbital)	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献20
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	20~175 µg/plate (1回目) 30~180 µg/plate (2回目)	低用量で抗菌作用あり、 評価不可	補足文献8
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	10、100 µg/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性、高用 量で強い抗菌作用	補足文献5
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	10~500 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献48
In vitro	DNA修復試験 (Rec-assay)	<i>B. subtilis</i> H17(rec+), M45 (rec-)	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	1,200 µg/disk	非代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献48
In vitro	DNA修復試験 (Rec-assay)	<i>B. subtilis</i> H17(rec+), M45 (rec-)	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	0.06~6.0 µg/disk	非代謝活性化法のみ の試験で陽性、0.3 µg/disk以上で生育 阻害	補足文献22
In vitro	DNA損傷試験(コ メットアッセイ)	ヒト白血病由来培 養細胞株 HL-60	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	0.5, 1.0, 5.0 µg/mL	非代謝活性化法のみ の試験で陽性、5.0 µg/mLで生育阻害	補足文献22
In vitro	遺伝子突然変異試 験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株 CHO-K1	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	0.65, 1.30, 2.6, 5.2 µg/mL	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献8
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株 CHO-K1	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	1.6, 3.2, 6.4 µg/mL (+S9) 1.25, 2.5, 5.0 µg/mL (-S9)	代謝活性化の有無に かかわらず陽性	補足文献8
マウス	骨髓小核試験	Swiss albino MF1 系	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	63.15, 126.3, 210.5 mg/kg	2回の経口投与で陰 性、骨髓赤血球に対 する細胞毒性	補足文献8
ラット	肝不定期DNA合成 (UDS)試験	Wistar系	1,2ベンズイソチ アゾリン-3-オン	375, 750 mg/kg	単回経口投与で陰性	補足文献8

In vitro/ 生物種	試験の名称	使用種/株/系 の名称	披験物質	用量	試験結果	参照No
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	オルトトルエン スルフォンアミド	(1)270~18,000 µg/plate (Vogel-Bonner E培地) (2)270~18,000 µg/plate (ZLM培地)	(1)代謝活性化の有 無にかかわらず陰性 (2)TA98(+S9)の3,600 µg/plate以上で陽 性、ただし用量依存 性無し	報告書文献 27、 補足文献21
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	オルトトルエン スルフォンアミド	(1)~18,000 µg/plate (Vogel-Bonner E培地) (2) ~1,800 µg/plate (ZLM培地)	(1) (2)共に代謝活性 化の有無にかかわら ず陰性	補足文献 17、21
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	オルトトルエン スルフォンアミド	312.5~5,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献 21、31
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1537, TA1538	オルトトルエン スルフォンアミド	171~1,710 mg/plate (- S9)、0.171~17,100 mg/plate (+S9 induced by Aroclor)、 171~17,100 mg/plate (+S9 induced by phenobarbital)	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献 20、21
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	オルトトルエン スルフォンアミド	100~1,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献 21、32
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1538	オルトトルエン スルフォンアミド	4~2,500 µg/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献 18、21
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98	オルトトルエン スルフォンアミド	400、2,000 µg/plate	代謝活性化法のみ の試験で陰性	補足文献5
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	オルトトルエン スルフォンアミド	20~5,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献46
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株 CHO-K1	オルトトルエン スルフォンアミド	0.9, 14, 200, 400 µg/mL	非代謝活性化法の みの試験で陰性	補足文献 21、23
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株 CHL/IU	オルトトルエン スルフォンアミド	375, 750, 1,500, 3,000 µg/mL	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献 21、33
In vitro	遺伝子突然変異試 験	<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> D4	オルトトルエン スルフォンアミド	~1,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献21
In vitro	遺伝子突然変異試 験	ヒト由来細胞株 Rsa	オルトトルエン スルフォンアミド	900, 1,800 µg/mL	非代謝活性化法の みの試験で陰性	補足文献 19、21
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	Basic系と野生型	オルトトルエン スルフォンアミド	427.5 µg/mL	1回目の交配で増加 傾向があったが、2 回目、3回目の交配 では増加傾向がな く、再現性のないこ とから総合的に陰性	報告書文献 27、 補足文献21
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	Basic系と野生型	オルトトルエン スルフォンアミド	855 µg/mL	3回の交配でいずれ も陰性	報告書文献 26、 補足文献21
マウス	骨髄小核試験	NMRI系	オルトトルエン スルフォンアミド	171, 342, 685, 1,026 mg/kg (腹腔内投与)、1,026 mg/kg (経口投与)	腹腔内投与および経 口投与いずれも陰性	報告書文献 27、 補足文献21
マウス	毛色スポットテスト	C57BL/6JHanと T-stockとの交配	オルトトルエン スルフォンアミド	1,000 mg/kg(経口投与)	1回目の試験で増加 傾向があったが、2 回目と3回目の試験 で増加傾向がなく、 再現性のないことか ら総合的に陰性	報告書文献 29、 補足文献21

In vitro/ 生物種	試験の名称	使用種/株/系 の名称	被験物質	用量	試験結果	参照No
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	パラトルエン スルフォンアミド	(1)270~18,000 µg/plate (Vogel-Bonner E培地) (2)270~18,000 µg/plate (ZLM培地)	(1)代謝活性化の有無にかかわらず陰性 (2)TA98(+S9)の9,600 µg/plate以上で陽性、ただし用量依存性無し	報告書文献 27
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	パラトルエン スルフォンアミド	(1)~18,000 µg/plate (Vogel- Bonner E培地) (2)~18,000 µg/plate (ZLM培 地)	(1)(2)共に代謝活性化の有無にかかわら ず陰性	補足文献17
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	パラトルエン スルフォンアミド	312.5~5,000 µg/plate	代謝活性化の有無にかかわらず陰性	補足文献35
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1530, TA1535, TA1538	パラトルエン スルフォンアミド	0.171~17,000 µg/plate	代謝活性化の有無にかかわらず陰性	補足文献36
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株CHO-K1	パラトルエン スルフォンアミド	14, 200, 400 µg/mL	非代謝活性化法の みの試験で陰性	補足文献23
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株CHL/IU	パラトルエン スルフォンアミド	430, 850, 1,700 µg/mL	代謝活性化の有無にかかわらず陰性	補足文献37
In vitro	遺伝子突然変異試 験	ヒト由来細胞株 Rsa	パラトルエン スルフォンアミド	900, 1,800 µg/mL	非代謝活性化法の みの試験で陰性	補足文献19
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	Basc系と野生型	パラトルエン スルフォンアミド	427.5 µg/mL	1回目の交配で有意 な増加がみられた が、2回目、3回目 の交配では有意な増加 はみられず、再現性 のないことから総合 的に陰性	報告書文献 27
ショウ ジョウバ エ	伴性劣性致死試験	Basc系と野生型	パラトルエン スルフォンアミド	855 µg/mL	3回の交配でいずれ も陰性	報告書文献 26
マウス	骨髄小核試験	NMRI系統	パラトルエン スルフォンアミド	425, 855 mg/kg(腹腔内投 与)、855 mg/kg(経口投与)	腹腔内投与および経 口投与いずれも陰性	報告書文献 27



In vitro/ 生物種	試験の名称	使用種/株/系 の名称	披験物質	用量	試験結果	参照No
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98	N-メチルサッカ リン	400, 2,000 µg/plate	代謝活性化法のみの 試験で陰性	補足文献5
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, TA2637, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> , WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	アントラニル酸 メチル	1~5,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献49
In vitro	DNA修復試験 (Rec-assay)	<i>B. subtilis</i> H17 (rec+), M45 (rec-)	アントラニル酸 メチル	23 µg/disk	陰性	補足文献 24、27
In vitro	DNA修復試験 (Rec-assay)	<i>B. subtilis</i> H17 (rec+), M45 (rec-)	アントラニル酸 メチル	23,000 µg/disk	弱い陽性	補足文献 24、38
In vitro	染色体異常試験	チャイニーズ・ハ ムスター培養細 胞株 B241	アントラニル酸 メチル	0.008 µg/mL	陽性であるが、用量 段階や代謝活性化 等の情報が不明で、 評価不可	補足文献 24、28
In vitro	不定期DNA合成 (UDS)試験	ラット間初代培養 細胞	アントラニル酸 メチル	0.151~151 µg/mL	陰性	補足文献 24、29
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100	5-アミノサッカ リン	1.0~10,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献6
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1538	6-アミノサッカ リン	4~2,500 µg/plate	代謝活性化法のみの 試験で陰性	補足文献18
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100	6-アミノサッカ リン	1.0~10,000 µg/plate	代謝活性化の有無に かかわらず陰性	補足文献6

[ 別添 4 ]

府 食 第 1 0 7 5 号  
平成 1 9 年 1 0 月 3 1 日

厚生労働省医薬食品局  
食品安全部基準審査課長 殿

内閣府食品安全委員会事務局評価課長

食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について

平成 1 8 年 5 月 2 2 日付けで貴省から意見を求められている「食品衛生法（昭和 2 2 年法律第 2 3 3 号）第 1 0 条の規定に基づき、同条の人の健康を損なうおそれのない添加物として新たに定め、同法第 1 1 条第 1 項の規定に基づき、規格基準を設定すること」（厚生労働省発食安第 0522005 号）について、平成 1 9 年 9 月 2 8 日及び 1 0 月 2 6 日開催の食品安全委員会添加物専門調査会（第 4 8 回及び第 4 9 回）における審議の結果、別添のとおり補足資料が必要となりましたので、平成 2 0 年 1 0 月末までに提出をお願いします。

また、平成 2 0 年 1 0 月末までに補足資料が提出できないことが明らかとなった場合は、直ちに当該事項、提出できない理由及び今後の対応方針について提出をお願いします。

(別添)

サッカリンカルシウムの提出依頼補足資料

	補足資料要求	要求の理由
1	サッカリン及びその塩類に含有する代謝物または不純物とされている、オルトスルファモイル安息香酸 ( <i>o</i> -sulfamoylbenzoic acid)、カルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウム (ammonium carboxybenzene sulfonate)、ベンゼンスルホンアミド (benzenesulfonamide)、BIT (1,2-Benzisothiazolin-3-one)、オルトトルエンスルホンアミド ( <i>o</i> -toluene-sulfoamide)、パラトルエンスルホンアミド ( <i>p</i> -toluene-sulfoamide) の毒性に関する情報 (国際機関等の考え方を含む。) を収集・整理し、再度サッカリンカルシウムの安全性について考察すること。	サッカリンカルシウムの安全性評価に必要であるため。
2	サッカリン及びその塩類の安全性の観点から、上記 1 に掲げる物質以外に、代謝物または不純物に関し新たな知見の報告がないか確認した上で、再度サッカリンカルシウムの安全性について考察すること。	”
3	上記 1、2 に関連し、評価に有益な資料があれば、併せて提供すること。	”

[補足文献一覧]

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
1		サッカリン, サッカリンナトリウム	第8版 食品添加物公定書解説書, D660-D670, 2007, 廣川書店
2	European Food Safety Authority (EFSA)	Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the Presence of 1,2-Benzisothiazolin-3-One as an Impurity in Saccharin Used as a Food Additive	The EFSA Journal (2006) 416, Question No. EFSA-Q-2004-133
3	厚生省環境衛生局食品化学課	サッカリン	厚生省食品化学レポートシリーズ No.24, 昭和57年12月
4	Chapman,W.H.	Infection with Trichosomoides Crassicauda as a Factor in the Induction of Bladder Tumors in Rats Fed 2-Acetylaminofluorene	Investigative Urology, Vol.7, No.2, pp.154-159, 1969
5	Riggin,R.M., Margard,W.L., Kinzer,G.W.	Characterization of Impurities in Commercial lots of Sodium Saccharin Produced by the Sherwin-Williams Process. II Mutagenicity	Fd Chem Toxicol, Vol.21, pp.11-17, 1983
6	Radford,T., Cook,J.M., Dalsis,D.E., Wolf,E., Voigt,M.	Characterization of Aminosaccharins in Commercial Sodium Saccharin Produced by the Maumee Process	Fd Chem Toxicol, Vol.23, pp.419-428, 1985
7	Renwick,A.G.	The Disposition of Saccharin in Animals and Man-A Review	Fd Chem Toxicol, Vol.23, pp.429-435, 1985
8	The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP)	Evaluation and Opinion on Benzisothiazolinone	SCCNFP/0811/04, Adopted by the SCCNFP on 1 July 2004
9		o-トルエンスルホンアミドのラットを用いる単回経口投与毒性試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
10		o-トルエンスルホンアミドのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
11		o-トルエンスルホンアミドのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
12		o-トルエンスルホンアミドのラットを用いる経口投与簡易生殖毒性試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
13		4-メチルベンゼンスルホンアミドのラットにおける急性経口投与毒性試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
14		4-メチルベンゼンスルホンアミドのラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS: 国立医薬品食品衛生研究所)
15	Jenner,P.M., Hagan,E.C., Taylor,J.M., Cook,E.L., Fitzhugh,O.G.	Food Flavourings and Compounds of Related Structure. I. Acute Oral Toxicity	Fd Cosmet Toxicol, Vol.2, pp.327-343, 1964
16	Hagan,E.C., Hansen,W.H., Fitzhugh,O.G., Jenner,P.M., Jones,W.I., Taylor,J.M., Long,E.L., Nelson,A.A., Brouwer,J.B.	Food Flavourings and Compounds of Related Structure. II. Subacute and Chronic Toxicity	Fd Cosmet Toxicol, Vol.5, pp.141-157, 1967
17	Herbold,B.A.	Studies to Evaluate Artificial Sweeteners, Especially Remsen-fahlberg Saccharin, and their Possible Impurities, for Potential Mutagenicity by the Salmonella/mammalian Liver Microsome Test	Mutation Research, Vol.90, pp.365-372, 1981
18	Ashby,J., Styles,J.A., Anderson,D., Paton,D.	Saccharin: An Epigenetic Carcinogen/ Mutagen?	Fd Cosmet Toxicol, Vol.16, pp.95-103, 1978
19	Suzuki,H., Suzuki,N.	Mutagenicity of Saccharin in a Human Cell Strain	Mutation Research, Vo.209, pp.13-16, 1988
20	Poncelet,F., Roberfroid,M., Mercier,M., Lederer,J.	Absence of Mutagenic Activity in Salmonella Typhimurium of Some Impurities Found in Saccharin	Fd Chem Toxicol, Vol.17, pp.229-231, 1979
21	OECD	OECD Screening Information Data Set, O-Toluenesulfonamide	UNEP Publications, <a href="http://www.inchem.org/documents/sids/sids/TOLUENESULFO.pdf">http://www.inchem.org/documents/sids/sids/TOLUENESULFO.pdf</a> (Jul-03) 【10.12.03現在】
22	Ozaki,A., Yamaguchi,Y., Fujita,T., Kuroda,K., Endo,G.	Chemical Analysis and Genotoxicological Safety Assessment of Paper and Paperboard Used for Food Packaging	Fd Chem Toxicol, Vol.42, pp.1323-1337, 2004
23	Masubuchi,M., Nawai,S., Hirokado,M., Hiraga,K.	Lack of the Cytogenetic Effects of Saccharin Impurities on CHO-K1 Cells	Mutation Research, Vo.54, pp.242-243, 1978
24	Sixty-fifth Meeting of the JECFA	Safety Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Food Additives Series: 56, pp.201-224, 2006 / IPCS
25	藤田博, 佐々木美枝子	Salmonella typhimurium TA 97, TA 102を用いた食品添加物の変異原性試験(第2報)	東京衛研年報, Vol.38, pp.423-430, 1987

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
26	Mortelmans,K., Haworth,S., Lawlor,T., Speck,W., Tainer,B., Zeiger,E.	Salmonella Mutagenicity Tests: II Results From the Testing of 270 Chemicals	Environ Mutagen, Vol.8, Suppl.7, pp.1-119, 1986
27	小田美光, 浜野米一, 井上清, 山本博之, 新原富夫, 国田信治	着色料の細菌による突然変異誘発性試験(第1報)	大阪府立公衛研所報 食品衛生編, 第9号, pp.177-181, 昭和53年
28	Kasamaki,A., Takahashi,H., Tsumura,N., Niwa,J., Fujita,T., Urasawa,S.	Genotoxicity of Flavoring Agents	Mutation Research, Vol.105, pp.387-392, 1982
29	Yoshimi,N., Sugie,S., Iwata,H., Niwa,K., Mori,H., Hashida,C., Shimizu,H.	The Genotoxicity of a Variety of Aniline Derivatives in a DNA Repair Test with Primary Cultured Rat Hepatocytes	Mutation Research, Vol.206, pp.183-191, 1988
30	International Agency for Research on Cancer (IARC)	Saccharin (Saccharin, Sodium Saccharin, Calcium Saccharin & ortho-Toluenesulphonamide)	IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans Vol.22, pp.111-185, 1980
31		o-トルエンスルホンアミドの細菌を用いる復帰変異試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS:国立医薬品食品衛生研究所)
32	Stolts,D.R., Stavric,B., Klassen,R., Bendall,R.D., Craig,J.	The Mutagenicity of Saccharin Impurities. I. Detection of Mutagenic Activity	J Envir Path Toxicol, Vol.1, pp.139-146, 1977
33		o-トルエンスルホンアミドのチャイニーズ・ハムスターの培養細胞を用いる染色体異常試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS:国立医薬品食品衛生研究所)
34	Arnold,D.L., Moodie,C.A., McGuire,P.F., Collins,B.T., Charbonneau,S.M., Munro,I.C.	The Effect of Ortho Toluenesulfonamide and Sodium Saccharin on the Urinary Tract of Neonatal Rats	Toxic Appl Pharm, Vol.51, pp.455-463, 1979
35		4-メチルベンゼンスルホンアミドの細菌を用いる復帰変異試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS:国立医薬品食品衛生研究所)
36	Poncelet,F., Mercier,M., Lederer,J.	Saccharin: Para Forms of Some Impurities are not Mutagenic in Salmonella Typhimurium	Fd Cosmet Toxicol, Vol.18, pp.453, 1980
37		4-メチルベンゼンスルホンアミドのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験	既存化学物質毒性データベース (NIHS:国立医薬品食品衛生研究所)
38	Yoo,Y.S.	食品に用いられている着色料の変異原性および抗変異原性に関する研究	阪市医誌, Vol34, pp.267-288, 1985
39	Twenty-third Report of the JECFA (1979)	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 648, pp.29, 1980
40	JECFA	Methyl Anthranilate	WHO Food Additives Series 14 (1980) IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v14je14.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v14je14.htm</a> 【10.12.03現在】
41	Sixty-fifth Report of the JECFA (2005)	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 934, pp.54-63, 2006
42	Minegishi,K., Asahina,M., Yamaha,T.	The Metabolism of Saccharin and the Related Compounds in Rats and Guinea Pigs	Chem Pharm Bull, Vol.20, pp.1351-1356, 1972
43	Lethco,E.J., Wallace,W.C.	The Metabolism of Saccharin in Animals	Toxicology, Vol.3, pp.287-300, 1975
44	Nelson,J.J.	Quantitation of o- and p-Sulfamoylbenzoic Acid in Commercial Saccharin by High-Performance Liquid Chromatography	Journal of the AOAC, Vol.59, No.2, pp.243-250, 1976
45	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8回最終報告) 第1章 甘味料 (抜粋)	平成19年度厚生労働科学研究費補助金 pp.165-170, 平成20年3月31日
46	社団法人日本化学物質安全情報センター	労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集 (o-Toluenesulfonamide) (抜粋)	労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集, pp.73, 85, 1996年1月
47	The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA)	Committee for Veterinary Medicinal Products Tosylchloramide Sodium	EMA/MRL/570/99-Final, Feb. 1999
48	Zani,F., Mingiardi,M.R.	Biological Studies on 1,2-Benzisothiazole Derivatives. IV. Relationships Between Chemical Structure and Genotoxicity	Il Farmaco, Vol.46(5), pp.639-646, 1991
49	Shimizu,H., Takemura,N.	Mutagenicity of Some Aniline Derivatives	Proc Int Congr, 11th, pp.497-506, 1983
50	Riggin,R.M., Kinzer,G.W.	Characterization of Impurities in Commercial lots of Sodium Saccharin Produced by the Sherwin-Williams Process. I .Chemistry	Fd Chem Toxicol, Vol.21, pp.1-10, 1983
51	Commission of the European Communities	Commission Directive 2008/60/EC of 17 June 2008 laying down specific purity criteria concerning sweeteners for use in foodstuffs.	Official Journal of the European Union, 18.6.2008: L158/17-40
52	Lederer J and Pottier-Arnould AM	Toxicite du cyclamate de sodium et de la saccharine pour la descendance des souris gestantes.	Le Diabete, 17(2), pp.103-6, 1969
53	Lederer J and Pottier-Arnould AM	Influence de la saccharine sur le developpement de l'embryon chez la rate gestante.	

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
54	Lederer J	La saccharine, ses polluants et leur effet teratogene.	Louvan Med, 96, 495-501, 1977
55	Colson A, Ledrer J and Michiels J	Lesions oculaires provoquées par la saccharine et ses polluants sur les foetus des rats.	J Fr Ophthalmol, 7(5), 399-410, 1984