

(案)

## 添加物評価書

# サッカリンカルシウム

2011年4月

食品安全委員会添加物専門調査会

## 目次

	頁
○審議の経緯.....	4
○食品安全委員会委員名簿.....	4
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	5
要 約.....	6
I. 評価対象品目の概要.....	7
1. 用途.....	7
2. 主成分の名称.....	7
3. 化学式.....	7
4. 式量.....	7
5. 性状等.....	7
6. 評価要請の経緯.....	8
7. 添加物指定の概要.....	9
II. 安全性に係る知見の概要.....	9
1. 体内動態.....	9
(1) サッカリン及びその塩類.....	9
① 吸収.....	10
② 分布.....	11
③ 生体内変換.....	14
④ 排泄.....	16
(2) 不純物.....	17
① OTSA.....	17
② PTSA.....	17
③ MA.....	17
2. その他の生化学的知見.....	18
(1) サッカリン.....	18
(2) サッカリンナトリウム.....	18
3. 毒性.....	18
(1) 遺伝毒性.....	18
① サッカリンカルシウム.....	18
② サッカリン、サッカリンカリウム、サッカリンナトリウム等.....	19
③ 不純物.....	29
③ 遺伝毒性のまとめ.....	40
(2) 急性毒性.....	42
① サッカリン及びその塩類.....	42

② 不純物.....	43
(3) 反復投与毒性及び発がん性.....	43
① サッカリンカルシウム.....	43
② サッカリン及びサッカリンナトリウム.....	46
③ 不純物.....	72
④ 有機酸ナトリウム塩による雄ラット膀胱腫瘍（参考）.....	80
⑤ トリプトファン蓄積～インドール類過剰排泄.....	82
(4) 生殖発生毒性.....	83
① サッカリン及びその塩類.....	83
② 不純物.....	88
(5) アレルゲン性.....	92
(6) ヒトにおける知見.....	92
III. 一日摂取量の推計等.....	92
1. 米国における摂取量.....	92
2. 欧州における摂取量.....	92
3. 我が国における摂取量.....	93
IV. 国際機関等における評価.....	93
1. JECFA における評価.....	93
(1) サッカリン及びその塩類.....	94
(2) 不純物 MA.....	96
2. IARC における評価.....	97
3. 米国における評価.....	97
4. 欧州における評価.....	98
(1) サッカリン及びその塩類.....	98
(2) 不純物 BIT.....	100
5. 我が国における評価.....	100
V. 食品健康影響評価.....	101

別紙 1 : 略称 .....	102
別紙 2 : 各種試験成績等 .....	104
参照 .....	105

1 <審議の経緯>

- 2 2006年 5月22日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価に  
3 ついて要請（厚生労働省発食安第0522005号）、関係書類の  
4 接受  
5 2006年 5月25日 第144回食品安全委員会（要請事項説明）  
6 2007年 8月27日 第47回添加物専門調査会  
7 2007年 9月28日 第48回添加物専門調査会  
8 2007年10月26日 第49回添加物専門調査会  
9 2011年 4月26日 第94回添加物専門調査会

10

11 <食品安全委員会委員名簿>

(2006年6月30日まで)

寺田 雅昭 (委員長)  
寺尾 允男 (委員長代理)  
小泉 直子  
坂本 元子  
中村 靖彦  
本間 清一  
見上 彪

(2006年12月20日まで)

寺田 雅昭 (委員長)  
見上 彪 (委員長代理)  
小泉 直子  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
本間 清一

(2009年6月30日まで)

見上 彪 (委員長)  
小泉 直子 (委員長代理)  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
本間 清一

(2011年1月6日まで)

小泉 直子 (委員長)  
見上 彪 (委員長代理)  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

(2011年1月7日から)

小泉 直子 (委員長)  
熊谷 進 (委員長代理\*)  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\* 2011年1月13日から

12

1

2 <食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2007年9月30日まで)

福島 昭治 (座長)  
山添 康 (座長代理)  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
江馬 眞  
大野 泰雄  
久保田 紀久枝  
中島 恵美  
西川 秋佳  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

(2009年9月30日まで)

福島 昭治 (座長)  
山添 康 (座長代理)  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

(2010年12月20日まで)

今井田 克己 (座長)  
山添 康 (座長代理)  
石塚 真由美  
伊藤 清美  
井上 和秀  
梅村 隆志  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
塚本 徹哉  
頭金 正博  
中江 大  
林 眞  
三森 国敏  
森田 明美  
山田 雅巳

(2010年12月21日から)

今井田 克己 (座長)  
梅村 隆志 (座長代理)  
石塚 真由美  
伊藤 清美  
井上 和秀  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
塚本 徹哉  
頭金 正博  
中江 大  
林 眞  
三森 国敏  
森田 明美  
山添 康  
山田 雅巳

3

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10

## 要 約

甘味料として使用される添加物「サッカリンカルシウム」(CAS 番号 : 6381-91-5 (サッカリンカルシウム 3½水和物として)) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、サッカリンカルシウム等を被験物質とした遺伝毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性等に関するものである。

## 1 I. 評価対象品目の概要

### 1. 用途

甘味料（参照 1、2）

### 2. 主成分の名称

和名：サッカリンカルシウム 3½水和物

英名：Saccharin calcium hemiheptahydrate

CAS 番号：6381-91-5（サッカリンカルシウム 3½水和物として）（参照 2、3）

### 3. 化学式

$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$ （参照 2、3）

### 4. 式量

467.48（参照 2）

### 5. 性状等

評価要請者による添加物「サッカリンカルシウム」の成分規格案では、含量として「本品を乾燥したものは、99.0%以上を含む。」、性状として「白色の粉末又は結晶性粉末である。」とされている。（参照 2）

サッカリンカルシウム、サッカリン及びサッカリンナトリウムの水への溶解度（20℃）は、それぞれ 370 g/L、2 g/L 及び 1,000 g/L とされている（参照 4）。いずれもシヨ糖水溶液の約 300～500 倍の甘味を有するといわれている（参照 5、6、7、8）。

IARC73 及び FAS17 によれば、サッカリン類の製造法としては、(i) トルエン及びクロロスルホン酸を出発物質として、OTSA、OSBA 塩を経る RF 法及び(ii) 無水フタル酸（又はフタル酸）及びアンモニア又は MA を出発物質として、2-カルボメトキシベンゼンジアゾニウム塩、2-カルボメトキシベンゼンスルホンクロリドを経る M 法が最も広く用いられているとされている（参照 4、9）。RF 法又は M 法で製造されたサッカリン及びその塩類の主な不純物としては、OTSA、PTSA、OSBA、PSBA、CBSA 及び CBSA-NH<sub>4</sub>、BIT、NMS、MA、AS 類（表 1）等が報告されている（参照 10）。評価要請者による添加物「サッカリンカルシウム」の成分規格案では、純度試験の一項目として「オルトルエンスルホンアミドとして 25 µg/g 以下」との規定がある（参照 2）。

評価要請者によれば、サッカリンカルシウムは、サッカリンナトリウムと同様に、中性～アルカリ性溶液では安定であるが、酸性溶液では長時間加熱されると分解して OSBA を生じ、甘味を失うとされている。（参照 2）

評価要請者は、サッカリンカルシウムについて、反応性が低いことから炭水化物、たん白質、油脂、ビタミン類、ミネラル類といった食品中の成分への影響はないとしている。（参照 2）

1

表1 サッカリン及びその塩類の不純物

No.	不純物 (CAS 番号)	製造法別検出例		備 考
		RF 法	M 法	
1	OTSA (88-19-7)	有		RF法で製造されたサッカリン類に最大6,000 ppm含有との報告があるとされている。(参照11) 我が国では添加物「サッカリン」及び「サッカリンナトリウム」の成分規格で25 ppm以下と規定。(参照12) JECFA、米国規格では25 ppm以下(トルエンシルホンアミド類として)と規定。(参照3、13) EU規格では乾燥重量ベースで10 ppm以下と規定。(参照5、6)
2	PTSA (70-55-3)	有		RF法で製造されたサッカリン類にOTSAの2~3%相当量含有との報告があるとされている。(参照2) 米国規格では25 ppm以下(トルエンシルホンアミド類として)と規定。(参照13) EU規格では乾燥重量ベースで10 ppm以下と規定。(参照5、6)
3	OSBA (632-24-6)	有	有	Riggin & Kinzer (1983) の報告によれば、RF法で製造されたサッカリン類に最大181 ppm、M法で製造されたサッカリン類に最大41 ppm含有との報告があるとされている。(参照14、15) 製品を加熱した際の分解生成物でもあるとされている。(参照2)
4	PSBA (138-41-0)	有	有	Riggin & Kinzer (1983) の報告によれば、RF法で製造されたサッカリン類に最大1,057 ppm、M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。(参照15) EU規格では乾燥重量ベースで25 ppm以下と規定。(参照5、6)
5	CBSA ( $\sigma$ 体 632-25-7) CBSA-NH <sub>4</sub> ( $\sigma$ 体 6939-89-5)	有	有	Riggin & Kinzer (1983) の報告によれば、RF法で製造されたサッカリン類、M法で製造されたサッカリン類ともに痕跡量検出との報告があるとされている。(参照15)
6	BIT (2634-33-5)		有	Rigginら (1983) の報告における引用によれば、サッカリン類に1~2 ppm含有との報告があるとされている。(参照16) EFSA(2006)による引用によれば、市販サッカリンに最大800 ppm含有との報告があるとされている。(参照17)
7	NMS (15448-99-4)		有	FAS19でも引用されているRigginら (1983) の報告によれば、サッカリン類に0.15 ppm含有していたとされている。(参照16、18)
8	MA (134-20-3)		有	FAS19でも引用されているRigginら (1983) の報告によれば、サッカリン類に0.05 ppm含有していたとされている。(参照16、18)
9	AS類 5-AS (22094-61-7) 6-AS (22094-62-8) 7-AS (89975-86-0)		有	Radfordら (1985) の報告によれば、サッカリンナトリウム中に5-ASが59~92 ppm、6-ASが40~60 ppm含まれていたとされている。7-ASの存在は確認されたが、量が検出下限値に近いため定量できなかったとされている。(参照19)

2

3

## 6. 評価要請の経緯

4

評価要請者によれば、サッカリン及びその塩類(カルシウム塩、ナトリウム塩等)はさまざまな食品の甘味料等として広く欧米諸国等で使用されている添加物であるとされている。(参照2)

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

米国では、添加物「サッカリンカルシウム」は、添加物「サッカリン」、「サッカリンアンモニウム」及び「サッカリンナトリウム」とともに、(i) 清涼飲料等(液体1オンスあたりサッカリンとして12 mg以下)、調理・卓上用砂糖代替品(砂糖相当量スプーン1杯あたりサッカリンとして20 mg以下)及び加工食品(一食分あたりサッカリンとして30 mg以下)への甘味料としての添加又は(ii) ビタミン・ミネラルのチュアブル錠のかさ減少及び風味増強、(iii) チューインガムの風味及び物理学的特性の保持若しくは(iv) フレーバー・チップスの風味増強といった目的での使用が認められている。(参照2、20)

1 EUでは、添加物「サッカリン並びにそのナトリウム、カリウム及びカルシウ  
2 ム塩」(E954)は、清涼飲料(80~100 mg/L以下)、デザート類(100 mg/kg以  
3 下)、菓子類等(80~1,200 mg/L(kg)以下)、ビタミン・ミネラルサプリメント(80  
4 ~3,000 mg/L又はkg以下)といった食品への甘味料としての添加が認められて  
5 いる。(参照2、21)

6  
7 我が国では、添加物「サッカリンカルシウム」は未指定である。類似の添加物  
8 としては、サッカリンナトリウムが1901年に初めて使用(治療上の目的に供す  
9 る飲食物の調味)を許可され、1948年には現行食品衛生法において添加物「サ  
10 ッカリンナトリウム」が指定されており、1961年に添加物「サッカリン」が指  
11 定(チューインガム以外の食品に使用してはならない。)されている。(参照2)

12  
13 厚生労働省は、2002年7月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承  
14 事項に従い、①JECFAで国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性  
15 が確認されており、かつ、②米国及びEU諸国等で使用が広く認められていて国  
16 際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請  
17 を待つことなく、主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般、  
18 厚生労働省において添加物「サッカリンカルシウム」についての評価資料が取り  
19 まとめられたことから、食品安全基本法に基づき、食品安全委員会に対して、食  
20 品健康影響評価の依頼がなされたものである。

## 21 22 7. 添加物指定の概要

23 厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果を受けた後に、添加  
24 物「サッカリンカルシウム」について、添加物「サッカリンナトリウム」と同  
25 様に、「こうじ漬、酢漬及びたくあん漬の漬物」、「粉末清涼飲料」、「かす漬、み  
26 そ漬及びしょう油漬の漬物並びに魚介加工品(魚肉ねり製品、つくだ煮、漬物及  
27 び缶詰又は瓶詰食品を除く。）」、「海藻加工品、しょう油、つくだ煮及び煮豆」、「魚  
28 肉ねり製品、シロップ、酢、清涼飲料水、ソース、乳飲料、乳酸菌飲料及び氷菓」、  
29 「アイスクリーム類、あん類、ジャム、漬物(かす漬、こうじ漬、しょう油漬、  
30 酢漬、たくあん漬又はみそ漬を除く。）」、「はっ酵乳(乳酸菌飲料の原料に供する  
31 はっ酵乳を除く。）」、「フラワーペースト類及びみそ」、「菓子」、「魚介加工品の缶  
32 詰又は瓶詰」等への使用に関する基準を定め、JECFA等を参考に成分規格を定  
33 めた上で新たに添加物として指定しようとするものであるとしている。(参照  
34 1、2)

## 35 36 37 II. 安全性に係る知見の概要

### 38 1. 体内動態

#### 39 (1) サッカリン及びその塩類

40 サッカリンカルシウムを被験物質とした体内動態に関する試験成績を入手  
41 することはできなかった。しかしながら、弱酸と強塩基との塩であるサッカリ  
42 ンカルシウムは添加物としての使用時においてはその他のサッカリンの塩類  
43 と同様に強酸である胃液と反応して容易にサッカリンを生成すると推定され  
44 ることから、本評価対象品目の使用における体内動態については、サッカリン  
45 及びその塩類に係る体内動態に関する試験成績を用いて検討を行うこととし

た。

## ① 吸収

### a. 消化管内 pH と吸収部位

FAS17 及び FAS32 によれば、サッカリンは、その pKa が 2.2 であることから、酸性条件下ではほとんど解離しない（生体内に吸収されやすい化学形）が、生体内の生理学的な pH 条件下においてはほぼ完全に解離するとされている。サッカリンは胃で吸収される。胃内 pH の低い動物種（モルモット（1.4）、ウサギ（1.9））では胃内 pH が高い動物種（ラット（4.2））よりも胃でよく吸収される。また、サッカリンは、胃よりも高い pH 条件下にある腸管ではゆるやかに吸収される（参照 9、22）。なお、ヒト胃液の pH は約 1.0～2.5 であるとされている（参照 23）。

### b. 血中濃度からの考察

FAS32 における引用によれば、Sweatman & Renwick（1980）及び Sweatman（1981）は、ヒト及びラットにおいて、静脈内投与したサッカリンは血漿中から速やかに消失したが、単回経口投与したサッカリンは血漿中で速やかに最高濃度に達するものの血漿中からゆっくりと消失したとし、この経口投与後の血漿からの消失の延長は、腸管での緩やかな吸収によるものであるとしている。（参照 22）

IARC73 における引用によれば、Colburn ら（1981）は、ヒト女性 6 例にサッカリン（化学形不詳）を平均 100～300 mg/人/日反復経口摂取させたところ、血漿中サッカリン濃度は摂取 0.5～1 時間後に最高に達し、血漿中からの消失半減期は 7.5 時間であったとしている。また、Pantarotto ら（1981）は、ヒト男性（各群 5 例）にサッカリンナトリウム（0.8、2.5、5.5 mg/kg 体重）を単回経口摂取させたところ、血漿中サッカリンナトリウム濃度は摂取 30～60 分後に最高に達したとしている。（参照 4）

### c. 糞便中排泄量からの考察

FAS32 では、サッカリン類を静脈内投与したときの糞便中への排泄量は極微量であることから、サッカリン類を経口投与したときの糞便中排泄量は、サッカリン類の未吸収量の指標として用いられている。FAS32 では、Sweatman ら（1981）はヒトにサッカリン（2,000 mg/人）を単回経口摂取させたときの糞便中排泄量が投与量の 1～8%であったとしている一方、Renwick（1985）はラットにサッカリンを経口投与したときの糞便中排泄量が投与量の 3～39%であったとしていることから、ラットの胃腸でのサッカリン吸収の程度は変動しやすいとされている。（参照 22）

### d. 尿中排泄量からの考察

FAS32 では、サッカリン類は生体内に吸収されると生体内変化をほとんど受けずに主として尿中に排泄されることから、サッカリン類を経口投与したときの尿中排泄量は、サッカリン類の生体内吸収量の指標として用いられている。（参照 22）

1 IARC73 における引用によれば、Sweatman & Renwick (1979) は、  
2 Arnold ら (1980) のラットを用いた二世代にわたる試験と同様の試験条  
3 件下において、雄ラットにサッカリン (5% ; 約 2,500 mg/kg 体重/日相当)  
4 を胎児の段階から混餌投与し、その体重が 290 g に達した時点で<sup>[3H]</sup>サッ  
5 カリンナトリウム (5%) を 24 時間混餌投与する試験を実施している。そ  
6 の結果、投与後 48 時間以内にほとんどの放射能は未変化体 (サッカリン)  
7 として排泄 (13~14%が糞便中、残りが尿中) されている。(参照 4)  
8

9 IARC73 及び FAS32 における引用によれば、Sweatman ら (1981) は、  
10 ヒトにサッカリンナトリウム 2 g を単回経口摂取させたときのサッカリン  
11 の消化管吸収率を尿中排泄量及び血漿中濃度-時間曲線下面積に基づき  
12 85%と算出している。また、Roberts & Renwick (1985) は、ヒトにサッ  
13 カリンナトリウム (1 g/人/日) を 4 週間反復経口摂取させたところ、投与  
14 量の約 80%が尿中から回収されたとしている (参照 2 2)。IARC73 にお  
15 ける引用によれば、Ball ら (1977) は、ヒト女性 1 例及び男性 2 例に<sup>[3-<sup>14</sup>C]</sup>  
16 サッカリンを単回経口摂取させたところ、非標識サッカリン (1 g/人/日)  
17 の 21 日間反復経口摂取をその前又は後に行わせた場合のいずれにおいて  
18 も、<sup>[3-<sup>14</sup>C]</sup>サッカリン摂取後 24 時間尿中に、摂取した放射能の 85~92%  
19 がサッカリン (未変化体) として排泄されたとしている (参照 4)。  
20

#### 21 e. 食餌

22 FAS32 における引用によれば、Anderson ら (1987) 及び Fisher ら  
23 (1989) は、雄 F344 ラットにサッカリンカルシウム又はサッカリンナト  
24 リウム (5、7.5% ; 2,500、3,750 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を Prolab 3200 を用い  
25 て混餌投与したところ、尿中及び糞便中にそれぞれほぼ同量のサッカリン  
26 が排泄されたとしている。一方、同用量のサッカリンナトリウムを  
27 AIN-76A (配合飼料) を用いて混餌投与したところ、サッカリンの尿中排  
28 泄量は糞便中排泄量の 10~20 倍となり、吸収がよくなったとしている (参  
29 照 2 2)。これにより、サッカリンの消化管での吸収は食餌により影響を  
30 受けるものと考えられる。  
31

#### 32 ② 分布

33 FAS32 によれば、雄ラット成獣に、サッカリン (1~10% ; 500~5,000  
34 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を混餌投与して定常状態に至ったときのサッカリンの組  
35 織・器官分布は、単回投与後の組織・器官分布と一貫性がみられたことから、  
36 サッカリンに組織・器官での蓄積性の証拠はないとされている。(参照 2 2)  
37

#### 38 a. 器官内及び組織内濃度

<sup>1</sup>JECFA で用いられている換算値 (IPCS: EHC70) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	150
ラット (若)	0.10	10	100
ラット (老)	0.40	20	50
イヌ	10.0	250	25

1 FAS32 によれば、ラット成獣にサッカリンを単回経口投与すると、サ  
2 ッカリンはほとんどの組織・器官に分布するが、特に排泄器官（腎臓及び  
3 膀胱）、次いで血漿中に高濃度の分布が認められるとされている。（参照  
4 2 2）

5  
6 IARC73、FAS17 及び FAS32 でも引用されている Lethco & Wallace  
7 (1975) の報告によれば、体重約 400 g の Osborne-Mendel ラット（各  
8 タイムインターバル雄 1 匹）に[3-<sup>14</sup>C]サッカリン（50 mg/kg 体重）を単  
9 回強制経口投与（胃内挿管）し、投与 1、2、4、8、24、48 又は 72 時間  
10 後にと殺する試験が実施されている。その結果、投与 1 時間後には各組  
11 織・器官のほとんどすべてにおいて放射能が検出され、中でも肝臓、腎臓  
12 及び膀胱に比較的高い分布がみられたとされている。肝臓及び腎臓におい  
13 ては投与 8 時間後に投与量の 1.3%及び 2.0%、膀胱においては投与 4 時間  
14 後に投与量の 0.3%の放射能が認められたとされている。また、投与群の  
15 膀胱を生理食塩水 5.0 mL で 8 回繰り返し洗浄しても、放射能の膀胱組織  
16 への保持がみられたとされている。（参照 4、9、2 2、2 4）

17  
18 IARC73 及び FAS19 でも引用されている Sweatman & Renwick (1982)  
19 の報告によれば、雌雄ラット成獣にサッカリンナトリウム（0、5% ; 0、  
20 2,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>）を 4 週間混餌投与した後に交配して児動物を得て、  
21 母動物にはさらに哺育期後期まで投与を継続し、児動物には離乳後に親動  
22 物と同様の投与を行う試験が実施されている。その結果、妊娠 17、19 及  
23 び 20 日の胎児の膀胱壁中のサッカリンナトリウム濃度は、肝臓及び腎臓  
24 中の濃度よりも高く、また、母動物の膀胱壁中の濃度よりも約 2 倍高かつ  
25 たとされている。胎児の膀胱壁中サッカリンナトリウム濃度については、  
26 妊娠期間による差は認められなかったが、雌よりも雄での高値傾向が認め  
27 られたとされている。児動物の肝臓、腎臓及び尿中のサッカリンナトリウ  
28 ム濃度については、離乳前よりも離乳後に増加がみられたとされている。  
29 児動物の膀胱壁中の濃度については、離乳前後での差は認められなかった  
30 ほか、雌よりも雄での高値傾向が認められたが、個体間のバラツキが大き  
31 かったことから、この雄での高値傾向は、膀胱腫瘍発生増加の性差を説明  
32 するには不十分な知見であるとされた。また、妊娠 17~20 日の胎児の膀  
33 胱壁中のサッカリンナトリウム濃度は、新生児のそれよりも低かったとさ  
34 れている。以上より、妊娠期や授乳期に母動物を通してサッカリンナトリ  
35 ムに暴露された雄ラットにおいて、膀胱腫瘍発生増加の性差及び世代間  
36 の差を説明しうるような膀胱壁中のサッカリンナトリウムの過剰蓄積の  
37 証拠は得られなかったと結論されている。（参照 1 8、2 5）

38  
39 **b. 胎盤、胎児、乳汁への移行性**  
40 **(a) ヒト**

41 FAS32 でも引用されている Cohen-Addad ら (1986) の報告によれ  
42 ば、妊娠最終月にサッカリン（25~100 mg/人/日）を摂取していたと推  
43 定された妊娠女性 6 例（うち 5 例は糖尿病患者）について、出産後 2 時  
44 間以内の母体血血清及び臍帯血血清中のサッカリン濃度を測定する試  
45 験が実施されている。その結果、3 例の臍帯血血清中サッカリン濃度は

1           ごく低濃度 (50 ng/mL 未満)、他の 3 例の臍帯血血清中サッカリン濃度  
2           は 110~160 ng/mL であり、後者のうち 2 例の臍帯血血清中サッカリン  
3           濃度は、母体血血清中濃度よりも高かったとされている。(参照 2 2、  
4           2 6)

5  
6           **(b) ラット等**

7           FAS17 及び FAS32 における引用によれば、Ball ら (1977) は、ラッ  
8           トにおいてサッカリンが胎盤を通過したと報告している。(参照 9、2  
9           2)

10  
11           IARC73 における引用によれば、Pitkin ら (1971) は、妊娠後期の  
12           アカゲザル 5 匹に<sup>[14C]</sup>サッカリンを 4 µg/kg 体重/分の速度で 60 分間か  
13           けて点滴静注したところ、放射能は胎盤を速やかに通過して胎児の中樞  
14           神経系を除く全組織・器官に分布したとしている。母体内での放射能の  
15           消失は胎児体内での消失よりも速やかであり、点滴静注終了 2 時間後  
16           において胎児血中の放射能濃度は母体血中濃度よりも高かったとして  
17           いる。(参照 4)

18  
19           IARC73 における引用によれば、West (1979) は、妊娠 SD ラット  
20           にサッカリン (5% ; 2,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を妊娠 14 日以降混餌投与  
21           し、さらに妊娠 19 日に<sup>[35S]</sup>サッカリン 100 µCi (266 mCi/mmol ; 68.7  
22           µg 相当) をサッカリン 100 mg とともに単回強制経口投与 (胃内挿管)  
23           する試験を実施している。その結果、<sup>[35S]</sup>サッカリン投与 5 時間後まで  
24           に、母体血中では投与量の 0.03~0.04%相当の<sup>[35S]</sup>サッカリンが認めら  
25           れたのに対し、胎児血中では 0.008%相当の<sup>[35S]</sup>サッカリンが認められ  
26           たとしている。また、FAS17 における引用によれば、West (1979) は、  
27           ラットの乳汁中からサッカリンを検出したと報告している。(参照 4、  
28           9)

29  
30           IARC73 及び FAS19 でも引用されている Sweatman & Renwick  
31           (1982) の報告によれば、妊娠 19 日の SD ラット (雌 19 匹) に<sup>[3H]</sup>  
32           サッカリンナトリウム二水和物 (50 mg/kg 体重) を単回経口投与し、  
33           投与 48 時間後まで母動物及び胎児の肝臓、腎臓及び膀胱壁並びに母動  
34           物の血漿及び羊水におけるサッカリン濃度の推移を調べる試験が実施  
35           されている。その結果、特に膀胱壁中のサッカリン濃度の減少が母動物  
36           に比べ胎児で遅延したが、胎児膀胱中濃度は母体と同じ程度かわずかに  
37           上回る程度であったとされている。胎児の各臓器のサッカリン暴露にお  
38           いて性差は認められなかったとされている。(参照 4、1 8、2 5)

39  
40           **c. 血漿中のたん白との結合、血球への分配**

41           FAS17 でも引用されている Renwick (1985) のレビューによれば、  
42           Agren & Bock (1973) は、サッカリンは血漿たん白と可逆的に結合し、  
43           その結合率はラットで 3%、24~35%、69~86%、ヒトで 70~80%である  
44           とする報告があるとしている。(参照 2 2、2 7)

### ③ 生体内変換

FAS32でも引用されているRenwick (1985)のレビューによれば、ヒト及び多くの実験動物での試験成績を総合し、サッカリンは生体内変換を受けないとされている。(参照22、27)

#### a. ヒト

FAS17における引用によれば、Byardら(1974)は、男性4例に[phe-<sup>14</sup>C]サッカリン(500 mg/人)を単回経口摂取させたところ、摂取後48時間排泄物中から摂取放射能の98%以上(尿中92.3%及び糞中5.8%)が回収されたとしている。また、摂取後48~72時間排泄物中からは摂取放射能の0.3%が回収されたが、当該放射能はサッカリン代謝物に係るものではなかったことから、ヒトは他の動物種と同様にサッカリンを代謝しないと結論している。(参照9)

#### b. ラット

FAS17でも引用されているMinegishiら(1972)の報告によれば、体重約300 gのWistarラット(雄4匹<sup>2)</sup>)に[<sup>35</sup>S]サッカリン(300 mg/kg体重)を単回強制経口投与(胃内挿管)する試験が実施されている。その結果、投与後96時間尿中の放射能は投与量の66.9~74.1%であり、当該放射能のすべてが未変化体に係るものであったとされている。(参照9、28)

IARC73及びFAS17における引用によれば、Byard & Golberg (1973)は、フェノバルビタール前処置によって肝臓の薬物代謝酵素の誘導を試みたラットに[phe-<sup>14</sup>C]サッカリンナトリウムを単回経口投与したところ、その代謝に影響はみられなかったとしている(参照4、9)。また、FAS32における引用によれば、Hasegawaら(1984)は、雄ラットにサッカリンナトリウム5%混餌を14日間投与しても、その肝臓でのチトクロムP-450の誘導は認められなかったとしている。(参照22)

FAS32における引用によれば、Lutz & Schlatter (1977)は、放射能標識したサッカリンが*in vivo*でラットの肝臓又は膀胱のDNAと結合しなかったことから、生体内でサッカリンは親電子化合物に変換されないとされている。(参照22)

#### c. モルモット

FAS17でも引用されているMinegishiら(1972)の報告によれば、体重約350 gのモルモット(雄3匹)に[<sup>35</sup>S]サッカリン(150 mg/kg体重)を単回強制経口投与(胃内挿管)する試験が実施されている。その結果、投与後96時間尿中の放射能は投与量の95.3~99.9%であり、当該放射能のすべてが未変化体に係るものであったとされている。(参照9、28)

#### d. サル

<sup>2</sup> うち2匹については、非標識サッカリンを投与前4~6週間飲水投与したとされている。

1 IARC73における引用によれば、Pitkinら(1971)は、アカゲザルに  
2 投与されたサッカリンが尿中に未変化体のまま速やかに排泄されたとし  
3 ている。(参照4)

4  
5 IARC73における引用によれば、Byard & Golberg(1973)は、フェノ  
6 バルビタール前処置によって肝臓の薬物代謝酵素の誘導を試みたサルに  
7  $[^{14}\text{C}]$ サッカリンナトリウムを単回経口投与したところ、その代謝に影響は  
8 みられなかったとしている(参照4)。

#### 9 10 e. OSBA等への代謝の可能性

11 FAS17における引用によれば、Kennedyら(1972)は、サッカリン  
12 を投与したラット尿中からCBSA-NH<sub>4</sub>を検出したと報告している。(参  
13 照9)

14  
15 IARC73及びFAS17でも引用されているLethco & Wallace(1975)  
16 の報告によれば、約3か月齢のSDラット又はサッカリンナトリウム(0.01、  
17 0.1、1.0% ; 5、50、500 mg/kg 体重/日)を1年間混餌投与したSDラッ  
18 ト(各群雌雄各4匹)に $[3-^{14}\text{C}]$ サッカリンナトリウム(5、50、500 mg/kg  
19 体重)を単回経口投与する試験が実施されている。その結果、1年間混餌  
20 投与のないラットでは $[3-^{14}\text{C}]$ サッカリンナトリウム投与後7日間の尿中  
21 放射能及び糞便中放射能は投与量の約55~87%及び約11~40%であり、1  
22 年間混餌投与のあったラットではそれらが約68~85%及び約10~18%で  
23 あったとされている。1年間混餌投与のあったラットの $[3-^{14}\text{C}]$ サッカリン  
24 ナトリウム投与後7日間尿中放射能の99%超がサッカリンに係るもので  
25 あり、ごく微量がOSBA及び炭酸イオンに係るものであるとされている。  
26 Lethco & Wallaceは、 $[3-^{14}\text{C}]$ サッカリンナトリウム投与後7日間尿中に、  
27 脱炭酸により $[3-^{14}\text{C}]$ が外れた物質が存在(同定は行っていない。)し、そ  
28 れはおそらくベンゼンスルホンアミドであると推定している。なお、IARC  
29 ワーキンググループは、このOSBA及びベンゼンスルホンアミドについ  
30 て、当該試験の被験物質のバッチに既に不純物として含まれていた可能性  
31 を排除することができないとしている。また、別途雄のSDラット、ゴー  
32 ルデンハムスター、Hartleyモルモット、NZWウサギ又はビーグル犬に  
33  $[3-^{14}\text{C}]$ サッカリン(5、50、500 mg/kg 体重)を単回強制経口投与(胃内  
34 挿管)する試験が実施されている。その結果、投与後2日間尿中の総放  
35 射能に対するOSBAに係る放射能の比は、SDラットで0.43~1.78%、  
36 ゴールデンハムスターで0.08~0.82%、Hartleyモルモットで0.25~  
37 0.69%、NZWウサギで0.18~0.49%、ビーグル犬で0.15~0.73%であっ  
38 たとされている。この結果から、Lethco & Wallaceは、動物種及び用量  
39 にかかわらず尿中から実質的に同レベルで検出されたOSBAについて、  
40 生体内で、酵素分解というよりはむしろ化学的分解によりサッカリンか  
41 ら生成したものであることが示唆されたとしている。(参照4、9、2  
42 4)

43  
44 Renwickのレビュー(1985)では、サッカリン類を経口投与したとき  
45 のその代謝物については、生成していたとしても微量であり、サッカリ

1                   ン類の毒性又は作用機序において意義のあるものではないと考えられて  
2                   いる。（参照 2 7）  
3

#### 4           ④ 排泄

5           FAS32 では、ヒト及びラットへのサッカリン類の経口投与及び非経口投  
6           与のいずれにおいても、サッカリン類の主要な消失経路は尿中排泄であり、  
7           この尿中排泄は主に腎尿細管分泌により行われるとされている。（参照 2 2）  
8

9           FAS17 における引用によれば、Byard & Golberg (1973) は、SD ラット  
10           (雄 4 匹、雌 2 匹) に[phe-<sup>14</sup>C]サッカリン (40 mg/kg 体重) を単回経口投  
11           与したところ、投与後 96 時間尿中、投与後 48 時間糞便中及び投与後 4~8  
12           時間胆汁中からそれぞれ投与量の 90%以上、3~4%及び 0.3%以下の放射能  
13           が検出されたとし、いずれも未変化体に係るものと同定している。（参照 9）  
14

15           FAS32 における引用によれば、Sweatman & Renwick (1980) は、血漿  
16           たん白結合率が高いサッカリンの排泄において糸球体ろ過は重要な排泄機  
17           構ではなく、ヒト及びラットともにサッカリンとプロベネシド（陰イオン腎  
18           尿細管分泌阻害剤）を併用するとサッカリンの血漿クリアランスが低下する  
19           ことから、腎尿細管分泌がサッカリンの主たる排泄機構であるとしている。  
20           ラットでは、サッカリンの腎尿細管分泌は血漿中サッカリン濃度 200 µg/mL  
21           超で飽和するとしている。Sweatman ら (1981) は、ラットにサッカリン  
22           (5% ; 2,500 mg/kg 体重/日) を混餌投与すると、その腎クリアランスは低  
23           下し、サッカリンが血漿中及び組織・器官中に蓄積するとしている（参照 2  
24           2）。Renwick (1985) のレビューにおける引用によれば、Renwick &  
25           Sweatman (1979) は、ラット膀胱でのサッカリンの再吸収はあってもその  
26           速度は非常に遅いとしている。（参照 2 7）  
27

28           IARC73 における引用によれば、Bourgoignie ら (1980) は、SD ラット  
29           成獣にサッカリンナトリウムを点滴静注し、その排泄をみる試験を実施して  
30           いる。その結果、サッカリンナトリウムの腎臓排泄はその血漿中濃度にかか  
31           わらずイヌリンの腎臓排泄を上回り、サッカリンナトリウムの腎尿細管分泌  
32           はその血漿中濃度が 140~200 µg/mL のときに最大となったが、サッカリン  
33           ナトリウムの腎尿細管再吸収の証拠は認められなかったとしている。また、  
34           サッカリンナトリウムを *p*-アミノ馬尿酸ナトリウムと同時に点滴静注する  
35           とサッカリンナトリウムの腎クリアランスが阻害されたことから、  
36           Bourgoignie らは、サッカリン類の腎尿細管排泄が有機酸陰イオン輸送シス  
37           テムによる担体輸送によっていると推察している。サッカリン類の腎尿細管  
38           分泌パターン及び尿中サッカリン類濃度に性差は認められなかったとして  
39           いる。（参照 4）  
40

41           FAS32 における引用によれば、Sweatman ら (1981) は、ヒトにサッカ  
42           リン (2,000 mg/人) を単回経口摂取させても腎クリアランスの低下は認め  
43           られなかったとしている（参照 2 2）が、Renwick (1985) のレビューによ  
44           れば、この Sweatman らの試験では血漿中サッカリン濃度が最高で約 60  
45           µg/mL と、ラットの腎尿細管分泌飽和レベルに達していないことから、当該

1 試験結果はサッカリンの腎尿細管再分泌に種差があるという根拠にはなら  
2 ないとしている。(参照 27)

## 4 (2) 不純物

### 5 ① OTSA

6 IARC73 及び SIAR における引用によれば、Renwick ら (1978) は、雌  
7 Wistar ラットに[methyl-<sup>14</sup>C]OTSA (0、20、125、200 mg/kg 体重) を単回  
8 強制経口投与 (胃内挿管) する試験を実施している。その結果、投与後 7 日  
9 間に投与量の 94%の放射能が排泄され、うち 5~7%が糞便中に、用量にか  
10 かわらず 78%が尿中に排泄されたとしている。他方、24 時間尿中への放射  
11 能排泄量は、20、125 及び 200 mg/kg 体重投与群でそれぞれ投与量の 79%、  
12 58%及び 36%であったことから、OTSA の尿中排泄速度はその用量に応じて  
13 遅くなるとしている。

14 別途ヒト男女各 1 例に[methyl-<sup>14</sup>C]OTSA (0.2 mg/kg 体重) を単回経口  
15 摂取させたところ、摂取後 1、2 及び 4 日間尿・糞便中への放射能排泄量は、  
16 投与量の 56%、86%及びほぼ 100%であったとしている。

17 更に、ヒトに 0.4 mg/kg 体重、雌 Wistar ラットに 200 mg/kg 体重の同位  
18 体標識 OTSA を単回強制経口摂取 (胃内挿管) させたところ、それぞれの  
19 尿中に排泄された主な代謝物は、2-スルファモイルベンジルアルコール及び  
20 その硫酸抱合体又はグルクロン酸抱合体 (ヒト 35%、ラット 80%) 及びサ  
21 ッカリン (ヒト 35%、ラット 3%) のほか、OSBA (ヒト 4%、ラット 2%)、  
22 *N*-アセチルトルエンスルホンアミド (ヒト 2%、ラット 6%) 及び OTSA (未  
23 変化体) (ヒト 3%、ラット 5%) であったとしている。(参照 4、29)

24  
25 IARC73 及び SIAR でも引用されている Minegishi ら (1972) の報告によ  
26 れば、体重約 300 g の雄 Wistar ラットに[<sup>35</sup>S]OTSA (300 mg/kg 体重) を  
27 単回経口投与する試験が実施されている。その結果、投与後 24 及び 96 時間  
28 尿中に排泄された放射能は、投与量の 62.9~66.7%及び 83.4~85.8%であり、  
29 投与後 96 時間糞便中に排泄された放射能は投与量の 7.4~12.2%であったと  
30 されている。なお、尿中に排泄された放射能の約 50%は OSBA に係るもの  
31 であったとされている。(参照 28、29)

### 32 33 ② PTSA

34 Minegishi ら (1972) の報告によれば、体重約 300 g の雄 Wistar ラット  
35 に[<sup>35</sup>S]PTSA (300 mg/kg 体重) を単回経口投与する試験が実施されている。  
36 その結果、投与後 24 及び 96 時間尿中に排泄された放射能は、投与量の 54.0  
37 ~71.6%及び 68.4~84.5%であり、投与後 96 時間糞便中に排泄された放射  
38 能は投与量の 2.6~8.2%であったとされている。なお、尿中に排泄された放  
39 射能の約 50%は PSBA に係るものであったとされている。(参照 28)

### 40 41 ③ MA

42 FAS14 によれば、MA はラットの肝臓及び腸粘膜並びにブタの肝臓のホモ  
43 ジネートによりメタノールとアントラニル酸に加水分解されるとの報告が  
44 あるとされている。FAS14 によれば、メタノールはよく知られた経路によ  
45 り二酸化炭素及び水に代謝され、アントラニル酸はヒトで通常みられる代謝

1 物であって、グルクロン酸抱合体又は  $\sigma$ アミノ馬尿酸として尿中に排泄され  
2 る。(参照 3 0)

## 3 2. その他の生化学的知見

### 3 3 (1) サッカリン

3 4 FAS32 における引用によれば、Lok ら (1982) は、サッカリンが *in vitro*  
3 5 でウレアーゼ及びプロテアーゼの活性を阻害したとし、Renwick (1989) は、  
3 6 サッカリンが炭水化物の消化を阻害して糞便中に多糖類の排泄がみられたほ  
3 7 か、サッカリンが *in vitro* でアミラーゼ、スクラーゼ (インベルターゼ) 及び  
3 8 イソマルターゼの活性を阻害したとしている。(参照 2 2)

3 9 IARC73 における引用によれば、Negro ら (1994) は、70 歳の女性 1 例に、  
3 10 サッカリンが唯一の共通成分である医薬品 3 剤を経口投与したところ、AST、  
3 11 ALT、 $\gamma$ -GTP 及びアルカリホスファターゼの活性が増加し、別途サッカリンの  
3 12 みを投与しても同様の変化が再現されている。(参照 4)

### 3 13 (2) サッカリンナトリウム

3 14 FAS32 における引用によれば、Heaton & Renwick (1991) は、ラットを用  
3 15 いた一世代及び二世代にわたる試験においてサッカリンナトリウム 7.5%  
3 16 (3,750 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>)を混餌投与したところ、肝臓中のチトクロム P-450、  
3 17 チトクロム b5 及びチトクロム P-450 還元酵素の濃度、アシル炭化水素ヒドロ  
3 18 キシラーゼ活性並びにグルタチオン量に影響を及ぼさなかったが、ジメチルニ  
3 19 トロソアミン-N-デメチラーゼ活性については性別や週齢にかかわらず増加し  
3 20 たと報告している。(参照 2 2)

## 3 21 3. 毒性

3 22 上述のとおり、サッカリンカルシウムは、添加物としての使用時においてはそ  
3 23 の他のサッカリンの塩類と同様に胃内においてサッカリンを生成すると推定さ  
3 24 れる。したがって、本評価対象品目の毒性については、サッカリンカルシウムを  
3 25 被験物質とした試験成績のほか、サッカリン又はサッカリンカルシウム以外のサ  
3 26 ッカリンの塩類を被験物質とした試験成績も用いて総合的に検討を行うことと  
3 27 した。

### 3 28 (1) 遺伝毒性

3 29 サッカリンは、酸であり、生体内の生理学的な pH 条件下においては陰イオ  
3 30 ンとして存在していることから、一般的に発がん物質にみられるような求電子  
3 31 反応を起こしやすい性質をもたないとされている。Renwick (1985) の報告に  
3 32 よれば、[5-<sup>3</sup>H]サッカリンをリン酸緩衝液と精製 DNA リン酸緩衝溶液との平  
3 33 衡透析に供したところ、精製 DNA リン酸緩衝溶液での濃度が低かったことか  
3 34 ら、サッカリンイオンそのものの DNA 親和性は無視しうるとされている (参  
3 35 照 2 7)。

#### 3 36 ① サッカリンカルシウム

3 37 サッカリンカルシウムを被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績とし  
3 38 て以下のような報告がある。  
3 39  
3 40  
3 41  
3 42  
3 43  
3 44  
3 45

1  
2 Ashby & Ishidate (1986) 並びに林及び松岡 (1998) の報告によれば、  
3 サッカリンカルシウム (純度 99%超) についての CHL/IU を用いた染色体  
4 異常試験 (代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間連続処理) (観察  
5 対象とした最高濃度: 24 時間連続処理 16.0 mg/mL、48 時間連続処理 12.0  
6 mg/mL<sup>3)</sup> が実施されている。その結果、24 時間連続処理では 12.0 mg/mL  
7 以上、48 時間連続処理では 8.0 mg/mL 以上の濃度で陽性 (構造異常) であ  
8 ったとされている。サッカリンのカルシウム塩のほか、ナトリウム塩及びカ  
9 リウム塩の等張水溶液はいずれも染色体異常を誘発したこと、いずれの塩も  
10 4 mg/mL 未満 (イオン濃度として塩化ナトリウム 1 mg/mL 未満に相当) の  
11 濃度では染色体異常を誘発せず、塩化ナトリウム 1.5~3 mg/mL 相当濃度で  
12 はいずれも染色体異常を誘発したこと、サッカリンでは陰性であったこと等  
13 から、Ashby & Ishidate は、高濃度のみでの陽性という結果は、細胞内イ  
14 オン不均衡によるものではないかと推定している。(参照 3 1、3 2)

## 15 16 ② サッカリン、サッカリンカリウム、サッカリンナトリウム等

17 サッカリン、サッカリンカリウム、サッカリンナトリウム又はサッカリン  
18 マグネシウムを被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績として以下のよ  
19 うな報告がある。

### 20 21 a. DNA 損傷を指標とする試験

#### 22 (a) UDS 試験

23 (サッカリンナトリウム)

24 IARC22 における引用によれば、Ochi & Tonomura (1978) は、サ  
25 ッカリンナトリウムについてのヒト線維芽細胞を用いた UDS 試験を実  
26 施しており、用量に関連した UDS の増加がみられたとしている (参照  
27 3 3) が、抄録からの引用であり、その詳細は明らかにされていない。

28  
29 IARC73 における引用によれば、Jeffrey & Williams (1999) は、  
30 サッカリンナトリウムについての F344 ラット及び SD ラットの初代培  
31 養肝細胞を用いた UDS 試験 (最高濃度 10.25 mg/mL) を実施してお  
32 り、いずれも代謝活性化系非存在下で陰性であったとしている。(参照  
33 4)

#### 34 35 (b) コメット試験

36 (サッカリン、サッカリンナトリウム)

37 Sasaki ら (2002) の報告によれば、8 週齢の ddy マウス (各群雄 4  
38 匹) にサッカリン又はサッカリンナトリウム (0、100、1,000、2,000  
39 mg/kg 体重) を単回経口投与し、投与 3 時間後又は 24 時間後にと殺し  
40 て、その腺胃、結腸、肝臓、腎臓、膀胱、肺、脳及び骨髄を用いたコメ  
41 ット試験が実施されている。その結果、無処置対照群と比較して、1,000  
42 mg/kg 体重以上のサッカリン投与群の結腸並びにサッカリンナトリウ  
43 ム投与群の腺胃及び結腸で DNA 移動距離の有意な増加が認められたと

<sup>3</sup> 48 時間連続処理の 16.0 mg/mL では細胞毒性が認められたされている。

1 されている。それ以外の組織・器官で DNA 移動距離の増加は認められ  
2 ていない。(参照 3 4)

3  
4 Bandyopadhyay ら (2008) の報告によれば、8~10 週齢の Swiss マ  
5 ウス (各群雄 4 匹) にサッカリン (0、50、100、200 mg/kg 体重) を  
6 単回強制経口投与 (胃内挿管) し、投与 18 時間後にと殺して、その大  
7 腿骨から採取した骨髓細胞を用いたコメット試験が実施されている。そ  
8 の結果、50 mg/kg 体重以上の投与群で tail DNA (%) 及び tail extent  
9 ( $\mu\text{M}$ ) の有意な増加が認められたとされている。(参照 3 5)

#### 10 (c) *in vitro* SCE 試験

11 (サッカリン)

12 IARC73 における引用によれば、Saxholm ら (1979) は、サッカリ  
13 ンについてのヒト初代培養リンパ球を用いた SCE 試験 (最高濃度 0.1  
14 mg/mL) を実施しており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であっ  
15 たとしている。また、Brøgger ら (1979) は、同様の試験 (最高濃度  
16 0.5 mg/mL) を実施し、代謝活性化系非存在下で陰性であったとしてい  
17 る。(参照 4)

18  
19 (サッカリンナトリウム)

20 Abe & Sasaki (1977) の報告によれば、サッカリンナトリウムにつ  
21 いての Don を用いた SCE 試験 (最高濃度 50 mM) が実施されており、  
22 対照群の約 2 倍の SCE 誘発が認められたとされている。(参照 3 6)

23  
24 Wolff & Rodin (1978) の報告によれば、M 法で製造されたサッカリ  
25 ンナトリウム又はそれを高度に精製したもの (不純物を 1~5 ppm 含有)  
26 についての CHO を用いた SCE 試験 (観察対象とした最高濃度 1.0%<sup>(4)</sup>)  
27 が実施されており、いずれの被験物質群においても SCE 誘発の増加が  
28 認められたとされている。また、同じ被験物質についてのヒト血液由来  
29 初代培養リンパ球を用いた SCE 試験 (観察対象とした最高濃度 0.5%<sup>(5)</sup>)  
30 が実施されており、いずれの被験物質群においても SCE 誘発の増加が  
31 濃度依存的に認められたとされている。(参照 3 7)

32  
33 IARC73 における引用によれば、Brøgger ら (1979) は、サッカリン  
34 ナトリウムについてのヒト初代培養リンパ球を用いた SCE 試験 (最高  
35 濃度 0.5 mg/mL) を実施しており、代謝活性化系非存在下で陰性であっ  
36 たとしている。(参照 4)

37  
38 Ray-Chaudhuri ら (1982) の報告によれば、サッカリンナトリウム  
39 についての V79 を用いた SCE 試験 (最高濃度 1 mg/mL) が実施されて  
40 おり、0.1 mg/mL 群で SCE 誘発の増加が認められたが、最高濃度 1  
41 mg/mL 群 (細胞毒性はみられていない。) では SCE 誘発の増加は認め  
42 られなかったとされている。(参照 3 8)

4 M 法製造品 1.5~5.0%、精製品 1.2~5.0%については細胞増殖抑制が認められたため観察対象とされていない。

5 M 法製造品 0.6~1.5%、精製品 0.6~0.9%については細胞増殖抑制が認められたため観察対象とされていない。

1  
2 (d) *in vivo* SCE 試験

3 (サッカリンナトリウム)

4 Renner (1979) の報告によれば、10~11 週齢のチャイニーズ・ハム  
5 スター (各群 5 匹 (性別匹数不詳)) に精製サッカリンナトリウム (0、  
6 1,000、5,000、7,500、10,000 mg/kg 体重) を単回強制経口投与 (胃内  
7 挿管) し、骨髓細胞中の SCE 誘発性をみる試験が実施されている。そ  
8 の結果、7,500 mg/kg 体重以上の投与群で陰性対照群の 1.5 倍以上の  
9 SCE 誘発が認められたとされている。(参照 39)

10  
11 IARC73 における引用によれば、Dropkin ら (1985) は、妊娠 10 日  
12 の ICR マウスにサッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重) を単回腹腔  
13 内投与し、子宮内暴露した胚細胞での SCE 誘発性をみる試験を実施し  
14 ており、陰性であったとしている。(参照 4)

15  
16 (e) DNA 損傷を指標とするその他の試験

17 (サッカリン)

18 IARC73 における引用によれば、Sina ら (1983) は、サッカリンに  
19 ついてのラット初代肝培養細胞株を用いた DNA 一本鎖切断試験 (最高  
20 濃度 0.549 mg/mL) を実施しており、代謝活性化系非存在下で弱い陽性  
21 であったとしている。(参照 4)

22  
23 (サッカリンナトリウム)

24 IARC73 における引用によれば、Lutz & Schlatter (1977) は、SD  
25 ラット 2 匹に<sup>[35S]</sup>サッカリンナトリウム (推定) (372、390 mg/kg 体  
26 重) を単回強制経口投与 (胃内挿管) し、投与 50 時間後にと殺してそ  
27 の肝臓及び膀胱の DNA との結合性をみる試験を実施しており、陰性で  
28 あったとしている。(参照 4)

29  
30 b. 遺伝子突然変異を指標とする試験

31 (a) 微生物を用いる復帰突然変異試験

32 (サッカリン)

33 Ashby ら (1978) の報告によれば、サッカリン (不純物として OSBA  
34 を含有) についての細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、  
35 TA1535 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2.5  
36 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとさ  
37 れている。(参照 40)

38  
39 IARC73 における引用によれば、Rao ら (1979) は、サッカリンにつ  
40 いての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び  
41 TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 5 mg/plate) を実施し  
42 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している。(参  
43 照 4)

44  
45 Herbold (1981) の報告によれば、RF 法で製造されたサッカリンに

1 ついての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537)  
2 を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 12.5 mg/plate) が実施されてお  
3 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、  
4 当該サッカリンを水溶液中で 2 時間還流した後に乾燥したものについ  
5 ての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を  
6 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、  
7 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。(参照  
8 4 1)

9  
10 Ishidate ら (1984) 並びに能美及び松井 (1991) の報告によれば、  
11 サッカリン (純度 100.0%) についての細菌 (*S. typhimurium* TA92、  
12 TA94、TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異  
13 試験 (最高用量 10.0 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有  
14 無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 4 2、4 3)

15  
16 Mortelmans ら (1986) の報告によれば、サッカリンについての細菌  
17 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復  
18 帰突然変異試験 (最高用量 10 mg/plate) が実施されており、代謝活性  
19 化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 4 4)

20  
21 (サッカリンナトリウム)

22 Stoltz ら (1977) の報告によれば、M 法で製造されたサッカリンナ  
23 トリウム (Arnold ら (1980) のラットを用いた二世代にわたる試験に  
24 用いられたものと同じロット品) についての細菌 (*S. typhimurium*  
25 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最  
26 高用量 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  
27 ず陰性であったとされている。(参照 4 5)

28  
29 IARC73 における引用によれば、Batzinger ら (1977) は、サッカリ  
30 ンナトリウム 4 検体 (最高用量 2,500 mg/kg 体重) を単回経口投与した  
31 マウスの尿についての細菌 (*S. typhimurium* (株不詳)) を用いた復帰  
32 突然変異試験を実施しており、いずれも代謝活性化系非存在下で陽性で  
33 あったとしている。また、別途同様の投与を行ったマウスの腹腔内を経  
34 由した細菌 (*S. typhimurium* TA98 及び TA100) を用いた復帰突然変  
35 異試験を実施しており、3 検体は代謝活性化系非存在下で陽性であった  
36 が、高度に精製された 1 検体は陰性であったとしている。(参照 4)

37  
38 Ashby ら (1978) の報告によれば、サッカリンナトリウムについて  
39 の細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1538) を用  
40 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  
41 謝活性化系存在下で陰性であったとされている。(参照 4 0)

42  
43 IARC73 における引用によれば、Pool (1978) は、サッカリンナトリ  
44 ウムについての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び  
45 TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 1 mg/plate) を実施し

1 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している。(参  
2 照 4)

3  
4 IARC73 における引用によれば、Connor ら (1979) は、サッカリン  
5 ナトリウム (最高用量 100 mg/kg 体重) を単回静脈内投与したラットの  
6 胆汁についての細菌 (*S. typhimurium* (株不詳)) を用いた復帰突然変  
7 異試験を実施しており、代謝活性化系非存在下で陰性であったとしてい  
8 る。(参照 4)

9  
10 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、RF 法で製造されたサッカリ  
11 ンナトリウム (OTSA を 27 ppm 含有) についての細菌 (*S. typhimurium*  
12 TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538) を用いた復帰突然変  
13 異試験 (最高用量 40 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有  
14 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  
15 地に代えても、代謝活性化系存在下のすべての菌株で陰性であったとさ  
16 れている。(参照 4 6)

17  
18 IARC73 における引用によれば、de Flora (1981) は、サッカリンナ  
19 トリウムについての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、  
20 TA1537 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 10.25  
21 mg/plate) を実施しており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であ  
22 ったとしている。(参照 4)

23  
24 IARC73 における引用によれば、Imamura ら (1983) は、サッカリ  
25 ンナトリウムについての細菌 (*S. typhimurium* TA100) を用いた復帰  
26 突然変異試験 (最高用量 10 mg/plate) を実施しており、代謝活性化系  
27 存在下で陰性であったとしている。(参照 4)

28  
29 Ishidate ら (1984) の報告によれば、サッカリンナトリウムについて  
30 の細菌 (*S. typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535 及び  
31 TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 10.0 mg/plate) が実施  
32 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  
33 る。(参照 4 2)

34  
35 Bandyopadhyay ら (2008) の報告によれば、サッカリンナトリウム  
36 についての細菌 (*S. typhimurium* TA97a 及び TA100) を用いた復帰突  
37 然変異試験 (最高用量 10 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系  
38 の有無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 3 5)

39  
40 (b) ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験  
41 (サッカリン)

42 Kramers (1977) の報告によれば、M 法で製造された別ロットのサ  
43 ッカリン「P&B」及びサッカリン「S1022」についてのショウジョウバ  
44 エ (*Drosophila melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) を用いた  
45 伴性劣性致死試験 (「P&B」腹部注入 0、5、25 mM、3 日間混餌投与 0、

1 5、25 mM、「S1022」腹部注入 0、5 mM) が実施されており、「P&B」  
2 で弱い陽性、「S1022」で陰性であったとされている。Kramers は、別  
3 途 OTSA 及び PTSA について実施した試験結果と、「S1022」は「P&B」  
4 よりも新しかったことを踏まえ、「P&B」に認められた弱い陽性は OTSA  
5 及び PTSA 以外の不安定な不純物によるものと推定している。(参照  
6 4 7)

7  
8 (サッカリンナトリウム)

9 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、ショウジョウバエ (*D.*  
10 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) に RF 法で製造されたサッ  
11 カリンナトリウム (OTSA を 27 ppm 含有) (0、400 mM) を 3 日間飲  
12 水投与する伴性劣性致死試験が実施されており、劣性致死発生率の増加  
13 は認められなかったとされている。(参照 4 6)

14  
15 (c) マウスリンフォーマ TK 試験

16 (サッカリンナトリウム)

17 IARC73 における引用によれば、Clive ら (1979) は、非精製サッカ  
18 リンナトリウム及び精製サッカリンナトリウムについての L5178Y $tk^{+}$   
19  $-3.7.2c$  を用いたマウスリンフォーマ TK 試験 (最高濃度: 非精製サッ  
20 カリンナトリウム 19.0 mg/mL、精製サッカリンナトリウム 12.5  
21 mg/mL) を実施しており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であっ  
22 たとしている。(参照 4)

23  
24 (d) *in vivo* トランスジェニック動物突然変異試験

25 (サッカリンナトリウム)

26 Turner ら (2001) の報告によれば、12 週齢の Big Blue™ ラット (各  
27 群雄 10 匹) にサッカリンナトリウム (0、5%) を 10 日間混餌投与し、  
28 14 日目にと殺してその肝臓及び膀胱の DNA を採取し、*lacI* の変異頻度  
29 をみる *in vivo* トランスジェニック動物突然変異試験が実施されている。  
30 その結果、被験物質の投与に関連した *lacI* 変異頻度の増加は肝臓及び膀  
31 胱のいずれにおいても認められなかったとされている。なお、本試験に  
32 においては、陽性対照として用いた 4-アミノビフェニルの投与によって肝  
33 臓及び膀胱のいずれにおいても *lacI* 変異頻度が有意に増加したことが  
34 確認されている。(参照 4 8)

35  
36 (e) その他の遺伝子突然変異試験

37 (サッカリンナトリウム)

38 SIAR でも引用されている Fahrig (1982) の報告によれば、  
39 C57/BL6JHan×T 交雑種妊娠マウス (対照群 39 匹、投与群 84~99 匹)  
40 に RF 法で製造されたサッカリンナトリウム (OTSA を 27 ppm 含有)  
41 (0、1,000 mg/kg 体重) を妊娠 10 日に単回腹腔内投与し、得られた児  
42 動物の色素細胞の劣勢ホモ遺伝子の形質 (茶色又は灰色がかかったスポッ  
43 ト) 又は色素細胞死 (白色又は灰白色のスポット) の出現頻度をみるマ  
44 ウススポットテストが実施されている。その結果、3 回繰り返し行われ  
45 た試験で投与群全体でのスポットの出現頻度は 1/701 匹で、対照群での

1 スポットの出現頻度 (0/182 匹) との間には有意差は認められなかったこと  
2 から陰性であったとされている。(参照 29、49)

3  
4 Suzuki & Suzuki (1988) の報告によれば、サッカリンナトリウムに  
5 ついての R<sub>Sa</sub> を用いた Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 遺伝子座突然変異によるウアバ  
6 イン耐性獲得を指標とする遺伝子突然変異試験が、細胞生存率が 50%を  
7 下回る濃度 (22.5 mg/mL) まで実施されており、突然変異頻度の増加  
8 が認められたとされている。(参照 50)

### 9 10 c. 染色体異常を指標とする試験

#### 11 (a) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

12 (サッカリン)

13 Ishidate ら (1984)、Ashby & Ishidate (1986) 並びに林及び松岡  
14 (1998) の報告によれば、サッカリンについての CHL/IU を用いた染  
15 色体異常試験(代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間連続処理)  
16 (最高濃度 6.0 mg/mL (析出が認められなかったのは 2.0 mg/mL まで)  
17 <sup>6)</sup> が実施されており、陰性であったとされている。(参照 31、32、  
18 42)

19  
20 (サッカリンカリウム)

21 Ashby & Ishidate (1986) 並びに林及び松岡 (1998) の報告によれ  
22 ば、サッカリンカリウムについての CHL/IU を用いた染色体異常試験  
23 (代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間連続処理) (観察対象  
24 とした最高濃度 8.0 mg/mL<sup>7)</sup> が実施されており、最高濃度 8.0 mg/mL  
25 のみで陽性 (構造異常) であったとされている。(参照 31、32)

26  
27 (サッカリンナトリウム)

28 Kristoffersson (1972) の報告によれば、サッカリンナトリウムにつ  
29 いての Cl-1-15 を用いた染色体異常試験 (最高濃度 1 mg/mL) が実施さ  
30 れている。その結果、構造異常誘発の有意な増加が認められ、濃度依存  
31 性が示唆されている。(参照 51)

32  
33 Chang & Stacey (1974) の報告によれば、サッカリンナトリウムに  
34 ついてのヒト末梢血由来初代培養リンパ球を用いた染色体異常試験 (観  
35 察対象とされた最高濃度 2.0 mg/mL) が実施されており、観察対象とし  
36 た最高濃度 (2.0 mg/mL) 群 (細胞にゆがみが生じ、分裂指数はほぼ 0  
37 にまで低下していた。) においてのみ染色体切断の有意な増加が認めら  
38 れたとされている。(参照 52)

39  
40 Abe & Sasaki (1977) の報告によれば、サッカリンナトリウムにつ  
41 いての Don を用いた染色体異常試験 (最高濃度 50 mM) が実施されて  
42 おり、試験結果にバラツキがみられたが、少なくとも最高濃度群では、  
43 分裂指数が 50%を下回っていたものの染色体異常の誘発が認められた

<sup>6</sup> 水に溶けにくいため DMSO を溶媒に用いたが、4.0 mg/mL 以上で析出が認められたとされている。

<sup>7</sup> 12.0 mg/mL では細胞毒性が認められたとされている。

1 とされている。(参照 3 6)

2  
3 Masubuchi ら (1978) の報告によれば、サッカリンナトリウム (純  
4 度 99.93% ; OTSA を 45 ppm 含有) についての CHO-K1 を用いた染色  
5 体異常試験 (20 mg/mL) が実施されており、代謝活性化系非存在下で  
6 染色体異常 (構造異常) の誘発が認められたとされている。(参照 5 3)

7  
8 Ishidate ら (1984) 並びに Ashby & Ishidate (1986) の報告によれ  
9 ば、サッカリンナトリウムについての CHL/IU を用いた染色体異常試験  
10 (代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間連続処理) (観察対象  
11 とした最高濃度 12.0 mg/mL<sup>8)</sup> が実施されており、24 時間連続処理で  
12 は 8.0 mg/mL 以上、48 時間連続処理では 4.0 mg/mL 以上の濃度で陽性  
13 (構造異常) であったとされている。(参照 3 1、4 2)

14  
15 (サッカリンマグネシウム)

16 Ashby & Ishidate (1986) 並びに林及び松岡 (1998) の報告によれ  
17 ば、サッカリンのカルシウム塩、ナトリウム塩及びカリウム塩がいずれ  
18 も染色体異常を誘発したのは、これらの金属イオンが DNA のマグネシ  
19 ウム結合部位においてマグネシウムイオンと競合するためであるとの  
20 仮説を検証するために、サッカリンマグネシウムについての CHL/IU を  
21 用いた染色体異常試験 (代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間  
22 連続処理) (最高濃度 12.0 mg/mL) が実施されており、8.0 mg/mL 以  
23 上の濃度で陽性 (構造異常) であったとされている。Ashby & Ishidate  
24 は、サッカリンのマグネシウム塩が他の塩と実質的に同等の染色体異常  
25 誘発性を示したことから、サッカリン類の染色体異常誘発性が上記仮説  
26 によるものである可能性は弱まったとしている。(参照 3 1、3 2)

27  
28 (b) *in vivo* 染色体異常試験

29 (サッカリン)

30 Durnev ら (1995) の報告によれば、サッカリン (5、50 mg/kg 体重  
31 /日) を C57BL/6 マウスに 5 日間経口投与する *in vivo* 染色体異常試験  
32 が実施されており、染色体異常の誘発は認められなかったとしている。  
33 (参照 5 4)

34  
35 (サッカリンナトリウム)

36 Srám & Zudová (1974) の報告によれば、ICR マウス (各群雄 10  
37 匹) にサッカリンナトリウム (0、200 mg/kg 体重) を 12 時間おきに 5  
38 回腹腔内投与する試験が実施されており、ディアキネシス期の精母細胞  
39 における転座、XY 染色体の分離及び一価染色体が、対照群の 0.7% にみ  
40 られたのに対し、投与群の 6.1% にみられたとされているが、有意な増  
41 加であったのか否かについては明らかにされていない。(参照 5 5)

42  
43 IARC73 における引用によれば、van Went-de Vries & Kragten

---

<sup>8</sup> 16.0 mg/mL では細胞毒性が認められたとされている。

1 (1975) はチャイニーズ・ハムスターにサッカリンナトリウム (1,500  
2 mg/kg 体重/日) を 3 日間経口投与する *in vivo* 骨髄染色体異常試験を実  
3 施しており、陰性であったとしている。(参照 4)

4  
5 IARC73 における引用によれば、Machemer & Lorke (1975) は、サ  
6 ッカリンナトリウム (5,000 mg/kg 体重) を 2 回経口投与したチャイニ  
7 ーズ・ハムスターの精母細胞を用いた *in vivo* 精母細胞染色体異常試験  
8 を実施しており、陰性であったとしている。(参照 4)

9  
10 Léonard & Léonard (1979) の報告によれば、12 週齢の C57BL マ  
11 ウス (各群雄 5 匹) にサッカリンナトリウム (0、1,000、2,000、4,000  
12 mg/kg 体重) を単回腹腔内投与し投与 48 時間後にと殺する試験並びに  
13 サッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重) を単回腹腔内投与し投与 1、  
14 2、4 及び 10 日後にと殺する試験が実施されている。その結果、いずれ  
15 の投与群の骨髄においても染色体異常の誘発は認められず、陰性であっ  
16 たとされている。また、12 週齢の C57BL マウス (各群雄 10~20 匹)  
17 にサッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重) を単回腹腔内投与し投与  
18 3 か月後にと殺する試験及びサッカリン (20 g/L) を約 3 か月間飲水投  
19 与 (自由摂取) しと殺する試験が実施されている。その結果、いずれの  
20 第一分裂期の精母細胞においても相互転座は認められず、陰性であった  
21 とされている。(参照 5 6)

22  
23 IARC73 における引用によれば、Pecevski ら (1983) は、サッカリ  
24 ンナトリウム (500 mg/kg 体重) を 10 回反復経口投与した C3H×101  
25 マウスの精母細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験を実施しており、陰  
26 性であったとしている。(参照 4)

27  
28 IARC73 における引用によれば、Dropkin ら (1985) は、妊娠 10 日  
29 の ICR マウスにサッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重) を単回腹腔  
30 内投与し、子宮内暴露した胚細胞を用いて染色体異常試験を実施してお  
31 り、陰性であったとしている。(参照 4)

32  
33 IARC73 における引用によれば、Prasad & Rai (1987) はサッカリ  
34 ンナトリウム (1,000 mg/kg 体重/日) を 24 週間混餌投与した ICR マウ  
35 スの骨髄細胞又は精母細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験を実施して  
36 おり、いずれにおいても陽性であったとしている。(参照 4)

### 37 38 (c) げっ歯類を用いる小核試験

39 (サッカリンナトリウム)

40 Léonard & Léonard (1979) の報告によれば、12 週齢の C57BL マ  
41 ウス (各群雄 10 匹) にサッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重) を  
42 単回腹腔内投与し投与 6 時間後又は 48 時間後にと殺する試験並びにサ  
43 ッカリン (20 g/L) を約 3 か月間飲水投与 (自由摂取) した後にと殺す  
44 る試験が実施されている。その結果、いずれの対照群及び投与群におい  
45 ても小核多染性赤血球の割合は 4%未満であり、陰性の結果であったと

1 されている。(参照 5 6)

2  
3 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、NMRI マウス (各群雌雄各 4  
4 匹) に RF 法で製造されたサッカリンナトリウム (OTSA を 27 ppm 含  
5 有) を 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  
6 髄小核試験 (経口 0、1,025 mg/kg 体重/日、腹腔内 0、205、410、1,025  
7 mg/kg 体重/日) が実施されており、いずれにおいても小核多染性赤血  
8 球の割合の有意な増加は認められなかったとされている。(参照 4 6)

9  
10 (d) げっ歯類を用いる優性致死試験

11 (サッカリン)

12 Machemer & Lorke (1973) の報告によれば、体重 25~30 g の NMRI  
13 マウス (各群雄 20 匹) について、サッカリン (0、5,000 mg/kg 体重/  
14 日) を 5 日間飲水投与し、投与最終日から雌 BOM マウス (合計 24 匹)  
15 と毎週雌雄 3 : 1 で 8 週間 (精子形成の全ステージを包含) かけて交配  
16 し、妊娠した雌 BOM マウスを妊娠 14 日に帝王切開する優性致死試験  
17 が実施されている。その結果、着床後胚死亡率については、被験物質の  
18 投与による影響は認められなかったとされている。着床前損失率につ  
19 いては、交配 1~8 週のいずれの群ともに正常の範囲内であり、交配 3 週  
20 の対照群と投与群との間のみ統計学的有意差がみられたものの生物  
21 学的意義のない変化であるとされている。以上より Machemer & Lorke  
22 は、本試験においてサッカリンの投与に関連した優性致死の誘発は認め  
23 られなかったとしている。(参照 5 7)

24  
25 Mahon & Dawson (1982) の報告によれば、HT マウス (各群雌 9~  
26 24 匹) について、雄 T マウスと交配し、サッカリン (0、75、750、1,500、  
27 3,000、5,000、7,500 mg/kg 体重/日) を妊娠 8、9 又は 10 日に単回強  
28 制経口投与 (胃内挿管) し、得られた児動物の表皮の有色スポット出現  
29 の有無を生後 28 日に観察する試験が実施されている。その結果、有色  
30 スポットの出現率は対照群で 0.9% に対し投与群全体で 3.6% と有意な高  
31 値がみられたが、被験物質の用量との関連性は認められず、投与日の違  
32 いによる差も認められなかったとされている。(参照 5 8)

33  
34 (サッカリンナトリウム)

35 Rao & Qureshi (1972) の報告によれば、10~12 週齢の雄 CBA マウ  
36 スにサッカリンナトリウム (1.72%) を 30 日間飲水投与し、その後 10  
37 ~12 週齢の雌 101 マウスと毎週雌雄 3 : 1 で 4 週間かけて交配し、妊娠  
38 した雌 101 マウスを帝王切開する優性致死試験が実施されている。その  
39 結果、交配 1~4 週のいずれの群においても、投与群の優性致死率は対  
40 照群よりも有意に高かったとされている。(参照 5 9)

41  
42 Machemer & Lorke (1975) の報告によれば、発情前期にあることを  
43 確認した雌マウスにサッカリンナトリウム (0、10,000 mg/kg 体重) を  
44 単回強制経口投与し、投与 4 時間後に無処置雄マウスと雌雄 2 : 1 で交  
45 配し、翌朝膣栓が確認されてから 14 日目に帝王切開する試験が実施さ

1 れている。その結果、サッカリンナトリウムの投与に関連した優性致死  
2 の誘発は認められなかったとされている。(参照 6 0)

3  
4 IARC73 における引用によれば、Lorke & Machemer (1975) は、マ  
5 ウスにサッカリンナトリウム (2,000 mg/kg 体重/日) を 10 週間混餌投  
6 与する優性致死試験を実施しており、陰性であったとしている。(参照  
7 4)

### 9 ③ 不純物

10 サッカリン及びその塩類の不純物 (表 1 (8 頁) 参照) を被験物質とした  
11 遺伝毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

#### 12 a. OTSA

##### 13 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

##### 14 (微生物を用いる復帰突然変異試験)

15 SIAR でも引用されている Stoltz ら (1977) の報告によれば、OTSA  
16 (純度 99.9%超) についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、  
17 TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 1  
18 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  
19 あったとされている。(参照 2 9、4 5)

20  
21  
22 SIAR でも引用されている Ashby ら (1978) の報告によれば、OTSA  
23 についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1538)  
24 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、  
25 代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。(参照 2 9、4 0)

26  
27 Poncelet ら (1979) の報告によれば、OTSA についての細菌 (*S.*  
28 *typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535、TA1537 及び TA1538)  
29 を用いた復帰突然変異試験 (最高濃度：代謝活性化系 (Arochlor 1254  
30 又はフェノバルビタール投与ラット由来) 存在下 1,000 mM、代謝活性  
31 化系非存在下 100 mM) が実施されており、代謝活性化系の有無にかか  
32 わらず陰性であったとされている。(参照 6 1)

33  
34 SIAR でも引用されている Eckhardt ら (1980) の報告によれば、OTSA  
35 (PTSA を 1%未満含有) についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、  
36 TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最  
37 高用量 18 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわ  
38 らず陰性であったとされている。一方、TA98 について、VB 培地を他  
39 の最少培地 (ZLM 培地：VB 培地よりもグルコース、クエン酸及び無機  
40 イオンの割合が少ない。) に代えたところ、代謝活性化系非存在下では  
41 陰性であったが、代謝活性化系存在下では 3.6 mg/plate 以上の投与群で  
42 陰性対照群の 2~3 倍の復帰突然変異誘発<sup>9)</sup>が再現性をもって認められ  
43 たとされている。(参照 2 9、4 6)

<sup>9</sup> 代謝活性化系の調製時に NADPH 添加を省略すると、この復帰突然変異誘発作用は消失したとされている。

1  
2 SIAR でも引用されている Herbold (1981) の報告によれば、OTSA  
3 についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537)  
4 を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 18 mg/plate) が実施されており、  
5 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、別  
6 途 OTSA についての細菌 (*S. typhimurium* TA98) を用いた復帰突然  
7 変異試験 (最高用量 18 mg/plate) が 2 種類の VB 培地 (うち一方は  
8 Eckhardt ら (1980) が用いたものと同一バッチ) 及び ZLM 培地を用  
9 いて実施されており、代謝活性化系 (Eckhardt ら (1980) と同一条件)  
10 存在下で陰性であったとされている。Herbold は、本試験において  
11 Eckhardt ら (1980) の試験結果を再現することはできなかったとして  
12 いる。さらに、サッカリン抽出濃縮物<sup>10)</sup> (OTSA を 24~337 ppm 含有)  
13 についての細菌 (*S. typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験 (最  
14 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  
15 らず陰性であったとされている。(参照 29、41)

16  
17 Riggin ら (1983) の報告によれば、OTSA についての細菌 (*S.*  
18 *typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2 mg/plate)  
19 が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。  
20 (参照 16)

21  
22 JETOC (1996) の報告によれば、OTSA についての細菌 (*S.*  
23 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 並びに  
24 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 5  
25 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  
26 あったとされている。(参照 62)

27  
28 SIAR でも引用されている厚生省 (当時) の平成 9 年度既存化学物質  
29 安全性点検結果によれば、OTSA についての細菌 (*S. typhimurium*  
30 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 並びに *E. coli* WP2 *uvrA*) を用  
31 いた復帰突然変異試験 (最高用量 5 mg/plate) が実施されており、代謝  
32 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。(参照 29、  
33 63)

#### 34 (ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験)

35  
36 Kramers (1977) の報告によれば、ショウジョウバエ (*D.melanogaster*  
37 Basc 系雌及びその野生型雄) に OTSA (5 mM) を 3 日間混餌投与又は  
38 腹部注入する伴性劣性致死試験が実施されており、陰性であったとされ  
39 ている。(参照 47)

40  
41 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、ショウジョウバエ (*D.*  
42 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) に OTSA (PTSA を 1%未  
43 満含有) (0、2.5 mM) を 3 日間飲水投与する伴性劣性致死試験が実施

---

<sup>10)</sup> サッカリン水溶液に塩酸を加えて pH を 5.3~5.5 としてジクロロメタン抽出を行い、水洗した後にジクロロメタン相を濃縮したものであるとされている。

1 されており、1 回目の交配で伴性劣性致死発生率の有意な増加がみられ  
2 たとされている（参照 4 6）。しかしながら、2 回目及び 3 回目の交配  
3 では有意な増加はみられていない。

#### 4 5 (その他の遺伝子突然変異試験)

6 SIAR における引用によれば、Litton Bionetics Inc. (1978) は、OTSA  
7 についての酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* D4) を用いた遺伝子突然  
8 変異試験（最高用量 1 mg/plate）を実施しており、代謝活性化系の有無  
9 にかかわらず陰性であったとしている。（参照 2 9）

10  
11 SIAR でも引用されている Fahrig (1982) の報告によれば、  
12 C57/BL6JHan×T 交雑種妊娠マウス（対照群 39 匹、投与群 80～83 匹）  
13 に OTSA (0、1,000 mg/kg 体重) を妊娠 10 日に単回経口投与し、得ら  
14 れた児動物の色素細胞の劣勢ホモ遺伝子の形質（茶色又は灰色がかった  
15 スポット）又は色素細胞死（白色又は灰白色のスポット）の出現頻度を  
16 みるマウススポットテストが実施されている。対照群でのスポットの出  
17 現頻度は 0/182 匹であったのに対し、投与群でのスポットの出現頻度は  
18 3 回繰り返された試験でそれぞれ 1/183 匹、4/285 匹及び 1/171 匹と、1  
19 回のみ有意な増加がみられたとされている。Fahrig は、このことをも  
20 って OTSA の変異原性の有無について明確な分類を行うことは不可能  
21 であるとしている。（参照 2 9、4 9）

22  
23 SIAR でも引用されている Suzuki & Suzuki (1988) の報告によれば、  
24 OTSA についての RSa を用いた Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 遺伝子座突然変異によ  
25 るウアバイン耐性獲得を指標とする遺伝子突然変異試験（最高濃度 1.8  
26 mg/mL）が実施されており、遺伝子突然変異の誘発は認められなかつた  
27 とされている。（参照 2 9、5 0）

#### 28 29 (b) 染色体異常を指標とする試験

##### 30 (ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)

31 SIAR でも引用されている Masubuchi ら (1978) の報告によれば、  
32 OTSA についての CHO-K1 を用いた染色体異常試験（最高濃度 0.4  
33 mg/mL）が実施されており、代謝活性化系非存在下で陰性であったとさ  
34 れている。（参照 2 9、5 3）

35  
36 SIAR でも引用されている厚生省（当時）の平成 9 年度既存化学物質  
37 安全性点検結果によれば、OTSA についての CHL/IU を用いた染色体異  
38 常試験（観察対象とした最高濃度：短時間処理 3 mg/mL、24 時間及び  
39 48 時間連続処理 1.5 mg/mL<sup>11)</sup>）が実施されており、代謝活性化系の有  
40 無にかかわらず陰性であったとされている。（参照 2 9、6 4）

##### 41 42 (げっ歯類を用いる小核試験)

43 SIAR でも引用されている Eckhardt ら (1980) の報告によれば、

<sup>11</sup> 24 時間連続処理及び 48 時間連続処理ともに 2.25 mg/mL 以上の濃度群は細胞毒性が認められたため観察対象とされていない。

1 NMRI マウス（各群雌雄各 4 匹）に OTSA（PTSA を 1%未満含有）を  
2 懸濁液として 2 日間強制経口投与（胃内挿管）又は腹腔内投与する *in*  
3 *vivo* 骨髄小核試験（経口 0、1,026 mg/kg 体重/日、腹腔内 0、171、342、  
4 685、1,026 mg/kg 体重/日）が実施されており、いずれにおいても小核  
5 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ている。  
6 （参照 29、46）  
7

## 8 b. PTSA

### 9 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

#### 10 (微生物を用いる復帰突然変異試験)

11 Eckhardt ら（1980）の報告によれば、PTSA についての細菌（*S.*  
12 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538）を用い  
13 た復帰突然変異試験（最高用量 18 mg/plate）が実施されており、代謝  
14 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。一方、TA98  
15 について、VB 培地を他の最少培地（ZLM 培地）に代えたところ、代謝  
16 活性化系非存在下では陰性であったが、代謝活性化系存在下では 9.6  
17 mg/plate 以上の投与群で陰性対照群の 2~3 倍の復帰突然変異誘発<sup>(12)</sup>  
18 が再現性をもって認められたとされている。（参照 46）  
19

20 Poncelet ら（1980）の報告によれば、PTSA についての細菌（*S.*  
21 *typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535 及び TA1538）を用い  
22 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  
23 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  
24 然発生によるものを上回る復帰突然変異頻度の誘発は認められなかつ  
25 たとされている。（参照 65）  
26

27 Herbold（1981）の報告によれば、PTSA についての細菌（*S.*  
28 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）を用いた復帰突  
29 然変異試験（最高用量 18 mg/plate）が実施されており、代謝活性化系  
30 の有無にかかわらず陰性であったとされている。また、別途 PTSA につ  
31 いての細菌（*S. typhimurium* TA98）を用いた復帰突然変異試験（最高  
32 用量 14.4~18 mg/plate<sup>(13)</sup>）が、2 種類の VB 培地（うち一方は Eckhardt  
33 ら（1980）が用いたものと同バッチのもの）及び ZLM 培地を用いて  
34 実施されており、代謝活性化系（Eckhardt ら（1980）と同一条件）存  
35 在下で陰性であったとされている。Herbold は、本試験において  
36 Eckhardt ら（1980）の試験結果を再現することはできなかつたとし  
37 ている。（参照 41）  
38

39 厚生省（当時）の平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
40 PTSA（純度 99.9%）についての細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、  
41 TA1535 及び TA1537 並びに *E. coli* WP2 *uvrA*）を用いた復帰突然変異  
42 試験（最高用量 5 mg/plate）が実施されており、代謝活性化系の有無に  
43 かかわらず陰性であったとされている。（参照 66）

<sup>12</sup> 代謝活性化系の調製時に NADPH 添加を省略すると、この復帰突然変異誘発作用は消失したとされている。

<sup>13</sup> 最高用量は VB 培地群で 14.4 mg/plate、ZLM 培地群で 18 mg/plate であったとされている。

1  
2 (シヨウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験)

3 Kramers (1977) の報告によれば、シヨウジョウバエ (*D.*  
4 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) に PTSA (5 mM) を腹部  
5 注入する伴性劣性致死試験が実施されており、陰性であったとされてい  
6 る。(参照 4 7)

7  
8 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、シヨウジョウバエ (*D.*  
9 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) に PTSA (0、2.5 mM) を  
10 3 日間飲水投与する伴性劣性致死試験が実施されており、1 回目の交配  
11 で伴性劣性致死発生率の有意な増加がみられたとされている (参照 4  
12 6)。しかしながら、2 回目及び 3 回目の交配では有意な増加はみられ  
13 ていない。

14  
15 (その他の遺伝子突然変異試験)

16 Suzuki & Suzuki (1988) の報告によれば、PTSA についての R<sub>Sa</sub>  
17 を用いた 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  
18 を指標とする遺伝子突然変異試験 (最高濃度 1.8 mg/mL) が実施されて  
19 おり、突然変異の誘発は認められなかったとされている。(参照 5 0)

20  
21 (b) 染色体異常を指標とする試験

22 (ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)

23 Masubuchi ら (1978) の報告によれば、PTSA についての CHO-K1  
24 を用いた染色体異常試験 (最高濃度 0.4 mg/mL) が実施されており、代  
25 謝活性化系非存在下で陰性であったとされている。(参照 5 3)

26  
27 厚生省 (当時) の平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
28 PTSA (純度 99.9%) についての CHL/IU を用いた染色体異常試験 (観  
29 察対象とした最高濃度: 短時間処理 1.7 mg/mL、連続処理 1.3 mg/mL)  
30 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  
31 れている。(参照 6 7)

32  
33 (げっ歯類を用いる小核試験)

34 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、NMRI マウス (各群雌雄各 4  
35 匹) に PTSA を懸濁液として 2 日間強制経口投与 (胃内挿管) 又は腹腔  
36 内投与する *in vivo* 骨髓小核試験 (経口 0、855 mg/kg 体重/日、腹腔内  
37 0、428、855 mg/kg 体重/日) が実施されており、いずれにおいても小  
38 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ている。  
39 (参照 4 6)

40  
41 c. OSBA

42 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

43 (微生物を用いる復帰突然変異試験)

44 Ashby ら (1978) の報告によれば、OSBA についての細菌 (*S.*  
45 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1538) を用いた復帰突

1 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  
2 存在下で陰性であったとされている。（参照 4 0）  
3

4 Poncelet ら（1979）の報告によれば、OSBA についての細菌（*S.*  
5 *typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535、TA1537 及び TA1538）  
6 を用いた復帰突然変異試験（最高濃度：代謝活性化系（Arochlor 1254  
7 投与ラット由来）存在下 1,000 mM、代謝活性化系（フェノバルビタール  
8 投与ラット由来）存在下及び代謝活性化系非存在下 100 mM）が実施  
9 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  
10 る。（参照 6 1）  
11

12 Eckhardt ら（1980）の報告によれば、OSBA についての細菌（*S.*  
13 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538）を用い  
14 た復帰突然変異試験（最高用量 7.2 mg/plate）が実施されており、代謝  
15 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  
16 地を他の最少培地（ZLM 培地）に代えても、代謝活性化系存在下のす  
17 べての菌株で陰性であったとされている。（参照 4 6）  
18

19 Herbold（1981）の報告によれば、OSBA についての細菌（*S.*  
20 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）を用いた復帰突  
21 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  
22 の有無にかかわらず陰性であったとされている。（参照 4 1）  
23

24 Riggin ら（1983）の報告によれば、OSBA についての細菌（*S.*  
25 *typhimurium* TA98）を用いた復帰突然変異試験（最高用量 2 mg/plate）  
26 が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。  
27 （参照 1 6）  
28

#### 29 （ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験）

30 Eckhardt ら（1980）の報告によれば、ショウジョウバエ（*D.*  
31 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄）に OSBA（0、250 mM）  
32 を 3 日間飲水投与する伴性劣性致死試験が実施されており、伴性劣性致  
33 死発生率の増加は認められなかったとされている。（参照 4 6）  
34

#### 35 （その他の遺伝子突然変異試験）

36 Suzuki & Suzuki（1988）の報告によれば、OSBA についての RSa  
37 を用いた 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  
38 を指標とする遺伝子突然変異試験（最高濃度 0.9 mg/mL）が実施されて  
39 おり、突然変異の誘発は認められなかったとされている。（参照 5 0）  
40

#### 41 （b）染色体異常を指標とする試験

##### 42 （ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験）

43 Masubuchi ら（1978）の報告によれば、OSBA についての CHO-K1  
44 を用いた染色体異常試験（最高濃度 0.4 mg/mL）が実施されており、代  
45 謝活性化系非存在下で陰性であったとされている。（参照 5 3）

1  
2 (げっ歯類を用いる小核試験)

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

9  
10 d. PSBA

11 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

12 (微生物を用いる復帰突然変異試験)

13 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S.*  
14 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538) を用い  
15 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  
16 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  
17 地を他の最少培地 (ZLM 培地) に代えても、代謝活性化系存在下のす  
18 べての菌株で陰性であったとされている。(参照 4 6)

19  
20 Poncelet ら (1980) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S.*  
21 *typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535 及び TA1538) を用  
22 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。  
23 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、  
24 自然発生によるものを上回る復帰突然変異頻度の誘発は認められな  
25 かったとされている。(参照 6 5)

26  
27 Herbold (1981) の報告によれば、PSBA についての細菌 (*S.*  
28 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突  
29 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  
30 の有無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 4 1)

31  
32 (ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験)

33 Eckhardt ら (1980) の報告によれば、ショウジョウバエ (*D.*  
34 *melanogaster* Basc 系雌及びその野生型雄) に PSBA (0、500 mM)  
35 を 3 日間飲水投与する伴性劣性致死試験が実施されており、伴性劣性致  
36 死発生率の増加は認められなかったとされている。(参照 4 6)

37  
38 (その他の遺伝子突然変異試験)

39 Suzuki & Suzuki (1988) の報告によれば、PSBA についての RSa  
40 を用いた 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  
41 を指標とする遺伝子突然変異試験 (最高濃度 0.9 mg/mL) が実施されて  
42 おり、突然変異の誘発は認められなかったとされている。(参照 5 0)

43  
44 (b) 染色体異常を指標とする試験

45 (げっ歯類を用いる小核試験)

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

7  
8 e. CBSA 及び CBSA-NH<sub>4</sub>

9 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

10 Poncelet ら (1979) の報告によれば、CBSA 又は CBSA-NH<sub>4</sub> につい  
11 ての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535、TA1537  
12 及び TA1538) を用いた復帰突然変異試験 (最高濃度: 代謝活性化系  
13 (Arochlor 1254 又はフェノバルビタール投与ラット由来) 存在下 1,000  
14 mM、代謝活性化系非存在下 100 mM) が実施されており、代謝活性化  
15 系の有無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 6 1)

16  
17 Poncelet ら (1980) の報告によれば、*p*-CBSA についての細菌 (*S.*  
18 *typhimurium* TA98、TA100、TA1530、TA1535 及び TA1538) を用  
19 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。  
20 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、  
21 自然発生によるものを上回る復帰突然変異頻度の誘発は認められな  
22 かったとされている。(参照 6 5)

23  
24 Herbold (1981) の報告によれば、*σ*-CBSA 又は *p*-CBSA についての  
25 細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用い  
26 た復帰突然変異試験 (最高用量 2.5 mg/plate) では、いずれも代謝活性  
27 化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。(参照 4 1)

28  
29 Riggin ら (1983) の報告によれば、*σ*-CBSA についての細菌 (*S.*  
30 *typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2 mg/plate)  
31 が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。  
32 (参照 1 6)

33  
34 (b) 染色体異常を指標とする試験

35 Masubuchi ら (1978) の報告によれば、*σ*-CBSA についての CHO-K1  
36 を用いた染色体異常試験 (最高濃度 0.4 mg/mL) が実施されており、代  
37 謝活性化系非存在下で陰性であったとされている。(参照 5 3)

38  
39 f. BIT

40 (a) DNA 損傷を指標とする試験

41 (微生物を用いる DNA 修復試験)

42 Zani ら (1991) の報告によれば、BIT についての細菌 (*Bacillus subtilis*  
43 H17 (*rec*<sup>+</sup>) 及び M45 (*rec*<sup>-</sup>)) を用いた DNA 修復試験 (孢子寒天法)  
44 (最高用量 1.2 mg/disk) が実施されており、代謝活性化系非存在下で  
45 陰性であったとされている。(参照 6 8)

1  
2 Ozaki ら (2004) の報告によれば、BIT (純度 100%) についての細  
3 菌 (*B.subtilis* H17 (*rec*<sup>+</sup>) 及び M45 (*rec*<sup>-</sup>)) を用いた DNA 修復試験  
4 (孢子寒天法) (最高用量 0.0060 mg/disk) が実施されており、代謝活  
5 性化系非存在下で陽性であったとされている。(参照 6 9)

6  
7 (in vivo UDS 試験)

8 SCCNFP (2004) の報告書によれば、BIT (BIT として 0、375、750  
9 mg/kg 体重) を単回経口投与した Wistar ラットから投与 2 時間後又は  
10 16 時間後に摘出した肝臓の細胞を用いる in vivo UDS 試験が実施され  
11 ている。その結果、UDS の誘発は認められなかったとされている。(参  
12 照 7 0)

13  
14 (コメント試験)

15 Ozaki ら (2004) の報告によれば、BIT (純度 100%) についての  
16 HL-60 を用いたコメント試験 (最高濃度 0.0050 mg/mL) が実施されて  
17 おり、陽性であったとされている。(参照 6 9)

18  
19 (b) 遺伝子突然変異を指標とする試験

20 (微生物を用いる復帰突然変異試験)

21 Riggini ら (1983) の報告によれば、BIT についての細菌 (*S.*  
22 *typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験 (観察対象とした最高  
23 用量 0.01 mg/plate<sup>14</sup>) が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性  
24 であったとされている。(参照 1 6)

25  
26 Zani ら (1991) の報告によれば、BIT についての細菌 (*S. typhimurium*  
27 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (最  
28 高用量 0.5 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわ  
29 らず陰性であったとされている。(参照 6 8)

30  
31 SCCNFP (2004) の報告書によれば、BIT (純度 99.02%) について  
32 の細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 並びに  
33 *E.coli* WP2 *uvrA* pKM101) を用いた復帰突然変異試験 (OECD TG471)  
34 (最高用量 0.175~0.180 mg/plate) が実施されているが、被験物質の  
35 毒性のために低用量のみでの観察となっており、SCCNFP は本試験結  
36 果を評価に用いることはできないとしている。(参照 7 0)

37  
38 (ほ乳類培養細胞を用いる前進突然変異試験)

39 SCCNFP (2004) の報告書によれば、BIT (純度 99.02%) について  
40 の CHO-K1 を用いた HPRT 配座に係る前進突然変異試験 (OECD  
41 TG476) (最高濃度 0.0052 mg/mL) が実施されており、代謝活性化系  
42 の有無にかかわらず遺伝子突然変異の誘発は認められなかったとされ  
43 ている。(参照 7 0)

<sup>14</sup> 0.1 mg/plate では細胞毒性がみられたとされている。

1  
2 (c) 染色体異常を指標とする試験

3 (ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)

4 SCCNFP (2004) の報告書によれば、BIT (純度 99.02%) について  
5 の CHO-K1 を用いた染色体異常試験 (OECD TG473) (最高濃度：代  
6 謝活性化系非存在下 0.0050 mg/mL、代謝活性化系存在下 0.0064  
7 mg/mL) が実施されており、代謝活性化系非存在下の全濃度群及び代謝  
8 活性化系存在下の最高濃度群のみで染色体異常の誘発が認められたと  
9 されている。(参照 7 0)

10  
11 (げっ歯類を用いる小核試験)

12 SCCNFP (2004) の報告書によれば、MF1 マウスに BIT (BIT とし  
13 て 0、63.15、126.3、210.5 mg/kg 体重/日) を 2 日間強制経口投与 (胃  
14 内挿管) する *in vivo* 骨髄小核試験 (OECD TG474) が実施されており、  
15 小核多染性赤血球の有意な増加は認められなかったとされている。(参  
16 照 7 0)

17  
18 g. NMS

19 Riggis ら (1983) の報告によれば、NMS についての細菌 (*S.*  
20 *typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2 mg/plate)  
21 が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。(参  
22 照 1 6)

23  
24 h. MA

25 (a) DNA 損傷を指標とする試験

26 (微生物を用いる DNA 修復試験)

27 FAS56 でも引用されている小田ら (1978) の報告によれば、MA に  
28 ついての細菌 (*B. subtilis* H17 (*rec*<sup>+</sup>) 及び M45 (*rec*<sup>-</sup>)) を用いた DNA  
29 修復試験 (ストリーク法) (最高用量 0.023 mg/disk) が実施されており、  
30 代謝活性化系非存在下で陰性であったとされている。(参照 7 1、7 2)

31  
32 FAS56 でも引用されている兪 (1985) の報告によれば、MA につい  
33 ての細菌 (*B. subtilis* H17 (*rec*<sup>+</sup>) 及び M45 (*rec*<sup>-</sup>)) を用いた DNA 修  
34 復試験 (孢子寒天法) (最高用量 0.02 mL/disk) が実施されており、代  
35 謝活性化系非存在下で弱い陽性であったとされている。(参照 7 1、  
36 7 3)

37  
38 (UDS 試験)

39 FAS56 でも引用されている Yoshimi ら (1988) の報告によれば、MA  
40 についてのラット初代培養肝細胞を用いた UDS 試験 (最高濃度 1 mM)  
41 が実施されており、陰性であったとされている。(参照 7 1、7 4)

42  
43 (b) 遺伝子突然変異を指標とする試験

44 FAS56 でも引用されている Kasamaki ら (1982) の報告によれば、  
45 MA についての細菌 (*S. typhimurium* TA98 及び TA100) を用いた復

1 帰突然変異試験（最高用量 0.5 mg/plate）が実施されており、代謝活性  
2 化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。（参照 7 1、7 5）  
3

4 Shimizu & Takemura（1983）の報告によれば、MA についての細菌  
5 (*S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538  
6 及び TA2637 並びに *E.coli* WP2 *uvrA* 及び WP2 *uvrA/pKM*) を用いた  
7 復帰突然変異試験（最高用量 5 mg/plate）が実施されており、代謝活性  
8 化系の有無にかかわらず陰性であったとされている。なお、代謝活性化  
9 系存在下の TA98 にノルハルマンを添加したところ復帰突然変異の誘発  
10 が認められたとされている。（参照 7 6）  
11

12 Riggini ら（1983）の報告によれば、MA についての細菌 (*S.*  
13 *typhimurium* TA98) を用いた復帰突然変異試験（最高用量 2 mg/plate）  
14 が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされている。  
15 （参照 1 6）  
16

17 兪（1985）の報告によれば、MA についての細菌 (*E.coli* WP2 *uvrA*)  
18 を用いた復帰突然変異試験（最高用量 2.0 mg/plate）が実施されており、  
19 代謝活性化系非存在下で陰性であったとされている。（参照 7 3）  
20

21 FAS56 でも引用されている Mortelmans ら（1986）の報告によれば、  
22 MA（純度 99%）についての細菌 (*S. typhimurium* TA98、TA100、  
23 TA1535 及び TA1537) を用いた復帰突然変異試験（観察対象とされた  
24 最高用量 1.8 mg/plate<sup>15)</sup> が実施されており、代謝活性化系の有無にか  
25 かわらず陰性であったとされている。（参照 4 4、7 1）  
26

27 FAS56 でも引用されている藤田及び佐々木（1987）の報告によれば、  
28 MA についての細菌 (*S. typhimurium* TA97 及び TA102) を用いた復  
29 帰突然変異試験（最高用量 1 mg/plate）が実施されており、代謝活性化  
30 系の有無にかかわらず陰性であったとされている。（参照 7 1、7 7）  
31

### 32 (c) 染色体異常を指標とする試験

33 FAS56 でも引用されている Kasamaki ら（1982）の報告によれば、  
34 MA についての B241 を用いた染色体異常誘発性に係る試験（最高濃度  
35 0.05 mM）が実施されており、染色体異常の増加が認められたとされて  
36 いる（参照 7 1、7 5）。JECFA は、本試験について、染色体異常頻度  
37 を最大化させた非標準的な試験であることを指摘している（参照 7 1）。  
38

#### 39 i. AS

##### 40 (a) 遺伝子突然変異を指標とする試験

##### 41 (5-AS)

42 Radford ら（1985）の報告によれば、5-AS についての細菌 (*S.*  
43 *typhimurium* TA98 及び TA100) を用いた復帰突然変異試験（最高用

<sup>15</sup> TA100 及び TA1535、代謝活性化系非存在下の TA98 及び TA1537 並びに代謝活性化系(ラット肝由来 S9mix)存在下の TA98 については 1.8 mg/plate で細胞毒性がみられたため、観察対象は 1 mg/plate までとされている。

1 量 10 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  
2 陰性であったとされている。(参照 1 9)

3  
4 (6-AS)

5 Ashby ら (1978) の報告によれば、6-AS についての細菌 (*S.*  
6 *typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1538) を用いた復帰突  
7 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  
8 存在下で陰性であったとされている。(参照 4 0)

9  
10 Radford ら (1985) の報告によれば、6-AS についての細菌 (*S.*  
11 *typhimurium* TA98 及び TA100) を用いた復帰突然変異試験 (最高用  
12 量 10 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  
13 陰性であったとされている。(参照 1 9)

14  
15 (7-AS を含む混合物)

16 Radford ら (1985) の報告によれば、M 法でのサッカリンナトリウ  
17 ム製造時の不純物からサッカリン、OSBA、5-AS 及び 6-AS を除去し濃  
18 縮した物について、7-AS が含まれていることを確認した上で、細菌 (*S.*  
19 *typhimurium* TA98 及び TA100) を用いた復帰突然変異試験 (最高用  
20 量 10 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  
21 陰性であったとされている。(参照 1 9)

22  
23 j. その他

24 Stoltz ら (1977) の報告によれば、M 法で製造されたサッカリンナト  
25 リウム (Arnold ら (1980) のラットを用いた二世代にわたる試験に用い  
26 られたものと同一ロット品) 水溶液の有機溶剤抽出物についての細菌 (*S.*  
27 *typhimurium* TA98、及び TA100) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量  
28 0.3 mL/plate) が実施されており、代謝活性化系の存在下で陽性であつた  
29 とされている。Stoltz らは、抽出に用いた有機溶剤のみの対照群及び一度  
30 有機溶剤抽出に供したサッカリンナトリウムの有機溶剤再抽出物群につ  
31 いては陰性であり、さまざまな組成の有機溶剤群のいずれについても陽性  
32 であつたとしている。また、Stoltz らは、他ロットの M 法製サッカリン  
33 ナトリウム及びさまざまなロットの RF 法製サッカリンナトリウムにつ  
34 いて代謝活性化系存在下で TA98 を用いて試験を実施したところ、陰性のロ  
35 ットもあつたとしている。(参照 4 5)

36  
37 ③ 遺伝毒性のまとめ

38 a. サッカリン及びその塩類

39 以上より、コメント試験で陽性の結果、*in vitro* の DNA 一本鎖切断試  
40 験で弱い陽性の結果、*in vitro* SCE 試験で姉妹染色分体交換の誘発が報告  
41 されている。一方、*in vivo* SCE 試験では 7,500 mg/kg 体重以上という極  
42 めて高用量においてのみ弱い陽性の結果であつた。本専門調査会としては、  
43 サッカリン及びその塩類には DNA 損傷誘発性があるものとする。

44 マウス尿及び粗製サッカリンナトリウムを被験物質とした復帰突然変  
45 異試験並びにショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験で陽性の結果

1 であり、細胞生存率 50%を下回る濃度まで実施された遺伝子突然変異試験  
2 で突然変異頻度の増加が認められたとされている。一方、標準的な方法に  
3 による微生物を用いる復帰突然変異試験ですべて陰性の結果であり、マウス  
4 リンフォーマ TK 試験及び肝臓・膀胱を標的臓器とした *in vivo* トランス  
5 ジェニック動物突然変異試験でも陰性の結果であった。本専門調査会とし  
6 ては、サッカリン及びその塩類そのものについて、遺伝子突然変異誘発性  
7 を疑わせる証拠はなく、生体にとって特定問題となる遺伝子突然変異誘発  
8 性はないものとする。

9 ほ乳類培養細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験では、サッカリンにつ  
10 いては陰性の結果、サッカリンカルシウム、サッカリンカリウム及びサッ  
11 カリンマグネシウムについては 8.0 mg/mL 以上という高濃度において陽  
12 性の結果、サッカリンナトリウムについては 1 mg/mL 以上で陽性の結果  
13 であった。*in vivo* 染色体異常試験では、サッカリンナトリウムを 1,000  
14 mg/kg 体重/日で 24 週間混餌投与したマウスの骨髄細胞及び精母細胞で陽  
15 性の結果であったが、500 mg/kg 体重を 10 回反復経口投与したマウスの  
16 精母細胞では陰性の結果であった。げっ歯類を用いるサッカリンナトリウ  
17 ムについての小核試験ではいずれも陰性の結果であった。げっ歯類を用い  
18 る優性致死試験では、サッカリンについては陰性の結果、サッカリンナト  
19 リウムについては 1.72% 飲水 30 日間投与で陽性の結果であった一方、  
20 2,000 mg/kg 体重/日 10 週間混餌投与で陰性の結果であった。本専門調査  
21 会としては、サッカリンナトリウムについては *in vitro* 試験での染色体異  
22 常誘発性の結果を各般の *in vivo* 試験では合理的に再現できていないこと、  
23 サッカリンカルシウムについては既存の知見からはその *in vitro* での染色  
24 体異常誘発性は高濃度のみにおいてみられたきわめて弱いものであること  
25 から、いずれについても生体にとって特定問題となる染色体異常誘発性  
26 の証拠は得られていないものとする。本専門調査会としては、サッカリン  
27 に染色体異常誘発性はないものとする。

28  
29 以上より、サッカリンは酸であり、生体内の生理学的な pH 条件下にお  
30 いては陰イオンとして存在していて DNA 親和性は無視しうるとされてい  
31 ることとも合わせ総合的に判断すると、本専門調査会としては、サッカリン  
32 及びその塩類には DNA 損傷誘発性が認められるものの、生体にとって  
33 特定問題となるような遺伝子突然変異及び染色体異常を誘発するような  
34 証拠は得られていないものとする。

#### 35 36 b. 不純物

37 OTSA については、(i) 標準的な方法による細菌を用いた復帰突然変異  
38 試験ではすべて陰性の結果であった。(ii) 培地を変更した復帰突然変異試  
39 験で陽性の結果であったが、同様の方法での再試験により再現できなかった  
40 とされている。(iii) ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験及び  
41 マウススポットテストでの結果は一貫性がみられない。(iv) ほ乳類培養細  
42 胞を用いる染色体異常試験及びげっ歯類を用いる小核試験のいずれにお  
43 いても染色体異常誘発性は認められていない。以上より、本専門調査会と  
44 しては、OTSA に特定問題となる遺伝毒性はないものとする。

45 PTSA については、(i) 標準的な方法による細菌を用いた復帰突然変異

1 試験ではすべて陰性の結果であった。(ii) 培地を変更した復帰突然変異試験  
2 陽性の結果であったが、同様の方法での再試験により再現できなかったとされている。(iii) ショウジョウバエを用いる遺伝子突然変異試験での  
3 結果は一貫性がみられない。(iv) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験  
4 及びげっ歯類を用いる小核試験のいずれにおいても染色体異常誘発性は  
5 認められていない。以上より、本専門調査会としては、PTSA に特段問題  
6 となる遺伝毒性はないものとする。

7  
8 OSBA については、(i) 微生物を用いる復帰突然変異試験等すべての遺  
9 伝子突然変異試験において陰性の結果であった。(ii) ほ乳類培養細胞を用  
10 いる染色体異常試験及びげっ歯類を用いる小核試験のいずれにおいても  
11 染色体異常誘発性は認められていない。以上より、本専門調査会としては、  
12 OSBA に特段問題となる遺伝毒性はないものとする。

13 PSBA、CBSA 及び CBSA-NH<sub>4</sub> については、(i) 微生物を用いる復帰突  
14 然変異試験等すべての遺伝子突然変異試験において陰性の結果であった。  
15 (ii) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において染色体異常誘発性  
16 は認められていない。以上より、本専門調査会としては、PSBA、CBSA  
17 及び CBSA-NH<sub>4</sub> に特段問題となる遺伝毒性はないものとする。

18 BIT については、(i) DNA 損傷を指標とする試験の一部で陽性の結果で  
19 あったが、ほ乳類培養細胞を用いた試験を含む各般の試験で遺伝子突然変  
20 異誘発性は認められていない。(ii) ほ乳類培養細胞を用いる *in vitro* 染色  
21 体異常試験では細胞毒性がみられる中で、最高濃度群のみに染色体異常の  
22 誘発が認められたとされているが、*in vivo* 骨髄小核試験において染色体  
23 異常誘発性が再現されていない。以上より、本専門調査会としては、BIT  
24 に生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものとする。

25 NMS については、唯一の知見である微生物を用いた復帰突然変異試験  
26 において陰性の結果であった。

27 MA については、(i) 微生物を用いる DNA 修復試験で弱い陽性の結果で  
28 あったが、ほ乳類培養細胞を用いる UDS 試験では陰性の結果であった。  
29 (ii) 微生物を用いる復帰突然変異試験では、一試験においてノルハルマン  
30 との共存下で TA98 株の復帰突然変異を誘発したとの報告があるが、非共  
31 存下では陰性の結果であり、その他標準的な方法による試験ではいずれも  
32 陰性の結果であった。(iii) B241 を用いた染色体異常試験では陽性の結果  
33 であったが、標準的な方法によるものではなく、かつ、*in vivo* での再現  
34 性は確認されていない。以上より、本専門調査会としては、MA について、  
35 生体にとって特段問題となる遺伝毒性の証拠は得られていないものと思  
36 える。

37 AS 類については、微生物を用いた復帰突然変異試験においていずれも  
38 陰性の結果であった。

39  
40 以上より総合的に判断すると、本専門調査会としては、サッカリン及び  
41 その塩類の不純物（表 1（8 頁）参照）について、生体にとって特段問題  
42 となるような遺伝毒性の証拠は得られていないものとする。

## 43 44 (2) 急性毒性

### 45 ① サッカリン及びその塩類

1 サッカリンカルシウムを被験物質とした急性毒性に関する試験成績を確  
 2 認することは出来なかった。サッカリンナトリウムを被験物質とした急性毒  
 3 性に関する試験成績としては表2のような報告がある。

5 表2 急性毒性に関する試験成績概要（サッカリンナトリウム）

投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	参照
経口	Wistar ラット	14,200	9、78
経口	Mongrel ラット	17,000	9、78
経口	マウス	17,500	9、78
経口	ハムスター (雄)	7,400 (8日間投与)	9
	(雌)	8,700 (8日間投与)	
経口	ウサギ	5,000~8,000	9

6  
7 ② 不純物

8 OTSA、PTSA、BIT 及び MA に関する試験成績として表3のような報告  
 9 がある。

11 表3 急性毒性に関する試験成績概要（不純物）

不純物	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	参照
OTSA	経口	ラット (雄)	2,000 超	79
		(雌)	1,000~2,000	
PTSA	経口	ラット (雌雄)	2,000 超	80
		ラット	2,330	81
BIT	経口	ラット (雄)	2,100 <sup>(16)</sup>	70における引用
		(雌)	1,050	
MA	経口	ラット	2,910	82
		マウス	3,900	
		モルモット	2,780	30における引用
		ラット	3,000	
		モルモット	4,000	
ラット	5,825	71における引用		

13  
14 (3) 反復投与毒性及び発がん性

15 ① サッカリンカルシウム

16 サッカリンカルシウムを被験物質とした反復投与毒性及び発がん性に関  
 17 する試験成績として以下のような報告がある。

18  
19 a. Hasegawa & Cohen (1986) のラット 10 週間試験

20 FAS32 でも引用されている Hasegawa & Cohen (1986) の報告によれ  
 21 ば、5 週齢の F344 ラット (各群雄 6 匹) にサッカリンカルシウム、サッ  
 22 カリン、サッカリンナトリウム又はサッカリンカリウム (各 0、5% ; 0、  
 23 2,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を 10 週間混餌投与し、と殺 1 時間前に [methyl-<sup>3</sup>H]  
 24 チミジン (1 mCi/kg 体重) を腹腔内投与して被験物質投与による膀胱移  
 25 行上皮細胞増殖への影響をみる試験が実施されている。その結果、一般状  
 26 態については、全投与群に水分の多い糞便がみられ、サッカリンカルシウ  
 27 ム投与群及びサッカリン投与群に投与開始後 2~3 週間重篤な下痢が認め  
 28 られたとされている。体重については、全投与群に若干の増加抑制がみら  
 29 れ、摂水量については、全サッカリン塩投与群で増加、サッカリン投与群  
 30 では弱い増加が認められたとされている。血液生化学的検査においては、

<sup>16</sup> 被験物質の含量は 82.3% (ほかに水分 17.7%) とされている。

1 血中のカリウム、カルシウム及びナトリウムの濃度に投与群間で差は認め  
2 られなかったとされている。尿検査（投与 7 日及び 28 日に実施）におい  
3 ては、サッカリンナトリウム投与群でナトリウムイオン濃度の高値、サッ  
4 カリンカルシウム投与群及びサッカリン投与群ではカルシウムイオン濃  
5 度の高値（投与 28 日のみ）が認められたとされている。また、投与 7 日  
6 及び 28 日の投与後 4 時間尿中サッカリン濃度については、投与 28 日のサ  
7 ッカリン投与群でサッカリンカリウム又はサッカリンカルシウム投与群  
8 よりも高値が認められたほか、全群でみると、投与 7 日で 0.18~0.21  
9 mmol/mL、投与 28 日で 0.14~0.19 mmol/mL とおおむね同様であったと  
10 されている。いずれの動物にも膀胱結石は認められなかったとされている。  
11 病理組織学的検査においては、サッカリンナトリウム投与群での膀胱単純  
12 過形成の発生率は、対照群やサッカリン投与群よりも有意に高かったとさ  
13 れている。なお、サッカリンナトリウム投与群の膀胱移行上皮には微絨毛  
14 が認められたとされている。膀胱移行上皮細胞の<sup>[3H]</sup>チミジン標識率につ  
15 いては、サッカリンナトリウム投与群（0.6%）、次いでサッカリンカリウ  
16 ム投与群（0.2%）で有意な増加が認められた一方で、サッカリンカルシウ  
17 ム投与群（0.1%）及びサッカリン投与群（0.07%）では増加が認められな  
18 かったとされている。以上より、Hasegawa & Cohen は、尿中サッカリ  
19 ン濃度と膀胱移行上皮細胞増殖能との間に相関性は認められなかったこ  
20 とから、サッカリンが尿中に存在するだけではラット膀胱移行上皮細胞増  
21 殖を誘発するのに十分ではないことが示唆されたとしている。（参照 2 2、  
22 8 3）  
23

#### 24 b. Anderson ら（1988）のラット 10 週間試験

25 IARC73 及び FAS32 における引用によれば、Anderson ら（1988）は、  
26 離乳雄ラットにサッカリンナトリウム（5% ; 2,500 mg/kg 体重/日相当）  
27 又は等モルのサッカリンカルシウム、サッカリン若しくはサッカリンカリ  
28 ユムを 10 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、サッカリン  
29 ナトリウム投与群及びサッカリンカリウム投与群には尿量の増加及び膀  
30 胱移行上皮単純過形成の発生が認められたが、サッカリンカルシウム投与  
31 群及びサッカリン投与群にはそのような変化は認められなかったとされ  
32 ている。これらの変化と、尿中サッカリン排泄量及び尿中サッカリン濃度  
33 との関連性は認められなかったとされている。また、各投与群間で盲腸重  
34 量及び盲腸+内容物の重量の増加に差は認められなかったとしている。  
35 FAS32 では、本試験成績により Hasegawa & Cohen（1986）の報告で得  
36 られた知見が実質的に確認できたとされている。（参照 4、2 2）  
37

#### 38 c. Fisher ら（1989）のラット 10 週間試験

39 IARC73 における引用によれば、Fisher ら（1989）は、5 週齢の雄 F344  
40 ラットにサッカリンカルシウム又はサッカリンナトリウム（各 5% ; 2,500  
41 mg/kg 体重/日相当）を Prolab3200<sup>(17)</sup>又は AIN-76A を用いて 10 週間混餌  
42 投与する試験を実施している。その結果、サッカリンカルシウム

---

<sup>17</sup> Prolab3200 は、ナトリウム、カルシウム、カリウムその他ほとんどのイオンを AIN-76A よりも多く含んでいるとされてい  
る。

1 Prolab3200 混餌投与群及びサッカリンナトリウム Prolab3200 混餌投与  
2 群のいずれにおいても尿 pH が 6.5 を超過したが、サッカリンカルシウム  
3 AIN-76A 混餌投与群及びサッカリンナトリウム AIN-76A 混餌投与群では  
4 いずれにおいても尿 pH が 6.0 を下回ったとしている。尿中ナトリウム排  
5 泄量は、AIN-76A 混餌対照群及びサッカリンカルシウム AIN-76A 混餌投  
6 与群において最少であったとしている。また、サッカリンナトリウム  
7 Prolab3200 混餌投与群においては、サッカリンナトリウム AIN-76A 混餌  
8 投与群より尿中ナトリウム濃度が高かったとしている。(参照 4)

9  
10 d. Cohen ら (1991) のラット二段階膀胱発がん試験

11 IARC73 でも引用されている Cohen ら (1991) の報告によれば、5 週  
12 齢の F344 ラット (各群雄 40 匹) について、表 4 のような対照群及び投  
13 与群を設定し、FANFT (0.2%) を 6 週間混餌投与するイニシエーション  
14 段階の処置の後、サッカリンカルシウム、サッカリン、サッカリンナトリ  
15 ウム等をプロモーションの段階で 72 週間混餌投与する二段階膀胱発がん  
16 試験が実施されている。その結果、FANFT 無処置サッカリンナトリウム  
17 投与群で膀胱に単純過形成がみられたが、FANFT 無処置のサッカリンカ  
18 ルシウム、サッカリン及びサッカリンナトリウム投与群で膀胱腫瘍発生率  
19 の増加は認められなかったとされている。また、FANFT 処置サッカリン  
20 カルシウム投与群及び FANFT 処置サッカリン投与群に膀胱発がんプロモ  
21 ーション作用は認められず、サッカリンナトリウム投与群には用量依存的  
22 な膀胱発がんプロモーション作用が認められたがサッカリンナトリウム  
23 + 塩化アンモニウム投与群では、尿の顕著な酸性化を認めるとともに膀胱  
24 発がんプロモーション作用の完全な障害が認められたとされている。  
25 FANFT 処置サッカリンナトリウム投与群では FANFT 処置サッカリンカ  
26 ルシウム投与群よりも尿 pH が上昇していた一方で、FANFT 処置サッカ  
27 リン投与群では低下していたとされている。なお、FANFT0.2%混餌投与  
28 処置についても、その処置期間中に尿 pH が上昇する一因となったとされ  
29 ている。FANFT 処置塩化ナトリウム投与群に弱い膀胱発がんプロモーシ  
30 ョン作用が認められたが、FANFT 処置炭酸カルシウム投与群には認めら  
31 れなかったとされている。しかしながら、FANFT 処置炭酸カルシウム投  
32 与群では FANFT 処置サッカリンナトリウム投与群よりも尿 pH が上昇し  
33 たとされている。以上より、Cohen らは、サッカリンナトリウムの膀胱発  
34 がんプロモーション作用は尿 pH の 6.5 以上への上昇及び尿中ナトリウム  
35 濃度の増加により増強されるとしている (参照 4、84)。IARC ワーキ  
36 ンググループは、本試験について、一世代の試験としては投与期間が短い  
37 ことを指摘している (参照 4)。  
38

1

表4 Cohen ら (1991) のラット二段階膀胱発がん試験における群設定

群	飼料	イニシエーション 段階 (6 週間)	プロモーション段階 (72 週間)
①	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンナトリウム 5.00%
②	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンナトリウム 3.00%
③	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンカルシウム 5.20%
④	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンカルシウム 3.12%
⑤	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリン 4.21%
⑥	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリン 2.53%
⑦	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンナトリウム 5.00% +炭酸カルシウム 1.15%
⑧	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンカルシウム 5.20% +塩化ナトリウム 1.34%
⑨	Prolab 3200	FANFT0.2%	サッカリンナトリウム 5.00% +塩化アンモニウム 1.23%
⑩	Prolab 3200	FANFT0.2%	炭酸カルシウム 1.15%
⑪	Prolab 3200	FANFT0.2%	塩化ナトリウム 1.34%
⑫	Prolab 3200	FANFT0.2%	対照
⑬	Prolab 3200	無処置	サッカリンナトリウム 5.00%
⑭	Prolab 3200	無処置	サッカリンカルシウム 5.20%
⑮	Prolab 3200	無処置	サッカリン 4.21%
⑯	Prolab 3200	無処置	対照
⑰	NIH-07	FANFT0.2%	サッカリンナトリウム 5.00%
⑱	NIH-07	FANFT0.2%	対照

2

3

## ② サッカリン及びサッカリンナトリウム

4

サッカリン又はサッカリンナトリウムを被験物質とした反復投与毒性及び発がん性に関する試験成績として以下のような報告がある。

5

6

7

8

9

10

なお、Clayson & Cooper (1970) のレビューによれば、膀胱の一部分を尿に触れないように外科的処置して既知の膀胱発がん物質を経口投与すると尿が触れない部分には腫瘍の発生がないこと等から、膀胱発がん物質又はその代謝物は血流ではなく尿路によって作用部位に運ばれるとの考え方が当時既にほぼ確立されている。(参照 8 5)

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

## a. ラット

## (a) Fitzhugh ら (1951) のラット 2 年間試験

IARC73 及び FAS17 でも引用されている Fitzhugh ら (1951) の報告によれば、21 日齢の Osborne-Mendel ラット (各群雌雄各 10 匹) にサッカリン (製法及び純度不詳) (0、1、5%) を最長 2 年間混餌投与する試験が実施されている。その結果、5%投与群の雌雄で腹部リンパ肉

腫が 7/18 匹（性別匹数不詳）に認められたとされている。膀胱についての病理組織学的検査は行われていない（参照 4、9、87）。IARC ワーキンググループは、動物数が少ないことを含め、不適切な試験であると指摘している（参照 4）。

#### (b) Taylor ら (1968) のラット 38 日間試験

FAS17 でも引用されている Taylor ら (1968) の報告によれば、体重 75~100 g のラット（週齢不詳）（各群雌雄各 14 匹）にサッカリンナトリウム（0、0.5% ; 0、約 400 mg/kg 体重/日）を 38 日間混餌投与し、39 日目にと殺して肝臓及び腎臓について剖検及び病理組織学的検査を行う試験が実施されている。その結果、対照群を含む各群 4 匹が試験中に死亡したとされている。一般状態については、対照群を含む全群に下痢がみられたが、各群間で行動に明らかな差は認められなかったとされている。体重については、投与群に摂餌量の低下を伴う顕著な増加抑制がみられたが、摂餌効率については対照群との差は認められず、これについて Taylor らは忌避によるものと推定している。剖検及び病理組織学的検査においては、投与群の肝臓及び腎臓に炎症性及び水腫性の病変（程度不詳）がみられたとされている。これについて Taylor らは、下痢及び脱水による物理的影響か、当該ラット固有の疾患に関連したものではないかと推定している。JECFA は、本試験成績について、肝臓及び腎臓の病変の程度が報告されていないことを指摘している。（参照 9、78）

#### (c) Lessel (1971) のラット 2 年間試験

IARC73 でも引用されている Lessel (1971) の報告によれば、Boots-Wistar ラット（週齢不詳）（各群雌雄各 20 匹）に RF 法で製造されたサッカリン（純度不詳）（0、0.005、0.05、0.5、5%）を 2 年間混餌投与する試験が実施されている。その結果、体重については、5%投与群の雌雄で投与開始後 6 か月間の増加抑制が認められ、本試験では摂餌量の記録が行われていないものの、Lessel は 5%投与群の摂餌量は他の投与群よりも明らかに多かったとしている。投与開始 18 か月後の時点で対照群の雄 15 匹及び雌 14 匹、5%投与群の雌雄各 10 匹が生存しており、剖検のみで腫瘍発生率をみたところ、被験物質の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかったとされている。なお、膀胱に寄生虫は認められなかったとされている（参照 4、88）。病理組織学的検査については、剖検で異常がみられた 5 匹のみでの実施にとどまっている。

#### (d) Schmähl (1973) のラット 30 か月間試験

IARC73 における引用によれば、Schmähl (1973) は、70~90 日齢の BD ラット（各群雌雄各 52 匹）に RF 法で製造されたサッカリンナトリウム（純度不詳）（0、0.2、0.5% ; 0、83、210 mg/kg 体重/日）を最長 30 か月間混餌投与する試験を実施している。その結果、投与開始 18 か月後の時点で対照群の雌雄 55 匹、0.2%投与群の雌雄 50 匹及び 0.5%投与群の雌雄 41 匹（各群性別匹数不詳）が生存していたとしている。対照群を含む各群に同様の頻度で良性/悪性間葉系腫瘍がみられたと

1 している。*T.crassicauda* への感染率は 16%であったが膀胱腫瘍の発生  
2 は認められなかったとしている。(参照 4)

3  
4 (e) Ulland ら (1973) のラット 18 か月間試験

5 IARC73 でも引用されている Ulland ら (1973) の報告によれば、SD  
6 ラット (週齢及び各群匹数不詳) にサッカリン (製法、純度及び用量不  
7 詳) を 18 か月間投与 (投与経路不詳) し、投与終了後 6 か月間の観察  
8 を行う試験が実施されている。その結果、対照群及び投与群ともに良性  
9 腫瘍の発生率の高値がみられ、発生部位は主に下垂体及び乳腺であった  
10 とされているが、腫瘍の種類その他病理組織学的検査結果の詳細は報告  
11 されていない (参照 4、8 9)。IARC ワーキンググループは、不適切  
12 な試験であると指摘している (参照 4)。

13  
14 (f) Tisdell ら (1974) のラットを用いた二世世代にわたる試験

15 IARC73 及び FAS17 における引用によれば、Tisdell ら (1974) は、  
16 離乳 SD ラット (F<sub>0</sub>) に RF 法で製造されたサッカリンナトリウム (純  
17 度不詳<sup>18</sup>) (0、0.05、0.5、5% ; 0、25、250、2,500 mg/kg 体重/日<sup>19</sup>)  
18 を混餌投与し、その後交配し、雌については妊娠及び哺育期間中も投与  
19 を継続し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雌雄各 20 匹) には離乳後最長  
20 100 週間 F<sub>0</sub> と同様の混餌投与を行い、F<sub>1</sub> における腫瘍発生を観察する  
21 試験を実施している。その結果、対照群及び各投与群の腫瘍発生率<sup>19</sup>  
22 は、F<sub>1</sub> 雄で 2/12 匹、1/10 匹、1/11 匹及び 7/15 匹、F<sub>1</sub> 雌で 8/16 匹、6/14  
23 匹、5/14 匹及び 13/19 匹であったとしている。F<sub>1</sub>5%投与群雄の 7/15 匹  
24 (p=0.001) に認められた腫瘍はすべて膀胱移行上皮癌であったとして  
25 いる。なお、膀胱の寄生虫の有無については報告していない。F<sub>1</sub> 雌では、  
26 膀胱腫瘍の発生は認められなかったが、子宮扁平上皮癌の発生が 0.05%  
27 投与群で 1/14 匹、0.5%投与群で 2/14 匹、5%投与群で 2/19 匹にみられ  
28 たとしている。(参照 4、9)

29  
30 (g) Munro ら (1975) のラット 26 か月間試験

31 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Munro ら (1975) の報告  
32 によれば、体重 50~60 g の離乳 SD ラット (各群雌雄各 60 匹) に RF  
33 法で製造されたサッカリンナトリウム (純度不詳) (0、90、270、810、  
34 2,430 mg/kg 体重/日 (サッカリンとして)) を 26 か月間混餌投与 (飼料:  
35 カゼインを 20%含有する配合飼料) する試験が実施されている。その結  
36 果、死亡率については、雄では投与開始 18 か月後の時点で対照群、270  
37 mg/kg 体重/日投与群及び 810 mg/kg 体重/日投与群ともに 40/60 匹を上  
38 回る動物が生存していたのに対し、2,430 mg/kg 体重/日投与群では  
39 30/60 匹前後の生存にとどまり、Munro らは、用量に関連した死亡率の  
40 増加が認められたとしている。一方、雌ではそのような増加は認められ  
41 なかったとされている。体重については、2,430 mg/kg 体重/日投与群の  
42 雌雄で、投与 10 週間後から下記のとおり軽度の下痢に一部関連したと思われ

<sup>18</sup> FAS17 における引用によれば、Stavric ら (1973) は、Tisdell ら (1974) が用いた被験物質は OTSA を最大 4,660 ppm 含有していたとしている。

<sup>19</sup> 投与開始 80 週間後の時点での生存動物数を分母として腫瘍発生率が算出されている。

1 る、摂餌量低下を伴わない増加抑制が認められたとされている。一般状  
2 態については、2,430 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で腸炎の病理所見を伴  
3 わない軽度の下痢がほぼ全投与期間にわたってみられたとされている。  
4 この下痢について Munro らは、被験物質の投与に関連したものであり、  
5 体重増加抑制に一部関連していたと推定している。剖検及び病理組織学  
6 的検査においては、90 mg/kg 体重/日投与群の雄 1/51 匹及び雌 1/56 匹、  
7 810 mg/kg 体重/日投与群の雄 2/52 匹に膀胱移行上皮乳頭腫の発生がみ  
8 られたが、当該腫瘍に侵襲性その他悪性腫瘍の特徴は認められなかつた  
9 とされている。また、リンパ腫/白血病の発生が対照群及び各投与群の雄  
10 2/57 匹、2/51 匹、5/54 匹、2/52 匹及び 7/54 匹にみられたが、これにつ  
11 いて Munro らは被験物質の投与に関連したものではないとしている。  
12 さらに、対照群を含む各群に散見された、尿道を通過しうる微細な膀胱  
13 結石については、被験物質の用量に関連したものではなく、膀胱移行上  
14 皮乳頭腫の発生との関連性も認められなかつたとされている。尿及び膀  
15 胱から *T. crassicauda* は見いだされなかつたとされている。そのほか、  
16 血液学的検査及び尿検査において被験物質の投与に関連した影響は認  
17 められなかつたとされている。(参照 4、9、90)

#### 18 19 (h) Furuya ら (1975) のラット 28 か月間試験

20 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Furuya ら (1975) の報告  
21 によれば、Wistar ラット (週齢不詳) (各群雄 54~56 匹) にサッカリ  
22 ンナトリウム (製法及び純度不詳) (0、2,500 mg/kg 体重/日) を最長  
23 28 か月間混餌投与する試験が実施されている。その結果、死亡率の増  
24 加は認められなかつたが、投与群に有意な体重増加抑制が認められたと  
25 されている。膀胱腫瘍の発生は対照群及び投与群のいずれにおいても認  
26 められなかつたとされている (参照 4、9、91)。IARC ワーキング  
27 グループは、試験成績の報告が不十分であることを指摘している (参照  
28 4)。

#### 29 30 (i) Kennedy ら (1976) のラット 13 週間試験

31 FAS17 でも引用されている Kennedy ら (1976) の報告によれば、離  
32 乳 SD ラット (各群雌雄各 10 匹) について、対照群のほか、表 5 のよ  
33 うな混餌投与群を設定し、13 週間の投与を行う試験が実施されている。  
34 その結果、⑥群の雄 1 匹が投与 2 週に死亡したが、これは呼吸器感染に  
35 よるものと推定されている。そのほか、一般状態、体重、摂餌量、血液  
36 学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量 (肝臓、腎臓、脾臓、  
37 生殖器、心臓及び脳) 並びに剖検及び病理組織学的検査において被験物  
38 質の投与に関連した変化は認められなかつたとされている。(参照 9、  
39 92)

1  
2

表5 Kennedyら(1976)の試験における群設定

群	用量
①	サッカリンナトリウム 2%
②	OSBA 2%
③	$\sigma$ -CBSA-NH <sub>4</sub> 2%
④	サッカリンナトリウム 0.01%+OSBA 0.045%+ $\sigma$ -CBSA-NH <sub>4</sub> 0.045%
⑤	サッカリンナトリウム 0.05%+OSBA 0.225%+ $\sigma$ -CBSA-NH <sub>4</sub> 0.225%
⑥	サッカリンナトリウム 0.2%+OSBA 0.9%+ $\sigma$ -CBSA-NH <sub>4</sub> 0.9%

3  
4

(j) Homburger (1978) のラット 2 年間試験

IARC73 及び FAS17 でも引用されている Homburger (1978) の報告によれば、約 8 週齢の SD ラット (各群雄 25 匹) について、対照群のほか、モンサント社製サッカリンナトリウム (OTSA を 345 ppm 含有) 及びメルク社製サッカリンナトリウム (不純物含量不詳) からそれぞれ実験室で製造したサッカリン (1、5%) を混餌投与する群を設定し、2 年間の投与を行う試験が実施されている。なお、投与開始 6 か月間以内に死亡した動物については放棄したとされている。その結果、剖検において異常がみられた組織・器官のすべて及び各群 12 匹以上の組織・器官について行った病理組織学的検査において、膀胱、下垂体、乳腺及び皮下組織において腫瘍の発生がみられたが、それらの発生率は対照群を含む各群間で同様であったとされている。各サッカリン投与群で膀胱腫瘍の発生がみられた動物数については、i) 1%投与群で乳頭腫 1 匹、5%投与群で低グレードの非侵襲性移行上皮癌 1 匹、ii) 1%投与群で移行上皮癌 1 匹、5%投与群で 0 匹であったとされている (参照 4、9、93)。IARC ワーキンググループは、試験成績の報告が不十分であることを指摘している (参照 4)。

21  
22

(k) Anderson (1979) のラット 4 週間試験

IARC73 及び FAS17 における引用によれば、Anderson (1979) は、離乳雄 SD ラットにサッカリンナトリウム (0、1、3、5、7.5%) を 4 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、尿 pH の低下、尿量及び糞便中水分含量の増加、糞便中へのナトリウム及びカリウムの排泄量の増加並びに尿中へのカルシウム、マグネシウム及びリン酸の排泄量の増加がみられたとしている。また、5%以上の投与群に一過性の下痢がみられ、用量相関性の尿中アンモニア及び糞便臭の減少がみられたとされている。(参照 4、9)

31  
32

(l) Chowanec & Hicks (1979) のラット 2 年間試験

IARC73 でも引用されている Chowanec & Hicks (1979) の報告によれば、8 週齢の Wistar ラットについて、対照群 (雄 55 匹、雌 50 匹) のほか、RF 法で製造されたサッカリンナトリウム (OTSA を 698 ppm 含有) を飲水投与 (雄 75 匹、雌 50 匹 ; 2,000 mg/kg 体重/日 + 塩化アンモニウム (0、0.5% (当初 4 週間のみ 1%))) 又は混餌投与 (飼料 : Standard 41B Laboratory Rat Diet) (雌雄各 75 匹 ; 4,000 mg/kg 体重/日) する群を設定し、2 年間の投与を行う試験が実施されている。その結果、体重については、サッカリンナトリウム 2,000 mg/kg 体重/日飲

1 水投与群及び 4,000 mg/kg 体重/日混餌投与群に顕著な増加抑制が認め  
2 られ、飲水量については、飲水投与群で減少し、混餌投与群では増加し  
3 たとされている。尿検査においては、2,000 mg/kg 体重/日飲水投与群の  
4 雄で、尿 pH が投与 27 週までに 7.0 を超過(数匹で 8.5~9.0 に達した。)し、  
5 うち 3 匹で顕著な結晶尿がみられたが、塩化アンモニウム併用群では  
6 認められなかったとされている。4,000 mg/kg 体重/日混餌投与群雄を  
7 含めその他の群では尿 pH が 6.0~6.5 であったとされている。投与開始  
8 85 週後以降の全投与群の雌雄で尿路移行上皮過形成(軽度)の発生率<sup>(20)</sup>  
9 の増加がみられ、4,000 mg/kg 体重/日混餌投与群の雌雄では膀胱(11/90  
10 匹<sup>(20)</sup>)及び腎臓(22/90 匹<sup>(20)</sup>)のいずれにおいても有意な増加(p<0.05)  
11 が認められたが、2,000 mg/kg 体重/日飲水投与群の雌雄では腎臓  
12 (19/101 匹<sup>(20)</sup>)においてのみ有意な増加(p<0.05)が認められたとされ  
13 ている。病理組織学的検査では、全投与群の雌雄で腎末梢血管拡張症  
14 の発生率の増加が認められたとされている。過形成発生と結晶尿との間に  
15 一貫性のある相関性は見出されなかったとされている。一方、腫瘍性病  
16 変としては、投与開始 85 週後以降に、2,000 mg/kg 体重/日飲水投与群  
17 の雄の尿管(1/64 匹<sup>(20)</sup>)及び雌の腎盂(1/37 匹<sup>(20)</sup>)並びに 4,000 mg/kg  
18 体重/日混餌投与群の雄の膀胱(3/49 匹<sup>(20)</sup>)に腫瘍の発生が認められ、  
19 膀胱腫瘍の発生が認められた 3 匹ともに何らかの鉍質化が認められた  
20 とされている。なお、膀胱に寄生虫は認められなかったとされている。  
21 そのほか、乳腺、子宮、脾臓、精巣、皮膚及び皮下組織の腫瘍並びにリン  
22 パ腫及び白血病が投与群に散見されたが、発生率の有意な増加が認め  
23 られたものはなかったとされている(参照 4、9 4)。IARC ワーキン  
24 ググループは、対照群によくみられるリンパ腫及び白血病が見出されて  
25 いないこと及び病理組織学的検査が不十分であることを指摘している  
26 (参照 4)。

#### 27 (m) Taylor ら(1980)のラットを用いた二世代にわたる試験

28 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Taylor ら(1980)の報告に  
29 よれば、離乳 SD ラット(F<sub>0</sub>) (各群雄 10 匹、雌 20 匹)に RF 法で製  
30 造されたサッカリンナトリウム(純度不詳、OTSA を約 350 ppm 含有)  
31 (0<sup>(21)</sup>、0.01、0.1、1.0、5.0、7.5%; 0、5、50、500、2,500、3,750 mg/kg  
32 体重/日相当)を交配(約 10 週齢時)、妊娠及び出産を経て児動物の離  
33 乳まで混餌投与(飼料不詳)した後にと殺し、得られた児動物(F<sub>1</sub>) (各  
34 群雌雄各 48 匹)についても離乳後から各投与群で生存率が 20%になる  
35 まで F<sub>0</sub>と同様の混餌投与を行い、対照群の生存率が 20%になった時点  
36 <sup>(22)</sup>で全生存動物をと殺する試験が実施されている。その結果、生存率、  
37 血液学的検査及び器官重量については被験物質の投与に関連した影響  
38 は認められなかったとされている。体重については、F<sub>1</sub>の 5.0%以上の  
39 投与群の雌雄の離乳時に低値がみられ、その後も F<sub>1</sub>の 7.5%投与群の雄  
40 に増加抑制が認められたが、その摂餌効率に影響は認められなかったと  
41 されている。非腫瘍性病変として慢性肺疾患、慢性腎炎、腎杯ポリポー  
42

<sup>20</sup> 投与 85 週の時点での生存動物数を分母として算出されている。

<sup>21</sup> 基礎飼料に、サッカリンナトリウム 5%相当量のナトリウムを炭酸ナトリウムとして添加したものとされている。

<sup>22</sup> 離乳の約 28 か月後であったとされている。

1 ジス等が各群にみられたが、これらについて Taylor らは、加齢ラット  
2 にみられる典型的なものであり、被験物質の投与に関連したものではない  
3 としている。F<sub>1</sub>の7.5%投与群の雌で膀胱ドーム/中部移行上皮におけ  
4 る限局性の単純過形成の発生率の増加が認められ、雄でも統計学的に有  
5 意ではないが増加傾向がみられたとされている。これについて Taylor  
6 らは、関連性は明らかでないが加齢に伴って発生率が顕著に増加してい  
7 ること、形態学的には前がん病変ではないことを指摘している。F<sub>1</sub>の雄  
8 の膀胱腫瘍発生率<sup>(23)</sup>は、対照群で 1/29 匹 (3%)、5.0%投与群で 1/21 匹  
9 (5%)、7.5%投与群で 7/23 匹 (30%)<sup>(24)</sup>と、7.5%投与群で対照群より  
10 も有意に増加したとされている。また、5.0%以下の投与群では癌の発生  
11 は認められなかったとされている。一方、F<sub>1</sub>雌の膀胱腫瘍発生率は、対  
12 照群で 0/24 匹、5.0%投与群で 0/28 匹、7.5%投与群で 2/31 匹 (6%) と  
13 有意な増加は認められなかったとされている。投与開始後 18 か月間以  
14 上生存した動物の膀胱に寄生虫及び結石はみられず、中間と殺又は切迫  
15 殺され、結石がみられた動物の膀胱に過形成又は腫瘍の発生は認められ  
16 なかったことから、Taylor らは、*T.crassicauda* 及び結石は本試験にお  
17 ける膀胱腫瘍の発生に寄与しなかったとしている (参照 4、9、95)。  
18 IARC ワーキンググループは、7.5%投与群雄での膀胱移行上皮限局性過  
19 形成の発生率の増加に有意差が認められなかったのは、おそらく対照群  
20 雄での発生率が高かったためであろうと指摘している (参照 4)。

#### 21 22 (n) Arnold ら (1980) のラットを用いた二世世代にわたる試験

23 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Arnold ら (1980) の報告  
24 によれば、32 日齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各 50 匹 (250 mg/kg  
25 体重/日+塩化アンモニウム 1%投与群のみ雄 40 匹、雌 38 匹)) に M 法  
26 で製造されたサッカリンナトリウム (水溶性不純物を 40~50 ppm、  
27 OTSA を 0.05 ppm 未満含有) (0、5% ; 0、2,500 mg/kg 体重/日相当)  
28 を混餌投与 (飼料 : Master Laboratory Cubes) し、投与開始 90 日後  
29 に各群内で雌雄を 1:1 で 1 週間交配し、妊娠、出産及び哺育を経て 142  
30 週まで投与を継続した後にと殺するとともに、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各  
31 群雌雄各 49~50 匹) についても、生後 21 日に離乳後、F<sub>0</sub>と同様の投  
32 与を投与 127 週まで継続した後にと殺する試験が実施されている。その  
33 結果、一般状態については、F<sub>0</sub>及び F<sub>1</sub>ともに 5%投与群で水分に富ん  
34 だ糞便が観察されている。体重については、F<sub>0</sub>及び F<sub>1</sub>の 5%投与群の  
35 雌雄で被験物質の投与に関連した増加抑制が認められたとされている。  
36 また、20 か月齢となった F<sub>1</sub>の対照群及び 5%投与群 (各群のうち雌雄  
37 各 10 匹) について 24 時間摂水量及び 24 時間尿を検査した結果、5%  
38 投与群の雌雄ともに摂水量及び尿量が 1.5~2 倍に増加し、尿中へのナ  
39 トリウム及びリンの排泄量が有意に増加し、尿浸透圧は低下したとされ  
40 ている。5%投与群の雄ではカルシウムの排泄量の有意な増加も認めら  
41 れたとされている。F<sub>0</sub>及び F<sub>1</sub>の 5%投与群の高齢動物 (特に雄) の尿  
42 中については、ミルク状に濁った外観を呈し、羊毛状の沈渣 (酢酸で溶

<sup>23</sup> 投与開始 18 か月後の時点で生存していて病理組織学的検査を受けた動物の数を分母として腫瘍発生率が算出されている。

<sup>24</sup> 膀胱腫瘍 7 匹の内訳は、膀胱移行上皮癌 4 匹、移行上皮乳頭腫 2 匹及び移行上皮ポリープ 1 匹であったとされている。

1 解したためリン酸塩であると推定されている。) が認められたとされて  
2 いる。そのほか、生存率及び血液学的検査において、被験物質の投与に  
3 関連した異常は認められなかったとされている。肉眼的観察では腎臓及  
4 び膀胱に結石が散見されたが、フィルターを用いた尿ろ過物の観察では  
5 全群に結石が認められ、結石の構成成分についても被験物質の投与に関  
6 連した一定の傾向は認められなかったとされている。全動物について実  
7 施された病理組織学的検査においては、膀胱における腫瘍性病変として、  
8  $F_0$  では、良性腫瘍(膀胱移行上皮乳頭腫) が雄の対照群で 1/36 匹に対  
9 し 5%投与群で 4/38 匹、悪性腫瘍(膀胱移行上皮癌) が雄の対照群で  
10 0/36 匹に対し 5%投与群で 3/38 匹に認められ、全(良性+悪性)腫瘍発  
11 生率は対照群よりも有意に高かったとされている ( $p<0.03$ )<sup>(25)</sup>。なお、  
12  $F_0$  の雌には良性腫瘍及び悪性腫瘍のいずれの発生も認められなかった  
13 とされている。また、 $F_1$  では、良性腫瘍(膀胱移行上皮乳頭腫) が雄の  
14 対照群で 0/42 匹に対し 5%投与群で 4/45 匹、悪性腫瘍(膀胱移行上皮  
15 癌) が対照群で 0/42 匹に対し 5%投与群で 8/45 匹に認められ、悪性腫  
16 瘍発生率及び全腫瘍発生率はともに対照群よりも有意に高かったとさ  
17 れている ( $p<0.002$  及び  $p<0.01$ )。雌では良性腫瘍の発生はみられな  
18 かったが、悪性腫瘍(膀胱移行上皮癌) が対照群で 0/45 匹に対し 5%投与  
19 群で 2/49 匹に認められたとされている<sup>(26)</sup>。 $F_0$  でも被験物質の投与に関  
20 連した膀胱癌の発生が認められたことについて、Arnold らは、(i) 投与  
21 開始時期(32日齢)が早い(他の試験では6週齢以降)、(ii) 投与期間  
22 が長く(30~32か月間)、かつ、生存率が良好であったこと等によるも  
23 のではないかと考察している。なお、本試験において、膀胱に結石が散  
24 見されたが被験物質の投与及び腫瘍発生との関連は認められず、用いら  
25 れたラットの膀胱に線虫の寄生は認められなかったとされている。(参  
26 照4、9、96)

#### 27 (o) Schmähl & Habs (1980) のラットを用いた二世世代にわたる試験

28 IARC73における引用によれば、Schmähl & Habs (1980) は、SD  
29 ラット(週齢不詳)( $F_0$ ) (各群雌5~7匹)にサッカリン(化学形不詳)  
30 (OTSAを10ppm未満含有)(0、200、1,000、5,000mg/kg体重)を  
31 妊娠14日、17日及び20日に前夜絶飲食させた上で強制経口投与(胃  
32 内挿管)し、得られた児動物( $F_1$ )を生後観察する試験が実施されてい  
33 る。その結果、 $F_1$ の投与群の生存期間は被験物質の用量に応じて延長す  
34 る傾向がみられたが、対照群を含む各群間で生存期間に有意な差は認め  
35 られなかったとされている。投与群の膀胱に病変は認められず、他の組  
36 織・器官の腫瘍には発生率の増加も種類の差異も認められなかったとさ  
37 れている。IARCワーキンググループは、試験成績の報告が不十分であ  
38 ることを指摘している。(参照4)

#### 39 (p) Hooson ら (1980) のラット二段階膀胱発がん試験

25  $F_0$ については、最初に腫瘍が観察された投与開始87週後の時点での生存動物数(雄は対照群36匹及び投与群38匹、雌は対照群38匹及び投与群40匹)を分母として腫瘍発生率が算出されている。

26  $F_1$ については、最初に腫瘍が観察された投与開始67週後の時点での生存動物数(雄は対照群42匹及び投与群45匹、雌は対照群45匹及び投与群49匹)を分母として腫瘍発生率が算出されている。

IARC73 でも引用されている Hooson ら (1980) の報告によれば、離乳 Wistar ラット (対照群雌 63 匹、各投与群雌 50 匹) について、表 6 の①～⑦群を設定し、MNU (0、最大 1.5mg) を飽和水溶液 0.15 mL として尿道カテーテルにより単回膀胱内滴下するイニシエーション段階の処置の 2 週間から 2 年間のプロモーション段階の投与を飲水により行う試験 I が実施されている。また、試験 I の開始 6 か月後に、離乳 Wistar ラット (各群雌 50 匹) について、表 6 の⑧～⑩群を設定し、MNU (0、最大 1.5mg) を①～⑦群と同様に処置した 8 日後から 2 年間のプロモーション段階の投与を混餌により行う試験 II が実施されている。その結果、⑧群 (MNU 無処置サッカリン投与群) の全腫瘍発生率は⑥群 (対照群) と同様であったとされている。膀胱腫瘍の発生は認められなかったが、⑧群の 1 匹に限局性の膀胱移行上皮過形成 (中等度) が認められたとされている。MNU 処置により膀胱に増殖性病変が発生したが、②群 (MNU 処置 M 法製サッカリン投与群) 及び④群 (MNU 処置 RF 法製サッカリン投与群) のいずれにおいても①群 (MNU 処置対照群) と比較して膀胱癌の発生率の増加は認められなかったことから、RF 法製サッカリン及び M 法製サッカリンのいずれについても本試験において膀胱発がんプロモーション作用は認められなかったとされている。なお、本試験においてはサッカリンの投与による尿 pH の上昇並びに尿中の結石及び結晶の生成は認められず、膀胱に寄生虫は認められなかったとされている。(参照 4、97)。IARC ワーキンググループは、動物が離乳後数週間は通常飼料を与えられた後に本試験に供されたことを指摘している (参照 4)。

表 6 Hooson ら (1980) のラット二段階膀胱発がん試験における群設定

群	イニシエーション段階	プロモーション段階 (2 年間)
①	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	対照
②	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	M 法製サッカリン 2,830 mg/kg 体重/日飲水投与
③	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	OTSA 0.13 mg/kg 体重/日飲水投与
④	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	RF 法製サッカリン 3,250 mg/kg 体重/日飲水投与
⑤	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	OTSA 70 mg/kg 体重/日飲水投与
⑥	無処置	対照
⑦	無処置	OTSA 70 mg/kg 体重/日飲水投与
⑧	無処置	M 法製サッカリン 1,740 mg/kg 体重/日混餌投与
⑨	MNU 最大 1.5 mg 単回処置	OTSA 70 mg/kg 体重/日混餌投与
⑩	無処置	OTSA 70 mg/kg 体重/日混餌投与

(q) Nakanishi ら (1980) のラット 32/36 週間試験

IARC73 における引用によれば、Nakanishi ら (1980) は、10 週齢の雌雄 F344 ラットにサッカリンナトリウム (0、0.04、0.2、1、5% ; 0、20、100、500、2,500 mg/kg 体重/日相当) を 32 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、膀胱移行上皮に単純過形成、乳頭状/結節状過形成及び乳頭腫は認められなかったとしている。また、別途 10 週齢の雌雄 Wistar ラットにサッカリンナトリウム (0、5、5%) を 36 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、対照群に過形成の発生は認められなかったが、2 つの 5% 投与群でそれぞれ単純過形成が 10/26 匹及び 11/21 匹に、乳頭状過形成・乳頭腫が 5/26 匹及び 9/21 匹に認められたとしている。以上の F344 ラットを用いた試験結果と Wistar ラ

1 ットを用いた試験結果との違いについて、Nakanishi らは脆弱性の系統  
2 差の存在を指摘している。(参照4)

3  
4 (r) Fukushima & Cohen (1980) のラット最長 18 週間経時試験

5 IARC73 における引用によれば、Fukushima & Cohen (1980) は、  
6 6 週齢の雄 F344 ラットにサッカリンナトリウム (5% ; 2,500 mg/kg 体  
7 重/日相当) を混餌投与し、投与開始 1、3、5、7、9、12、15 又は 18  
8 週後に 3 匹ずつをと殺する経時試験を実施している。その結果、膀胱移  
9 行上皮において、投与開始 3 週後には空胞変性が、投与開始 5 週後には  
10 単純過形成が認められ、投与開始 9 週後までには有糸分裂像、過形成巢  
11 及び多形性微絨毛を伴い、過形成の程度が増大したとしている。[<sup>3</sup>H]チ  
12 ミジン標識率は投与群で常時増加しており、対照群の 5~8 倍に達した  
13 としている。(参照4)

14  
15 (s) Murasaki & Cohen (1981) のラット 10 週間試験

16 IARC73 における引用によれば、Murasaki & Cohen (1981) は、3  
17 ~5 週齢の雄 F344 ラットにサッカリンナトリウム (0.1、0.5、1、2.5、  
18 5%) を 10 週間混餌投与したところ、2.5%以上の投与群において[<sup>3</sup>H]  
19 チミジン標識率、過形成並びに単一性及び多形性の微絨毛の用量相関性  
20 の増加が認められたとしている。IARC ワーキンググループは、動物数  
21 が少ないことを指摘している。(参照4)

22  
23 (t) Lawson & Hertzog (1981) のラット 50 週間試験

24 IARC73 における引用によれば、Lawson & Hertzog (1981) は、3  
25 週齢の雄 SD ラットにサッカリンナトリウム (7.5% ; 3,750 mg/kg 体重  
26 /日相当) を最長 50 週間混餌投与しても、投与開始 1 週、15 週及び 50  
27 週の時点での膀胱移行上皮における[<sup>3</sup>H]チミジン標識率の増加は認め  
28 られなかったとしている。(参照4)

29  
30 (u) Demers ら (1981) のラット 104 週間試験

31 IARC73 における引用によれば、Demers ら (1981) は、5 週齢の雄  
32 F344 ラットについて、サッカリンナトリウム (5% ; 2,500 mg/kg 体重  
33 /日相当) を混餌投与する群並びに投与 0 週又は 4 週に FANFT 又は L-  
34 トリプトファンを並行して処置する群を設定し、104 週間投与を行う試  
35 験を実施している。その結果、被験物質の投与に関連した摂水量の増加  
36 と、それに伴う尿量の増加及び下痢が認められたとしている。尿中ナト  
37 リウム濃度の変化及び結石の生成は認められなかったとしている。唯一  
38 認められた異常は、投与初期の 3 か月間に認められた尿 pH の上昇であ  
39 ったとしている。(参照4)

40  
41 (v) West & Jackson (1981) のラット 16 週間試験

42 IARC73 における引用によれば、West & Jackson (1981) は、4 週  
43 齢の雄 SD ラットにサッカリンナトリウム (0、5%混餌 ; 2,500 mg/kg  
44 体重/日相当、4%飲水 ; 2,000 mg/kg 体重/日相当) を 16 週間投与する  
45 試験を実施している。その結果、5%混餌投与群では摂餌量及び摂水量、

1 尿量、結晶性尿中沈渣並びに過形成（軽度）の増加が認められたとして  
2 いる。一方、4%飲水投与群では尿浸透圧の増加が認められたとしてい  
3 る。（参照4）  
4

#### 5 (w) Fukushima ら（1983）のラット最長 52 週間経時試験

6 IARC73 でも引用されている Fukushima ら（1983）の報告によれば、  
7 6 週齢の ACI ラット、Wistar ラット、F344 ラット又は SD ラット（対  
8 照群雄 40～45 匹、投与群雄 40～48 匹）にサッカリンナトリウム（純  
9 度 99.5% : OTSA を 7 ppm 含有）（0、5%）を混餌投与（飼料：対照群  
10 Oriental MF、投与群 Oriental M）し、投与開始 12、24 又は 36 週後  
11 に各系統投与群 5 匹ずつを中間と殺し、ほかの生存動物については 52  
12 週間の投与を終了した後にと殺する経時試験が実施されている。その結  
13 果、各系統投与群のいずれにおいても生存率に影響はみられなかったと  
14 されている。体重については、各系統投与群のいずれにおいても低値が  
15 認められたとされている。最終と殺群の病理組織学的検査においては、  
16 Wistar ラット、F344 ラット及び SD ラットの膀胱に病変は認められな  
17 かったとされている。一方 ACI ラットの膀胱については、対照群で単  
18 純過形成が 1/28 匹にみられたのに対し、投与群では単純過形成が 25/32  
19 匹、乳頭状/結節状過形成が 20/32 匹、乳頭腫が 9/32 匹、癌が 3/32 匹に  
20 認められたとされている。なお ACI ラットについては、投与群の 1 匹  
21 に膀胱結石がみられ、対照群及び投与群ともに半数以上の動物の膀胱に  
22 *T.crassicauda* がみられたとされている。また、別途 6 週齢の F344 ラ  
23 ット（対照群雄 35 匹、投与群雄 50 匹）にサッカリンナトリウム（純度  
24 99.5% : OTSA を 7 ppm 含有）（0、5%）を混餌投与し、投与開始 0、4、  
25 8、12、16 又は 20 週後に投与群 5 匹ずつを中間と殺し、ほかの生存動  
26 物については 52 週間の投与を終了した後にと殺する経時試験が実施さ  
27 れている。その結果、体重については増加抑制が認められたとされてい  
28 る。走査型電子顕微鏡も用いた病理組織学的検査においては、投与開始  
29 12 週後以降に中間と殺した投与群の 1/5～2/5 匹の膀胱移行上皮に単純  
30 過形成及び乳頭状/結節状過形成がみられたとされている。投与開始 4、  
31 12 又は 20 週後に中間と殺した投与群の膀胱粘膜の[methyl-<sup>3</sup>H]チミジ  
32 ン標識率を測定したところ、投与開始 20 週後に有意な増加が認められ  
33 たとされている（参照4、98）。IARC ワーキンググループは、試験  
34 期間が短いことを指摘している（参照4）。  
35

#### 36 (x) Murasaki & Cohen（1983）の膀胱移行上皮凍結潰瘍処置ラット 2 週 37 間試験

38 IARC73 における引用によれば、Murasaki & Cohen（1983）は、凍  
39 結潰瘍処置された雄 F344 ラットの膀胱移行上皮については、その後の  
40 サッカリンナトリウム（0、5%）の 2 週間混餌投与期間中は、対照群及  
41 び投与群のいずれにおいても過形成及び微絨毛の形性の程度は同様で  
42 あったが、凍結潰瘍処置 2～8 週後には投与群において<sup>3</sup>Hチミジン標  
43 識率が増加したとしている。（参照4）  
44

#### 45 (y) Renwick & Sims（1983）のラット 1 か月間試験

1 IARC73 における引用によれば、Renwick & Sims (1983) は、雄 SD  
2 ラット成獣にサッカリンナトリウム (0, 7.5% ; 0, 3,750 mg/kg 体重/  
3 日相当) を 1 か月間混餌投与したところ、摂水量、合計尿量、排尿頻度  
4 及び平均尿量の増加が認められたとしている。(参照 4)

#### 6 (z) Schoenig ら (1985) のラットを用いた二世代にわたる試験

7 IARC73 でも引用されている Schoenig ら (1985) の報告によれば、  
8 約 6 週齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雄 52~250 匹、雌 104~500 匹<sup>27)</sup>)  
9 に M 法で製造されたサッカリンナトリウム (純度 99%超) (0, 1.0, 3.0,  
10 4.0, 5.0, 6.25, 7.5% ; 0, 500, 1,500, 2,000, 2,500, 3,125, 3,750 mg/kg  
11 体重/日相当) を混餌投与 (飼料 : Purina Rodent Chow No.5001) し、  
12 投与開始 62 日後に各群内で雌雄を 2 : 1 で交配し、母動物には妊娠及び  
13 哺育期間中も投与を継続し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雄 125~700  
14 匹) には離乳後 (28~38 日齢) からいずれかの群の生存率が 20%にな  
15 るまで (約 29 か月間) F<sub>0</sub> と同様の投与 (飼料については Purina Rodent  
16 Chow No.5002 に変更) を継続する試験が実施されている。加えて、(i)  
17 F<sub>0</sub> にその交配 4 日前から妊娠期間中サッカリンナトリウム (5.0%) を  
18 混餌投与し、出産後投与を中止して、哺育及び離乳を経た F<sub>1</sub> (以下この  
19 項において「妊娠中投与群」という。)、(ii) 哺育 1, 2 及び 3 週目の F<sub>0</sub>  
20 にサッカリンナトリウムを 1.0, 3.0 及び 5.0% 混餌投与し、離乳後サッ  
21 カリンナトリウムを 5.0% 混餌投与された F<sub>1</sub> (以下この項において「出  
22 生後投与群」という。)、(iii) F<sub>0</sub> に馬尿酸ナトリウム<sup>28)</sup> を 5.0% 混餌投与  
23 し、馬尿酸ナトリウムを離乳後に 5.0%、8 週齢以降には 3.0%<sup>29)</sup> 混餌投  
24 与された F<sub>1</sub> (以下この項において「馬尿酸塩投与群」という。) が設定  
25 されている。

26 F<sub>0</sub> については、4 か月間投与が行われた結果、3.0%以上の投与群の雌  
27 雄で摂餌量の低下を伴わない体重増加抑制及び同腹生存胎児数の減少、  
28 5.0%以上の投与群の雌雄で水分を含んだ多量の糞便、摂水量及び尿量の  
29 増加並びに朝の新鮮尿 pH の低下が認められたとされている。生存率及  
30 び行動に被験物質の投与の影響は認められなかったとされている。F<sub>0</sub>  
31 の妊娠中投与群では、摂水量が低下したほかは 5.0%投与群と同様の変  
32 化が認められたが、F<sub>0</sub> の出生後投与群では何ら変化が認められなかつ  
33 たとされている。F<sub>0</sub> の馬尿酸塩投与群では雌雄ともに体重増加抑制がみら  
34 れたが、サッカリンナトリウム投与群とは異なり摂餌量の低下を伴って  
35 いたとされている。また、F<sub>0</sub> の馬尿酸塩投与群で摂水量及び尿量の増加  
36 並びに朝の新鮮尿 pH の低下が認められたが、サッカリンナトリウム  
37 5.0%以上の投与群よりも程度は小さかったとされている。F<sub>0</sub> の馬尿酸  
38 塩投与群でも同腹生存胎児数の減少が認められたほか、哺育中の死亡及  
39 び攻撃的行動の増加が認められたとされている。

40 離乳前の F<sub>1</sub> (雄) については、5.0%以上の投与群に貧血が認められ、

<sup>27</sup> Schoenig ら (1985) は、子宮内暴露相付き発がん性試験 3 報 (Tisdell ら (1974)、Taylor ら (1980) 及び Arnold ら (1980)) で雄ラット膀胱腫瘍の発生率増加が報告されていることから、雄ラット膀胱腫瘍発生機序、子宮内暴露相の意義等を確認するため、5.0%未満の投与群においては、既報の結果を勘案して、膀胱腫瘍発生率の統計学的に有意な増加を十分検出できるような数の動物を用いたとしている。

<sup>28</sup> サッカリンナトリウムと分子量及び体内動態が類似していることから選択したとされている。

<sup>29</sup> 5%混餌投与により新生児期及び離乳期に毒性が認められたため、3%混餌投与に減量されている。

1 F<sub>1</sub> (雄) の馬尿酸塩投与群には奇形及び哺育中死亡率の高値が認められ  
2 たとされている。離乳後の F<sub>1</sub> (雄) については、3.0%以上の投与群に、  
3 下痢ではないが多量の又は軟らかい糞便が認められたとされている。F<sub>1</sub>  
4 (雄) の 5.0%及び 7.5%投与群で生存率の高値が認められたとされてい  
5 る。体重については、F<sub>1</sub> (雄) の全投与群 (妊娠中投与群を除く。<sup>30)</sup>  
6 に哺育期間中の低値が認められたとされている。特に F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%  
7 以上の投与群での低値は、摂餌効率の低下を伴わず、かつ、全投与期間  
8 にわたって継続していたことから、明らかに被験物質の投与に関連した  
9 ものであるとされている。これについて Schoenig らは、哺育期間中に  
10 F<sub>0</sub> の 7.5%投与群の摂餌量が約 3 倍に増加して、最大 19 g/kg 体重/日に  
11 達したことが、離乳前の F<sub>1</sub> (雄) の 5.0%以上の投与群の貧血や 7.5%  
12 投与群の低体重といった F<sub>1</sub> (雄) の高用量群児動物の衰弱に関連してい  
13 ると考察している。摂水量については、F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の投与群  
14 に摂水効率の増加を伴う高値が認められ、F<sub>1</sub> (雄) の出生後投与群にお  
15 いても F<sub>1</sub> (雄) の 5.0%投与群と同程度の高値が認められたとされてい  
16 る。尿検査においては、投与開始後 3 か月間に F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の  
17 投与群及び出生後投与群で朝の新鮮尿 pH の低下が認められたが、投与  
18 開始 6 か月後以降にはそのような低下はみられなくなったとされてい  
19 る。また、F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の投与群及び出生後投与群ではほぼ全投  
20 与期間にわたって尿量の増加及び尿浸透圧の低下が認められたとされ  
21 ている。器官重量については、F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の投与群及び出生  
22 後投与群に膀胱の絶対重量及び相対重量の増加<sup>31)</sup>が認められたが、F<sub>1</sub>  
23 (雄) の 1.0%投与群、妊娠中投与群及び馬尿酸塩投与群にはそのよう  
24 な変化は認められなかったとされている。これについて Schoenig らは、  
25 尿量の増加のほか、通常の光学顕微鏡による組織学的検査では把握でき  
26 ない平滑筋肥大との関連性を指摘している。剖検では、膀胱移行上皮以  
27 外の組織・器官に変化は認められなかったとされている。膀胱移行上皮  
28 においては、F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の投与群で腫瘍が認められたが、F<sub>1</sub>  
29 (雄) の馬尿酸塩投与群には認められなかったとされている。病理組織  
30 学的検査 (F<sub>1</sub> のみ実施) において、非腫瘍性病変としては、対照群を含  
31 む各群に同様の発生率で膀胱炎が認められたほか、膀胱移行上皮の単純  
32 過形成発生の増加傾向がみられたとされている。しかしながら、「軽微」  
33 と分類されたものを除いた単純過形成の発生率 (2.7%) は、本試験に用  
34 いた動物種対照群に通常みられる発生率の範囲内であったとされてい  
35 る。腫瘍性病変としては、原発性の膀胱移行上皮腫瘍に関して、F<sub>1</sub> (雄)  
36 の 4.0%以上の投与群全体での良性腫瘍発生率、悪性腫瘍発生率及び全  
37 腫瘍発生率並びに F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%投与群での全腫瘍発生率に増加が認  
38 められ、F<sub>1</sub> (雄) の出生後投与群での全腫瘍発生率も F<sub>1</sub> (雄) の 5.0%  
39 投与群と同様であったとされている。一方、F<sub>1</sub> (雄) の 1.0%投与群で  
40 の全腫瘍発生率<sup>32)</sup> (5/658 匹 ; 0.8%) は、対照群のそれ (0/324 匹 ; 0%)

<sup>30</sup> 妊娠中投与群でも離乳後 10 週間一時的な体重の低値がみられたが、これについて Schoenig らは、離乳までは体重に影響はみられなかったことから、離乳時に F<sub>1</sub> 投与動物の無作為選抜を行った際に比較的体重の低い動物が選ばれたためであると考察している。

<sup>31</sup> 乳頭状/結節状過形成又は腫瘍がみられた動物は比較の対象から除外されている。

<sup>32</sup> 膀胱腫瘍の発生が初めて認められた 15 か月齢時点での生存動物数を分母として腫瘍発生率が算出されている。

1 と差がなく、当該試験施設での類似の試験における対照群発生率背景デ  
2 ータ (0.8%) と同等であったとされている。さらに、F<sub>1</sub> (雄) の 1.0%  
3 投与群の 5 匹に認められた腫瘍は F<sub>1</sub> (雄) の 3.0%以上の投与群に認め  
4 られたものよりも実質的に小さかったこと等から、Schoenig らは、本  
5 試験における膀胱腫瘍の発生増加に係る NOEL を 1.0%混餌としている。  
6 なお、Schoenig らは、F<sub>1</sub> (雄) の高用量群の生存期間は対照群よりも  
7 長く、投与群で腫瘍発生が認められた動物の生存期間は腫瘍発生が認め  
8 られなかった動物のそれと同様であったことから、本試験においてサッ  
9 カリンナトリウムの投与により発生した膀胱腫瘍は生命を脅かすよう  
10 なものではないことを指摘している。また、膀胱での腫瘍発生率と鉍質  
11 沈着発生率との間に相関性は認められなかったが、膀胱腫瘍発生の有無  
12 と尿量の増加及び尿浸透圧の低下との間に相関性が認められたとされ  
13 ている。これについて Schoenig らは、膀胱腫瘍が発生した動物では、  
14 サッカリンナトリウムの吸収によって摂水量が増加して体内循環に多  
15 くの水が取り込まれ、上記のような生理学的変化が生じたと推定してい  
16 る。さらに、F<sub>1</sub> (雄) の出生後投与群には膀胱移行上皮腫瘍発生率の増  
17 加が認められたのに対し、F<sub>1</sub> (雄) の妊娠中投与群にはその増加が認め  
18 られなかったことから、Schoenig らは、本試験において子宮内暴露相  
19 が膀胱移行上皮腫瘍の発生増加にほぼ関与しなかったと考察している。  
20 なお、続発性・転移膀胱移行上皮腫瘍の発生率は対照群を含む各群で同  
21 様であったとされている。被験物質の投与に関連した腎臓での過形成及  
22 び腫瘍の発生は認められなかったが、1.0%以上の投与群、出生後投与群  
23 及び馬尿酸塩投与群に腎臓鉍質沈着の増加が認められたとされている。  
24 他方、妊娠中投与群の腎臓鉍質沈着は対照群と同様であったとされてい  
25 る。Schoenig らは、馬尿酸塩投与群でサッカリンナトリウム投与群と  
26 同様の沈着がみられたことから、この腎臓鉍質沈着は尿中に多量の鉍質  
27 が排泄されたことに関連したものであると考察している。尿管及び尿道  
28 には、被験物質の投与に関連した病変は認められなかったとされている  
29 (参照 4、99)。IARC ワーキンググループも、1.0%投与群で被験物  
30 質の投与に関連した影響はないことを指摘しているほか、3.0%投与群で  
31 膀胱移行上皮癌の発生率に有意な増加がないこと (p=0.25) を指摘して  
32 いる (参照 4)。  
33

#### 34 (a') Schoenig & Anderson (1985) のラットを用いた二世世代にわたる試験

35 IARC73 における引用によれば、Schoenig & Anderson (1985) は、  
36 二世世代にわたる試験において、7 週齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) 及びその児動  
37 物 (F<sub>1</sub>) にサッカリンナトリウム (0、1、3、5、7.5% ; 0、500、1,500、  
38 2,500、3,750 mg/kg 体重/日相当) 又は馬尿酸ナトリウム (5%) を混餌  
39 投与する試験を実施している。その結果、サッカリンナトリウム投与群  
40 では、尿量の増加、尿中ナトリウム濃度の増加、尿浸透圧の低下並びに  
41 尿中のカリウム及び亜鉛濃度の低下といった尿の生理学的変化のほか、  
42 膀胱重量並びに膀胱の水分及びミネラル含量の増加が認められたとし  
43 ている。馬尿酸ナトリウム投与群でも類似の影響がみられたが、程度は  
44 サッカリンナトリウム投与群よりも弱かったとしている。別途設定した  
45 出生後直後からの投与群でも同様の変化が認められたが、同じく別途設

1 定した子宮内暴露のみ（出生後は暴露なし）投与群ではそのような変化  
2 は認められなかったとしている。性差としては、雌では盲腸重量の増加  
3 が認められ、雄では尿中のサッカリンナトリウム及び鉍質の濃度の高値  
4 が認められたとしている。5%以上のサッカリンナトリウム投与群の雄  
5 では尿中のナトリウム、カリウム、マグネシウム及び亜鉛の濃度が有意  
6 に増加したが、そのような増加は同群の雌には認められなかったとして  
7 いる。Schoenig & Anderson は、本試験において認められたような尿の  
8 生理学的変化がサッカリンナトリウム高濃度混餌投与ラットでの膀胱  
9 腫瘍発生増加の原因として重要な役割をもつと指摘している。（参照4）  
10

#### 11 (b') Hibino ら（1985）のラット 112 週間試験

12 IARC73 でも引用されている Hibino ら（1985）の報告によれば、7  
13 週齢の F344 ラット（対照群雄 31 匹、投与群雄 68 匹）にサッカリンナ  
14 トリウム（0、5%）を混餌投与（飼料：Oriental MF）し、数回の間  
15 と殺を経て、投与 112 週の投与終了後に最終と殺する試験が実施されて  
16 いる。その結果、体重については、投与 20 週以降の投与群に増加抑制  
17 が認められたとされている。剖検及び病理組織学的検査において、膀胱  
18 の単純過形成が、対照群では投与開始 4 週後中間と殺群の 2/6 匹、20  
19 週後中間と殺群の 1/5 匹及び 100 週後中間と殺群の 1/7 匹に散見された  
20 が、投与群ではいずれの中間と殺群においても約 2/3 の動物に認められ  
21 たとされている。また、膀胱の乳頭状/結節状過形成が、投与開始 8、12、  
22 20、80 及び 112 週後中間と殺投与群の約 1/3 の動物に認められたが、  
23 対照群では認められなかったとされている。なお、膀胱移行上皮の乳頭  
24 腫及び癌は対照群及び投与群のいずれにも認められなかったとされて  
25 いる。また、膀胱に *Tcrassicauda* は認められなかったとされている。  
26 投与開始 90 週以降の中間と殺投与群 20 匹及び同対照群 11 匹の胃を検  
27 査したところ、投与群の 20/20 匹に境界縁の過角化症、5/20 匹に乳頭腫、  
28 4/20 匹に腺胃の潰瘍が認められたとされているが、対照群及び投与群と  
29 もに扁平上皮癌及び腺癌の発生は認められなかったとされている（参照  
30 4、100）。IARC ワーキンググループは、各群の胃のサンプリング  
31 が不完全であることを指摘しており、原著を見る限り胃乳頭腫との  
32 Hibino らの判定には同意できないとしている（参照4）。  
33

#### 34 (c') Fukushima ら（1986）のラット 24 週間試験

35 IARC73 における引用によれば、Fukushima ら（1986）は、雄 F344  
36 ラットに、サッカリン、サッカリンナトリウム、アスコルビン酸又はア  
37 スコルビン酸ナトリウム（各 0、5%；0、2,500 mg/kg 体重/日相当）を  
38 混餌投与し、投与 8、16 及び 24 週の尿 pH、尿中ナトリウム濃度、膀  
39 胱移行上皮過形成の有無及び走査型電子顕微鏡も用いた病理組織学的  
40 変化をみる試験を実施している。その結果、光学顕微鏡を用いた検査で  
41 は投与 24 週の時点で変化は認められなかったが、走査型電子顕微鏡を  
42 用いた検査では、投与 24 週の時点のサッカリンナトリウム投与群の 1/5  
43 匹及び投与 8 週の時点のアスコルビン酸ナトリウム投与群の 1/5 匹の膀  
44 胱において、それぞれ軽微な多形性微絨毛が認められたとしている。そ  
45 のほか、サッカリンナトリウム投与群及びアスコルビン酸ナトリウム投

1 与群には単一性の短い微絨毛や粘着性又は葉状の microridge (中等度)  
2 が認められたが、サッカリン投与群及びアスコルビン酸投与群にはみら  
3 れなかったとしている。さらに、サッカリンナトリウム投与群及びアス  
4 コルビン酸ナトリウム投与群では尿 pH が上昇したが、サッカリン投与  
5 群ではそれが逆に低下し、アスコルビン酸投与群では尿 pH が対照群と  
6 同程度であったとしている。また、サッカリンナトリウム及びアスコル  
7 ビン酸ナトリウム投与群では尿中ナトリウム排泄量が増加したが、サッ  
8 カリン投与群及びアスコルビン酸投与群では増加しなかったとしてい  
9 る。(参照4)

10  
11 (d') Tatematsu ら (1986) のラット 21 日間試験

12 IARC73 における引用によれば、Tatematsu ら (1986) は、7 週齢の  
13 雄 F344 ラットにサッカリンナトリウム (0、5% ; 0、2,500 mg/kg 体重  
14 /日相当) を 21 日間混餌投与したところ、投与群の膀胱における<sup>[3H]</sup>チ  
15 ミジン標識率及びオルニチンデカルボキシラーゼ活性が対照群の約 5  
16 倍になったとしている。(参照4)

17  
18 (e') Sakata ら (1986) 及び Yu ら (1992) のラット二段階膀胱発がん試験

19 IARC73 における引用によれば、Sakata ら (1986) 及び Yu ら (1992)  
20 は、ラット二段階膀胱発がん試験において、脂質酸化防止剤 (アスピリ  
21 ン及びノルジヒドログアイアレチン酸) がサッカリンナトリウムの膀胱  
22 発がんプロモーション作用を阻害したとしている。この結果から、サッ  
23 カリンナトリウムの膀胱発がんプロモーション作用には酸化的傷害が  
24 関わっていることを指摘している。(参照4)

25  
26 (f') Garland ら (1989) のラット 10 週間試験

27 IARC73 でも引用されている Garland ら (1989) の報告によれば、5  
28 週齢の F344 ラット (各群雄 10 匹) にサッカリンナトリウム (純度  
29 99.9%) (0、5、7.5% ; 0、2,500、3,750 mg/kg 体重/日相当) を 3 種類  
30 の飼料 (Prolab 3200、NIH-07 又は AIN-76A) のいずれかを用いて 10  
31 週間混餌投与し、と殺する試験を実施している。その結果、膀胱移行上  
32 皮の<sup>[3H]</sup>チミジン標識率は、Prolab 3200 混餌において対照群で 0.05%  
33 であったのに対し 7.5%投与群で 0.43%、NIH-07 混餌において対照群で  
34 0.04%であったのに対し 7.5%投与群で 0.14%と増加したが、AIN-76A  
35 混餌においては対照群及び 7.5%投与群ともに 0.04%と増加しなかつた  
36 とされている。AIN-76A 混餌 7.5%投与群の投与 10 週の尿については、  
37 他の 2 飼料混餌投与群のそれと比較して、サッカリンナトリウム濃度及  
38 びカルシウム濃度が高く、カリウム濃度が低かったとされている。  
39 AIN-76A 混餌 7.5%投与群の尿 pH は 6.0 であり、Prolab 3200 混餌 7.5%  
40 投与群の 6.4 よりも低かったとされている。以上より、Garland らは、  
41 飼料の種類によってサッカリンナトリウムの細胞増殖誘発作用は変化  
42 するとしている。(参照4、101)

43  
44 (g') Debiec-Rychter & Wang (1990) のラット 16 週間試験

45 IARC73 における引用によれば、Debiec-Rychter & Wang (1990) は、

1 離乳雄 F344 ラットにサッカリンナトリウム (0、5% ; 0、2,500 mg/kg  
2 体重/日) を 2 種類の飼料 (Wayne 又は AIN-76A) のいずれかを用いて  
3 最長 16 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、AIN-76A 混  
4 餌において対照群及び投与群の尿 pH はともに 5.5~6.5 であったが、  
5 Wayne 混餌において投与群の尿 pH は 7.4 になったとしている。いずれ  
6 の投与群においても<sup>[3H]</sup>チミジン標識率は対照群の約 5 倍に増加したが、  
7 AIN-76A を用いた混餌投与群においては炭酸ナトリウム 2% を添加する  
8 と<sup>[3H]</sup>チミジン標識率は 6~9 倍に増加したとしている。(参照 4)  
9

#### 10 (h') Cohen ら (1990) のラット 10 週間試験

11 IARC73 における引用によれば、Cohen ら (1990) は、4 週齢の雄  
12 F344 ラットにサッカリンナトリウム (0、3、5、7.5% ; 0、1,500、2,500、  
13 3,750 mg/kg 体重/日相当) を混餌投与 (飼料 : Prolab3200) し、投与  
14 開始 4、7 又は 10 週後に<sup>[3H]</sup>チミジンを注射し、その 1 時間後にと殺す  
15 る試験を実施している。その結果、3% 投与群では、<sup>[3H]</sup>チミジン標識率  
16 及び過形成の増加は認められなかったが、細胞の壊死及び剥離が認めら  
17 れたとしている。5% 投与群では、投与開始 10 週後に<sup>[3H]</sup>チミジン標識  
18 率が 2 倍に増加し、広範囲にわたって細胞傷害が認められたとしている。  
19 7.5% 投与群では、投与開始 4 週後に<sup>[3H]</sup>チミジン標識率が 3 倍に増加し、  
20 投与開始 4 週後及び 10 週後に過形成の増加が認められたとしている。  
21 (参照 4)  
22

#### 23 (i') Homma ら (1991) のラット 80 週間試験

24 IARC73 でも引用されている Homma ら (1991) の報告によれば、6  
25 週齢の SD ラット (対照群雄 14 匹、投与群雄 36 匹) 又は無アルブミン  
26 血症ラット (SD ラット変異種) (対照群雄 12 匹、投与群雄 35 匹) に  
27 サッカリンナトリウム (0、5%) を 80 週間混餌投与する試験が実施さ  
28 れている。その結果、生存率及び体重に明らかな変化は認められなかつ  
29 たとされている。膀胱腫瘍の発生は認められなかったが、各系統の投与  
30 群各 2 匹の膀胱に単純過形成がみられたとされている (参照 4、102)。  
31 IARC ワーキンググループは、試験期間が 2 年間未満であることを指摘  
32 している (参照 4)。  
33

#### 34 (j') Cohen ら (1991) のラット 4 週間試験

35 IARC73 における引用によれば、Cohen ら (1991) は、5 週齢の雄  
36 F344 ラットにサッカリンナトリウム (7.5% ; 3,750 mg/kg 体重/日相当)  
37 を混餌投与 (飼料 : Prolab3200) し、投与開始 2 週後及び 4 週後にフ  
38 ィルターを用いて尿を採取する試験を実施している。その結果、対照群  
39 の尿中には典型的なリン酸結晶がみられた一方、投与群の尿中にみられ  
40 た沈渣の約 1/2 はケイ酸を含有するギザギザの形状をしたものであり、  
41 当該ケイ酸含有結晶は尿路移行上皮表面の microabrasion の原因にな  
42 ったとしている。放射能標識サッカリンナトリウムを添加した尿をゲル  
43 ろ過に供したところ、放射能を含むたん白フラクション 2 種類が得られ、  
44 一方は  $\alpha_{2\mu}$ -グロブリンのサイズ、もう一方はアルブミンのサイズに合致  
45 したとしている。Cohen らは、pH が 6.5 超の尿中では、サッカリン-

たん白複合体がケイ酸とともに沈渣を生成すると主張している。(参照 4)

#### (k') Garland ら (1991、1993) のラットを用いた二世代にわたる試験

IARC73 における引用によれば、Garland ら (1991、1993) は、Schoenig ら (1985) のラットを用いた二世代にわたる試験のプロトコルでの消化管及び尿管の生理学的変化等を観察する試験を実施している。その結果、サッカリンナトリウム 7.5%投与群 (7.5%未満の投与群では測定せず。) では、尿 pH、尿中カリウム濃度及び尿中カルシウム濃度の低下並びに尿量、尿中ナトリウム濃度、尿中マグネシウム濃度、尿中リン酸濃度及び尿中アンモニア濃度の増加が認められたとしている。また、サッカリンナトリウム 7.5%投与群では貧血、血清コレステロール濃度の 50%増加、血清トリグリセリド濃度の 10 倍増加並びに血清及び肝臓中ビタミン類濃度の減少が認められたが、7.5%未満の投与群ではそのような変化は認められなかったとしている。Garland らは、これら生理学的変化等について、尿及び膀胱の変化を除き膀胱腫瘍の発生増加に関連性はないとし、それらの多くは食餌での鉄又は葉酸の補給により予防されたことから、鉄不足による貧血に関連したものであるとしている。なお、鉄又は葉酸の補給によって膀胱移行上皮の過形成の頻度が増大したとしている。(参照 4)

#### (l') Garland ら (1994) のラット 10 週間試験

IARC73 における引用によれば、Garland ら (1994) は、F344 ラット、去勢 F344 ラット又は  $\alpha_{2u}$ -グロブリンを生合成しない系統である NBR ラットの雄にサッカリンナトリウム (0、7.5% ; 0、3,750 mg/kg 体重/日相当) を 10 週間混餌投与 (飼料 : Prolab3200) する試験を実施している。その結果、光学顕微鏡を用いた病理組織学的検査では、F344 ラット投与群の 7/10 匹、NBR ラット投与群の 1/10 匹の膀胱移行上皮に過形成が認められ、F344 ラット対照群には認められなかったものの、去勢 F344 ラット対照群の 4/10 匹の膀胱移行上皮に過形成が認められたとしている。走査型電子顕微鏡を用いた病理組織学的検査では、F344 ラット投与群及び去勢 F344 ラット投与群で最も大きな膀胱移行上皮過形成が認められた一方、NBR ラット投与群での膀胱移行上皮過形成の程度は弱かったとしている。盲腸重量の増加の程度についてもこれと同様のパターンであったとしている。NBR ラット対照群の尿量は F344 ラット対照群のそれよりも 3 倍多かったが、F344 ラット、去勢 F344 ラット及び NBR ラットの投与群の尿量はいずれも各対照群の尿量の 3 ~4 倍に増加したとしている。(参照 4)

#### (m') Uwagawa ら (1994) のラット 8 週間試験

IARC73 における引用によれば、Uwagawa ら (1994) は、6 週齢の雄 F344 ラット又は NBR ラットにサッカリンナトリウム (5% ; 2,500 mg/kg 体重/日相当)、アスコルビン酸ナトリウム (5%) 又はウラシル (3%) を 8 週間混餌投与する試験を実施している。その結果、アスコルビン酸ナトリウムの投与によって F344 ラットには膀胱に単純過形成

1 の発生が認められ、NBR ラットにはそれが認められなかった一方、ウ  
2 ラシルの投与では両系統のラットの膀胱に乳頭状過形成が認められた  
3 としている。走査型電子顕微鏡を用いた病理組織学的検査において、ウ  
4 ラシルの投与によって両系統ラットの膀胱に重度の病変の発生が認め  
5 られたが、サッカリンナトリウム又はアスコルビン酸ナトリウムの投与  
6 では F344 ラットのみの膀胱にいくつかの病変の発生が認められたにと  
7 どまったとしている。BrdU 染色指数は、サッカリンナトリウム投与群  
8 及びアスコルビン酸ナトリウム投与群の F344 ラットでそれぞれ対照群  
9 の 20 倍及び 36 倍であったのに対し、ウラシル投与群の両系統ラットで  
10 ともに対照群の 50 倍超と、大きな差がみられたとしている。F344 ラッ  
11 トでは、サッカリンナトリウム投与群及びアスコルビン酸ナトリウム投  
12 与群のいずれにおいても尿 pH 及び尿中ナトリウム濃度が上昇し、アス  
13 コルビン酸ナトリウム投与群にのみ尿量の減少が認められたとしてい  
14 る。NBR ラットには、アスコルビン酸ナトリウム投与群において尿量  
15 の有意な増加が認められたとしている。(参照 4)

#### 16 (n') Cohen ら (1995) のラットを用いた二世世代にわたる試験 I

17 IARC73 における引用によれば、Cohen ら (1995) は、離乳 F344 ラ  
18 ット及び離乳 SD ラットの雌雄 (F<sub>0</sub>) にサッカリン又はサッカリンナト  
19 リウム (0、5% ; 0、2,500 mg/kg 体重/日相当) を 2 週間混餌投与 (飼  
20 料 : Prolab3200) した後に交配し、児動物 (F<sub>1</sub>) を得る試験を実施し  
21 ている。その結果、F344 ラットでは、F<sub>1</sub> のサッカリンナトリウム投与  
22 群の 21 日齢、63 日齢及び 91 日齢の雄で膀胱の [<sup>3</sup>H]チミジン標識率の  
23 増加が認められたが、生後 7 日までの F<sub>1</sub> にはそのような変化はみられ  
24 なかったとしている。なお、F<sub>1</sub> のサッカリン投与群の雌雄でもそのよう  
25 な変化は認められなかったとしている。SD ラットでは、F<sub>1</sub> の雌雄とも  
26 に 21 日齢動物の膀胱移行上皮の細胞増殖が認められたが、F<sub>1</sub> の 7 日齢  
27 児動物並びに妊娠 17 日及び妊娠 21 日の F<sub>1</sub> 胎児には膀胱移行上皮の細  
28 胞増殖は認められなかったとしている。(参照 4)

#### 29 (o') Cohen ら (1995) のラットを用いた二世世代にわたる試験 II

30 IARC73 における引用によれば、Cohen ら (1995) は、雄 F344 ラッ  
31 ト (F<sub>0</sub>) にアスコルビン酸ナトリウム (最高用量 6.84% ; 3,400 mg/kg  
32 体重/日相当) 又はサッカリンナトリウム (5、7.5% ; 2,500、3,750 mg/kg  
33 体重/日相当) + 塩化アンモニウム (0、1.23、1.85% ; 0、620、920 mg/kg  
34 体重/日相当) を混餌投与し、交配して得られた児動物 (F<sub>1</sub>) に F<sub>0</sub> と同  
35 様の投与を行い、F<sub>1</sub> 雄については 16 週齢時に BrdU を腹腔内注入して  
36 その 1 時間後に、F<sub>1</sub> 雌については 21 日齢時にと殺する試験を実施して  
37 いる。その結果、サッカリンナトリウム投与群には摂水量の増加がみら  
38 れたが、アスコルビン酸ナトリウム投与群にはみられなかったとしてい  
39 る。F<sub>1</sub> のサッカリンナトリウム 7.5% 投与群については毒性が発現した  
40 ため投与途中で切迫殺され、5% 投与群についても体重増加抑制が認め  
41 られたとしている。投与 37 日のサッカリンナトリウム 5% 投与群の尿  
42 pH は、投与 100 日までの対照群と同様 6.5 を超過していたが、1.23%  
43 塩化アンモニウム併用群では 6.5 を下回っていたとしている。アスコル  
44  
45

1 ビン酸ナトリウム投与群の尿 pH も対照群のそれを有意に上回る高値で  
2 あったとしている。F<sub>1</sub>のサッカリンナトリウム 5%投与群及びアスコル  
3 ビン酸ナトリウム高用量群の雄の尿中にはリン酸カルシウムを含有す  
4 る非晶質沈渣の生成が認められたが、対照群、アスコルビン酸ナトリウム  
5 低用量群及びサッカリンナトリウム+塩化アンモニウム併用群の尿  
6 中にはそのような沈渣の生成は認められなかったとしている。F<sub>1</sub>のサッ  
7 カリンナトリウム 5%投与群及びアスコルビン酸ナトリウム最高用量群  
8 の膀胱では<sup>3</sup>Hチミジン標識率の増加及び過形成の発生が認められた  
9 が、サッカリンナトリウム+塩化アンモニウム併用群の膀胱では過形成  
10 の発生は認められなかったとしている。サッカリンナトリウム投与群で  
11 は塩化アンモニウム併用の有無にかかわらず盲腸の拡張が認められた  
12 が、アスコルビン酸ナトリウム投与群では盲腸の拡張は認められなかつ  
13 たとしている。(参照 4)

#### 14 15 (p') Cohen ら (1995) のラット 10 週間試験

16 IARC73 における引用によれば、Cohen ら (1995) は、雄 F344 ラッ  
17 トにサッカリンナトリウム (7.5%) 又はそれと等モルの各種ナトリウム  
18 塩を 10 週間混餌投与し、走査型電子顕微鏡も用いて尿路移行上皮を観  
19 察する試験を実施している。その結果、サッカリンのほか、アスコルビ  
20 ン酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、クエン酸、エリソルビン酸若し  
21 くは炭酸のナトリウム塩又は塩化ナトリウムの投与群で、様々な程度の  
22 尿路移行上皮細胞増殖が認められるとともに、リン酸カルシウムを含有  
23 する尿中沈渣の生成 (定量はされていない。) が認められたとしている。  
24 他方、サッカリンナトリウム 7.5%投与群に塩化アンモニウム 1.85%を  
25 併用したところ、尿路移行上皮細胞増殖及び尿中沈渣の生成は認められ  
26 なかったとしている。(参照 4)

#### 27 28 (q') Ogawa ら (1996) のラット 72 週間試験

29 IARC73 における引用によれば、Ogawa ら (1996) は、離乳雄 F344  
30 ラットにサッカリンナトリウム (5% ; 2,500 mg/kg 体重/日相当) を最  
31 長 72 週間混餌投与 (飼料 : ProLab3200) し、膀胱移行上皮細胞のウロ  
32 プラキン免疫染色を行い、過形成変化をスコア化する試験を実施してい  
33 る。その結果、サッカリンナトリウム投与により発生した単純過形成の  
34 ウロプラキン免疫染色パターンは、別途アスコルビン酸ナトリウムの投  
35 与により発生した単純過形成のそれと全く同一であったとしている。  
36 (参照 4)

#### 37 38 b. マウス

##### 39 (a) Allen ら (1957) のマウス 52 週間試験 (参考)

40 経口投与による試験ではないので参考データであるが、IARC73 でも  
41 引用されている Allen ら (1957) の報告によれば、サッカリン (製法及  
42 び純度不詳) (0, 2 mg) をコレステロールで賦形したペレットとして  
43 マウス (性及び週齢不詳) (対照群 28 匹、投与群 20 匹) の膀胱内腔に  
44 挿入し、挿入後 52 週間の観察を行う試験が実施されている。挿入 30  
45 週後まで生存した動物のうち膀胱腫瘍の発生がみられたものは、対照群

1 で 1/24 匹であったのに対し、投与群で 4/13 匹 ( $p=0.01$ ) であったとさ  
2 れている (参照 4、103)。IARC ワーキンググループは、ペレット  
3 そのものによる腫瘍発生の可能性もあり、本試験成績の解釈を行うこと  
4 は極めて困難であるとしている (参照 4)。

#### 6 (b) Roe ら (1970) のマウス二段階発がん試験

7 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Roe ら (1970) の報告によ  
8 れば、9~14 週齢の交雑 Swiss マウス (対照群雌 100 匹、各投与群雌  
9 50 匹<sup>(33)</sup>) に、BP (0、50  $\mu\text{g}$ ) 含有ポリエチレングリコール 400 を 0.2 mL  
10 単回強制経口投与 (胃内挿管) するイニシエーション段階の処置を行い、  
11 その 7 日後からサッカリン (0、5% ; 0、7,500 mg/kg 体重/日相当) を  
12 プロモーションの段階で 18 か月間混餌投与する試験が実施されている。  
13 その結果、BP 処置サッカリン投与群で体重増加抑制がみられたことを  
14 除き、生存率及び体重に BP 処置又は被験物質投与による影響は認めら  
15 れなかったとされている。投与開始 18 か月後の時点で生存していた動  
16 物では、BP 無処置対照群と比較して BP 処置群の前胃上皮の乳頭腫及  
17 び癌の発生率の増加がみられたが、BP 処置の有無にかかわらずサッカ  
18 リンの投与に関連した当該腫瘍の発生率、個数及び程度の変化は認めら  
19 れなかったとされている。膀胱について注意深く肉眼的観察を行ったが、  
20 いずれの群においても異常の認められた動物はなかったとされている。  
21 なお、膀胱についての病理組織学的検査は行われていない。Roe らは、  
22 本試験の条件下においてサッカリンに発がん性及び BP 処置に係る発がん  
23 補助作用は認められなかったと結論している (参照 4、9、104)。  
24 IARC ワーキンググループは、BP には膀胱に対する臓器親和性がない  
25 こと及び膀胱について病理組織学的検査が行われていないことを指摘  
26 している (参照 4)。

#### 28 (c) Bryan ら (1970) のマウス膀胱埋込 400 日間試験 (参考)

29 経口投与による試験ではないので参考データであるが、Bryan ら  
30 (1970) の報告によれば、60~90 日齢の Swiss マウス (各回各群雌 100  
31 匹) の膀胱にサッカリンナトリウム (0、20% ; 0、4~4.8 mg<sup>(34)</sup>) を含  
32 むペレットを外科的に埋め込み、埋込み 400 日後に最終と殺し、埋込み  
33 後 175 日間以上生存した動物について脳以外の全組織・器官の剖検及び  
34 主要組織・器官の病理組織学的検査を行う試験が 2 回実施されている。  
35 その結果、膀胱癌発生率は、対照群で 1 回目 8/63 匹 (13%)、2 回目 5/43  
36 匹 (12%) であったのに対し、投与群で 1 回目 31/66 匹 (47%)、2 回目  
37 33/64 匹 (52%) と統計学的に有意な増加 ( $p<0.001$ ) が認められたと  
38 されている。膀胱に埋め込まれたペレット中のサッカリンナトリウムは、  
39 埋め込み 5.5 時間後に 50%、1.5 日後には 99%が溶出していたことから、  
40 Bryan らは、膀胱がサッカリンナトリウムに暴露された期間はごく短い  
41 ものであったとしている。(参照 105)

33 誤って対照群に体重の重い動物、投与群に体重の軽い動物を振り分けてしまったとされている。

34 ペレットの重量は 20~24 mg と報告されていることから換算。

1 (d) Kroes ら (1977) のマウスを用いた七世代にわたる試験

2 IARC73 及び FAS17 でも引用されている Kroes ら (1977) の報告に  
3 よれば、平均体重 14 g の Swiss マウス (週齢不詳) (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各  
4 50 匹) にサッカリン (主たる不純物として OTSA を 0.5% 含有) (0、0.2、  
5 0.5% ; 0、300、750 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を混餌投与し、投与開始 5 週後  
6 に各群内で雌 20 匹及び雄 10 匹を交配し、得られた児動物 (F<sub>1a</sub>) を離  
7 乳後にと殺<sup>(35)</sup>し、F<sub>0</sub> の各群内において残る雌 30 匹及び雄 15 匹を交配  
8 して児動物 (F<sub>1a'</sub>) を得て、F<sub>1a'</sub>以降各世代において同様に各群内雌雄 2 :  
9 1 で交配して F<sub>2a</sub>~F<sub>6a</sub> と 2 腹目の F<sub>2b</sub>~F<sub>6b</sub> を得て、F<sub>2a</sub> からは 3 腹目の  
10 F<sub>3c</sub> が得られている。

11 F<sub>1a</sub>~F<sub>5a</sub> について、離乳後各群雄 10 匹及び雌 20 匹に調整し、4 か月  
12 間の投与を行った後にと殺する試験が実施されている。その結果、F<sub>2a</sub>  
13 の 0.2% 投与群の雌 1 匹で投与開始 3 か月後に膀胱乳頭腫が認められた  
14 とされている。そのほか、体重に被験物質の毒性影響を示唆する変化は  
15 みられず、剖検及び病理組織学的検査 (腎臓、膀胱等) において被験物  
16 質の投与に関連した異常は認められなかったとされている。

17 F<sub>0</sub>、F<sub>3b</sub> 及び F<sub>6a</sub> について、各群雌雄各 50 匹に調整し、21 か月間の  
18 投与を行った後にと殺する試験が実施されている。その結果、生存率、  
19 体重、摂餌量 (F<sub>6a</sub> のみ観察) 及び血液学的検査において被験物質の投  
20 与に関連した明らかな変化は認められなかったとされている。病理組織  
21 学的検査において、F<sub>0</sub> の対照群の雌 1 匹に未分化の膀胱癌、F<sub>0</sub> の 0.2%  
22 投与群の雄 1 匹に非侵襲性の膀胱移行上皮癌及び F<sub>3b</sub> の 0.5% 投与群の  
23 雄 1 匹にグレード II の膀胱移行上皮癌が認められたが、いずれの投与群  
24 においても腫瘍発生率の増加は認められなかったとされている。なお、  
25 膀胱結石の発生率は対照群を含む各群で同等であったとされている。  
26 Kroes らは、本試験においてサッカリンに毒性及び発がん性は認められ  
27 なかったと結論している。(参照 4、9、106)

28  
29 (e) Homburger (1978) のマウス 2 年間試験

30 IARC73 でも引用されている Homburger (1978) の報告によれば、  
31 約 8 週齢の CD マウス (各群雌雄各 25 匹) に市販サッカリンナトリウ  
32 ム (OTSA を 345 ppm 含有) から製造したサッカリン (0、1、5%) を  
33 最長 2 年間混餌投与する試験が実施されている。なお、投与開始 6 か月  
34 間以内に死亡した動物については放棄したとされている。その結果、剖  
35 検において異常がみられた組織・器官のすべて及び各群 12 匹以上の組  
36 織・器官について行った病理組織学的検査において、血管腫瘍、肺腫瘍、  
37 肝細胞癌及びリンパ腫が散見されたが、それらの発生率は対照群を含む  
38 各群間で同様であったとされている (参照 4、93)。IARC ワーキン  
39 ググループは、試験成績の報告が不十分であることを指摘している (参  
40 照 4)。

41  
42 (f) Fukushima ら (1983) のマウス最長 52 週間経時試験

43 IARC73 でも引用されている Fukushima ら (1983) の報告によれば、

<sup>35</sup> 同腹生存胎児数が少なく、その次の世代の生殖が困難と判断したため離乳後にと殺したと説明されている。

1 6 週齢の B6C3F<sub>1</sub> マウス (対照群雄 35 匹、投与群雄 50 匹) にサッカリン  
2 ナトリウム (純度 99.5% : OTSA を 7 ppm 含有) (0、5%) を混餌投  
3 与 (飼料 : 対照群 Oriental MF、投与群 Oriental M) し、投与開始 0、  
4 4、8、12、16 又は 20 週後に投与群 5 匹ずつを中間と殺し、ほかの生存  
5 動物については 52 週間の投与を終了した後にと殺する経時試験が実施  
6 されている。その結果、体重に変化は認められなかったとされている。  
7 走査型電子顕微鏡も用いた病理組織学的検査においては、投与開始 12  
8 週後に中間と殺した投与群 1 匹の膀胱移行上皮に単純過形成がみられ  
9 たが、投与開始 16 週後及び 20 週後には認められなかったとされている。  
10 投与開始 4、12 又は 20 週後の膀胱粘膜の [methyl-<sup>3</sup>H] チミジン標識率は、  
11 いずれも対照群との間で差が認められなかったとされている (参照 4、  
12 98)。IARC ワーキンググループは、動物数が少ないこと及び試験期  
13 間短いことを指摘している (参照 4)。  
14

#### 15 (g) Prasado & Rai (1986) のマウス 1 年間試験

16 IARC73 でも引用されている Prasado & Rai (1986) の報告によれば、  
17 6 週齢の ICR/Swiss マウス (各群雌雄各 10 匹) にサッカリン (0、500、  
18 1,000、1,500 mg/kg 体重/日) を 1 年間反復強制経口投与した後にと殺  
19 する試験が実施されている。その結果、全投与群で途中死亡した動物は  
20 無かったとされている。体重については、1,500 mg/kg 体重/日投与群の  
21 雄で摂餌量の減少を伴わない低値が認められ、全投与群に投与期間を通  
22 じてみられた下痢との関連性が指摘されている。脳、甲状腺、肺、肝臓、  
23 胃、回腸、腎臓、脾臓、精巣及び卵巣についての病理組織学的検査にお  
24 いては、1,500 mg/kg 体重/日投与群の雄での 5/10 匹、雌での 3/10 匹に  
25 甲状腺の乳頭腺癌が認められ、肺への転移も認められたとされている  
26 (参照 4、107)。IARC ワーキンググループは、動物数が適切でない  
27 こと、試験成績の報告が完全でないこと及びマウスその他の動物種を  
28 用いた他の試験において甲状腺腫瘍の発生は再現されていないことを  
29 指摘している (参照 4)。  
30

#### 31 (h) Frederick ら (1989) のマウス二段階肝・膀胱発がん試験

32 IARC73 でも引用されている Frederick ら (1989) の報告によれば、  
33 21~26 日齢の離乳 BALB/cStCrlfC3H/Nctr マウス (各群雌 96~192 匹)  
34 について、表 7 の①~⑩群を設定し、2-AAF (0、200 ppm) を 13 週間  
35 混餌投与するイニシエーション段階の処置の後、2 週間休薬し、その後  
36 のプロモーション段階でサッカリンナトリウム (純度 98%超) (0、0.1、  
37 0.5、1.0、5.0%) を 117 週間混餌投与する試験が実施されている。その  
38 結果、2-AAF 処置対照群 (⑤群) の死亡率は 2-AAF 無処置対照群 (⑩  
39 群) よりも有意に高かったが、2-AAF 処置投与群 (①~④群) では、サ  
40 ッカリンナトリウムの用量に関連した生存期間の延長が認められたと  
41 されている。2-AAF 無処置投与群 (⑥~⑩群) の生存期間は対照群より  
42 もわずかに長かったとされている。病理組織学的検査において、膀胱腫  
43 瘍の発生は、2-AAF 無処置群 (⑥~⑩群) では認められず、2-AAF 処  
44 置群でも対照群 (⑤群) の 2/164 匹、0.1%投与群 (④群) の 3/165 匹に  
45 みられたほかは認められなかったとされている。膀胱の過形成の発生率

も、2-AAF 処置群 (①～⑤群) 及び 2-AAF 無処置群 (⑥～⑩群) それぞれの対照群と投与群との間で同様であったとされている。肝臓腫瘍の発生率についても、2-AAF 処置群 (①～⑤群) で対照群及び全投与群ともに 17～20%、2-AAF 無処置群 (⑥～⑩群) で対照群及び全投与群ともに 5～6%と、サッカリンナトリウムの投与に関連した変化はみられなかったとされている。以上より、Frederick らは、サッカリンナトリウムにマウス肝・膀胱発がんプロモーション作用はないものと考えられるとしている。2-AAF 無処置群 (⑥～⑩群) でサッカリンナトリウムの用量に関連したハーダー腺腫瘍の発生率の増加 (p=0.04) がみられたが、そのほか、2-AAF 処置の有無にかかわらずサッカリンナトリウムの用量に関連した腫瘍発生率の増加は認められなかったとされている。一方、リンパ腫発生阻害が 2-AAF 処置の有無にかかわらずサッカリンの用量に関連してみられたとされている。(参照 4、108)。IARC ワーキンググループは、ハーダー腺の腫瘍発生は加齢に関連して自然発生することが知られていること、各群動物数が等しくないこと等を指摘している(参照 4)。

表 7 Frederick ら (1989) のマウス二段階膀胱発がん試験における群設定

群	動物数	イニシエーション段階 (13 週間)	休業期間 (2 週間)	プロモーション段階 (117 週間)
①	96	2-AAF	対照	サッカリンナトリウム 5.0%
②	144	2-AAF	対照	サッカリンナトリウム 1.0%
③	192	2-AAF	対照	サッカリンナトリウム 0.5%
④	192	2-AAF	対照	サッカリンナトリウム 0.1%
⑤	192	2-AAF	対照	対照
⑥	96	対照	対照	サッカリンナトリウム 5.0%
⑦	144	対照	対照	サッカリンナトリウム 1.0%
⑧	192	対照	対照	サッカリンナトリウム 0.5%
⑨	192	対照	対照	サッカリンナトリウム 0.1%
⑩	192	対照	対照	対照

### c. ハムスター

#### (a) Althoff ら (1975) のハムスター生涯試験

IARC73 及び FAS17 における引用によれば、Althoff ら (1975) は、8 週齢の交雑シリアン・ゴールデン・ハムスター (各群雌雄各 30 匹) に M 法で製造されたサッカリン (0、0.156、0.312、0.625、1.25%<sup>36)</sup>) を生涯飲水投与する試験を実施している。各群とも生存期間は 50～60 週間であったとしている。病理組織学的検査においては、対照群を含む全群に尿路移行上皮の腫瘍は認められなかったとしている。認められた腫瘍性病変の種類については、対照群と投与群との間で類似しており、本試験に用いた動物において通常みられる腫瘍種類の範囲内であったとしている。(参照 4、9)

#### (b) Fukushima ら (1983) のハムスター最長 52 週間経時試験

IARC73 でも引用されている Fukushima ら (1983) の報告によれば、6 週齢のシリアン・ゴールデン・ハムスター (対照群雄 35 匹、投与群雄 50 匹) にサッカリンナトリウム (純度 99.5% : OTSA を 7 ppm 含有)

<sup>36</sup> 予備試験 (8 週間投与) における最大耐量であったとしている。

1 (0, 5%) を混餌投与 (飼料: 対照群 Oriental MF、投与群 Oriental M)  
2 し、投与開始 0、4、8、16 又は 20 週後に投与群 5 匹ずつを中間と殺し、  
3 ほかの生存動物については 52 週間の投与を終了した後にと殺する経時  
4 試験が実施されている。その結果、体重に変化は認められなかったとさ  
5 れている。走査型電子顕微鏡も用いた病理組織学的検査においては、膀  
6 胱移行上皮に単純過形成及び乳頭状/結節状過形成は認められなかった  
7 とされている。投与開始 4、12 又は 20 週後に中間と殺した投与群の膀  
8 胱粘膜の[methyl-<sup>3</sup>H]チミジン標識率は、いずれも対照群との間で差が  
9 認められなかったとされている (参照 4、98)。IARC ワーキンググ  
10 ループは、動物数が少ないこと及び試験期間が短いことを指摘している  
11 (参照 4)。  
12

#### 13 d. モルモット

##### 14 (a) Fukushima ら (1983) のモルモット最長 52 週間経時試験

15 IARC73 でも引用されている Fukushima ら (1983) の報告によれば、  
16 6 週齢の Hartley モルモット (対照群雄 20 匹、投与群雄 30 匹) にサッ  
17 カリンナトリウム (純度 99.5% : OTSA を 7 ppm 含有) (0, 5%) を混  
18 餌投与 (飼料: 対照群 Oriental MF、投与群 Oriental M) し、投与開  
19 始 0、4、12、16 又は 20 週後に投与群 3 匹ずつを中間と殺し、ほかの  
20 生存動物については 52 週間の投与を終了した後にと殺する経時試験が  
21 実施されている。その結果、体重については、投与群で増加抑制が認め  
22 られたとされている。走査型電子顕微鏡も用いた病理組織学的検査にお  
23 いては、膀胱移行上皮に単純過形成及び乳頭状/結節状過形成は認められ  
24 なかったとされている。投与開始 4、12 又は 20 週後に中間と殺した投  
25 与群の膀胱粘膜の[methyl-<sup>3</sup>H]チミジン標識率は、いずれも対照群との  
26 間で差が認められなかったとされている (参照 4、98)。IARC ワー  
27 キンググループは、動物数が少ないこと及び試験期間が短いことを指摘  
28 している (参照 4)。  
29

#### 30 e. イヌ

##### 31 (a) Taylor ら (1968) のイヌ 11 か月間試験

32 FAS17 でも引用されている Taylor ら (1968) の報告によれば、イヌ  
33 (各群 4 匹) (性別不詳) にサッカリンナトリウム (0, 65 mg/kg 体重/  
34 日) を週 6 日、11 か月間反復強制経口投与 (胃内挿管) する試験が実  
35 施されている。その結果、投与開始 6 か月後以降に投与群の 1 匹が食欲  
36 不振となり、死に至ったが、剖検において異常所見は認められなかった  
37 とされている。投与開始 10 か月前後から投与終了までの約 2 か月間、  
38 投与群の全動物に明らかな下痢を伴わない軟便がみられたが、外観、摂  
39 餌量及び摂水量に影響は認められなかったとされている。そのほか、体  
40 重、血液学的検査 (血色素、白血球数及び赤血球数)、血液生化学的検  
41 査 (ビリルビン、非たん白質性窒素及びフェノールスルホンフタレイン)、  
42 尿検査並びに体腔内諸器官の剖検及び病理組織学的検査において、投与  
43 群に異常は認められなかったとされている。(参照 9、78)  
44

##### 45 (b) Kennedy ら (1976) のイヌ 16 週間試験

1 FAS17 でも引用されている Kennedy ら (1976) の報告によれば、4  
2 ~5 か月齢の純血統ビーグル犬 (各群雌雄各 3 匹) について、対照群の  
3 ほか、表 5 (50 頁) のような混餌投与群を設定し、16 週間の投与を行  
4 う試験が実施されている。その結果、体重については、④群の雌雄で全  
5 投与期間を通じた増加抑制がみられたが、より高用量の⑤群及び⑥群で  
6 はみられなかったことから、Kennedy らは、この体重増加抑制につい  
7 て生物学的変動を反映したものであるとしている。血液学的検査におい  
8 て、⑥群の雄で白血球数の増加傾向がみられたが正常値の範囲内であっ  
9 たとされている。血液生化学的検査において、アルカリホスファターゼ  
10 活性が⑥群の雌で増加し、①群の雄で減少したが、これについて  
11 Kennedy らは、大きな変化ではなく、増減に一貫性がみられないこと  
12 から正常な生物学的変動を反映したものであると推定している。そのほ  
13 か、一般状態、摂餌量、尿検査、器官重量 (肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、  
14 心臓、脳、副腎及び甲状腺) 並びに剖検及び病理組織学的検査において  
15 被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。(参  
16 照 9、92)

#### 17 f. サル

##### 18 (a) McChesney ら (1977) 等のサル 79 か月間試験

19 FAS17 でも引用されている McChesney ら (1977) の報告及び  
20 IARC73 での Coulston ら (1975) の報告の引用によれば、アカゲザル  
21 (各群雌雄各 2~3 匹) に RF 法で製造されたサッカリンナトリウム 2  
22 ロット (それぞれ OTSA を 2.4 ppm、3.2 ppm 含有) のいずれか (0、  
23 20、100、500 mg/kg 体重/日) を週 6 日、79 か月間反復経口投与した  
24 後にと殺する試験が実施されている。その結果、対照群の 2 匹及び各投  
25 与群 1 匹が投与期間内に死亡したが、被験物質の投与によるものではな  
26 かったとされている。そのほか、体重、血液学的検査、血液生化学的検  
27 査、器官重量 (腎臓及び精巣) 並びに剖検及び病理組織学的検査 (腎臓、  
28 精巣及び膀胱) で被験物質の投与に関連した変化は認められなかったと  
29 されている。(参照 4、9、109)

##### 30 (b) Takayama ら (1998) のサル生涯試験

31 IARC73 でも引用されている Takayama ら (1998) の報告によれば、  
32 アカゲザル、カニクイザル及びアフリカミドリザル (対照群雄 10 匹及  
33 び雌 6 匹、投与群雄 9 匹及び雌 11 匹<sup>37)</sup> にサッカリンナトリウム (純  
34 度 99%超) (0、25 mg/kg 体重/日) を週 5 日、生後間もなくから死亡す  
35 るか切迫殺されるまでの生涯にわたり (103~283 か月間<sup>38)</sup> 混餌投与  
36 する試験が実施されている。その結果、光学顕微鏡のほか走査型電子顕  
37 微鏡も用いた観察においても尿路 (腎盂、尿管、膀胱及び尿道) 移行上  
38 皮に変化は認められなかったとされている。死亡の 1~2 年前に、アカ  
39 ゲザル及びカニクイザルの各群雌雄各 2 匹について実施した尿検査に  
40 おいて、尿 pH、尿浸透圧、尿たん白、尿中のナトリウム、カルシウム  
41  
42

<sup>37</sup> 投与群の構成は、アカゲザル雄 5 匹及び雌 2 匹、カニクイザル雌雄各 3 匹、アフリカミドリザル雄 1 匹及び雌 5 匹並びにアカゲザル雄とカニクイザル雌との交雑種雌 1 匹とされている。

<sup>38</sup> 投与開始 103、128、157、168、170、192、214 及び 218 か月後に 1 匹ずつ計 8 匹が死亡したとされている。

1 及びリンの濃度並びに結晶尿の増加は認められず、尿中に異常な結石及  
2 び沈渣の生成は認められなかったとされている。そのほか、投与群のう  
3 ちアフリカミドリザルの雌 1 匹に子宮筋腫、別の雌 1 匹に卵巣乳頭囊腺  
4 腫及び胃平滑筋腫、アカゲザルの雄 1 匹に甲状腺リンパ腫の発生がみら  
5 れたが、Takayama らは、これらの腫瘍について、当該動物に係るコロ  
6 ニーの無処置対照やブリーダーでの飼育動物においても観察される種  
7 類の腫瘍であるとしている（参照 4、110）。Thorgeirsson ら（1994）  
8 の中間報告によれば、投与開始から 22 年間が経過した時点において投  
9 与群の 5 匹が死亡したが、腫瘍の発生は認められなかったとされている。  
10 また、投与群の生存動物 15 匹についても腫瘍発生の証拠は認められず、  
11 その他の疾患の兆候も認められなかったとされている（参照 111）。  
12 IARC ワーキンググループは、用量が比較的少量であること、動物数が  
13 比較的少ないこと及び用いた種が多様であることを指摘している（参照  
14 4）。

### 16 ③ 不純物

17 サッカリン及びその塩類の不純物（表 1（8 頁）参照）を被験物質とした  
18 反復投与毒性及び発がん性に関する試験成績として以下のような報告があ  
19 る。

#### 21 a. OTSA

22 FAS17 における引用によれば、Stavric ら（1973）は、Tisdell ら（1974）  
23 の試験及び Taylor & Friedman（1974）の試験（Taylor ら（1980）によ  
24 り最終報告）において使用された RF 法製のサッカリンナトリウムが  
25 OTSA を最大で 4,660 ppm 含有していたと報告したことから、NRC  
26（1974）により、二世世代にわたる試験においてみられた膀胱腫瘍の発生増  
27 加は OTSA によるものではないかとの指摘がなされた。（参照 9）

#### 29 (a) Schmähl（1978）のラット生涯混餌投与試験

30 IARC73 及び SIAR における引用によれば、Schmähl（1978）は、3  
31 か月齢の SD ラット（各群雌雄各 38 匹）に OTSA（0、20、200 mg/kg  
32 体重/日）を生生涯にわたって混餌投与する試験を実施しており、その結果、  
33 被験物質の投与に関連した生存率の変化は認められなかったが、リンパ  
34 肉腫が対照群で 7/71 匹、20 mg/kg 体重/日投与群で 10/75 匹、200 mg/kg  
35 体重/日投与群で 10/76 匹と対照群を含む各群同様の発生率でみられ、そ  
36 れにより多くの動物が死亡したとしている。また、白血病が対照群で  
37 0/71 匹、20 mg/kg 体重/日投与群で 5/75 匹、200 mg/kg 体重/日投与群  
38 で 3/76 匹にみられたが、用量相関性は認められなかったとしている。  
39 膀胱腫瘍については、対照群でその発生はみられなかったが、20 mg/kg  
40 体重/日投与群では乳頭腫が 3/75 匹にみられ、200 mg/kg 体重/日投与群  
41 では乳頭腫が 4/76 匹に、癌が 1/76 匹にみられたとしている。SIAR で  
42 は、背景データ、被験物質の純度、統計処理、膀胱腫瘍を発生した動物  
43 の性別、膀胱寄生虫の有無等が不詳であること等から、本試験の信頼性  
44 は確保されていないものとされている。（参照 4、29）

1 (b) Arnold ら (1980) のラットを用いた二世世代にわたる試験 (再掲)

2 IARC73、FAS17 及び SIAR でも引用されている上述の Arnold ら  
3 (1980) の報告によれば、32 日齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各 50  
4 匹 (250 mg/kg 体重/日+塩化アンモニウム 1%投与群のみ雄 40 匹、雌  
5 38 匹)) に OTSA (不純物を 100 ppm 未満含有) (0、2.5、25、250 mg/kg  
6 体重/日、250 mg/kg 体重/日+塩化アンモニウム 1%) を飲水投与 (自由  
7 摂取) し、投与開始 90 日後に各群内で雌雄を 1:1 で 1 週間交配し、妊  
8 娠、出産及び哺育を経て 142 週まで投与を継続した後にと殺するととも  
9 に、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雌雄各 49~50 匹) についても、生後  
10 21 日に離乳後、F<sub>0</sub> と同様の投与を投与 127 週まで継続した後にと殺す  
11 る試験が実施されている。その結果、体重については、F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> の 250  
12 mg/kg 体重/日投与群及び 250 mg/kg 体重/日+塩化アンモニウム 1%投  
13 与群の雌雄で被験物質の投与に関連した増加抑制が認められ、摂餌量の  
14 減少を伴っていたとされている。そのほか、生存率、一般状態、血液学  
15 的検査及び尿検査において、被験物質の投与に関連した異常は認められ  
16 なかったとされている。肉眼的観察では腎臓及び膀胱に結石が散見され  
17 たが、フィルターを用いた尿ろ過物の観察では全群の腎臓及び膀胱に結  
18 石が認められ、結石の構成成分についても被験物質の投与に関連した一  
19 定の傾向は認められなかったとされている。全動物について実施された  
20 病理組織学的検査においては、膀胱における腫瘍性病変として、良性腫  
21 瘍 (膀胱移行上皮乳頭腫) の発生が、F<sub>0</sub> の対照群の雄 1 匹、2.5 mg/kg  
22 体重/日投与群の雌雄各 1 匹及び 250 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 匹並び  
23 に F<sub>1</sub> の 2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌 2 匹にみられたが、F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> と  
24 もに悪性腫瘍 (膀胱移行上皮癌) の発生は認められなかったとされてい  
25 る。なお、本試験において用いられたラットの膀胱に線虫の寄生は認め  
26 られなかったとされている。(参照 4、96)

27  
28 (c) Hooson ら (1980) のラット二段階膀胱発がん試験

29 IARC73 でも引用されている上述の Hooson ら (1980) の報告によれ  
30 ば、離乳 Wistar ラット (対照群雌 63 匹、各投与群雌 50 匹) について、  
31 表 6 (54 頁) の①~⑦群を設定し、MNU (0、最大 1.5mg) を飽和水  
32 溶液 0.15 mL として尿道カテーテルにより単回膀胱内滴下するイニシ  
33 エーション段階の処置の 2 週間後から 2 年間のプロモーション段階の投与  
34 を飲水により行う試験 I が実施されている。また、試験 I の開始 6 か月  
35 後に、離乳 Wistar ラット (各群雌 50 匹) について、表 6 の⑧~⑩群を  
36 設定し、MNU (0、最大 1.5mg) を①~⑦群と同様に処置した 8 日後か  
37 ら 2 年間のプロモーション段階の投与を混餌により行う試験 II が実施  
38 されている。その結果、OTSA の投与による尿 pH 上昇、結晶尿、結石  
39 生成及び膀胱病理への影響は認められなかったとされている。また、  
40 MNU 処置群において、OTSA の投与や投与したサッカリン中の OTSA  
41 混入に関連した膀胱移行上皮の過形成又は腫瘍の発生率の増加は認め  
42 られなかったとされている。以上より Hooson らは、OTSA は本試験に  
43 おいて膀胱発がんプロモーション作用に関与しなかったと結論してい  
44 る。(参考 4、97)

1 (d) 厚生省 (1998) のラット反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

2 厚生省 (当時) の平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
3 8 週齢の SD ラット (各群雌雄各 13 匹) に、OTSA (0、20、100、500  
4 mg/kg 体重/日) を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間中 14 日間  
5 及び交配期間終了後 14 日間の計 42 日間、雌に対しては交配前 14 日間  
6 及び最長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで (交配後分娩の認めら  
7 れなかった動物については妊娠 24 日相当日まで) 強制経口投与 (胃内  
8 挿管) し、得られた児動物を哺育 4 日にと殺する反復投与毒性・生殖発  
9 生毒性併合試験が実施されている。その結果、500 mg/kg 体重/日投与  
10 群の雌の 3 匹が死亡し、2 匹が切迫殺されている。一般状態については、  
11 100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌雄に自発運動減少及び腹臥姿勢 (投  
12 与開始後から)、流涎 (投与期間中期から) 等の変化が認められたとさ  
13 れている。体重については、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与初期  
14 に摂餌量低下を伴う低値、雌で妊娠及び哺育期に低値、500 mg/kg 体重  
15 /日投与群の雄で投与期間を通じて低値、雌で投与初期に摂餌量低下を伴  
16 う低値が認められたとされている。血液学的検査においては、500 mg/kg  
17 体重/日投与群の雄で血小板数の高値が認められたとされている。血液生  
18 化学的検査では、20 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄でアルカリホスフ  
19 アターゼ活性の低値、100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で総コレス  
20 テロール濃度の高値、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で総たん白濃度及  
21 び  $\gamma$ -GTP 活性の高値、A/G 比、ブドウ糖及びトリグリセリド濃度の低  
22 値が認められたとされている。試験担当者は、アルカリホスファターゼ  
23 活性の低下及び血中コレステロール濃度の上昇は甲状腺機能低下の際  
24 にも認められる変化であり、また、スルホンアミド類にはブドウ糖濃度  
25 を低下させる作用があることから、甲状腺及び膵臓の病理組織学的検査  
26 において被験物質投与の影響を示唆する病変は認められていないが、被  
27 験物質が甲状腺及び膵臓に明瞭な形態学的変化を伴わない軽微な影響  
28 を及ぼす可能性は否定できないとしている。器官重量については、100  
29 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で腎臓、副腎及び精巣の相対重量の増  
30 加、雌で肝臓の相対重量の増加、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓  
31 の相対・絶対重量及び腎臓の絶対重量の増加、雌で脳、腎臓及び副腎の  
32 相対重量の増加が認められたとされている。剖検では、100 mg/kg 体重  
33 /日以上以上の投与群の雄で肝臓の暗色化、腎臓の腫大及び暗色化、雌で肝臓  
34 の腫大、肺の肋骨胸膜癒着 (癒着部に黄白色塊の付着) 及び淡色点、500  
35 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の腫大、脾臓のリンパ濾胞不明瞭、肺  
36 の暗色点及び白色点<sup>39)</sup>等、雌で肝臓の暗色化、肺の横隔膜癒着及び暗赤  
37 色点、胸腺の小型化が認められたとされている。病理組織学的検査にお  
38 いては、20 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で腎尿細管上皮の好酸性小  
39 体の形成の頻度及び程度の増加、100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌  
40 雄で細胞質が軽微な曇り硝子様を呈した小葉中心性の肝細胞肥大、500  
41 mg/kg 体重/日投与群の雌で心外膜の線維化及び細胞浸潤、胸腺の萎縮、  
42 胸腺被膜の線維化、水腫及び細胞浸潤並びに胸腺被膜上の好中球を含む  
43 滲出物が認められたとされている。このことから試験担当者は、肝重量

<sup>39)</sup> 病理組織学的検査においてごく軽度な限局性の出血及び軽度な泡沫細胞の集簇が認められたとされている。

1 増加は肝細胞肥大を反映したものであり、酵素誘導があったと考察して  
2 いる。以上より、試験担当者は、雄については全投与群にアルカリホス  
3 ファターゼ活性の低値及び腎尿細管上皮の好酸性小体の形成の増強が  
4 みられたことから、本試験における反復投与毒性に係る NOAEL を求め  
5 ることができないとし、雌については本試験における反復投与毒性に係  
6 る NOAEL を 20 mg/kg 体重/日としている（参照 1 1 2）。一方、SIAR  
7 においては、雄ラットにみられた腎臓の変化について雄ラット特有の  
8  $\alpha_2\mu$ -グロブリンの蓄積によるものと考えられるとして、本試験における  
9 反復投与毒性に係る NOAEL を雌雄ともに 20 mg/kg 体重/日としている  
10 （参照 2 9）。

#### 11 12 (e) 厚生省（2000）のラット 28 日間反復投与毒性試験

13 厚生省（当時）の平成 11 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
14 約 5 週齢の SD ラット（各群雌雄各 5～10 匹）に OTSA（0、4、20、  
15 100 mg/kg 体重/日）を 28 日間反復強制経口投与（胃内挿管）した後、  
16 対照群及び 100 mg/kg 体重/日投与群について 14 日間の回復期間を設け  
17 る 28 日間反復投与毒性試験が実施されている。その結果、投与期間中  
18 及び回復期間中に死亡した動物はなかったとされている。一般状態につ  
19 いては、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に投与開始 7～10 日後以降投  
20 与期間を通じて各投与 15～20 分後に流涎及び活動性低下がみられたが  
21 いずれも各投与約 2 時間後までには回復したほか、100 mg/kg 体重/日  
22 投与群の雄 1 例に投与開始 15 日後以降断続して腹臥位姿勢がみられた  
23 とされている。病理組織学的検査においては、100 mg/kg 体重/日投与  
24 群の雄で腎尿細管上皮の好酸性小体の形成が統計学的に有意ではない  
25 が増加傾向にあったとされている。好酸性小体の形成は、雄ラット固有  
26 の  $\alpha_2\mu$ -グロブリンが近位尿細管上皮に取り込まれ好酸性物質として観察  
27 される現象であるが、本変化は回復期間終了後においても増加する傾向  
28 がみられ、投与中止による回復性は明らかではなかったとされている。  
29 そのほか、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及  
30 び器官重量について、被験物質の投与に関連した影響は認められなかつ  
31 たとされている。以上より、試験担当者は、100 mg/kg 体重/日投与群  
32 の雌雄でみられた流涎及び活動性低下並びに雄でみられた腎尿細管上  
33 皮の好酸性小体の形成の増加傾向を基に、本試験における NOAEL を雌  
34 雄ともに 20 mg/kg 体重/日としている。（参照 1 1 3）

#### 35 36 (f) 厚生省（2000）のラット簡易生殖毒性試験

37 厚生省（当時）の平成 11 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
38 9 週齢の SD ラット（各群雌雄各 13 匹）に、OTSA（0、4、20、100 mg/kg  
39 体重/日）を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間中 14 日間及び交  
40 配期間終了後 19 日間の計 47 日間、雌に対しては交配前 14 日間及び最  
41 長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで（交配後分娩の認められなかつ  
42 った動物については妊娠 26 日相当日まで）強制経口投与（胃内挿管）  
43 する簡易生殖毒性試験が実施されている。その結果、死亡し又は切迫殺  
44 された動物はなかったとされている。一般状態については、100 mg/kg  
45 体重/日投与群の雌雄で流涎及び活動性低下が各投与後一過性にみられ

1 たが、各投与後 4 時間以内には回復したとされている。体重については、  
2 100 mg/kg 体重/日投与群の雄でほぼ全投与期間を通じた摂餌量低下を  
3 伴わない増加抑制、雌で投与初期に低値及び増加抑制が認められたとさ  
4 されている。そのほか、器官重量並びに剖検及び病理組織学的検査におい  
5 ては、被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。  
6 以上より、試験担当者は、本試験における反復投与毒性に係る NOAEL  
7 を雌雄ともに 20 mg/kg 体重/日としている。（参照 1 1 4）  
8  
9

## 10 b. PTSA

### 11 (a) 厚生省（1992）のラット反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

12 厚生省（当時）の平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果によれば、  
13 8 週齢の SD ラット（各群雌雄各 13 匹）に、PTSA（0、120、300、750  
14 mg/kg 体重/日）を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間中 14 日間  
15 及び交配期間終了後 14 日間の計 42 日間、雌に対しては交配前 14 日間  
16 及び最長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで強制経口投与（胃内挿  
17 管）し、得られた児動物を哺育 4 日にと殺する反復投与毒性・生殖発生  
18 毒性併合試験が実施されている。その結果、死亡し又は切迫殺された動  
19 物はなかったとされている。一般状態については、120 mg/kg 体重/日  
20 以上の投与群の雌雄で流涎、750 mg/kg 体重/日投与群の雄で初回投与  
21 の翌日及び翌々日に一過性の血尿が認められたとされている。体重につ  
22 いては、300 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で妊娠期間中の摂餌量低  
23 下を伴う増加抑制及び分娩後の低値、750 mg/kg 体重/日投与群の雄で  
24 投与初期の摂餌量低下を伴う増加抑制及び全投与期間を通じた低値、雌  
25 で妊娠期間中の摂餌量低下を伴う低値が認められたとされている。血液  
26 学的検査においては、300 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で白血球数  
27 の減少等が認められたとされている。血液生化学的検査においては、300  
28 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で尿素窒素の用量依存的かつ有意な増  
29 加、AST 活性及び塩素濃度の上昇、750 mg/kg 体重/日投与群の雄で ALT  
30 活性の上昇及びカリウム濃度の低下が認められたとされている。器官重  
31 量では、300 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で腎臓の相対重量の高値  
32 及び胸腺の絶対重量の低下傾向、750 mg/kg 体重/日投与群の雄の腎臓  
33 及び精巣の相対重量の高値並びに胸腺の絶対重量の低下傾向がみられ  
34 たとされている。剖検では、300 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で胸  
35 腺の退縮、750mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の暗色化が認められたと  
36 されている。病理組織学的検査においては、120 mg/kg 体重/日以上の上  
37 投与群の雄で膀胱の粘膜上皮層の肥厚及び剥離、粘膜固有層の水腫及び  
38 細胞浸潤並びに出血、精細管の萎縮及び精細胞の減少、雌で膀胱の粘膜  
39 上皮層の肥厚及び粘膜固有層の細胞浸潤、300 mg/kg 体重/日以上の上  
40 投与群の雌で胸腺の強い退縮が認められたとされている。以上より、試験  
41 担当者は、本試験における反復投与毒性に係る NOAEL を雌雄ともに  
42 120 mg/kg 体重/日を下回る用量であるとしている。（参照 1 1 5）  
43

## 44 c. OSBA

### 45 (a) Kennedy ら（1976）のラット 13 週間試験

FAS17 でも引用されている上述の Kennedy ら（1976）の報告によれ

1 ば、離乳 SD ラット（各群雌雄各 10 匹）について、対照群のほか、表  
2 5（50 頁）のような混餌投与群を設定し、13 週間の投与を行う試験が  
3 実施されている。その結果、⑥群の雄 1 匹が投与 2 週に死亡したが、こ  
4 れは呼吸器感染によるものと推定されている。そのほか、②群を含め、  
5 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、  
6 器官重量（肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、心臓及び脳）並びに剖検及び病  
7 理組織学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認められな  
8 かったとされている。以上より、Kennedy らは、代謝物又は不純物と  
9 して生じた OSBA による毒性ハザードはほとんどないと結論している。  
10（参照 9 2）  
11

#### 12 (b) Kennedy ら（1976）のイヌ 16 週間試験

13 FAS17 でも引用されている上述の Kennedy ら（1976）の報告によれ  
14 ば、4~5 か月齢の純血統ビーグル犬（各群雌雄各 3 匹）について、対  
15 照群のほか、表 5（50 頁）のような混餌投与群を設定し、16 週間の投  
16 与を行う試験が実施されている。その結果、体重については、④群の雌  
17 雄で全投与期間を通じた増加抑制がみられたが、より高用量の⑤群及び  
18 ⑥群ではみられなかったことから、Kennedy らは、この体重増加抑制  
19 について生物学的変動を反映したものであるとしている。血液学的検査  
20 において、②群及び⑥群の雄で白血球数の増加がみられたが正常値の範  
21 囲内であったとされている。血液生化学的検査において、アルカリホス  
22 ファターゼ活性が⑥群の雌で増加したが、これについて Kennedy らは、  
23 大きな変化ではなく、一貫性がみられないことから正常な生物学的変動  
24 を反映したものであると推定している。そのほか、②群を含め、一般状  
25 態、摂餌量、尿検査、器官重量（肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、心臓、脳、  
26 副腎及び甲状腺）並びに剖検及び病理組織学的検査において被験物質の  
27 投与に関連した変化は認められなかったとされている。以上より、  
28 Kennedy らは、代謝物又は不純物として生じた OSBA による毒性ハザ  
29 ードはほとんどないと結論している。（参照 9 2）  
30

#### 31 d. CBSA 及び CBSA- NH<sub>4</sub>

##### 32 (a) Kennedy ら（1976）のラット 13 週間試験

33 FAS17 でも引用されている上述の Kennedy ら（1976）の報告によれ  
34 ば、離乳 SD ラット（各群雌雄各 10 匹）について、対照群のほか、表  
35 5（50 頁）のような混餌投与群を設定し、13 週間の投与を行う試験が  
36 実施されている。その結果、⑥群の雄 1 匹が投与 2 週に死亡したが、こ  
37 れは呼吸器感染によるものと推定されている。血液学的検査において、  
38 ③群の雄で白血球数の増加がみられたが正常値の範囲内であったとさ  
39 れている。そのほか、一般状態、体重、摂餌量、血液生化学的検査、尿  
40 検査、器官重量（肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、心臓及び脳）並びに剖検  
41 及び病理組織学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認め  
42 られなかったとされている。以上より、Kennedy らは、代謝物又は不  
43 純物として生じた  $\sigma$ -CBSA-NH<sub>4</sub> による毒性ハザードはほとんどないと  
44 結論している。（参照 9 2）  
45

1 (b) Kennedy ら (1976) のイヌ 16 週間試験

2 FAS17 でも引用されている上述の Kennedy ら (1976) の報告によれば、4~5 か月齢の純血統ビーグル犬 (各群雌雄各 3 匹) について、対照群のほか、表 5 (50 頁) のような混餌投与群を設定し、16 週間の投与を行う試験が実施されている。その結果、体重については、④群の雌雄で全投与期間を通じた増加抑制がみられたが、より高用量の⑤群及び⑥群ではみられなかったことから、Kennedy らは、この体重増加抑制について生物学的変動を反映したものであるとしている。血液学的検査において、⑥群の雄で白血球数の増加がみられたが正常値の範囲内であったとされている。血液生化学的検査において、アルカリホスファターゼ活性が⑥群の雌で増加したが、これについて Kennedy らは、大きな変化ではなく、一貫性がみられないことから正常な生物学的変動を反映したものであると推定している。そのほか、②群を含め、一般状態、摂餌量、尿検査、器官重量 (肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、心臓、脳、副腎及び甲状腺) 並びに剖検及び病理組織学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。以上より、Kennedy らは、代謝物又は不純物として生じた  $\sigma$ -CBSA-NH<sub>4</sub> による毒性ハザードはほとんどないと結論している。(参照 9 2)

20 e. BIT

21 (a) EPA レビュー (1993) でのラット 90 日間試験

22 EFSA 科学パネル意見書 (2006) において引用された EPA レビュー  
23 (1993) の内容によれば、ラット成獣 (各群雌雄各 12 匹) に BIT (0、  
24 200、900、4,000 ppm) を 90 日間混餌投与する試験が実施されている。  
25 通常のバッテリーによって検査及び観察が行われた結果、毒性学的に意  
26 義のある所見は、(i) 900 ppm 以上の投与群の雄及び 4,000 ppm 投与群  
27 の雌に認められた投与期間を通じた体重の低値並びに(ii) 4,000 ppm 投  
28 与群の雌雄 (いずれも 11/12 匹) に認められた前胃境界縁の過形成であ  
29 るとされている。900 ppm 投与群については、前胃の過形成は認められ  
30 なかったが、剖検において雌雄各 1 匹に境界縁の肥厚がみられたとされ  
31 ている。EPA レビューの中では、本試験における NOEL は雄で 200 ppm  
32 (15.3 mg/kg 体重/日相当)、雌で 900 ppm (78 mg/kg 体重/日相当) と  
33 されている。(参照 1 7)

35 (b) SCCNFP (2004) のラット 28 日間試験

36 EFSA 科学パネル意見書 (2006) でも引用されている SCCNFP (2004)  
37 の報告書によれば、Wistar ラット (各群雌雄各 6 匹) に BIT (BIT と  
38 して 0、12.63、37.89、113.67 mg/kg 体重/日) を 28 日間反復強制経口  
39 投与 (胃内挿管) する試験 (OECD TG407) が実施されている。その  
40 結果、一般状態については、113.67 mg/kg 体重/日投与群の雄の全動物  
41 で投与 17 日以降、雌の 2 匹で投与 20 日以降に被験物質の投与に関連し  
42 た流涎が認められたが、回復期には認められなかったことから、この流  
43 涎は可逆性の変化であることが示唆されている。体重については、  
44 113.67 mg/kg 体重/日投与群の雄で、投与 2 週以降に増加抑制、回復期  
45 に低値が認められ、雌でも投与 4~6 週に低値が認められたとされてい

1 る。37.89 mg/kg 体重/日投与群に前胃の病変がみられ、被験物質の刺激  
2 による影響と考えられたが、対照群及び他の投与群に前胃の病変は認め  
3 られなかったとされている。そのほか、摂餌量、血液学的検査、血液生  
4 化学的検査、神経系への影響に係る検査、器官重量並びに剖検及び病理  
5 組織学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認められな  
6 かったとされている。SCCNFP 報告書では、本試験における NOAEL (雌  
7 雄の区別なし) は 12.63 mg/kg 体重/日であるとされている。(参照 1 7、  
8 7 0)

9  
10 (c) SCCNFP (2004) のラット 90 日間試験

11 EFSA 科学パネル意見書(2006)でも引用されている SCCNFP(2004)  
12 の報告書によれば、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に BIT (BIT と  
13 して 0、8.42、25.26、63.15 mg/kg 体重/日) を 90 日間反復強制経口投  
14 与 (胃内挿管) する試験 (OECD TG408) が実施されている。その結  
15 果、摂餌量については、25.26 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 63.15  
16 mg/kg 体重/日投与群の雄で低下が認められたとされている。剖検及び  
17 病理組織学的検査においては、25.26 mg/kg 体重/日投与群の主として前  
18 胃に病変が認められたとされており、被験物質の投与に関連したもので  
19 あるが可逆性のものと考えられている。いずれも被験物質の刺激性によ  
20 るものとされている。そのほか、一般状態、体重、血液学的検査、血液  
21 生化学的検査、精子検査、神経系への影響に係る検査及び器官重量にお  
22 いて被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。  
23 SCCNFP 報告書では、本試験における NOAEL (雌雄の区別なし) は  
24 8.42 mg/kg 体重/日であるとされている。(参照 1 7、7 0)

25  
26 f. MA

27 (a) Hagan ら (1967) のラット 13 週間試験

28 FAS56 でも引用されている Hagan ら (1967) の報告によれば、離乳  
29 Osborne-Mendel ラット (各群雌雄各 10 匹) に MA (0、0.1、1% ; 0、  
30 50、500 mg/kg 体重/日相当) を 13 週間混餌投与する試験が実施されて  
31 いる。その結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査並びに剖検及  
32 び病理組織学的検査において被験物質の投与に関連した変化は認めら  
33 れなかったとされている (参照 7 1、1 1 6)。JECFA は、本試験にお  
34 ける NOEL を 1% (500 mg/kg 体重/日相当) としている (参照 7 1)。  
35

36 (b) Dow (1967) のラット 115 日間試験

37 FAS14 における引用によれば、Dow (1967) は、離乳ラット (各群  
38 雌雄各 10 匹) に MA (0、0.3、1% ; 約 0、150~300、500~1,000 mg/kg  
39 体重/日相当) を 115 日間混餌投与する試験を実施している。その結果、  
40 1%投与群において肝臓重量及び腎臓重量の高値並びに腎臓の軽微な組  
41 織学的変化が認められたとしている。そのほか、生存率、一般状態、体  
42 重、血液学的検査及び剖検において被験物質の投与に関連した有害影響  
43 は認められなかったとしている。JECFA は、本試験における NOAEL  
44 を 0.3% (150~300 mg/kg 体重/日相当) としている。(参照 3 0)

1 (c) DHEW (1978) のラット 78 週間試験 (参考)

2 類縁物質に係る試験であるので参考データであるが、FAS14 にお  
3 ける引用によれば、DHEW (1978) は、F344 ラット (各群雌雄各 35 匹)  
4 にアントラニル酸 (0、1.5、3.0%) を 78 週間混餌投与する試験を実施  
5 している。その結果、腫瘍発生の増加は認められず、被験物質の投与に  
6 関連した非腫瘍性病変も認められなかったとしている。一方、被験物質  
7 の投与に関連したごく軽微な体重増加抑制がみられたが、生存率及び一  
8 般状態に異常は認められなかったとしている。(参照 3 0)

9  
10 (d) Stoner ら (1973) のマウス 24 週間試験 (参考)

11 経口投与による試験ではないので参考データであるが、FAS14 にお  
12 ける引用によれば、Stoner ら (1973) は、A/He マウス (各群雌 20 匹)  
13 に MA (合計投与量 2,250、11,200 mg/kg 体重) を週 3 回、24 週間反復  
14 腹腔内投与する試験を実施している。その結果、原発性の腫瘍の発生率  
15 の増加は認められず、Stoner らは、本試験条件下において MA に発がん  
16 性は認められなかったとしている。(参照 3 0)

17  
18 (e) DHEW (1978) のマウス 78 週間試験 (参考)

19 類縁物質に係る試験であるので参考データであるが、FAS14 にお  
20 ける引用によれば、DHEW (1978) は、B6C3F<sub>1</sub> マウス (各群雌雄各 35  
21 匹) にアントラニル酸 (0、2.5、5.0%) を 78 週間混餌投与する試験を  
22 実施している。その結果、腫瘍発生の増加は認められず、被験物質の投  
23 与に関連した非腫瘍性病変も認められなかったとしている。一方、被験  
24 物質の投与に関連したごく軽微な体重増加抑制がみられたが、生存率及  
25 び一般状態に異常は認められなかったとしている。(参照 3 0)

26  
27 ④ 有機酸ナトリウム塩による雄ラット膀胱腫瘍 (参考)

28 その他の有機酸ナトリウム塩による雄ラット膀胱腫瘍発生の作用機序に  
29 ついて検討した試験成績として以下のような報告がある。

30  
31 a. クエン酸ナトリウム

32 Fukushima ら (1986) の報告によれば、6 週齢の F344 ラット (各群  
33 雄 20~25 匹) に BBN (0、0.05%) を 4 週間飲水投与するイニシエーシ  
34 ョン段階の処置の後に、クエン酸ナトリウム (0、5% ; 0、2,500 mg/kg  
35 体重/日<sup>(1)</sup>) をプロモーションの段階で 32 週間混餌投与する二段階膀胱発  
36 がん試験が実施されている。その結果、剖検 (膀胱) において、BBN 処  
37 置対照群に非常に小さい病変、BBN 処置クエン酸ナトリウム投与群に大  
38 きな腫瘍の発生がみられたが、結石は認められなかったとされている。病  
39 理組織学的検査においては、BBN 処置クエン酸ナトリウム投与群の膀胱  
40 基底膜の乳頭状/結節状過形成、乳頭腫及び癌の発生率及び個数が BBN 処  
41 置対照群よりも有意に増加したとされている。一方、BBN 無処置クエン  
42 酸ナトリウム投与群に膀胱粘膜の病変は認められなかったとされている。  
43 また、別途 6 週齢の F344 ラット (各群雄 5 匹) にクエン酸ナトリウム (0、  
44 5%) を 16 週間混餌投与する試験が実施されている。その結果、投与 4、  
45 8 及び 16 週での尿検査のいずれにおいても投与群で尿 pH の上昇、リン

1 酸マグネシウムアンモニウム結晶の生成及び尿中ナトリウム排泄量の増  
2 加が認められたが、尿中のカルシウムイオン及びマグネシウムイオン濃度  
3 に変化はなかったとされている。Fukushima らは、本試験において認め  
4 られたクエン酸ナトリウムによる膀胱発がんプロモーション作用は尿 pH  
5 上昇、尿中結晶生成及び尿中ナトリウムイオン濃度が関係していると推定  
6 している。(参照 1 1 7)

#### 8 b. グルタミン酸ナトリウム

9 de Groot ら (1988) の報告によれば、離乳 Wistar ラット (各群雄 10  
10 匹) について、対照群のほか、グルタミン酸一ナトリウム 6%、グルタミ  
11 ン酸一ナトリウム 6%+炭酸水素ナトリウム 1.6%、グルタミン酸一ナトリ  
12 ウム 6%+塩化アンモニウム 1.0%又は炭酸水素カリウム 2.5%を混餌投与  
13 する群を設定し、穀物ベース飼料又はカゼインベース配合飼料を用いて  
14 13 週間混餌投与を行う試験が実施されている。その結果、膀胱移行上皮  
15 過形成の発生率は、穀物ベース飼料混餌による対照群で 2/10 匹、グルタ  
16 ミン酸一ナトリウム 6%投与群で 4/10 匹及びグルタミン酸一ナトリウム  
17 6%+炭酸水素ナトリウム 1.6%投与群で 2/10 匹であったのに対し、アル  
18 カリ化剤である炭酸水素カリウム 2.5%投与群で 7/10 匹と有意な増加が認  
19 められたとされている。一方、カゼインベース配合飼料混餌によるグルタ  
20 ミン酸一ナトリウム 6%投与群では 1/10 匹、それ以外の投与群ではいずれ  
21 も 0/10 匹であった。なお、カゼインベース配合飼料混餌投与群の尿 pH  
22 は、穀物ベース飼料混餌投与群よりも低かったことから、穀物ベース飼料  
23 はカゼインベース配合飼料よりも過剰塩基を多く含んでいたとされてい  
24 る。また、別途離乳 Wistar ラット (各群雄 10 匹) に炭酸水素カリウム (0、  
25 5%) を穀物ベース飼料又はカゼインベース配合飼料を用いて 13 週間混餌  
26 投与する試験が実施されている。その結果、膀胱移行上皮過形成の発生率  
27 は、カゼインベース配合飼料混餌投与群で 6/10 匹、穀物ベース飼料混餌  
28 投与群で 10/10 匹と、後者に有意な高値が認められたとされている。以上  
29 より de Groot らは、飼料の酸塩基バランスを操作することによりラット  
30 膀胱移行上皮過形成を誘発することができると結論している。(参照  
31 1 1 8)

#### 33 c. コハク酸ナトリウム

34 Otoshi ら (1993) の報告によれば、6 週齢の F344 ラット (BBN 処置  
35 各群雄 16 匹、BBN 無処置各群雄 8 匹) に BBN (0、0.05%) を 4 週間飲  
36 水投与するイニシエーション段階の処置の後に、コハク酸、コハク酸ナト  
37 リウム又はコハク酸二ナトリウム (0、5% ; 0、2,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>)  
38 をプロモーションの段階で 32 週間混餌投与する二段階膀胱発がん試験が  
39 実施されている。その結果、投与終了後 (投与開始 36 週後) の尿 pH は、  
40 BBN 処置対照群及び BBN 処置コハク酸投与群で 6.69 及び 6.03 であつた  
41 のに対し、BBN 処置コハク酸ナトリウム投与群及び BBN 処置コハク酸二  
42 ナトリウム投与群では 8.06 及び 8.16 とほぼ同様の高値であつたが、尿中  
43 ナトリウム濃度は 229 mEq/L 及び 335 mEq/L と BBN 処置コハク酸二ナ  
44 トリウム投与群で統計学的に有意に高かったとされている。BBN 無処置  
45 群には前腫瘍性病変 (乳頭状/結節状過形成) 及び膀胱腫瘍 (乳頭腫及び癌)

1 の発生は認められなかったが、BBN 処置コハク酸ナトリウム投与群及び  
2 BBN 処置コハク酸二ナトリウム投与群では前腫瘍性病変及び膀胱腫瘍の  
3 発生率及び個数が有意に増加したとされている。膀胱腫瘍の発生率につ  
4 ては、BBN 処置コハク酸ナトリウム投与群と BBN 処置コハク酸二ナトリ  
5 ウム投与群との間で差がみられなかったが、BBN 処置コハク酸二ナトリ  
6 ウム投与群の膀胱腫瘍の表面積は BBN 処置コハク酸ナトリウム投与群の  
7 それよりも有意に大きかったとされている。この膀胱腫瘍表面積について  
8 は、ナトリウム摂取量との関連性が認められたとされている。Otoishi ら  
9 は、尿 pH が同一の条件下では、膀胱腫瘍の増大は尿中ナトリウム濃度  
10 に関連するとしている。(参照 1 1 9)

#### 11 12 ⑤ トリプトファン蓄積～インドール類過剰排泄

13 IARC73 における引用によれば、Sims & Renwick (1983) は、雄 SD ラ  
14 ットに、サッカリンナトリウム (0~10% ; 0~5,000 mg/kg 体重/日相当)、  
15 トリプトファン 2%又はトリプトファン 2%+サッカリンナトリウム 5%を 1  
16 ~2 か月間混餌投与し、膀胱発がんの機序を探索する試験を実施している。  
17 その結果、サッカリンナトリウムの投与に関連したインジカン (インドール  
18 の代謝物) の尿中排泄量の増加が認められ、サッカリンナトリウム 10%投与  
19 群では 24 時間尿中排泄量が 3.1 倍に増加したとしている。また、盲腸壁重  
20 量及び盲腸内容物重量の用量依存性の増加、盲腸中インドール類濃度の増加  
21 が認められたとしている。Sims & Renwick は、盲腸中のたん白質及びトリ  
22 プトファンの蓄積によるものと推定しており、サッカリンナトリウムが腸内  
23 におけるたん白質の消化に作用し、腸内細菌叢による食餌中トリプトファン  
24 のインドール類 (膀胱発がん補助物質) への変換を促進し、それが膀胱腫瘍  
25 発生に寄与するという仮説に合致するものであったとしている。また、  
26 Lawrie ら (1985) は、雄ラットにサッカリンナトリウム (7.5% ; 3,750 mg/kg  
27 体重/日相当) を 40 日間混餌投与したところ、インジカンのほか、チロシンの  
28 腸内細菌叢による代謝物である *p*-クレゾールの尿中排泄量が用量に依存  
29 して増加したとしている。(参照 4)

30  
31 IARC73 における引用によれば、Sims & Renwick (1985) は、雌雄 SD  
32 ラットにサッカリンナトリウム (7.5% : 3,750 mg/kg 体重/日相当) を交配 6  
33 週間前から混餌投与する試験を実施している。その結果、得られた児動物は、  
34 哺育期間中の乳汁を経由してより高濃度のインジカンに暴露されたとして  
35 いる。また、児動物においては、盲腸の拡張、盲腸中たん白質量、尿量及び  
36 尿中インジカン排泄量の増加並びに盲腸中トリプトファンナーゼ活性の低下  
37 が認められたが、これらの変化に性差はみられなかったとしている。別途、  
38 母動物にサッカリンナトリウムを出産後から混餌投与した群の児動物にお  
39 いては、上記の変化と一貫性のある変化はみられず、変化にばらつきがみら  
40 れたとしている。これについて Sims & Renwick は、トリプトファンナーゼ活  
41 性のばらつきによるものであるとしている。(参照 4)

42  
43 IARC73 及び FAS32 における引用によれば、Anderson ら (1988) (再掲)  
44 は、離乳雄 SD ラットにサッカリンナトリウム (5% ; 2,500 mg/kg 体重相当)  
45 又は等モルのサッカリンカルシウム、サッカリン若しくはサッカリンカリウ

1 ムを 10 週間混餌投与した後の盲腸重量及び盲腸＋内容物の重量の増加に各  
2 群間で差は認められなかったとしている。(参照 4、22)

3  
4 IARC73 における引用によれば、Roberts & Renwick (1985) は、ヒト  
5 15 例にサッカリンナトリウム (0、1,000 mg/人/日) を 1 か月間経口摂取さ  
6 せ、摂取前、摂取中及び摂取後の尿を検査したところ、尿中インジカン排泄  
7 量は対照群及び投与群ともに大きくばらつき、サッカリンナトリウム投与の  
8 影響を受けなかったとしている。(参照 4)

9  
10 IARC ワーキンググループは、Shoenig & Anderson (1985) によってサ  
11 ッカリンナトリウムを投与した雌は雄よりも盲腸重量が増加すること、  
12 Anderson ら (1988) によってサッカリンナトリウム以外のサッカリン類に  
13 よっても盲腸重量が増加することが明らかにされたことから、サッカリンナ  
14 トリウム投与によってたん白質代謝が変化し、トリプトファンが蓄積し、そ  
15 れが腸内細菌叢で変換されて尿中に排泄されたインドール類が膀胱発がん  
16 を促進するという Sims & Renwick の仮説では、サッカリンナトリウムによ  
17 るラット膀胱の腫瘍発生における性差及びカチオン特異性を説明すること  
18 ができないと結論している。(参照 4)

#### 19 20 (4) 生殖発生毒性

##### 21 ① サッカリン及びその塩類

22 サッカリンカルシウムを被験物質とした生殖発生毒性に関する試験成績  
23 としては、IARC73 において Adkins ら (1972) の抄録報告 (ラット及びハ  
24 ムスターにサッカリンカルシウム (10、100 g/日) を投与する催奇形性試験)  
25 が引用されている (参照 4) が、その詳細を確認することは出来なかった。

26 サッカリン又はサッカリンナトリウムを被験物質とした生殖発生毒性に  
27 関する試験成績として以下のような報告がある。

##### 28 29 a. ラット

##### 30 (a) Lessel (1971) のラット生殖発生毒性試験

31 Lessel (1971) の報告によれば、妊娠 Boots-Wistar ラット (各群 6  
32 匹) にはサッカリンナトリウム (0、6,000 mg/kg 体重/日) を妊娠 1～  
33 20 日に反復投与 (投与経路不詳) し、妊娠 21 日に帝王切開を行う試験  
34 が実施されている。その結果、投与開始初期に母動物の体重増加抑制が  
35 認められたが、胎児生存率、同腹生存胎児数及び胎児体重に被験物質の  
36 投与に関連した変化は認められず、胎児の病理組織学的検査結果は正常  
37 であり、被験物質に催奇形性は認められなかったとされている。また、  
38 別の群 (対照群 12 匹、投与群 9 匹) を設けて、サッカリンナトリウム  
39 (0、6,000 mg/kg 体重/日) を、妊娠期間中を通して反復投与 (投与経  
40 路不詳) し、自然分娩させ、出産後は投与をやめ、得られた児動物が離  
41 乳するまで観察を行う試験が実施されている。その結果、出生率、同腹  
42 生存児動物数、離乳時児動物生存率及び離乳時児動物体重に被験物質の  
43 投与による影響は認められず、児動物に奇形は認められなかったとされ  
44 ている。さらに、生殖能力の確認されたラット (各群雄 10 匹、雌 20  
45 匹) にサッカリン (0、1%) を 60 日間混餌投与した後に交配する試験

1 が実施されており、妊娠率及び出産時の同腹生存児動物数に对照群と投  
2 与群との間で差は認められなかったとされている。(参照 8 8)

#### 3 4 (b) Tanaka ら (1973) のラット生殖発生毒性試験

5 Tanaka ら (1973) の報告によれば、10~12 週齢の妊娠 Wistar ラッ  
6 ト (各群 20 匹) にサッカリンナトリウム (純度不詳) (0、480、950、  
7 1,900、3,800 mg/kg 体重/日<sup>40)</sup> を妊娠 7~13 日の 7 日間反復強制経口  
8 投与 (胃内挿管) し、妊娠 20 日に各群 15 匹を帝王切開し、残る各群 5  
9 匹については自然分娩させ、得られた児動物を 3 週間観察した後にと殺  
10 する試験が実施されている。

11 その結果、母動物については、3,800 mg/kg 体重/日投与群で投与開始  
12 後一時的な体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられたほかは妊娠期間  
13 中に毒性兆候は認められなかったとされている。また、帝王切開した母  
14 動物では、胎児を含む子宮重量、胎盤重量、黄体数、着床数及び着床率  
15 に对照群と投与群との間で差は認められず、胎盤遺残が散見されたもの  
16 の、用量相関性はなく、すべて对照群の背景データの範囲内であったと  
17 されている。

18 帝王切開群の胎児については、被験物質の投与に関連した死亡率及び  
19 発育遅延の増加はなく、对照群を含む全群で同腹生存胎児数は同様であ  
20 り、外表・内臓奇形を有する胎児は認められなかったとされている。骨  
21 格検査では、投与群に中手骨数及び尾椎骨数のわずかな増加がみられた  
22 が、对照群の背景データの範囲内であり、足根骨数及び胸骨分節形状に  
23 对照群と投与群との間で顕著な差はなく、そのほか对照群を含む全群で  
24 通常はみられないような奇形はなかったとされている。

25 自然分娩群の出生児については、母動物の妊娠期間、体重増加、離乳  
26 率及び器官重量に对照群と投与群との間で差はなく、对照群を含む全群  
27 の児動物に離乳時の行動異常は認められなかったとされている。950  
28 mg/kg 体重/日投与群の 1 匹に腰肋骨の発生がみられたが、对照群を含  
29 む全群において外表、内臓及び骨格の奇形は認められなかったとされて  
30 いる。(参照 1 2 0)

#### 31 32 (c) Taylor & Friedman (1974) のラットを用いた三世代にわたる生殖発 33 生毒性試験

34 FAS17 における引用によれば、Taylor & Friedman (1974) は、ラ  
35 ットに RF 法で製造されたサッカリンナトリウム (純度不詳) (0<sup>41)</sup>、0.01、  
36 0.1、1.0、5.0、7.5% ; 0、5、50、500、2,500、3,750 mg/kg 体重/日<sup>41)</sup>  
37 を三世代にわたって混餌投与する試験を実施している。その結果、F<sub>1a</sub>  
38 児動物については、5.0%以上の投与群の体重が雄で 12~20%、雌で 17  
39 ~29%低かったが、投与の経過に従って雌雄ともに他群との差はみられ  
40 なくなるとしている。F<sub>2a</sub> 世代については、胎児期の受胎率及び新生  
41 児期の生存率は被験物質の投与による影響を受けなかったが、5.0%以上  
42 の投与群の胎児期の平均同腹生存胎児数は若干減少し、離乳時の生存率

<sup>40</sup> 別途実施した 2 週間反復経口投与毒性試験結果及び妊娠 13 日の単回経口投与急性毒性試験結果 (LD<sub>50</sub> : 9,510 mg/kg 体重) を基に設定したとされている。

<sup>41</sup> 基礎飼料に、サッカリンナトリウム 5%相当量のナトリウムを炭酸ナトリウムとして添加したものとされている。

1 及び体重並びに離乳率は低値であったとしている。F<sub>2b</sub> 世代については、  
2 5.0%以上の投与群の離乳時体重が低値であったとしている。(参照 9)

3  
4 (d) Lederer & Pottier-Arnould (1973) 及び Lederer (1977) ラット生  
5 殖発生毒性試験

6 IARC22 でも引用されている Lederer & Pottier-Arnould (1973) の  
7 報告によれば、妊娠 Wistar ラット (対照群 21 匹、投与群 13 匹) にサ  
8 ッカリン (0、0.3%) を妊娠前から妊娠期間中を通じて混餌投与し、妊  
9 娠 20 日に帝王切開し、胎児の水晶体、網膜及び視神経の組織学的検査  
10 を行う試験が実施されている。その結果、水晶体の形態学的変化が、対  
11 照群の胎児 17/137 匹にみられたのに対し、投与群の胎児 26/79 匹にみ  
12 られたとされている。また、IARC22 でも引用されている Lederer (1977)  
13 の報告によれば、妊娠 Wistar ラット (対照群 52 匹、投与群 13~35 匹)  
14 について、対照群のほか、M 法により製造されたサッカリン (0.15、0.3、  
15 3% ; 75、150、1,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) 又は RF 法により製造されたサ  
16 ッカリン (0.3、3% ; 150、1,500 mg/kg 体重/日<sup>(1)</sup>) を混餌投与する群  
17 を設定し、妊娠期間中を通じて投与し、妊娠 9 日及び 20 日に帝王切開  
18 を行い、胚の吸収、胎児体重及び胎盤重量の観察並びに胎児の水晶体、  
19 網膜及び視神経の組織学的検査を行う試験が実施されている。その結果、  
20 0.3%以上の RF 法製サッカリン投与群及び 3%以上の M 法製サッカリン  
21 投与群で胚吸収率の増加が認められたとされている。また、0.3%以上の  
22 RF 法製サッカリン投与群で胎盤重量の増加並びに胎児の水晶体、網膜  
23 及び視神経の形態学的変化に係る指数の高値が認められたとされてい  
24 る。Lederer は、水晶体等の形態学的変化について不純物が原因ではな  
25 いかと考察している (参照 3 3、1 2 1、1 2 2)。IARC22 では、本  
26 試験成績について、対照群でも変化が認められていることから、組織学  
27 的検査上のアーチファクトである可能性を排除できないとされている  
28 (参照 3 3)。  
29

30 (e) Arnold ら (1979) のラットを用いた二世世代にわたる試験

31 Arnold ら (1979) らの報告によれば、平均体重 175 g の SD ラット  
32 (F<sub>0</sub>) (各群雄雌各 50 匹) にサッカリンナトリウム (0、5%) を 100  
33 日間混餌投与した後に雌雄を 1 : 1 で交配し、雌については妊娠、出産  
34 及び哺育期間中も投与を継続し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) についても離乳  
35 後から親動物と同様の混餌投与を行い、F<sub>1</sub> 各群各腹 2 匹計 30 匹の雄を  
36 生後 8 日又は 21 日にと殺し、残りの F<sub>1</sub> 児動物については生後 105 日に  
37 と殺する試験が実施されている。その結果、F<sub>0</sub> の生殖に係るパラメータ  
38 や F<sub>1</sub> の生存児数、生後 4 日体重並びに生後 8 日、21 日及び 105 日の尿  
39 路の剖検及び病理組織学的検査において被験物質の投与に関連した変  
40 化は認められなかったとされている。(参照 1 2 3)

41  
42 (f) Taylor ら (1980) のラットを用いた二世世代にわたる試験 (再掲)

43 IARC73 及び FAS17 でも引用されている上述の Taylor ら (1980) の  
44 報告によれば、離乳 SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雄 10 匹、雌 20 匹) に、RF  
45 法で製造されたサッカリンナトリウム (純度不詳、OTSA 約 350 ppm

1 を含有) (0、0.01、0.1、1.0、5.0、7.5% ; 0、5、50、500、2,500、3,750  
2 mg/kg 体重/日相当) を交配 (約 10 週齢時)、妊娠及び出産を経て児動  
3 物の離乳まで混餌投与した後にと殺し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雌  
4 雄各 48 匹) についても離乳後から各投与群で生存率が 20%になるまで  
5 F<sub>0</sub> と同様の混餌投与を行い、対照群の生存率が 20%になった時点で全  
6 生存動物をと殺する試験が実施されている。その結果、上述のとおり  
7 F<sub>1</sub> の 5.0%以上の投与群の雌雄の離乳時に体重の低値がみられ、その後  
8 も F<sub>1</sub> の 7.5%投与群の雄に体重増加抑制が認められたが、摂餌効率に影  
9 響は認められなかったとされている。(参照 4、9、95)

10  
11 (g) Arnold ら (1980) のラットを用いた二世代にわたる試験 (再掲)

12 IARC73 及び FAS17 でも引用されている上述の Arnold ら (1980)  
13 の報告によれば、32 日齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各約 50 匹) に  
14 M 法で製造されたサッカリンナトリウム (水溶性不純物 40~50 ppm、  
15 OTSA 0.05 ppm 未満を含有) (0、5% ; 0、2,500 mg/kg 体重/日相当)  
16 を混餌投与し、投与開始 90 日後に各群内で雌雄を 1:1 で 1 週間交配し、  
17 妊娠、出産及び哺育を経て 142 週まで投与を継続した後にと殺するとと  
18 ともに、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雌雄各 49~50 匹) についても、生後  
19 21 日に離乳後、F<sub>0</sub> と同様の投与を投与 127 週まで継続した後にと殺す  
20 る試験が実施されている。その結果、F<sub>0</sub> の生殖に係るパラメータ (受精  
21 率、妊娠率、生存胎児数及び胎児体重) において被験物質の投与に関連  
22 した変化は認められなかったとされている。なお、上述のとおり F<sub>1</sub> の  
23 5%投与群の雌雄で被験物質の投与に関連した体重増加抑制が認められ  
24 たとされている。(参照 4、9、96)

25  
26 b. マウス

27 (a) Tanaka ら (1973) のマウス生殖発生毒性試験

28 Tanaka ら (1973) の報告によれば、8~10 週齢の妊娠 ICR マウス (各  
29 群 10 匹) にサッカリンナトリウム (純度不詳) (0、62.3、125、250、  
30 500、1,000 mg/kg 体重) を妊娠 6 日に単回強制経口投与 (胃内挿管)  
31 し、妊娠 18 日に帝王切開する試験が実施されている。その結果、母動  
32 物については、妊娠中の体重増加に対照群と投与群との間で差はほとん  
33 どなく、一般状態について異常が認められた動物はおらず、胎児を含む  
34 子宮重量、胎盤重量及び着床数に対照群と投与群との間で差は認められ  
35 なかったとされている。胎児については、生存胎児数、死亡率並びに生  
36 存胎児の体重、体長及び尾長に対照群と投与群との間で差は認められな  
37 かったとされている。Tanaka らは、本試験において被験物質の投与に  
38 関連した胚/胎児に対する影響は認められなかったとしている。(参照 1  
39 20)

40  
41 (b) Kroes ら (1977) のマウスを用いた七世代にわたる試験 (再掲)

42 IARC73 及び FAS17 でも引用されている上述の Kroes ら (1977) の  
43 報告によれば、F<sub>1a</sub> のほか F<sub>2b</sub> についても離乳後にと殺し、F<sub>3c</sub> 及び F<sub>4b</sub>  
44 ~F<sub>6b</sub> については妊娠 20 日の胎児の時点で取り出し、生殖発生毒性に係  
45 る試験が実施されている。その結果、個別世代の対照群と投与群との間

1 有意差のみられた生殖発生に係るパラメータが散見されたが、いずれ  
2 も世代間で一貫性のある変化ではなく、被験物質の投与に関連したもの  
3 ではないとされている。さらに、F<sub>6b</sub>については、骨格異常及び内臓異  
4 常の検査が行われ、被験物質の投与に関連した異常は認められなかった  
5 とされており、被験物質（サッカリン）に催奇形性は認められなかった  
6 とされている。Kroesらは、本試験において被験物質（サッカリン）の  
7 投与に関連した胚/胎児に対する影響は認められなかったと結論してい  
8 る。（参照4、9、106）

#### 9 10 (c) Dropkinら(1985)のマウス生殖発生毒性試験

11 IARC73における引用によれば、Dropkinら(1985)は、妊娠ICR  
12 マウス(対照群10匹、各投与群5匹)にサッカリンナトリウムを(i)妊  
13 娠10日に単回腹腔内投与(0、500、1,000、2,000 mg/kg体重)、(ii)妊  
14 娠5~15日に反復強制経口投与(胃内挿管)(0、5、10、25 mg/kg体  
15 重/日)又は(iii)妊娠0~17日に飲水投与(0、5、10、20%)し、妊娠  
16 17日に帝王切開して胎児の生存、成長及び奇形をみる試験を実施して  
17 いる。その結果、25 mg/kg体重/日反復強制経口投与群の胚吸収率(5/52)  
18 が対照群(7/125)よりもわずかに増加傾向にあったが、統計学的に有  
19 意な変化ではなかったとしている。全胎児中唯一の奇形は、25 mg/kg  
20 体重/日反復強制経口投与群の1匹に認められた口蓋裂であったとして  
21 いる。(参照4)

#### 22 23 (d) Seidenbergら(1986)のマウス生殖発生毒性試験

24 IARC73における引用によれば、Seidenbergら(1986)は、ICRマ  
25 ウス母動物にその短期試験でのMTLに相当する用量のサッカリン(化  
26 学形不詳)を強制経口投与したところ、児動物の生存率、成長及び形態  
27 に影響はみられなかったとしている。(参照4)

#### 28 29 (e) NTP(1997)のマウスを用いた二世代にわたる試験

30 IARC73における引用によれば、NTP(1997)は、CD-1マウスにサ  
31 ッカリンナトリウム(0、1.25、2.5、5%; 0、3,500、5,900、8,100 mg/kg  
32 体重/日相当)を二世代にわたって飲水投与する試験を実施している。そ  
33 の結果、死亡率については、F<sub>0</sub>の5%投与群で有意な増加が認められた  
34 としている。摂水量については、F<sub>0</sub>の5%投与群で10~20%減少した一  
35 方、F<sub>0</sub>の1.25%及び2.5%投与群ではそれぞれ20%及び40%増加してお  
36 り、F<sub>0</sub>の5%投与群の死亡率増加は脱水によるものであるとしている。  
37 5%投与群において生存児数の減少及び児数で調整したF<sub>1</sub>胎児体重の減  
38 少が認められたとしている。さらにF<sub>1</sub>の対照群及び2.5%投与群につ  
39 いて投与を継続し、交配を行ったところ、摂水量の増加がみられたが、被  
40 験物質の投与に関連した生殖能への影響は認められなかったとしてい  
41 る。(参照4)

### 42 43 c. ウサギ

#### 44 (a) Lessel(1971)のウサギ生殖発生毒性試験

45 Lessel(1971)の報告によれば、妊娠ウサギ(週齢不詳)(対照群7

1 匹、投与群 8 匹) にサッカリンナトリウム (0、600 mg/kg 体重/日) を  
2 妊娠 1~29 日に反復投与 (投与経路不詳) し、妊娠 30 日に帝王切開す  
3 る試験が実施されている。その結果、投与開始初期に母動物の体重増加  
4 抑制が認められたが、胎児生存率、同腹生存胎児数及び胎児体重に被験  
5 物質の投与に関連した変化は認められず、胎児の病理組織学的検査結果  
6 は正常であり、被験物質に催奇形性は認められなかったとされている。  
7 (参照 8 8)

#### 8 9 d. *In vitro* 試験

##### 10 (a) Kitchen & Ebron (1983) のラット胚試験

11 IARC73 における引用によれば、Kitchen & Ebron (1983) は、妊娠  
12 10.5~12.5 日のラット胚をサッカリン (1mM) に暴露させる *in vitro*  
13 試験を実施しており、代謝活性化系の有無にかかわらず胚の成長及び形  
14 態に影響は認められなかったとしている。(参照 4)

##### 15 16 (b) Pratt & Willis (1985) の初代培養ヒト胚細胞を用いた試験

17 IARC73 における引用によれば、Pratt & Willis (1985) は、初代培  
18 養ヒト胚口蓋間充織細胞を用いた *in vitro* 試験系で、サッカリンナトリ  
19 ウムの 50%増殖抑制濃度は 5.35 mg/mL (26 mM) であり、当該試験系  
20 で 1 mM 未満のサッカリンナトリウムに催奇形性が示唆されたとした  
21 が、Steele ら (1988) は、多施設間において初代培養ヒト胚口蓋間充  
22 織細胞の増殖試験等を行ったところサッカリンの催奇形性を示す証拠  
23 は得られなかったとしている。(参照 4)

##### 24 25 (c) Renault ら (1989) のラット胚枝芽培養細胞を用いた試験

26 IARC73 における引用によれば、Renault ら (1989) は、ラット胚枝  
27 芽培養細胞株を用いた *in vitro* 試験を実施し、その軟骨形成及び細胞増  
28 殖に影響のみられたサッカリン (化学形不詳) 濃度を 2.6 mg/mL 及び  
29 4.1 mg/mL としている。(参照 4)

##### 30 31 (d) Newall & Beedles (1996) のマウス胚幹細胞試験

32 IARC73 における引用によれば、Newall & Beedles (1996) は、*in vitro*  
33 で 0.5 mg/mL 以下の濃度のサッカリンはマウス胚幹細胞の分化を阻害  
34 しないとしている。(参照 4)

#### 35 36 ② 不純物

37 サッカリン及びその塩類の不純物とされる物質を被験物質とした生殖発  
38 生毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

##### 39 40 a. OTSA

##### 41 (a) Lederer (1977) のラット生殖発生毒性試験 (再掲)

42 上述の Lederer (1977) の報告によれば、妊娠 Wistar ラット (対照  
43 群 52 匹、投与群 20 匹) に、OTSA (0、0.1%) を、妊娠期間中を通じ  
44 て混餌投与し、妊娠 9 日及び 20 日に帝王切開を行い、胚の吸収率、胎  
45 児体重及び胎盤重量の観察並びに胎児の水晶体、網膜及び視神経の組織

1 学的検査を行う試験が実施されている。その結果、胚吸収率、胎児体重  
2 並びに水晶体、網膜及び視神経の形態学的変化に係る指数に変化はなかつ  
3 したが、胎盤重量の増加が認められたとされている(参照33、121、  
4 122)。IARC22 では、本試験成績について、対照群でも変化が認め  
5 られていることから、組織学的検査上のアーチファクトである可能性を  
6 排除できないとされている(参照33)。  
7

#### 8 (b) Arnoldら(1979)らのラット生殖発生毒性試験

9 Arnoldら(1979)らの報告によれば、平均体重175gのSDラット  
10 (F<sub>0</sub>) (各群雌24~27匹)を雌雄1:1で平均体重250gの無処置雄と交  
11 配し、OTSA(0、40、100、250mg/kg体重/日)を妊娠1日から児動  
12 物が離乳するまでの計43日間反復強制経口投与(胃内挿管)し、得ら  
13 れた児動物(F<sub>1</sub>)のうち各腹からほぼ同数を無作為に選抜し、生後8、  
14 15及び21日にその日のF<sub>0</sub>母動物への投与2時間後に中間と殺(それ  
15 ぞれ各群13~21匹)し、残りのF<sub>1</sub>児動物についてはF<sub>0</sub>母動物と同様  
16 の投与を生後105日まで行った後にと殺する試験が実施されている。そ  
17 の結果、F<sub>0</sub>母動物の生殖に係るパラメータや平均生存児数に変化は認め  
18 られなかったとされている。体重については、F<sub>1</sub>の100mg/kg体重/日  
19 以上の投与群の雌雄で離乳後3週から9週にかけて低値が認められたと  
20 されている。尿検査においては、F<sub>1</sub>児動物の40mg/kg体重/日以上の投  
21 与群で尿pHの若干の低下(Δ0.1~0.5)がみられたが、用量相関性は  
22 認められなかったとされている。尿路の剖検及び病理組織学的検査にお  
23 いては、膀胱結石が、肉眼では全く認められなかったが、鏡検では生後  
24 21日以降の児動物の雌雄で用量相関性をもって認められたとされてい  
25 る。生後105日の100mg/kg体重/日投与群の雄1匹及び250mg/kg体  
26 重/日投与群の雄2匹の膀胱に微細な限局性の移行上皮過形成が認めら  
27 れたとされている。

28 また、別途平均体重175gのSDラット(F<sub>0</sub>) (各群雄40~50匹、雌  
29 38~50匹)にOTSA(0、2.5、25、250mg/kg体重/日)、OTSA(250  
30 mg/kg体重/日)+塩化アンモニウム(1%飲水投与)又はサッカリンナ  
31 トリウム(5%)を100日間混餌投与した後に雌雄を1:1で交配し、雌  
32 については妊娠、出産及び哺育期間中も投与を継続し、得られた児動物  
33 (F<sub>1</sub>)についても離乳後から親動物と同様の混餌投与を行い、F<sub>1</sub>各群各  
34 腹2匹計30匹の雄を生後8日又は21日にと殺し、残りのF<sub>1</sub>児動物に  
35 ついては生後105日にと殺する試験が実施されている。その結果、F<sub>0</sub>  
36 の生殖に係るパラメータやF<sub>1</sub>の生存児数に被験物質の投与に関連した  
37 変化は認められなかったとされている。出生直後の児動物への影響とし  
38 ては、OTSAの250mg/kg体重/日投与群において生後1日及び4日の  
39 平均生存児動物数並びに生後4日の体重の減少が認められたとされて  
40 いる。生後105日の児動物においても、250mg/kg体重/日投与群の雌  
41 雄で、塩化アンモニウム飲水投与の有無にかかわらず体重の低値が認め  
42 られたとされている。尿路の剖検及び病理組織学的検査においては、生  
43 後8日のF<sub>1</sub>のOTSA投与群(250mg/kg体重/日+塩化アンモニウム  
44 1%飲水投与群を除く。)において腎結石及び膀胱病変の発生率に用量相  
45 関性が認められたとされている。腎結石は、対照群で6/30匹、2.5mg/kg

1 体重/日投与群で 5/30 匹、25 mg/kg 体重/日投与群で 11/30 匹、250 mg/kg  
2 体重/日投与群で 14/30 匹に認められたが、250 mg/kg 体重/日+塩化ア  
3 アンモニウム 1%飲水投与群では 5/30 匹にみられたとされている。また、  
4 膀胱病変としては、2.5 mg/kg 体重/日投与群で乳頭腫が 1/30 匹、250  
5 mg/kg 体重/日投与群で限局性の移行上皮過形成が 7/30 匹に認められた  
6 が、250 mg/kg 体重/日+塩化アンモニウム 1%飲水投与群では 1 匹も認  
7 められなかったとされている。Arnold らは、塩化アンモニウムの併用  
8 により腎結石の生成及び膀胱病変の発生が減少したと結論している。  
9 (参照 1 2 3)

10  
11 (c) Arnold ら (1980) のラットを用いた二世世代にわたる試験 (再掲)

12 IARC73 及び FAS17 でも引用されている上述の Arnold ら (1980)  
13 の報告によれば、32 日齢の SD ラット (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各 50 匹 (250 mg/kg  
14 体重/日+塩化アンモニウム 1%投与群のみ雄 40 匹、雌 38 匹)) に OTSA  
15 (不純物 100 ppm 未満を含有) (0、2.5、25、250 mg/kg 体重/日) 又  
16 は OTSA (250 mg/kg 体重/日) +塩化アンモニウム (1%) を飲水投与  
17 (自由摂取) し、投与開始 90 日後に各群内で雌雄を 1:1 で 1 週間交配  
18 し、妊娠、出産及び哺育を経て 142 週まで投与を継続した後にと殺する  
19 とともに、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群雌雄各 49~50 匹) についても、  
20 生後 21 日に離乳後、F<sub>0</sub> と同様の投与を 127 週まで継続した後にと殺す  
21 る試験が実施されている。その結果、250 mg/kg 体重/日投与群におい  
22 て生存胎児数の減少、250 mg/kg 体重/日及び 250 mg/kg 体重/日+塩化  
23 アンモニウム 1%投与群において F<sub>1</sub> 児動物の生後 4 日の体重の低値が認  
24 められたとされている。そのほか、生殖に係るパラメータにおいて被験  
25 物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。(参照 4、  
26 9、9 6)

27  
28 (d) 厚生省 (1998) のラット反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (再掲)

29 上述の厚生省 (当時) の平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果によ  
30 れば、8 週齢の SD ラット (各群雌雄各 13 匹) に、OTSA (0、20、100、  
31 500 mg/kg 体重/日) を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間中 14  
32 日間及び交配期間終了後 14 日間の計 42 日間、雌に対しては交配前 14  
33 日間及び最長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで強制経口投与 (胃  
34 内挿管) し、得られた児動物を哺育 4 日にと殺する反復投与毒性・生殖  
35 発生毒性併合試験が実施されている。その結果、親動物については、交  
36 尾、排卵、受胎、分娩及び哺育において被験物質の投与に関連した変化  
37 は認められなかったとされている。児動物については、形態異常はみら  
38 れなかったが、500 mg/kg 体重/日投与群において、哺育 0 日の分娩率、  
39 生存児数及び生児出産率が低下・減少傾向を示し、哺育 0 日及び 4 日の  
40 雌雄生存児体重の低値が認められたとされている。以上より、試験担当  
41 者は、本試験における生殖発生毒性に係る NOAEL を、親動物で雌雄と  
42 もに 500 mg/kg 体重/日、児動物で 100 mg/kg 体重/日としている。(参  
43 照 1 1 2)

44  
45 (e) 厚生省 (2000) のラット簡易生殖毒性試験 (再掲)

1 上述の厚生省（当時）の平成 11 年度既存化学物質安全性点検結果に  
2 よれば、9 週齢の SD ラット（各群雌雄各 13 匹）に、OTSA（0、4、20、  
3 100 mg/kg 体重/日）を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間中 14  
4 日間及び交配期間終了後 19 日間の計 47 日間、雌に対しては交配前 14  
5 日間及び最長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで強制経口投与（胃  
6 内挿管）する簡易生殖毒性試験が実施されている。その結果、親動物に  
7 ついては、交尾、排卵、受胎、分娩及び哺育において被験物質の投与に  
8 関連した変化は認められなかったとされている。児動物については、生  
9 存、一般状態及び体重並びに形態について被験物質の投与に関連した変  
10 化は認められなかったとされている。以上より、試験担当者は、本試験  
11 における生殖発生毒性に係る NOAEL を、親動物で雌雄ともに 100  
12 mg/kg 体重/日、児動物でも 100 mg/kg 体重/日としている。（参照 1 1  
13 4）

#### 14 15 b. PTSA

##### 16 (a) 厚生省（1992）のラット反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験（再掲）

17 上述の厚生省（当時）の平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果によ  
18 れば、8 週齢の SD ラット（各群雌雄各 13 匹）に、PTSA（0、120、  
19 300、750 mg/kg 体重/日）を、雄に対しては交配前 14 日間、交配期間  
20 中 14 日間及び交配期間終了後 14 日間の計 42 日間、雌に対しては交配  
21 前 14 日間及び最長 14 日間の交配期間を経て哺育 3 日まで強制経口投与  
22 （胃内挿管）し、得られた児動物を哺育 4 日にと殺する反復投与毒性・  
23 生殖発生毒性併合試験が実施されている。その結果、親動物については、  
24 750 mg/kg 体重/日投与群の分娩例 10 例のうち 2 例の分娩状態が不良で、  
25 いずれも哺育 2 日までに全児が死亡したとされている。そのほか、交尾、  
26 排卵、受胎及び哺育において被験物質の投与に関連した変化は認められ  
27 なかったとされている。児動物については、750 mg/kg 体重/日投与群  
28 で出生率の低下、哺育 1 日の雌生存児体重の低値が認められたとされて  
29 いる。これについて試験担当者は、750 mg/kg 体重/日の投与により分  
30 娩又は哺育機能の障害及び胚の子宮内発育抑制が惹起される可能性が  
31 示唆されたとしている。以上より、試験担当者は、本試験における生殖  
32 発生毒性に係る NOAEL を、親動物及び児動物ともに 300 mg/kg 体重/  
33 日としている。（参照 1 1 5）

#### 34 35 c. OSBA

##### 36 (a) Lederer（1977）のラット生殖発生毒性試験（再掲）

37 上述の Lederer（1977）の報告によれば、妊娠 Wistar ラット（対照  
38 群 52 匹、投与群 24 匹）に、OSBA（0、0.1%）を、妊娠期間中を通じ  
39 て混餌投与し、妊娠 9 日及び 20 日に帝王切開を行い、胚の吸収率、胎  
40 児体重及び胎盤重量の観察並びに胎児の水晶体、網膜及び視神経の組織  
41 学的検査を行う試験が実施されている。その結果、胎児体重及び胎盤重  
42 量に変化はなかったが、胚吸収率並びに水晶体、網膜及び視神経の形態  
43 学的変化に係る指数の増加が認められたとされている（参照 3 3、1 2  
44 1、1 2 2）。IARC22 では、本試験成績について、対照群でも変化が  
45 認められていることから、組織学的検査上のアーチファクトである可能

性を排除できないとされている（参照 3 3）。

#### d. CBSA 及び CBSA-NH<sub>4</sub>

##### (a) Lederer (1977) のラット生殖発生毒性試験（再掲）

上述の Lederer (1977) の報告によれば、妊娠 Wistar ラット（対照群 52 匹、投与群 20 匹）に  $\sigma$ -CBSA 又は  $\sigma$ -CBSA-NH<sub>4</sub> (0、0.1%) を、妊娠期間中を通じて混餌投与し、妊娠 9 日及び 20 日に帝王切開を行い、胚の吸収率、胎児体重及び胎盤重量の観察並びに胎児の水晶体、網膜及び視神経の組織学的検査を行う試験が実施されている。その結果、胎盤重量（CBSA 投与群を除く。）、胎児体重及び胚吸収率並びに水晶体、網膜及び視神経の形態学的変化に係る指数の増加が認められたとされている（参照 3 3、1 2 1、1 2 2）。IARC22 では、本試験成績について、対照群でも変化が認められていることから、組織学的検査上のアーチファクトである可能性を排除できないとされている（参照 3 3）。

#### (5) アレルゲン性

(略)

#### (6) ヒトにおける知見

(略)

### Ⅲ. 一日摂取量の推計等

#### 1. 米国における摂取量

米国では、添加物「サッカリンカルシウム」は、添加物「サッカリン」、「サッカリンアンモニウム」及び「サッカリンナトリウム」とともに、(i) 清涼飲料等（液体 1 オンスあたりサッカリンとして 12 mg 以下）、調理・卓上用砂糖代替品（砂糖相当量スプーン 1 杯あたりサッカリンとして 20 mg 以下）及び加工食品（一食分あたりサッカリンとして 30 mg 以下）への甘味料としての添加、又は(ii) ビタミン・ミネラルのチュアブル錠のかさ減少及び風味増強、(iii) チューインガムの風味及び物理学的特性の保持若しくは(iv) フレーバー・チップスの風味増強といった目的での使用が認められている。（参照 2、2 0）

NRC (1989) の報告によれば、米国における 1987 年の甘味料用のサッカリンカルシウム及びサッカリンナトリウムの生産量は、それぞれ 12,800 ポンド（約 5,806 kg）及び 579,000 ポンド（約 262,634 kg）と報告されている。（参照 1 2 4）

#### 2. 欧州における摂取量

EU では、添加物「サッカリン並びにそのナトリウム、カリウム及びカルシウム塩」（E954）は、清涼飲料（80～100 mg/L 以下）、デザート類（100 mg/kg 以下）、菓子類等（80～1,200 mg/L(kg)以下）、ビタミン・ミネラルサプリメント（80～3,000 mg/L 又は kg 以下）といった食品への甘味料としての添加が認められている。（参照 2、2 1）

英国農林水産食料省（1993）による英国における生産量ベースでの添加物摂取

1 量（1984～1986年）調査報告によれば、添加物「サッカリン」の推定一日摂取  
2 量は12.2 mg/人/日、添加物「サッカリンカルシウム」及び「サッカリンナトリ  
3 ユム」の推定一日摂取量はいずれも0 mg/人/日とされている。（参照125）  
4

5 欧州委員会（2001）の添加物摂取量調査報告によれば、欧州における成人の添  
6 加物「サッカリン並びにそのナトリウム、カリウム及びカルシウム塩」（E954）  
7 の理論最大一日摂取量（「対象食品の理論摂取量」×「対象食品添加基準濃度上  
8 限值」）は、ADI（5 mg/kg 体重/日）を超えないとされている。一方、幼児の理  
9 論最大一日摂取量はADIを超過すると推定されたことから、英国、オランダ及  
10 びフランスにおける「対象食品の実摂取量」×「対象食品添加基準濃度上限値」  
11 で算出した推定摂取量との比較が行われ、その結果、当該推定摂取量はADIの2  
12 ～51%であるとされている。（参照126）  
13

### 14 3. 我が国における摂取量

15 添加物「サッカリンカルシウム」は我が国では未指定であるため、我が国にお  
16 ける摂取量データはない。既に指定されている添加物「サッカリン」及び「サッ  
17 カリンナトリウム」の摂取量等については以下のとおりである。  
18

19 マーケットバスケット方式によるトータルダイエツトスタディーの結果、食品  
20 からのサッカリン及びサッカリンナトリウムの推定一日摂取量（サッカリンとし  
21 ての合計値）は、1982年で0.906 mg/人/日、1987～1988年で1.11 mg/人/日、  
22 1991年で0.859 mg/人/日、1994年で0.416 mg/人/日、1997年で2.88 mg/人/日  
23 と報告されている（参照127）。また、2001～2003年の国民（健康）栄養調査  
24 結果及び2006年度に採取した検体の分析結果を基に行われたマーケットバスケ  
25 ット方式によるトータルダイエツトスタディーの結果、食品からのサッカリンナ  
26 トリウムの推定一日摂取量は、1歳以上の全人口で0.19 mg/人/日、1～6歳で0.06  
27 mg/人/日、7～14歳で0.11 mg/人/日、15～19歳で0.12 mg/人/日、20歳以上で  
28 0.18 mg/人/日と報告されている（参照128）。  
29

30 一方、生産量ベースでの摂取量調査結果によれば、添加物「サッカリン」及び  
31 「サッカリンナトリウム」の推定一日摂取量はそれぞれ2001年度で0.0015 mg/  
32 人/日<sup>42</sup>及び2.68 mg/人/日<sup>43</sup>、2004年度で0.0017 mg/人/日<sup>44</sup>及び4.96 mg/人/  
33 日<sup>45</sup>と報告されている。（参照129、130）  
34  
35

## 36 IV. 国際機関等における評価

<sup>42</sup> 我が国においてチューインガムの甘味料は糖類、糖アルコール等の高甘味度甘味料がほとんどであるとの業界情報から、3社から合計10トンが報告されたが、その大部分は食品外用途又はサッカリンナトリウム製造の原料に用いられたものと推定し、報告量の約5%の0.1トンを添加物としての生産量と査定して、算出されている。

<sup>43</sup> 230トンが報告されたが、食品以外の用途（糖尿病患者用甘味料、飼料添加物、メッキ等）に約70トンが使われた一方、輸入食品由来で5トンが加わったと推定して、165トンを添加物としての生産量と査定し、うち約4分の1が漬物に使用され、漬物の廃棄率を他の食品の2倍の40%と仮定して、算出されている。

<sup>44</sup> 我が国においてチューインガムの甘味料は糖類、糖アルコール等の高甘味度甘味料がほとんどであるとの業界情報から、3社から合計20トンが報告されたが、その大部分は食品外用途又はサッカリンナトリウム製造の原料に用いられたものと推定し、報告量の約5%の0.1トンを添加物としての生産量と査定して、算出されている。

<sup>45</sup> 390トンが報告量とされたが、食品以外の用途（糖尿病患者用甘味料、飼料添加物、メッキ等）に約100トンが使われたと推定して、290トンを添加物としての生産量と査定し、うち約4分の1が漬物に使用され、漬物の廃棄率を他の食品の2倍の40%と仮定して、算出されている。

## 1. JECFA における評価

### (1) サッカリン及びその塩類

1967 年の第 11 回会合において、JECFA は、サッカリン類の安全性について検討し、サッカリン (1% ; 500 mg/kg 体重/日相当) の 36 週間及び 2 年間の混餌投与でラットに有害影響がみられなかったことから、サッカリン並びにそのナトリウム塩及びカルシウム塩について、「無条件 ADI (unconditional ADI)」0~5 mg/kg 体重/日、特定用途食品用のみに適用する「条件付き ADI (conditional ADI)」5~15 mg/kg 体重/日を設定している。(参照 1 3 1)

1974 年の第 18 回会合において、JECFA は、サッカリンナトリウム 5%又は 7.5%混餌という高用量を投与した 2 つの試験のみにおいてラットの膀胱腫瘍が誘発されているが、この膀胱の病変はサッカリン又は不純物による二次的な作用 (尿中 pH の変化による結石の形成等) によるものと考えることが合理的ではないかとしている。また、RF 法又は M 法でのサッカリン類の製造において生じる不純物の多様性が明らかにされ、OTSA はサッカリン類に最大 6,000 ppm 含有されているとの報告がなされた。結果として、JECFA は、前回会合で勧告した ADI を変更しなかった。(参照 1 1)

1977 年の第 21 回会合において、JECFA は、子宮内暴露相を伴う発がん性試験 3 報において雄ラットに膀胱腫瘍発生の有意な増加がみられたとされているが、この試験方法についての背景情報が不十分であることを指摘した。これらのうち 2 試験の被験物質の主たる不純物である OTSA については、それ単独ではラットに膀胱腫瘍を発生させず、OTSA が含まれていない精製サッカリンによっても膀胱腫瘍は発生することから、OTSA が雄ラットの膀胱腫瘍発生の原因物質である可能性は否定された。ラット以外のいくつかの動物種についての長期発がん性試験では膀胱腫瘍の発生が認められないこと、遺伝毒性試験の結果に一貫性がみられないことから、未だ同定されていない発がん性不純物が存在する可能性、サッカリン類が発がんプロモーターとして作用する可能性及び高用量のサッカリン類が物理的影響を及ぼす可能性が指摘された。また、主に糖尿病患者を対象とした疫学研究による、膀胱発がんリスクは増加しないとの報告については、標本サイズの制約、標本人口集団の不連続性等の問題点が指摘された。こうした新たな知見により生じた懸念のため、JECFA は、サッカリン類についてそれまでの「無条件 ADI」0~5 mg/kg 体重/日を「暫定 ADI (temporary ADI)」0~2.5 mg/kg 体重/日に変更し、特定用途食品用のみに適用していた「条件付き ADI (conditional ADI)」0~15 mg/kg 体重/日を撤廃した。(参照 9、1 3 2)

1980 年の第 24 回会合において、JECFA は、サッカリン類摂取と膀胱癌発生率との間に関連性が認められないと結論した直近の疫学研究 2 報の発表に留意するとしつつ、サッカリン類についてのげっ歯類を用いた発がん性試験、高用量での膀胱腫瘍発生メカニズムに関する試験等がまだ完了していないとして、暫定 ADI 適用の延長を行った。(参照 1 3 3)

1982 年の第 26 回会合において、JECFA は、複数の疫学研究から得られた知見について精査したが、これらの研究の結果がサッカリン類に関連した膀胱

1 腫瘍の発生増加の証拠となるものではないと結論した。JECFA は、暫定 ADI  
2 適用を 1984 年まで延長することとし、改訂モノグラフ (FAS17) を作成した。  
3 (参照 1 3 4)

4  
5 1984 年の第 28 回会合において、JECFA は、生化学、体内動態、遺伝毒性  
6 及び疫学に関するデータ、尿の量及び組成とサッカリン類の膀胱移行上皮への  
7 影響に関する試験結果、発がんプロモーター又は発がん補助物質としてのサッ  
8 カリン類に関する試験結果並びに子宮内暴露と膀胱腫瘍発生における用量反  
9 応関係を明らかにするためのラット発がん性試験結果といった新たな情報の  
10 提出を受けた。JECFA は、既存の知見からはサッカリン類に遺伝毒性はなく、  
11 子宮内暴露は雄ラットの膀胱におけるサッカリン類への発がん応答に不可欠  
12 なものではないとの見解を取りまとめた。子宮内暴露相を伴う長期試験におい  
13 ては 3%以上混餌投与により明らかな膀胱腫瘍発生増加が認められ、また、出  
14 生後からの哺育を経た暴露では一世代試験において 5%混餌投与 (本試験は 1  
15 投与群のみの設定) により膀胱腫瘍発生増加が認められているとして、JECFA  
16 は、1%混餌 (500 mg/kg 体重/日相当) を NOEL とし、サッカリン及びそのカル  
17 シウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩について暫定グループ ADI 0~2.5  
18 mg/kg 体重/日を割り当てることができるとし、既存モノグラフの補遺を作成  
19 した。(参照 1 3 5)

20  
21 1993 年の第 41 回会合において、JECFA は、サッカリン類について次の見  
22 解を取りまとめた。(参照 1 3 6)

- 23
- 24 (i) 長期混餌投与試験の結果から、サッカリンナトリウムの投与に関連した  
25 膀胱腫瘍発生増加作用は雄ラットに特異的なものである。発がんイニシ  
26 エーターや潰瘍等の刺激の非存在下においては、新生児期暴露が膀胱腫  
27 瘍の発生増加に不可欠である。
  - 28  
29 (ii) 生体内の生理学的な pH 条件下においてはほぼすべてのサッカリンが陰  
30 イオンとして存在する。サッカリンは DNA に結合するような電子親和  
31 性発がん物質と類似しておらず、*in vivo* での DNA 結合性は認められて  
32 いない。サッカリンは生体内で活性代謝体に変換されない。一方、多く  
33 の *in vivo* 及び *in vitro* 試験でみられるサッカリンナトリウムの染色体  
34 異常誘発性については、高濃度投与による染色体レベルでのイオン不均  
35 衡によるものと考えられ、サッカリンナトリウムを用いた長期試験や二  
36 段階発がん試験の結果と矛盾している。
  - 37  
38 (iii) 食餌中の高濃度 (5%以上) のサッカリン類による雄ラットの尿路移行  
39 上皮の過形成発生増加及び発がんプロモーション作用に必要な条件は、  
40 尿中のナトリウムイオン濃度の増加及び尿 pH の上昇である。これはサ  
41 ッカリン類に特有のものではなく、他の有機酸塩も一定の条件下におい  
42 て膀胱発がんプロモーション作用を有し、尿路移行上皮過形成の発生を  
43 増加させる。有機酸とそのナトリウム塩との間にみられる膀胱発がんプ  
44 ロモーション作用の差は、当該有機酸陰イオンの尿中濃度に関連してい  
45 ない。

1  
2 (iv) 既存の知見の中で、 $\alpha_2\mu$ -グロブリンが膀胱腫瘍発生増加に関与している  
3 と確信させるものはない。

4  
5 (v) サッカリン類を混餌投与したラットの消化管内において、未消化の炭水  
6 化物やたん白質が過剰となったことによって腸内細菌叢の活動が促進  
7 され、それが膀胱腫瘍の発生増加に関与したとする作用機序仮説につい  
8 ては、決定的な証拠が得られていない。

9  
10 (vi) サッカリン類に係る疫学研究においては、サッカリン類の摂取がヒト一  
11 般人口集団での膀胱腫瘍発生率を増加させるという証拠は示されてい  
12 ない。

13  
14 JECFA は、サッカリンナトリウムの投与による雄ラットでの膀胱腫瘍の発  
15 生増加をヒトへのハザードとして評価を行うことは適切ではないとした。  
16 JECFA は、ADI の再評価を行うに当たり、直前に報告されたサッカリンナト  
17 リウムについてのラットを用いた二世代にわたる長期混餌投与試験において、  
18 7.5%混餌投与群までは生存に有害な影響がみられなかったものの、3%以上の  
19 混餌投与群でホメオスターシスの顕著なかく乱（摂餌量の増加を伴う持続的かつ  
20 用量依存的な体重増加抑制<sup>46)</sup>）がみられたことから、1%混餌（500 mg/kg  
21 体重/日）を NOEL とすることが適切であるとした。第 26 回会合で審議され  
22 たサル長期試験（McChesney ら（1977）の報告）でも NOEL 500 mg/kg 体  
23 重/日が得られていることも合わせ、JECFA は、安全係数を 100 とし、サッカ  
24 リン並びにそのカルシウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩のグループについ  
25 て ADI 0～5 mg/kg 体重/日を設定した。（参照 2 2、1 3 6）

## 26 27 (2) 不純物 MA

28 1979 年の第 23 回会合において、JECFA は、香料評価の一環として MA の  
29 安全性評価を行っており、アントラニル酸についてのラット及びマウスを用い  
30 た長期試験において腫瘍発生率の増加が認められなかったことから、ラット  
31 115 日間試験における NOAEL 0.3%（約 150～300 mg/kg 体重/日相当）を基  
32 に、第 11 回会合において設定した MA についての「条件付き ADI」0～1.5 mg/kg  
33 体重/日を正式に ADI として設定し、モノグラフを取りまとめている。（参照 3  
34 0、1 3 7）

35  
36 2005 年の第 65 回会合において、JECFA は、アントラニル酸誘導体グルー  
37 プについて香料安全性評価を行っている。その中で、MA は構造クラス I に分  
38 類されるものの、米国での MA の推定一日摂取量約 3,800  $\mu$ g/人/日が当該クラ  
39 スの摂取許容値（1,800  $\mu$ g/人/日）を超過し、かつ、MA は内因性の物質でも  
40 ないことから、MA について個別の NOAEL に基づく安全性評価を行った。そ  
41 の結果、(i) 第 23 回会合において設定された ADI の根拠となった NOAEL 150  
42 mg/kg 体重/日と、米国での推定一日摂取量を体重 60 kg で除して算出される  
43 63  $\mu$ g/kg 体重/日とのマージンが約 2,300 となること、(ii) DNA 修復試験での

<sup>46</sup> JECFA は、炭水化物及びたん白質の消化がサッカリン投与により阻害されたことによるものと推定している。

1 陽性の結果は極めて高用量でみられたものであり、標準的な方法ではない染色  
2 体異常試験で陽性の結果が報告されているが、UDS 試験では陰性とされてい  
3 ることから、JECFA は、MA は現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をも  
4 たらすものではないとしている。結果として JECFA は、MA についての ADI  
5 0~1.5 mg/kg 体重/日を維持するとしている。(参照 7 1、1 3 8)

## 6 7 2. IARC における評価

8 1979 年 3 月、IARC ワーキンググループは、非栄養源甘味料の評価の一環と  
9 してサッカリン類についての調査審議を行い、その中で、(i) 一般人口における  
10 膀胱発がんリスクのわずかな増加又は一部のサッカリン類大量摂取者における  
11 膀胱発がんリスクの増加の可能性を排除することはできないが、疫学研究データ  
12 からはサッカリン類が膀胱癌を引き起こすという明確な証拠は得られておらず、  
13 また、ヒトのその他の部位の癌とサッカリン類摂取との関連性についての疫学研  
14 究はない、(ii) 高用量のサッカリン類が雄ラットの尿路移行上皮での腫瘍発生を  
15 増加させ、雌雄ラットの膀胱において既知発がん物質の作用を促進させること  
16 については十分な証拠がある、(iii) マウスへの発がん性についての証拠はほとん  
17 どない、(iv) ラットに OTSA を経口投与したときの発がん性についての証拠は  
18 ほとんどない、(v) 既存データからは、市販サッカリン類に通常みられるレベル  
19 の不純物はサッカリン類の発がん性に寄与しないことが示唆されるとの評価結  
20 果を取りまとめている。(参照 3 3)

21  
22 1999 年、IARC ワーキンググループは、サッカリンナトリウムについて、そ  
23 の投与により尿中で生成されたリン酸カルシウム含有沈渣の細胞毒性及び細胞  
24 増殖促進という非 DNA 反応性の作用機序によって、ラット膀胱移行上皮に腫瘍  
25 を引き起こすと結論した。IARC ワーキンググループは、当該作用機序について  
26 は、動物種の間で尿組成に違いがあるため、ヒトに関連づけられるものではない  
27 としている。その結果、IARC モノグラフにおいて、サッカリン及びその塩類は、  
28 「Saccharin and its salts are *not classifiable as to their carcinogenicity to*  
29 *humans (Group 3)* : ヒトに対する発がん性について分類できない (グループ  
30 3)。」と分類されている。(参照 4)

## 31 32 3. 米国における評価

33 米国において、サッカリン類は、1971 年まではいわゆる GRAS 物質であった  
34 が、1971 年 6 月にいわゆる GRAS 物質リストから削除され、暫定食品添加物規  
35 則の項に移され、その一日摂取量を 1 g 以下に制限する等の措置がとられた。(参  
36 照 2、1 3 9)

37  
38 1977 年、FDA は、食品医薬品化粧品法のデラニー条項 (安全性を評価する上  
39 で適切なヒト又は動物に係る試験で発がん性が認められた物質を添加物として  
40 使用してはならない旨を規定) に基づき、サッカリン類の添加物としての使用を  
41 禁止する措置を提案した。米国議会では、FDA のサッカリン類禁止措置提案に  
42 ついてモラトリアム (暫定停止) が採択され、以後数回にわたってモラトリアム  
43 の延長が行われる一方、サッカリン及びその塩類を含む食品等に動物での発がん  
44 性に係る警告表示が義務付けられた (参照 2、1 4 0)。  
45

1           その後、サッカリンナトリウムによる雄ラット膀胱腫瘍の発生増加に係る知見  
2           についてはヒトに適用できないことが次第に明らかにされ、1991年、FDAは公  
3           式に1977年のサッカリン禁止措置提案を撤回した（参照2、140）。2000年  
4           5月、NTPによって「発がん物質報告（Report on Carcinogens）」第9版が取り  
5           まとめられ、DHHSから発表された。当該報告において、1981年から「ヒト発  
6           がん物質であると合理的に推定される」ものとして掲載されてきたサッカリン類  
7           が削除された。この措置は、ラットに認められた膀胱腫瘍の発生増加がヒトに関  
8           連性のない作用機序で起こるとされたことに基づくものであるとされている（参  
9           照2、141）。2000年12月には、上述の警告表示義務付けを削除する法案に  
10          大統領が署名した（参照2、140、142、143）。

#### 11 12   4. 欧州における評価

##### 13   (1) サッカリン及びその塩類

14          1977年、SCFは、JECFAによるサッカリン類についての「暫定ADI」0～  
15          2.5 mg/kg 体重/日を支持するとした上で、不純物の上限値を規定したサッカリ  
16          ン類の成分規格を制定することが必要であること、3歳以下の小児用の食品に  
17          はサッカリン類を使用すべきでないこと、食品中のサッカリン類含有の有無を  
18          消費者に適切に知らせ、それによって小児及び妊婦のサッカリン類摂取を制限  
19          すべきであることといった意見を取りまとめている。（参照144）

20  
21          1984年、SCFは、1977年に支持した暫定ADIを維持することとしたが、そ  
22          の一方で、今後状況を引き続き注視し、新たな知見が得られ次第評価を行い、  
23          当該暫定ADIを見直すべきであるとした。（参照6）

24  
25          1987年及び1988年、SCFは、新たな試験結果について検討を行ったが、  
26          暫定ADIの変更が必要となるような知見はないと判断した。一方、SCFは、  
27          子宮内暴露相の追加は膀胱腫瘍の発生増加に寄与しないことが明らかになっ  
28          たとし、1977年の妊婦のサッカリン類摂取制限に係る自らの意見についても  
29          はや正当化することはできないとした。また、SCFは、哺育期及び低年齢期に  
30          おける暴露の影響についてはなお不明であるが、こうした時期も投与期間に包  
31          含した適切な動物試験で得られたNOELを基に暫定ADIが設定されているこ  
32          と等から、もはや小児のサッカリン類摂取について特別に警告する必要性はな  
33          いものと判断した。（参照145）

34  
35          1995年6月、SCFは、その意見書において、サッカリン類について、毒性  
36          試験及び疫学研究から得られた新たな知見を評価して次の見解を取りまとめ  
37          ている。

38  
39          (i) ハムスターを用いる試験：Althoffら（1975）によるハムスターを用い  
40          た試験のほか、FAS32で引用されたマウス及びサルを用いたサッカリ  
41          ン類についての長期試験では膀胱腫瘍の発生増加は認められていない。  
42          ハムスターを用いた更なる試験の実施は不要である。

43  
44          (ii) 雄ラット膀胱でのサッカリン類作用機序：尿中ナトリウムイオン濃度の  
45          高値及び尿pHの上昇がサッカリンその他有機酸のナトリウム塩による

1 雄ラット膀胱発がんプロモーション作用の発現には必須である。おそらく  
2 膀胱拡張、尿浸透圧及び食餌中のケイ酸塩量（結晶尿）といった要因  
3 も関与していると考えられる。ただし、サッカリンナトリウムによる雄  
4 ラット新生児膀胱発がんイニシエーション作用の要因については明らか  
5 かにされていない。なお、 $\alpha_2\mu$ -グロブリンについては、それが生合成さ  
6 れない系統のラットにおいても過形成の発生増加がみられたことから、  
7 少なくとも単独要因ではないことが Garland (1994) によって明らか  
8 にされている。

9  
10 (iii) ラット膀胱腫瘍発生増加のヒトへの関連性：ヒトのほか、雌ラット、マ  
11 ウス（新生児期暴露を受けた被験動物を含む。）、ハムスター及びサルに  
12 においては、サッカリン類の高用量投与によっても膀胱腫瘍は誘発されな  
13 い。特にマウスについては、サッカリンナトリウムによる雄ラット膀胱  
14 への作用においてクリティカルとされる新生児期暴露を含む試験も行  
15 われている。サッカリン類はヒト及びラットのいずれの生体内において  
16 も代謝を受けないことから、ヒトとラットとの間でサッカリンナトリウ  
17 ム投与による膀胱腫瘍発生に種差があるとすれば、それは代謝の差によ  
18 るものではなく、膀胱内での局所作用・反応の差によるものであると推  
19 定される。雄ラット膀胱腫瘍発生増加のヒトへの関連性については、そ  
20 れがあるとは考えにくいものの、それを明確に立証できていないことか  
21 ら、SCF は、慎重を期してサッカリン類による膀胱腫瘍発生増加をサッ  
22 カリン類の ADI の設定において考慮することとする。

23  
24 (iii) ラットを用いた二世代にわたる試験における NOEL：Schoenig ら  
25 (1985) によるサッカリンナトリウムについてのラットを用いた二世代  
26 にわたる試験における雄ラットの膀胱腫瘍発生増加に係る NOEL は 1%  
27 混餌（500 mg/kg 体重/日相当）であると結論する。

28  
29 (iv) 遺伝毒性：チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株（Kristofferson  
30 (1972)、Abe & Sasaki (1977)、Ishidate & Odashima (1977)、  
31 Ishidate ら (1978) 及び Ashby & Ishidate (1986)）及びヒト末梢血  
32 由来初代培養リンパ球（Chang & Stacey (1974)）を用いた *in vitro* 試  
33 験系でサッカリンナトリウムに弱い染色体異常誘発作用が認められて  
34 いるが、いずれも高濃度群のみにおいてであり、当該作用はおそらくイ  
35 オン不均衡による非特異的な作用によるものであると考えられる。染色  
36 体異常を指標とする *in vivo* 試験ではお互いに矛盾する結果が複数得ら  
37 れているが、これらの試験の中には不純物を含有する被験物質が用いら  
38 れていて確実な解釈を行うことが困難なものもある。すべての遺伝毒性  
39 試験結果について証拠の重みを考慮すると、サッカリン類が遺伝子に直  
40 接作用する遺伝毒性物質であるとは考えられない。

41  
42 (v) 疫学研究：直近のレビュー（Chappel (1992) 及び Elock & Morgan  
43 (1993)）によれば、人工甘味料（特にサッカリン類）の摂取量とヒト  
44 膀胱発がんとの間に関連性は見出されていない。Elock & Morgan  
45 (1993) は、1992 年までに報告された症例対照研究のすべてについて

1                   メタアナリシスを行った結果、相対危険度は 0.97 とほぼ 1 に近い値に  
2                   なったとしている。

3  
4                   以上より、SCF は、Schoenig らのラットを用いた二世世代にわたる試験にお  
5                   ける膀胱腫瘍の発生増加に係る NOEL を基に、安全係数を 100 としてサッカ  
6                   リンナトリウムの ADI を 0~5 mg/kg 体重/日 (サッカリンとして 0~3.8 mg/kg  
7                   体重/日) とすることが適切であるとの結論を出した。(参照 1 4 6)

## 8 9                   (2) 不純物 BIT

10                   1992 年、SCF は、食品接触物質の乳化安定剤としての BIT について、暫定  
11                   TDI を 0.02 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 1 7)

12  
13                   2006 年 11 月、EFSA の科学パネルは、ISA が市販サッカリンを検査したと  
14                   ころ全検体に BIT が 40~800 ppm の範囲 (平均 200 ppm) で含まれていたと  
15                   の報告を取りまとめたことを受けて、サッカリン類の不純物としての BIT に  
16                   ついて意見書を取りまとめている。EFSA 科学パネルは、ほ乳類培養細胞の染  
17                   色体異常誘発性が *in vitro* 試験でみられたが、2 つの組織・器官について観察  
18                   を行った *in vivo* 試験では DNA 損傷誘発性、遺伝子突然変異誘発性及び染色  
19                   体異常誘発性のいずれも認められていないことから、BIT に遺伝毒性の証拠は  
20                   認められないと結論している。EFSA 科学パネルは、モルモットを用いた試験  
21                   等において認められたとされる BIT の皮膚感作性について、サッカリンの不  
22                   純物としての BIT 摂取の評価に直接関連するものではないと結論している。  
23                   EFSA 科学パネルは、SCCNFP で用いられた 28 日間及び 90 日間の反復投与  
24                   毒性試験での NOAEL (それぞれ 12.63 mg/kg 体重/日、8.42 mg/kg 体重/日)  
25                   を参照し、限定的な試験期間を考慮して、BIT の NOAEL を 8.42 mg/kg 体重  
26                   /日とみなすことが賢明であるとしている。EFSA 科学パネルは、これまで報告  
27                   された最高含有濃度 (800 ppm) の BIT を含むサッカリンをサッカリン類の  
28                   ADI レベル (0~5 mg/kg 体重/日) で摂取した場合、BIT の推定一日摂取量は  
29                   0.004 mg/kg 体重/日になるとした。この量は上記 NOAEL の約 0.05% (約 2,000  
30                   分の 1) であり、市販サッカリン類中の BIT 濃度は通常 800 ppm よりもはる  
31                   かに低いことから、EFSA 科学パネルは、サッカリン類中の BIT について、こ  
32                   れまでに検出された最高濃度レベルであったとしても安全性に懸念をもたら  
33                   すものではないと結論した。欧州委員会は、EFSA での評価結果を受けて、サ  
34                   ッカリン規格の改正について検討を行うとした。(参照 1 7)

## 35 36                   5. 我が国における評価

37                   我が国では、「サッカリンカルシウム」は未指定の添加物である。類似の添加  
38                   物としては、添加物「サッカリンナトリウム」が 1901 年に初めて使用 (治療上  
39                   の目的に供する飲食物の調味) を許可され、1948 年には現行食品衛生法におい  
40                   て添加物「サッカリンナトリウム」が指定されており、1961 年に添加物「サッ  
41                   カリン」が指定されている。(参照 2)

42  
43                   米国で 1971 年 6 月にいわゆる GRAS 物質リストからサッカリン類が削除され  
44                   たこと等から、我が国では 1973 年 4 月、サッカリンナトリウムの一般食品への  
45                   使用を禁止し、当時の栄養改善法第 12 条の規定により特殊栄養食品の許可を受

1 けたものにより使用できることとされた（参照 2、139）。

2  
3 1973年5月、FDAがサッカリン類の使用規制に関する暫定規制をNASの最  
4 終評価が終わるまでの間延長することを発表したこと等から、同年12月、厚生  
5 省食品衛生調査会毒性・添加物合同部会（当時）は、サッカリン類について、FDA  
6 で行われた二世世代にわたる試験のNOELに安全係数500を適用した1mg/kg体  
7 重/日（JECFAで定められたADIの1/5に相当）を暫定許容摂取量とするととも  
8 に、成分規格を改正して不純物の含量を極力制限することとした。この暫定許容  
9 摂取量に基づき、「サッカリンナトリウム」及びその製剤をたくあん漬、魚介加  
10 工品等一部の食品に使用する上での使用基準、「サッカリン」及びその製剤をチ  
11 ューインガムに使用する上での使用基準に係る改正が行われた。（参照2、147、  
12 148）

13  
14 1975年4月の厚生省食品衛生調査会毒性・添加物合同部会（当時）は、JECFA  
15 による評価、我が国において実施されたラット長期毒性研究等からサッカリンの  
16 膀胱腫瘍発生増加に関する疑問は払拭されたとし、JECFAの「最大安全量」1.0%  
17 と安全係数100を参照することが妥当であるとする意見で一致した。同年7月  
18 25日、サッカリンナトリウムの使用基準が改正され（参照2、149）、現在の  
19 使用基準となっている。

20  
21  
22 **V. 食品健康影響評価**  
23

1  
2

<別紙1：略称>

略称	名称等
2-AAF	2-アセチルアミノフルオレン
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
AS 類	アミノサッカリン類
5-AS	5-アミノサッカリン
6-AS	6-アミノサッカリン
7-AS	7-アミノサッカリン
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
B241	チャイニーズ・ハムスター培養細胞株
BBN	N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン
BIT	1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン
BP	ベンゾ(a)ピレン
BrdU	5-ブロモ-2'-デオキシウリジン
CBSA	カルボキシベンゼンスルホン酸
CBSA-NH <sub>4</sub>	カルボキシベンゼンスルホン酸アンモニウム
CHL/IU	チャイニーズ・ハムスター肺由来培養細胞株
CHO	チャイニーズ・ハムスター卵巣由来培養細胞株
CHO-K1	チャイニーズ・ハムスター卵巣由来培養細胞株
Cl-1-15	チャイニーズ・ハムスター胚肺由来培養細胞株
DHHS	Department of Health and Human Services：米国保健福祉省
Don	チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	欧州連合
FANFT	N-[4-(5-ニトロ-2-フリル)-2-チアゾリル]ホルムアミド
FAS14	JECFA モノグラフ Food Additives Series 第 14 巻 (1979)
FAS17	JECFA モノグラフ Food Additives Series 第 17 巻 (1982)
FAS32	JECFA モノグラフ Food Additives Series 第 32 巻 (1993)
FAS56	JECFA モノグラフ Food Additives Series 第 56 巻 (2006)
GRAS	generally recognized as safe：一般的に安全とみなされる
HL-60	ヒト前骨髄球性白血病由来培養細胞株
IARC	International Agency for Research on Cancer：国際癌研究機関
IARC22	IARC モノグラフ第 22 巻 (1980)
IARC73	IARC モノグラフ第 73 巻 (1999)
ISA	International Sweeteners Association
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
L5178Y <i>tk</i> <sup>+/+</sup> -3.7.2c	マウスリンパ腫由来培養細胞株

3

1

略称	名称等
M 法	Maumee 法
MA	アントラニル酸メチル
MNU	<i>N</i> -メチル- <i>N</i> -ニトロソウレア
MTL	maximum tolerable level : 最大耐量
NAS	National Academy of Sciences : 全米科学アカデミー
NBR ラット	NCI-Black-Reiter ラット
NMS	<i>N</i> -メチルサッカリン
NRC	National Research Council : 米国研究評議会
NTP	National Toxicology Program
OECD	経済協力開発機構
OSBA	<i>o</i> -スルファモイル安息香酸
OTSA	<i>o</i> -トルエンスルホンアミド
pKa	酸解離定数
PSBA	<i>p</i> -スルファモイル安息香酸
PTSA	<i>p</i> -トルエンスルホンアミド
RF 法	Remsen-Fahlberg 法
RSa	ヒト胚由来培養細胞株
SCCNFP	Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers : 欧州化粧品・消費者用非食品科学委員会
SCE	姉妹染色分体交換
SCF	Scientific Committee for Food : 欧州食品科学委員会
SIAR	SIDS ( Screening Information Data Set ) initial assessment report : スクリーニング用情報データセット初期評価報告書
UDS	不定期 DNA 合成
V79	チャイニーズ・ハムスター肺由来培養細胞株
VB 培地	Vogel-Bonner E 培地

2  
3

1  
2 <別紙 2 : 各種試験成績等>  
3  
4 (略)  
5

- 1 厚生労働省, 「サッカリンカルシウム」及び「L-グルタミン酸アンモニウム」の添加物指定及び規格基準の設定に関する食品健康影響評価について (平成18年5月22日付けで食品健康影響評価を依頼した事項), 第144回食品安全委員会 (平成18年5月25日).  
参考 : <http://www.fsc.go.jp/fsciis/meetingMaterial/show/kai20060525sfc>
- 2 厚生労働省, サッカリンカルシウム 指定のための検討報告書, 2006年4月.  
【当初要請資料本体】
- 3 Calcium saccharin, prepared at the 24th JECFA (1980). In FAO (ed.), Food and Nutrition Paper 17; 1980 and in Food and Nutrition Paper 52; 1992. 【当初要請資料参考文献 3】
- 4 Saccharin and its salts. In IARC (ed.), IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 73, Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances, 1999; pp.517-624. 【当初要請資料参考文献 43】
- 5 Commission of the European Communities: Commission Directive 95/31/EC of 5 July 1995 laying down specific criteria of purity concerning sweeteners for use in foodstuffs. In Office for Official Publications of the European Communities (ed.), Consolidated TEXT (CONSLEG: 1995L0031-11/05/2004); pp.13-6. 【当初要請資料参考文献 11】
- 6 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 【補足資料参考文献 51】
- 7 The Scientific Committee for Food: Reports of the Scientific Committee for Food concerning sweeteners (opinion expressed 14 September 1984). In Commission of the European Communities (ed.), Food Science and Techniques, Reports of the Scientific Committee for Food (sixteenth series), Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1985; pp.1-8, 14 and 19. 【補足資料参考文献 9】
- 8 Würsch P and Daget N: Sweetness in product development. In Dobbing J (ed.), Sweetness, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1987; pp.247-59. 【当初要請資料参考文献 64】
- 9 Saccharin. In WHO (ed.), Food Additives Series 17, Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, prepared by the 26th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Rome, 19-28 April 1982, WHO, Geneva, 1982. 【当初要請資料参考文献 4】

---

参考 : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je01.htm>

- 1 0 厚生労働省, 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. 【補足資料本体】
- 1 1 WHO and FAO (ed.), Technical Report Series No.557, FAO Nutrition Meetings Report Series No.54, Evaluation of certain food additives, eighteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 4-13 June 1974, WHO, Geneva, 1974; pp.26-7 and 33-5. 【当初要請資料参考文献 40】
- 1 2 サッカリン, サッカリンナトリウム. 厚生労働省編, 第8版食品添加物公定書, 2007 ; 368-71
- 1 3 Calcium saccharin. In Institute of Medicine of the National Academies (ed.), Food Chemicals Codex 5th edition, National Academies Press, 2004; pp.79-80. 【当初要請資料参考文献 8】
- 1 4 Nelson JJ: Preservatives and artificial sweeteners, Quantitation of  $\sigma$  and  $p$ -sulfamoylbenzoic acids in commercial saccharin by high-performance liquid chromatography. J Assoc Off Anal Chem 1976; 59(2): 243-50 【補足資料参考文献 44】
- 1 5 Riggin RM and Kinzer GW: Characterization of impurities in commercial lots of sodium saccharin produced by the Sherwin-Williams process, I. Chemistry. Food Chem Toxicol 1983; 21(1): 1-10 【補足資料参考文献 50】
- 1 6 Riggin RM, Margard WL and Kinzer GW: Characterization of impurities in commercial lots of sodium saccharin produced by the Sherwin-Williams process, II. Mutagenicity. Food Chem Toxicol 1983; 21(1): 11-7 【補足資料参考文献 5】
- 1 7 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, Question n° EFSA-Q-2004-133, adopted on 30 November 2006. The EFSA Journal 2006; 416: 1-7 【補足資料参考文献 2】
- 1 8 Saccharin, calcium, potassium and sodium salts. In WHO (ed.), Food Additives Series 19, Toxicological evaluation of certain food additives and food contaminants, prepared by the twenty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Rome, 19-28 March 1984, WHO, Geneva, 1984. 【当初要請資料参考文献 35】  
参考 : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je01.htm>

- 
- 1<sup>9</sup> Radford T, Cook JM, Dalsis DE, Wolf E and Voigt M: Characterization of aminosaccharins in commercial sodium saccharin produced by the Maumee process. *Food Chem Toxicol* 1985; 23(4/5): 419-28 【補足資料参考文献 6】
- 2<sup>0</sup> The Code of Federal Regulations, title 21 (food and drugs), Chapter 1, Part 1, Subpart C, §180.37 Saccharin, ammonium saccharin, calcium saccharin, and sodium saccharin. 【当初要請資料参考文献 7】
- 2<sup>1</sup> European Parliament and Council of the European Union: European Parliament and Council Directive 94/35/EC of 30 June 1994 on sweeteners for use in foodstuffs, amended by Directive 96/83/EC of the European Parliament and of the Council of 19 December 1996, Regulation (EC) No 1882/2003 of the European Parliament and of the Council of 29 September 2003, Directive 2003/115/EC of the European Parliament and of the Council of 22 December 2003 and Directive 2006/52/EC of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006. In Office for Official Publications of the European Communities (ed.), Official Journal No L237, 10.9.1994; p.3-12. 【当初要請資料参考文献 92】
- 2<sup>2</sup> Saccharin and its salts. In WHO (ed.), Food Additives Series 32, Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants, prepared by the forty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 9-18 February 1993, WHO, Geneva, 1993. 【当初要請資料参考文献 18】  
参考 : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v32je01.htm>.
- 2<sup>3</sup> 胃液. 南山堂医学大辞典第 18 版, 株式会社南山堂, 東京, 1998 ; p.77. 【追加文献 I 1】
- 2<sup>4</sup> Lethco EJ and Wallace WC: The metabolism of saccharin in animals. *Toxicology* 1975; 3: 287-300 【補足資料参考文献 43】
- 2<sup>5</sup> Sweatman TW and Renwick AG: Tissue levels of saccharin in the rat during two-generation feeding studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 62: 465-73 【追加文献 I 2】
- 2<sup>6</sup> Cohen-Addad N, Chatterjee M, Bekersky I and Blumenthal HP: In utero-exposure to saccharin: A threat? *Cancer Lett* 1986; 32: 151-4 【追加文献 I 3】
- 2<sup>7</sup> Renwick AG: The disposition of saccharin in animals and man – a review. *Food Chem Toxicol* 1985; 23(4/5): 429-35 【補足資料参考文献 7】
- 2<sup>8</sup> Minegishi K, Asahina M and Yamaha T: The metabolism of saccharin and the related compounds in rats and guinea pigs. *Chem Pharm Bull* 1972; 20(7): 1351-6 【補足資料参考文献 42】

- 
- 2 9 OECD and UNEP Chemicals (ed.), *o*-Toluenesulfonamide, CAS No: 88-19-7, SIDS initial assessment report for SIAM 14, Paris, 26-28 March 2002, UNEP Publications, 2002. 【補足資料参考文献 21】
- 3 0 Methyl anthranilate. In WHO (ed.), Food Additives Series 14, Toxicological evaluation of certain food additives, prepared by the twenty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 2-11 April 1979, WHO, Geneva, 1979. 【補足資料参考文献 40】  
参考 : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v14je01.htm>
- 3 1 Ashby J and Ishidate M Jr: Clastogenicity in vitro of the Na, K, Ca and Mg salts of saccharin; and of magnesium chloride; consideration of significance. *Mutat Res* 1986; 163: 63-73 【当初要請資料参考文献 52】
- 3 2 Saccharin calcium, saccharin insoluble, saccharin magnesium, saccharin potassium, saccharin sodium. 林真, 松岡厚子編 (祖父尼俊雄監修), 染色体異常試験データ集 改訂 1998 年版, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, 1998 ; 435-7 【当初要請資料参考文献 53】
- 3 3 Saccharin (saccharin, sodium saccharin, calcium saccharin and *ortho*-toluenesulphonamide), Studies in humans of cancer in relation to the consumption of artificial, non-nutritive sweetening agents. In IARC (ed.), IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, volume 22, some non-nutritive sweetening agents, IARC, Lyon, March 1980; pp.111-85. 【補足資料参考文献 30】
- 3 4 Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K et al.: The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res* 2002; 519: 103-19 【追加文献 II 1】
- 3 5 Bandyopadhyay A, Ghoshal S and Mukherjee A: Genotoxicity testing of low-calorie sweeteners: aspartame, acesulfame-K, and saccharin. *Drug Chem Toxicol* 2008; 31(4): 447-57 【追加文献 II 2】
- 3 6 Abe S and Sasaki M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58(6): 1635-41 【当初要請資料参考文献 21】
- 3 7 Wolff S and Rodin B: Saccharin-induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster and human cells. *Science* 1978; 200: 543-5 【当初要請資料参考文献 23】
- 3 8 Ray-Chaudhuri R, Currens M and Iype PT: Enhancement of sister-chromatid exchanges by tumour promoters. *Br J Cancer* 1982; 45:769-77 【当初要請資料参考文献 24】

- 
- 3 9 Renner HW: Possible mutagenic activity of saccharin. *Experientia* 1979; 35:1364-5 【当初要請資料参考文献 25】
- 4 0 Ashby J, Styles JA, Anderson D and Paton D: Saccharin: An epigenetic carcinogen/mutagen? *Food Cosmet Toxicol* 1978; 16: 95-103 【補足資料参考文献 18】
- 4 1 Herbold BA: Studies to evaluate artificial sweeteners, especially Remsen-Fahlberg saccharin, and their possible impurities, for potential mutagenicity by the Salmonella/mammalian liver microsome test. *Mutat Res* 1981; 90: 365-72 【補足資料参考文献 17】
- 4 2 Ishidate M Jr, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M et al.: Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 1984; 22(8): 623-36 【当初要請資料参考文献 51】
- 4 3 Saccharin insoluble. 能美健彦, 松井道子編 (石館基監修), 微生物を用いる変異原性試験データ集, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, 1991 : 454-5 【当初要請資料参考文献 54】
- 4 4 Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck W, Tainer B and Zeiger E: *Salmonella* mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals. *Environmental Mutagenesis* 1986; 8(suppl.7): 1-26, 34, 37, 39, 88 and 105 【補足資料参考文献 26】
- 4 5 Stoltz DR, Stavric B, Klassen R, Bendall RD and Craig J: The mutagenicity of saccharin impurities, I. Detection of mutagenic activity. *JEPT* 1977; 1: 139-46 【補足資料参考文献 32】
- 4 6 Eckhardt K, King M, Gocke E and Wild D: Mutagenicity study of Remsen-Fahlberg saccharin and contaminants. *Toxicol Lett* 1980; 7: 51-60 【当初要請資料参考文献 27】
- 4 7 Kramers PGN: Mutagenicity of saccharin in *Drosophila*: The possible role of contaminants. *Mutat Res* 1977; 56: 163-7 【当初要請資料参考文献 26】
- 4 8 Turner SD, Tinwell H, Piegorsch W, Schmezer P and Ashby J: The male rat carcinogens limonene and sodium saccharin are not mutagenic to male Big Blue™ rats. *Mutagenesis* 2001; 16(4): 329-32 【追加文献 II 3】
- 4 9 Fahrig R: Effects in the mammalian spot test: Cyclamate versus saccharin. *Mutat Res* 1982; 103: 43-7 【当初要請資料参考文献 29】
- 5 0 Suzuki H & Suzuki N: Mutagenicity of saccharin in a human cell strain. *Mutat Res* 1988; 209: 13-6 【補足資料参考文献 19】

- 
- 5 1 Kristoffersson U: The effect of cyclamate and saccharin on the chromosomes of a Chinese hamster cell line. *Hereditas* 1972; 70: 271-82 【当初要請資料参考文献 20】
- 5 2 Chang P and Stacey T: Sodium saccharin: Cytogenetic effect on human lymphocytes in vitro. *Proceedings of the Pennsylvania Academy of Sciences* 1974; 48: 50-1 【当初要請資料参考文献 22】
- 5 3 Masubuchi M, Nawai S, Hirokado M and Hiraga K: Lack of the cytogenetic effects of saccharin impurities on CHO-K1 cells. *Mutat Res* 1978; 54: 242-3 【補足資料参考文献 23】
- 5 4 Durnev AD, Oreshchenko AV, Kulakova AV, Beresten' NF and Seredenin SB: [Clastogenic activity of dietary sugar substitutes]. *Vopr Med Khim* 1995; 41(4): 31-3 【追加文献Ⅱ 4】
- 5 5 Srám RJ and Zudová Z: Mutagenicity studies of saccharin in mice. *Bull Environ Contam Toxicol* 1974; 12(2): 186-92 【当初要請資料参考文献 31】
- 5 6 Léonard A and Léonard ED: Mutagenicity test with saccharin in the male mouse. *J Environ Pathol Toxicol* 1979; 2: 1047-53 【当初要請資料参考文献 34】
- 5 7 Machemer L and Lorke D: Dominant lethal test in the mouse for mutagenic effects of saccharin. *Humangenetik* 1973; 19: 193-8 【当初要請資料参考文献 32】
- 5 8 Mahon GAT and Dawson GWP: Saccharin and the induction of presumed somatic mutations in the mouse. *Mutat Res* 1982; 103: 49-52 【当初要請資料参考文献 28】
- 5 9 Rao MS and Qureshi AB: Induction of dominant lethals in mice by sodium saccharin. *Indian J Med Res* 1972; 60: 599-603 【当初要請資料参考文献 30】
- 6 0 Machemer L and Lorke D: Experiences with the dominant lethal test in female mice: Effects of alkylating agents and artificial sweeteners on pre-ovulatory oocyte stages. *Mutat Res* 1975; 29: 209-14 【当初要請資料参考文献 33】
- 6 1 Poncelet F, Roberfroid M and Mercier M: Absence of mutagenic activity in *Salmonella typhimurium* of some impurities found in saccharin. *Food Cosmet Toxicol* 1979; 17: 229-31 【補足資料参考文献 20】
- 6 2 JETOC ((社)日本化学物質安全・情報センター) 編 (労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課監修), 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, JETOC, 東京, 1996; pp.73 and 85 【補足資料参考文献 46】
- 6 3 (財)畜産生物科学安全研究所: 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.7. 【補足資料参考文献 31】
- 6 4 (財)畜産生物科学安全研究所: 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.7. 【補足資料参考文献 33】
- 6 5 Poncelet F, Mercier M and Lederer J: Letter to the editor, Saccharin: Paraforms of some impurities are not mutagenic in *Salmonella typhimurium*. Food Cosmet Toxicol 1980; 18: 453 【補足資料参考文献 36】
- 6 6 (財)食品薬品安全センター秦野研究所: 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.1. 【補足資料参考文献 35】
- 6 7 (財)食品薬品安全センター秦野研究所: 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.1. 【補足資料参考文献 37】
- 6 8 Zani F, Maggiali CA, Mingiardi MR and Mazza P: Biological studies on 1,2-benzisothiazole derivatives, IV. Relationships between chemical structure and genotoxicity. Il Farmaco 1991; 46(5): 639-46 【補足資料参考文献 48】
- 6 9 Ozaki A, Yamaguchi Y, Fujita T, Kuroda K and Endo G: Chemical analysis and genotoxicological safety assessment of paper and paperboard used for food packaging. Food Chem Toxicol 2004; 42: 1323-37【補足資料参考文献 22】
- 7 0 The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers (SCCNFP) (ed.), Evaluation and opinion on benzisothiazolinone, COLIPA n° P96, SCCNFP/0811/04, 1 July 2004. 【補足資料参考文献 8】
- 7 1 Methyl anthranilate. In WHO (ed.), Food Additives Series 56, Safety evaluation of certain food additives, prepared by the sixty-fifth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 7-16 June 2005, WHO, Geneva, 2006; pp.221-24 【補足資料参考文献

---

24】

参考 : [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660562\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660562_eng.pdf)

- 7 2 小田美光, 浜野米一, 井上清, 山本博之, 新原富夫, 国田信治 : 着香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 1978 ; 9 : 177-81 【補足資料参考文献 27】
- 7 3 兪榮植 : 食品に用いられている着香料の変異原性および抗変異原性に関する研究. 阪市医誌 1985 ; 34(3・4) : 267-88 【補足資料参考文献 38】
- 7 4 Yoshimi N, Sugie S, Iwata H, Niwa K, Mori H, Hashida C et al.: The genotoxicity of a variety of aniline derivatives in a DNA repair test with primary cultured rat hepatocytes. *Mutat Res* 1988; 206: 183-91 【補足資料参考文献 29】
- 7 5 Kasamaki A, Takahashi H, Tsumura N, Niwa J, Fujita T and Urasawa S: Genotoxicity of flavoring agents. *Mutat Res* 1982; 105: 387-92 【補足資料参考文献 28】
- 7 6 Shimizu H and Takemura N: Mutagenicity of some aniline derivatives. *Proc Int Congr 11th*: 497-506 【補足資料参考文献 49】
- 7 7 藤田博, 佐々木美枝子 : *Salmonella typhimurium* TA97, TA102 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 1987 ; 38 : 423-30 【補足資料参考文献 25】
- 7 8 Taylor JD, Richards RK, Wiegand RG and Weinberg MS: Toxicological studies with sodium cyclamate and saccharin. *Food Cosmet Toxicol* 1968; 6: 313-27 【当初要請資料参考文献 67】
- 7 9 (財)食品薬品安全センター秦野研究所 : 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.7. 【補足資料参考文献 9】
- 8 0 (財)食品薬品安全センター秦野研究所 : 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.1. 【補足資料参考文献 13】
- 8 1 Committee for Veterinary Medicinal Products, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Tosylchloramide sodium, Summary report, EMEA/MRL/570/99-FINAL, February 1999. 【補足資料参考文献 47】
- 8 2 Jenner PM, Hagan EC, Taylor JM, Cook EL and Fitzhugh: Food

- 
- flavourings and compounds of related structure, I. Acute oral toxicity. Food Cosmet Toxicol 1964; 2: 327-43 【補足資料参考文献 15】
- 8 3 Hasegawa R and Cohen SM: The effect of different salts of saccharin on the rat urinary bladder. Cancer Lett 1986; 30: 261-8 【当初要請資料参考文献 88】
- 8 4 Cohen SM, Ellwein LB, Okamura T, Masui T, Johansson SL, Smith RA et al.: Comparative bladder tumor promoting activity of sodium saccharin, sodium ascorbate, related acids, and calcium salts in rats. Cancer Res 1991; 51: 1766-77 【当初要請資料参考文献 14】
- 8 5 Clayson DB and Cooper EH: Cancer of the urinary tract. Advances in Cancer Research 1970; 13: 271-371 【当初要請資料参考文献 86】
- 8 6 Chapman WH: Infection with *Trichosomoides crassicauda* as a factor in the induction of bladder tumors in rats fed 2-acetylaminofluorene. Investig Urol 1969; 7(2): 154-9 【補足資料参考文献 4】
- 8 7 Fitzhugh OG, Nelson AA and Frawley JP: A comparison of the chronic toxicities of synthetic sweetening agents. J Am Pharm Assoc 1951; 40: 583-6 【当初要請資料参考文献 59】
- 8 8 Lessel B: Carcinogenic and teratogenic aspects of saccharin. SOS/70 Proc Third Int Congr Food Sci Technol 1971: 764-70 【当初要請資料参考文献 78】
- 8 9 Ulland B, Weisburger EK and Weisburger JH: Abstract No.19, Chronic toxicity and carcinogenicity of industrial chemicals and pesticides. Toxicol Appl Pharmacol 1973; 25: 446 【当初要請資料参考文献 80】
- 9 0 Munro IC, Moodie CA, Krewski D and Grice HC: A carcinogenicity study of commercial saccharin in the rat. Toxicol Appl Pharmacol 1975; 32: 513-26 【当初要請資料参考文献 70】
- 9 1 Furuya T, Kawamata K, Kaneko T, Uchida O, Horiuchi S and Ikeda Y: Long-term toxicity study of sodium cyclamate and saccharin sodium in rats (abstract). Jpn J Pharmacol 1975; suppl.25: 55-6P 【当初要請資料参考文献 81】
- 9 2 Kennedy GL Jr, Fancher OE and Calandra JC: Subacute toxicity studies with sodium saccharin and two hydrolytic derivatives. Toxicology 1976; 6:133-8 【当初要請資料参考文献 69】
- 9 3 Homburger F: Negative lifetime carcinogen studies in rats and mice fed 50,000 ppm saccharin. In Galli CL, Paoletti R and Vettorazzi G (ed.), Chemical Toxicology of Food, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1978; pp.359-73 【当初要請資料参考文献 75】

- 
- 9 4 Chowaniec J and Hicks RM: Response of the rat to saccharin with particular reference to the urinary bladder. *Br J Cancer* 1979; 39: 355-75 【当初要請資料参考文献 82】
- 9 5 Taylor JM, Weinberger MA and Friedman L: Chronic toxicity and carcinogenicity to the urinary bladder of sodium saccharin in the *in utero*-exposed rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 54: 57-75 【当初要請資料参考文献 68】
- 9 6 Arnold DL, Moodie CA, Grice HC, Charbonneau SM, Stavric B, Collins BT et al.: Long-term toxicity of *ortho*-toluenesulfonamide and sodium saccharin in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 52(1): 113-52 【当初要請資料参考文献 45】
- 9 7 Hooson J, Hicks RM, Grasso P and Chowaniec J: Ortho-toluene sulphonamide and saccharin in the promotion of bladder cancer in the rat. *Br J Cancer* 1980; 42: 129-47 【当初要請資料参考文献 83】
- 9 8 Fukushima S, Arai M, Nakanowatari J, Hibino T, Okuda M and Ito N: Differences in susceptibility to sodium saccharin among various strains of rats and other species. *Gann* 1983; 74: 8-20 【当初要請資料参考文献 76】
- 9 9 Schoenig GP, Goldenthal EI, Geil RG, Frith CH, Richter WR and Carlborg FW: Evaluation of the dose response and *in utero* exposure to saccharin in the rat. *Food Chem Toxicol* 1985; 23(4/5): 475-90 【当初要請資料参考文献 74】
- 1 0 0 Hibino T, Hirasawa Y and Arai M: Morphologic changes in the urinary bladder and stomach after long-term administration of sodium saccharin in F344 rats. *Cancer Lett* 1985; 29: 255-63 【当初要請資料参考文献 84】
- 1 0 1 Garland EM, Sakata T, Fisher MJ, Masui T and Cohen SM: Influences of diet and strain on the proliferative effect on the rat urinary bladder induced by sodium saccharin. *Cancer Res* 1989; 49: 3789-94 【追加文献Ⅱ 5】
- 1 0 2 Homma Y, Kondo Y, Kakizoe T, Aso Y and Nagase S: Lack of bladder carcinogenicity of dietary sodium saccharin in analbuminaemic rats, which are highly susceptible to *N*-nitroso-*n*-butyl-(4-hydroxybutyl)amine. *Food Chem Toxicol* 1991; 29(6): 373-6 【当初要請資料参考文献 85】
- 1 0 3 Allen MJ, Boyland E, Dukes CE, Horning ES and Watson JG: Cancer of the urinary bladder induced in mice with metabolites of aromatic amines and tryptophan. *Br J Cancer* 1957; 11(2): 212-28 【当初要請資料参考文献 60】
- 1 0 4 Roe FJC, Levy LS and Carter RL: Feeding studies on sodium cyclamate, saccharin and sucrose for carcinogenic and tumour-promoting activity.

- 
- Food Cosmet Toxicol 1970; 8:135-45 【当初要請資料参考文献 71】
- 1 0 5 Bryan GT, Ertürk E and Yoshida O: Production of urinary bladder carcinomas in mice by sodium saccharin. Science 1970; 168:1238-40 【当初要請資料参考文献 44】
- 1 0 6 Kroes R, Peters PWJ, Berkvens JM, Verschuuren HG, de Vries TH and van Esch GJ: Long term toxicity and reproduction study (including a teratogenicity study) with cyclamate, saccharin and cyclohexylamine. Toxicology 1977; 8: 285-300 【当初要請資料参考文献 72】
- 1 0 7 Prasado O and Rai G: Induction of papillary adenocarcinoma of thyroid in albino mice by saccharin feeding. Indian J Exp Biol 1986; 24: 197-9 【当初要請資料参考文献 77】
- 1 0 8 Frederick CB, Dooley KL, Kodell RL, Sheldon WG and Kadlubar F: The effect of lifetime sodium saccharin dosing on mice initiated with the carcinogen 2-acetylaminofluorene. Fundamental and Applied Toxicology 1989; 12: 346-57 【当初要請資料参考文献 46】
- 1 0 9 McChesney EW, Coulston F and Benitz KF: Six-year study of saccharin in rhesus monkeys [abstract]. Toxicol Appl Pharmacol 1977; 42: 164 【当初要請資料参考文献 47】
- 1 1 0 Takayama S, Sieber SM, Adamson RH, Thorgeirsson UP, Dalgard DW, Arnold LL et al.: Long-term feeding of sodium saccharin to nonhuman primates: Implications for urinary tract cancer. JNCI 1998; 90(1):19-25 【当初要請資料参考文献 13】
- 1 1 1 Thorgeirsson UP, Dalgard DW, Reeves J and Adamson RH: Tumor incidence in a chemical carcinogenesis study of nonhuman primates. Regul Toxicol Pharmacol 1994; 19: 130-51 【当初要請資料参考文献 48】
- 1 1 2 (財)食品薬品安全センター秦野研究所：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。化学物質点検推進連絡協議会編（厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修），平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果（概要）vol.7. 【補足資料参考文献 11】
- 1 1 3 (財)食品薬品安全センター秦野研究所：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。化学物質点検推進連絡協議会編（厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修），平成 11 年度既存化学物質安全性点検結果（概要）vol.9. 【補足資料参考文献 10】
- 1 1 4 (財)食品薬品安全センター秦野研究所：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。化学物質点検推進連絡協議会編（厚生省生

- 
- 活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 11 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.9. 【補足資料参考文献 12】
- 1 1 5 (財)食品薬品安全センター秦野研究所: 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. 化学物質点検推進連絡協議会編 (厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修), 平成 3 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) vol.1. 【補足資料参考文献 14】
- 1 1 6 Hagan EC, Hansen WH, Fitzhugh OG, Jenner PM, Jones WI, Taylor JM et al.: Food flavourings and compounds of related structure, II. Subacute and chronic toxicity. Food Cosmet Toxicol 1967; 5: 141-57 【補足資料参考文献 16】
- 1 1 7 Fukushima S, Thamavit W, Kurata Y and Ito N: Sodium citrate: A promoter of bladder carcinogenesis. Jpn J Cancer Res 1986; 77: 1-4 【当初要請資料参考文献 89】
- 1 1 8 de Groot AP, Feron VJ and Immel HR: Induction of hyperplasia in the bladder epithelium of rats by a dietary excess of acid or base: Implications for toxicity/carcinogenicity testing. Food Chem Toxicol 1988; 25(5): 425-34 【当初要請資料参考文献 90】
- 1 1 9 Ootoshi T, Iwata H, Yamamoto S, Murai T, Yamaguchi S, Matsui-Yuasa I et al.: Severity of promotion by sodium salts of succinic acid in rat urinary bladder carcinogenesis correlates with sodium ion concentration under conditions of equal urinary pH. Carcinogenesis 1993; 14(11): 2277-81 【当初要請資料参考文献 91】
- 1 2 0 Tanaka S, Kawashima K, Nakaura S, Nagao S, Kuwamura T and Omori Y: Studies on the teratogenicity of food additives (1), Effects of saccharin sodium on the development of rats and mice. J Food Hyg Soc 1973; 14(4): 371-9 【当初要請資料参考文献 73】
- 1 2 1 Lederer J et Pottier-Arnould AM: Influence de la saccharine sur le développement de l'embryon chez la rate gestante. Diabète 1973; 21: 13-5 【補足資料参考文献 52】
- 1 2 2 Lederer J: La saccharin, ses polluants et leur effet tératogène. Louvain Méd 1977; 96: 495-501 【補足資料参考文献 53】
- 1 2 3 Arnold DL, Moodie CA, McGuire PF, Collins BT, Charbonneau SM and Munro IC: The effect of *ortho* toluenesulfonamide and sodium saccharin of the urinary tract of neonatal rats. Toxicol Appl Pharmacol 1979; 51: 455-63 【補足資料参考文献 34】
- 1 2 4 National Research Council (ed.), 1987 POUNDAGE and technical effects update of substances added to food, prepared for Food and Drug

- 
- Administration, 1989, p.518. 【当初要請資料参考文献 17】
- 1 2 5 Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (ed.), Dietary intake of food additives in the UK: Initial surveillance, Food Surveillance Paper No.37, HMSO, London, 1993: pp.40-7. 【当初要請資料参考文献 62】
- 1 2 6 Commission of the European Communities (ed.), Report from the Commission on dietary food additive intake in the European Union, 2001; pp.1-26. 【当初要請資料参考文献 39】
- 1 2 7 食品添加物研究会編, あなたが食べている食品添加物—食品添加物一日摂取量の実態と傾向— (本編版), 日本食品添加物協会, 東京, 2001, 12-4 【当初要請資料参考文献 93】
- 1 2 8 厚生労働省, 平成 18 年度マーケットバスケット方式による甘味料の摂取量調査の結果について. 【当初要請資料参考文献 95】
- 1 2 9 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 (グループリーダー 藤井正美 (元神戸学院大学薬学部)): 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定, その 1 指定添加物品目 (第 7 回最終報告). 四方田千佳子 (分担研究者), 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全性高度化推進研究事業「国際的動向を踏まえた食品添加物の規格の向上に関する調査研究 (主任研究者 四方田千佳子)」) 平成 16 年度分担研究報告書「わが国における食品添加物生産量統計とその国際比較」, 2005 年 3 月 ; 1001、1003、1005-6 【当初要請資料参考文献 94】
- 1 3 0 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 (グループリーダー 藤井正美 (元神戸学院大学薬学部)): 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). 佐藤恭子 (分担研究者), 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業「国際的動向を踏まえた食品添加物の規格、基準の向上に関する調査研究 (主任研究者 佐藤恭子)」) 平成 19 年度分担研究報告書「食品添加物の規格基準の向上と摂取量に関する調査研究」, 2008 年 3 月 ; 165-70 【補足資料参考文献 45】
- 1 3 1 Non-nutritive sweetening agents. In WHO and FAO (ed.), Technical Report Series No.383, FAO Nutrition Meetings Report Series No.44, Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: Some flavouring substances and non-nutritive sweetening agents, eleventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 21-28 August 1967, WHO, Geneva, 1968; pp.13-8. 【当初要請資料参考文献 37】
- 1 3 2 Saccharin, potassium and sodium salts. In WHO (ed.), Technical Report Series 617, Evaluation of certain food additives, Twenty-first report of the

- 
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 18-27 April 1977, WHO, Geneva, 1978; pp.24-6. 【当初要請資料参考文献 38】
- 1 3 3 Saccharin. In WHO (ed.), Technical Report Series 653, Evaluation of certain food additives, Twenty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 24 March – 2 April 1980, WHO, Geneva, 1980; pp.22-3 and 30-2. 【当初要請資料参考文献 1】
- 1 3 4 Saccharin, potassium and sodium salts. In WHO (ed.), Technical Report Series 683, Evaluation of certain food additives and contaminants, Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 19-28 April 1982, WHO, Geneva, 1982; pp.28 and 42-3. 【当初要請資料参考文献 41】
- 1 3 5 Saccharin, and its calcium, potassium, and sodium salts. In WHO (ed.), Technical Report Series 710, Evaluation of certain food additives and contaminants, Twenty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 19-28 March 1984, WHO, Geneva, 1984; pp.20-1 and 39. 【当初要請資料参考文献 42】
- 1 3 6 Saccharin. In WHO (ed.), Technical Report Series 837, Evaluation of certain food additives and contaminants, Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 9-18 February 1993, WHO, Geneva, 1993; pp.17-9, 46 and 48. 【当初要請資料参考文献 2】
- 1 3 7 Methyl anthranilate. In WHO (ed.), Technical Report Series 648, Evaluation of certain food additives, Twenty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 2-11 April 1979, WHO, Geneva, 1980; p.29. 【補足資料参考文献 39】
- 1 3 8 Saccharin. In WHO (ed.), Technical Report Series 934, Evaluation of certain food additives, Sixty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 7-16 June 2005, WHO, Geneva, 2006; pp.54-63. 【補足資料参考文献 41】
- 1 3 9 厚生省環境衛生局食品化学課：食品添加物等の規格基準の一部改正について。食品衛生研究 1973；23(7)：699-703 【当初要請資料参考文献 57】
- 1 4 0 Calorie Control Council, Backgrounder on saccharin (benefits/safety/public policy). 【当初要請資料参考文献 61】  
参考：<http://www.saccharin.org/index.html>.
- 1 4 1 National Institutes of Environmental Health Sciences (NIEHS): Fact sheet: The "Report on Carcinogens" - 9th edition. NIH News Release, May 15, 2000 【当初要請資料参考文献 15】

- 
- 1 4 2 Calorie Control Council (ed.), Congress gives saccharin a clean "bill" of health: warning label to be removed, 2006. 【当初要請資料参考文献 96】  
参考 : <http://www.caloriecontrol.org/pr12-22-00.html>
- 1 4 3 Mr. Knollenberg, H.R.5668, To repeal provisions of Federal law requiring labeling on saccharin containing foods, in the House of Representatives, 106th Congress, 2nd Session, December 15, 2000. 【当初要請資料参考文献 97】
- 1 4 4 The Scientific Committee for Food: Report of the Scientific Committee for Food on saccharin (opinion expressed 24 June 1977). In Commission of the European Communities (ed.), Reports of the Scientific Committee for Food (fourth series), Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1977; pp.7-23. 【当初要請資料参考文献 55】
- 1 4 5 The Scientific Committee for Food: Report of the Scientific Committee for Food concerning sweeteners (opinion expressed on 11 December 1987 and 10 November 1988). In Commission of the European Communities (ed.), Reports of the Scientific Committee for Food (twenty-first series), Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1989; pp.19-37. 【当初要請資料参考文献 10】
- 1 4 6 The Scientific Committee for Food: Opinion on saccharin and its sodium, potassium and calcium salts (expressed on 2 June 1995), Annex III to document III/5157/97, CS/ADD/EDUL/148-FINAL, February 1997. 【当初要請資料参考文献 12】
- 1 4 7 厚生省環境衛生局食品化学課：食品．添加物の告示の解説，サッカリンについて．食品衛生研究 1974；24(3)：203-7 【当初要請資料参考文献 58】
- 1 4 8 厚生大臣，厚生省告示第 341 号（食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年 12 月厚生省告示第 370 号）の一部改正），官報第 14102 号，昭和 48 年 12 月 27 日．【当初要請資料参考文献 98】
- 1 4 9 厚生省環境衛生局食品化学課：サッカリンナトリウム等の規格基準の改正等について．食品衛生研究 1975；25(9)：678-86 【当初要請資料参考文献 56】