



府食第185号
平成27年3月10日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 殿

食品安全委員会
委員長 熊谷 進



食品健康影響評価の結果の通知について

平成17年9月20日付け厚生労働省発食安第0920001号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性」に係る食品健康影響評価の結果は別添1のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、本件に関して行った国民からの意見・情報の募集において、貴省に関する意見・情報が別添2のとおり寄せられましたので添付いたします。

評価書

高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性

2015年3月

食品安全委員会

目次

	頁
＜審議の経緯＞	3
＜食品安全委員会委員名簿＞	4
＜食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿＞	5
＜食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿＞	7
＜食品安全委員会新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ専門委員名簿＞	9
＜食品安全委員会高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ委員・専門委員名簿＞	10
要 約	11
I. 評価対象物質の概要	13
1. 評価の経緯等	13
2. 評価対象等	15
II. 食品健康影響評価	16
【参考 1】 今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る試験の結果	18
1. ジアシルグリセロール（DAG）油の発がんプロモーション作用に関する研究試験 A	19
2. DAG 油の大腸癌促進作用試験試験 B	20
3. DAG 油の中期多臓器発がん性試験試験 C	22
4. 野生型ラット（SD ラット）を用いた舌二段階発がん試験試験 E	23
5. Tg ラット（ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 Tg ラット（Hras 128 ラット）を用いた舌二段階発がん試験（ポストイニシエーション期）試験 F-1	24
6. Tg ラット（ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 Tg ラット（Hras 128 ラット）を用いた舌二段階発がん試験（イニシエーション期・ポストイニシエーション期両方投与）試験 F-2	27
7. Tg ラット（発がん高感受性ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子トランスジェニック（Hras 128 ラット）を用いた舌・乳腺二段階発がん試験試験 G	28
8. 野生型マウス（ICR マウス）を用いた皮膚二段階発がん試験 D-1、D-2、D-3（参考）	30
9. 今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度に DAG を含む食品に係る試験の結果のまとめ	32
【参考 2】 食品に含まれるグリシドール及びその脂肪酸エステルに関する知見	35
I. 評価対象物質の概要	36
1. 評価の経緯等	36
2. 食品中の含有実態等	37
3. 評価対象等	43
II. 安全性に係る知見の概要	44
1. 体内動態	44
(1) 吸収	44
(2) 分布	48

(3) 代謝	49
(4) 排泄	51
(5) 付加体形成 (参考)	51
2. 毒性	52
(1) 遺伝毒性	52
(2) 急性毒性	62
(3) 反復投与毒性	62
(4) 発がん性	67
(5) 生殖発生毒性	73
(6) 免疫毒性	75
(7) 食品健康影響評価技術研究の結果 (参考)	76
3. 一日摂取量の推計等	76
(1) 油脂類からの摂取	76
(2) 植物油の使用実態について	77
(3) 油脂類の供給量	77
(4) 一日摂取量の推計 (試算)	78
(5) 乳幼児用調製粉乳からの摂取	79
4. TDI と発がんユニットリスク (試算結果)	80
(1) TDI の算出について	80
(2) 発がんユニットリスクの算出について	81
Ⅲ. 国際機関等における評価	82
1. IARC	82
2. 米国	82
3. 欧州	83
Ⅳ. グリシドール脂肪酸エステルに関する知見のまとめ	84
1. 体内動態	84
2. 毒性	84
3. TDI と発がんユニットリスク	85
4. ばく露評価	85
5. まとめ	87
<別紙 1 : 略称>	88
<参照>	89

＜審議の経緯＞

2005 年 9 月 20 日	厚生労働大臣から「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性」に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0920001 号）、関係書類の接受
2005 年 9 月 22 日	第 112 回食品安全委員会（要請事項説明）
2005 年 9 月 28 日	第 27 回新開発食品専門調査会
2005 年 9 月 30 日	第 25 回添加物専門調査会
2005 年 11 月 2 日	第 1 回新開発食品・添加物専門調査会合同WG
2005 年 12 月 2 日	第 2 回新開発食品・添加物専門調査会合同WG
2005 年 12 月 13 日	第 3 回新開発食品・添加物専門調査会合同WG
2006 年 1 月 31 日	第 4 回新開発食品・添加物専門調査会合同WG
2009 年 2 月 13 日	第 5 回新開発食品・添加物専門調査会合同WG
2009 年 3 月 23 日	第 57 回新開発食品・第 68 回添加物合同専門調査会
2009 年 6 月 22 日	第 59 回新開発食品・第 72 回添加物合同専門調査会
2009 年 7 月 22 日	第 61 回新開発食品・第 74 回添加物合同専門調査会
2009 年 8 月 24 日	第 62 回新開発食品・第 75 回添加物合同専門調査会
2009 年 9 月 2 日	第 63 回新開発食品・第 76 回添加物合同専門調査会
2009 年 9 月 17 日	第 302 回食品安全委員会（厚生労働省から、製造業者からの報告について説明）
2009 年 12 月 3 日	第 312 回食品安全委員会（厚生労働省から、製造業者からの報告について説明）
2010 年 6 月 3 日	第 334 回食品安全委員会（厚生労働省から、遺伝毒性試験及び食用油等中含有実態調査の結果について説明）
2010 年 6 月 10 日	第 335 回食品安全委員会（「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ」を食品安全委員会の下に設置）
2010 年 8 月 26 日	第 345 回食品安全委員会（厚生労働省から、体内動態試験の結果について説明）
2010 年 10 月 15 日	第 1 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2010 年 11 月 19 日	第 2 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2010 年 12 月 27 日	第 3 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2011 年 2 月 28 日	第 4 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2012 年 8 月 9 日	第 5 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2014 年 7 月 7 日	第 6 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2014 年 12 月 17 日	第 7 回高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ
2015 年 1 月 20 日	第 545 回食品安全委員会（報告）
2015 年 1 月 21 日	から 2 月 19 日まで 国民からの意見・情報の募集
2015 年 3 月 5 日	高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループから食品安全委員会委員長へ報告
2015 年 3 月 10 日	第 552 回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）

＜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

(2012 年 6 月 30 日まで)

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

(2012 年 7 月 1 日から)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

<食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿>

(2005年9月30日まで)

上野川 修一 (座長)

池上 幸江

磯 博康

井上 和秀

及川 眞一

菅野 純

北本 勝ひこ

篠原 和毅

長尾 美奈子

松井 輝明

山崎 壮

山添 康

(2007年9月30日まで)

上野川 修一 (座長)

池上 幸江 (座長代理)

磯 博康

井上 和秀

及川 眞一

菅野 純

北本 勝ひこ

篠原 和毅

長尾 美奈子

松井 輝明

山崎 壮

山添 康

山本 精一郎

脇 昌子

(2009年6月7日まで)

上野川 修一※ (座長)

池上 幸江 (座長代理)

石見 佳子

磯 博康

漆谷 徹郎

及川 眞一

尾崎 博

菅野 純

小堀 真珠子

清水 誠

田嶋 尚子

本間 正充

松井 輝明

山崎 壮

山添 康

山本 精一郎

脇 昌子

(2009年9月30日まで)

池上 幸江 (座長)

山添 康 (座長代理)

石見 佳子

磯 博康

漆谷 徹郎

及川 眞一

尾崎 博

菅野 純

小堀 真珠子

清水 誠

田嶋 尚子

本間 正充

松井 輝明

山崎 壮

山本 精一郎

脇 昌子

※ 2009年3月31日まで

(2011 年 9 月 30 日まで)

山添 康 (座長)
山崎 壮 (座長代理)
石見 佳子
磯 博康
梅垣 敬三
漆谷 徹郎
及川 眞一
奥田 裕計
尾崎 博
小堀 真珠子
清水 誠
酒々井 真澄
本間 正充
松井 輝明
山本 精一郎
脇 昌子

(2012 年 6 月 30 日まで)

山添 康 (座長)
清水 誠 (座長代理)
石見 佳子
梅垣 敬三
漆谷 徹郎
奥田 裕計
尾崎 博
小堀 真珠子
酒々井 真澄
本間 正充
松井 輝明
山崎 壮
山本 精一郎
脇 昌子

(2013 年 9 月 30 日まで)

清水 誠 (座長)
尾崎 博 (座長代理)
石見 佳子
梅垣 敬三
漆谷 徹郎
奥田 裕計
小堀 真珠子
酒々井 真澄
本間 正充
松井 輝明
山崎 壮
山本 精一郎
脇 昌子

(2013 年 10 月 1 日から)

清水 誠 (座長)
尾崎 博 (座長代理)
石見 佳子
磯 博康
梅垣 敬三
漆谷 徹郎
奥田 裕計
小堀 真珠子
佐藤 恭子
酒々井 真澄
林 道夫
平井 みどり
本間 正充
山本 精一郎
脇 昌子

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2005 年 9 月 30 日まで)

福島 昭治 (座長)
山添 康 (座長代理)
井上 和秀
今井田 克己
江馬 眞
大野 泰雄
西川 秋佳
林 眞
三森 国敏
吉池 信男

(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

(2011 年 9 月 30 日まで)

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

(2012 年 6 月 30 日まで)

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

(2013 年 9 月 30 日まで)

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

(2013 年 10 月 1 日から)

梅村 隆志 (座長)
頭金 正博 (座長代理)
穂山 浩
石井 邦雄
石塚 真由美
伊藤 清美
宇佐美 誠
久保田 紀久枝
祖父江 友孝
高橋 智
塚本 徹哉
戸塚 ゆ加里
中江 大
北條 仁
森田 明美
山田 雅巳

<食品安全委員会新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ専門委員名簿>

(2007 年 9 月 30 日まで)

福島 昭治 (座長)
上野川修一 (座長代理)
池上 幸江
菅野 純
立松 正衛
長尾 美奈子
三森 国敏
山添 康
山本精一郎
吉田 緑

(2009 年 9 月 30 日まで)

福島 昭治 (座長)
上野川修一 (座長代理)
池上 幸江
菅野 純
立松 正衛
林 真
三森 国敏
山添 康
山本 精一郎
吉田 緑

<専門参考人>

高橋 真美
津田 洋幸
林 裕造
若林 敬二

＜食品安全委員会高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ委員・専門委員名簿＞

(2012年7月29日まで)

山添 康 (座長)
 今井田 克己 (座長代理)
 石塚 真由美
 石見 佳子
 井上 和秀
 磯 博康
 梅村 隆志
 漆谷 徹郎
 江馬 眞
 及川 眞一
 尾崎 博
 久保田 紀久枝
 小堀 真珠子
 清水 誠
 立松 正衛
 頭金 正博
 中江 大
 林 真
 本間 正充
 松井 輝明
 三森 国敏
 山崎 壮
 山本 精一郎
 吉田 緑
 脇 昌子

〈専門参考人〉

池上 幸江
 菅野 純
 高橋 真美
 津田 洋幸
 福島 昭治
 若林 敬二

(2014年6月16日まで)

山添 康 (座長)
 今井田 克己 (座長代理)
 石塚 真由美
 石見 佳子
 梅村 隆志
 漆谷 徹郎
 江馬 眞
 尾崎 博
 久保田 紀久枝
 小堀 真珠子
 清水 誠
 頭金 正博
 中江 大
 本間 正充
 松井 輝明
 三森 国敏
 山崎 壮
 山本 精一郎
 吉田 緑
 脇 昌子

〈専門参考人〉

池上 幸江
 磯 博康
 井上 和秀
 及川 眞一
 菅野 純
 高橋 真美
 立松 正衛
 津田 洋幸
 林 真
 広瀬 明彦
 福島 昭治
 若林 敬二

(2014年6月17日から)

山添 康 (座長)
 今井田 克己 (座長代理)
 石塚 真由美
 石見 佳子
 磯 博康
 梅村 隆志
 漆谷 徹郎
 尾崎 博
 久保田 紀久枝
 小堀 真珠子
 清水 誠
 頭金 正博
 中江 大
 本間 正充
 三森 国敏
 山本 精一郎
 吉田 緑
 脇 昌子

〈専門参考人〉

広瀬 明彦

要 約

高濃度にジアシルグリセロール(DAG)を含む食品の安全性について、各種試験成績等に基づき食品健康影響評価を実施した。

2003年9月11日、食品安全委員会から厚生労働大臣に対して「薬事・食品衛生審議会において行われた、当該食品の特定保健用食品としての安全性の審査の結果は、当委員会として妥当と考える。」旨の評価結果を通知した。

その後、2005年9月から2009年2月までに追加試験として実施された高濃度に DAG を含む食用油（以下「DAG 油」という。）等の二段階発がん試験等の結果が厚生労働省から提出された。

その結果を検討したところ、高濃度に DAG を含む食品については、適切に摂取される限りにおいては、安全性に問題はないと判断したが、DAG 油に微量の不純物として含まれるグリシドール脂肪酸エステルについても検討することとした。

その後、評価要請の対象である、高濃度に DAG を含む食品は、2009年9月に製造販売が中止され、既に流通しておらず、食品健康影響評価の対象が存在していない。このため、現状では国民がばく露する可能性はなく、更なるデータの入手は不可能である。また、摂取した期間、量、年齢等が人により異なるとともに、各人の背景（生活条件等の交絡要因）が様々であるため、過去に摂取した個人の生涯発がんリスクを判断することは困難である。したがって、高濃度に DAG を含む食品についてばく露評価を行うことができず、食品健康影響評価を完結することはできなかった。

なお、本食品健康影響評価の過程で明らかとなった DAG 油についての発がんプロモーション作用や、食用油に不純物として含まれている可能性のあるグリシドール脂肪酸エステルに関する知見等について、参考として取りまとめた。

〈参考1〉 今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る試験の結果

- ・ マウスにおいて、DAG 油の経口投与による舌を含む口腔内、食道、前胃及び大腸への発がんプロモーション作用は認められなかった。
- ・ DAG 油の投与による乳腺の発がん性は認められなかった。
- ・ 上記の実験動物の知見は、ヒトにおける一日摂取目安量を上回る高用量まで実施された試験により得られた。
- ・ 結果として、経口投与による DAG 油の発がんプロモーション作用は否定され、DAG 油はグリシドール脂肪酸エステルを不純物として含むが、実験動物を用いた試験系において、問題となる毒性影響は確認されなかった。
- ・ 以上より、ヒトが通常食品として DAG 油を摂取する場合の発がんプロモーション作用によるリスクは無視できると判断した。

〈参考2〉 食品に含まれるグリシドール及びその脂肪酸エステルに関する知見

- ・ 食用油には、グリシドール脂肪酸エステルが不純物として微量に含まれている可能性があり、グリシドール脂肪酸エステルが代謝されたグリシドールについては、遺伝毒性発がん物質である可能性を否定できないと考えた。
- ・ 一方、グリシドール脂肪酸エステルについては、グリシドールでみられた以上の遺伝毒性は認められず、皮下投与での発がん性に関する試験成績からは、グリシドール

ルでみられた腫瘍の発生及び程度を超えるような知見は得られていない。

- 我が国で現在流通している食用油に含まれるグリシドール脂肪酸エステル濃度は低く、その全てが等モル量のグリシドールに変換されるという仮定の下、過大に見積もって試算しても、ばく露マージン (MOE) は 10,000 を僅かに下回ると試算され、一定のばく露マージンが確保されていた。
- これらの結果は、現在使用されている食用油の摂取について、直接健康影響を示唆するものではないが、ALARA(As Low As Reasonably Achievable)の原則に則り、引き続き合理的に達成可能な範囲で、できる限りグリシドール脂肪酸エステルの低減に努める必要がある。
- 今後、グリシドール脂肪酸エステルについて、個々の物質の体内動態や毒性に関する知見、ヒトにおけるばく露に関する情報や疫学研究等の科学的知見の収集が望まれる。

I. 評価対象物質の概要

1. 評価の経緯等

1998年5月、厚生労働省は、高濃度にジアシルグリセロール（DAG）を含む食用油（以下「DAG 油」という。）について特定保健用食品としての表示の許可を行い、それ以降、DAG 油を含む複数の高濃度に DAG を含む食品について特定保健用食品としての表示を許可した。

2003年6月27日、厚生労働省の薬事・食品衛生審議会は、2001年10月5日に表示の許可申請のあった高濃度に DAG を含む食品（マヨネーズ）について、「特定保健用食品として認めることとして差し支えない。」との審議結果を取りまとめた。その中で、当該食品（マヨネーズ）については、「発がん性を示す所見は認められないが」、DAG がプロテインキナーゼ C 活性化により発がんプロモーターとして働くかもしれないという懸念があり、「念のために、(発がん) プロモーション作用を観察するため、より感度の高いラット等を用いた二段階試験を行う」こととし、その試験結果を薬事・食品衛生審議会に報告するよう付記された。

2003年8月5日、厚生労働省は、食品安全基本法第24条第1項の規定に基づき、食品安全委員会に対して、当該食品（マヨネーズ）についての食品健康影響評価を依頼し、同年9月11日、食品安全委員会は、厚生労働大臣に対して、「薬事・食品衛生審議会において行われた、当該食品の特定保健用食品としての安全性の審査の結果は、当委員会として妥当と考える。」旨の評価結果を通知した。その通知の中で、「二段階試験については、結果がわかり次第、当委員会にも報告されたい。」旨が付記された。

2005年8月4日の第106回食品安全委員会において、厚生労働省は、食品安全委員会に対して、遺伝子組換えラット及び野生型ラットに対し行った二段階発がん試験の中間報告を行った。その中で、①雌の遺伝子組換えラット（以下「Tg ラット」という。）及び野生型ラットでは有意差は見られなかったが、雄の遺伝子組換えラットの舌において、傾向解析によって扁平上皮癌のプロモーション作用が示唆されたこと、②厚生労働省としては、個体数を増やし、高用量、長期間の試験を実施する予定であること、が報告された。

厚生労働省は、この中間報告以降、追加試験を計画する過程において、DAG に関する内外の新たな知見を入手し、また同時に中間報告を行った試験の結果に対する関心が高まるといった情勢の変化を背景に、2005年9月20日、食品安全基本法第24条第3項の規定に基づき、食品安全委員会に対して、高濃度に DAG を含む食品の安全性について食品健康影響評価を依頼した。（参照1、2、3）

2005年11月から12月にかけて開催された新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ（以下「合同WG」という。）第1～3回会合では、厚生労働省が新たに実施する野生型ラットを用いた舌二段階発がん試験及びTg ラットを用いた舌二段階発がん試験のプロトコールについて報告がなされた。また、2005年12月の合同WG第2回会合及び翌年1月の合同WG第4回会合において、野生型マウスを用いた皮膚二段階発がん試験の中間報告がなされた。

2009年2月の合同WG第5回会合において、野生型マウスを用いた皮膚二段階発がん試験、野生型ラットを用いた舌二段階発がん試験、Tg ラットを用いた舌二段階発がん試験及びTg ラットを用いた舌・乳腺二段階発がん試験の結果の報告がなされ、合同WGとしての結論が取りまとめられた。

一方、厚生労働省は、DAG 油に3-MCPD 脂肪酸エステルが含まれる可能性がある

との知見を得て、DAG 油の製造に責任を有する企業（以下「DAG 油製造業者」という。）に調査を指示した。DAG 油製造業者から、3-MCPD 脂肪酸エステルとされた物質はグリシドール脂肪酸エステルであった可能性が高いとの分析結果報告を得て、2009 年 7 月 21 日、厚生労働省は、本報告について、「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性」に係る食品健康影響評価において重要な情報であるとして、関連情報とともに食品安全委員会に提出した（参照 4）。2009 年 7 月 22 日、第 61 回食品安全委員会新開発食品・第 74 回添加物合同専門調査会において、厚生労働省は、その資料について説明を行った（参照 5）。

2009 年 8 月 24 日の第 62 回新開発食品・第 75 回添加物合同専門調査会、同年 9 月 2 日の第 63 回新開発食品・第 76 回添加物合同専門調査会での調査審議の結果、(i) グリシドール及びその脂肪酸エステルの毒性に関する情報収集、(ii) グリシドール脂肪酸エステルの体内動態試験、(iii) グリシドール及びその脂肪酸エステルの遺伝毒性試験について、速やかな対応及び報告を求める意見が出され、食品安全委員会事務局から厚生労働省担当部局に当該意見が伝えられた。（参照 6、7、8、9）

2009 年 9 月 17 日の第 302 回食品安全委員会において、厚生労働省は、グリシドール脂肪酸エステルの含有量を一般食用油と同等のレベルに低減させるまで DAG 油を主な原料とする食品の製造販売を中止するとの DAG 油製造業者の報告内容について説明を行った。（参照 10、11）

2009 年 10 月 8 日、消費者庁は、高濃度に DAG を含む食品 10 品目の特定保健用食品許可の再審査を行うことについて、食品安全委員会に食品健康影響評価を要請した。しかしながら、同日、当該食品の製造販売に責任を有する企業から、当該食品の製造販売を中止することから特定保健用食品許可が失効する旨の届出がなされたことを受けて、消費者庁は、2009 年 10 月 9 日に食品健康影響評価要請を取り下げ、2009 年 10 月 15 日の第 305 回食品安全委員会においてその内容を報告した。（参照 12、13、14）

2009 年 12 月 3 日の第 312 回食品安全委員会において、厚生労働省は、遺伝毒性試験及び体内動態試験の結果の提出が遅れる見込みであることを報告した（参照 15、16）。その後、2010 年 6 月 3 日の第 334 回食品安全委員会において、厚生労働省は、食用油及び食用油を原料とする食品中のグリシドール脂肪酸エステルの含有実態調査の結果のほか、DAG 油製造業者による遺伝毒性試験の結果を報告した（参照 17、18）。さらに、2010 年 8 月 26 日の第 345 回食品安全委員会において、厚生労働省は、DAG 油製造業者による体内動態試験の結果を報告した（参照 19、20）。なお、DAG 油製造業者による遺伝毒性試験及び体内動態試験の結果は、厚生労働省による信頼性の確認を受けた¹ものであるとされている。

一方、海外においては、2009 年 3 月、BfR が、2009 年 1 月に独国内で食用精製植物油からグリシドール脂肪酸エステルが検出されたことを受けて、経口摂取されたグリシドール脂肪酸エステルが消化管内で全てグリシドールに加水分解される等の仮定の下で試算を行ったところ、成人及び乳幼児の当該物質へのばく露と発がんリスクに係る用量との MOE が、目安とされる 10,000 を下回ることがあるとした。BfR は、食用油中のグリシドール脂肪酸エステルのリスク管理においては、ALARA の原則に

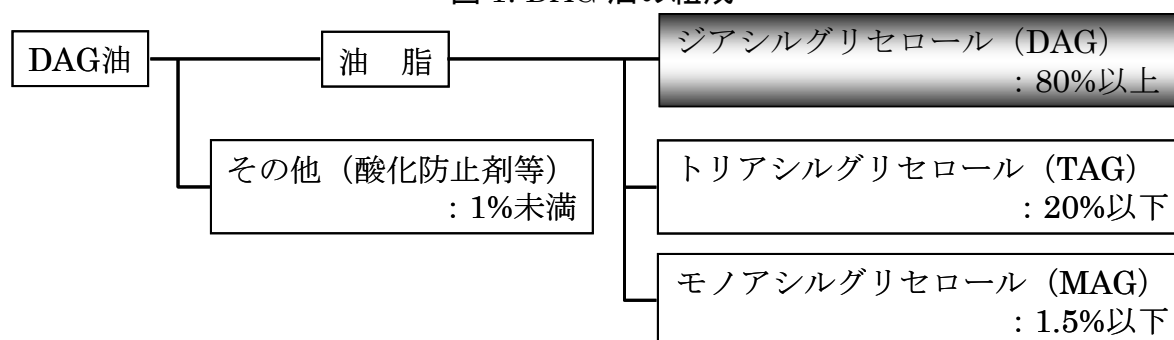
¹ 信頼性及び中立性の確保を図るため、国立医薬品食品衛生研究所の研究者を中心とした専門家が、試験デザインから試験結果まで精査を行うものとされている。（以下同じ。）

従って含有量の低減に努めるべきであると指摘している。(参照 21)

2. 評価対象等

高濃度に DAG を含む食品としては、特定保健用食品として複数の製品が許可されていた(2009 年 9 月に製造販売を中止)。このうち最も DAG の濃度が高いのは DAG 油であり、かつ、それは 2005 年 9 月に厚生労働省が評価要請を行った被験物質であることから、主に DAG 油に係る知見を基に食品健康影響評価を行った。DAG 油の組成は図 1 のとおりであり、DAG を主成分とする油脂が 99%以上、その他酸化防止剤等(ビタミン E、ビタミン C 等)が 1%未満となっている。(参照 22)

図 1. DAG 油の組成



(1) DAG 油に含まれる油脂について

一般の食用油の主成分は、グリセリンに 3 分子の脂肪酸がエステル結合したトリアシルグリセロール (TAG) である。DAG は、グリセリンに 2 分子の脂肪酸がエステル結合したもので、オリーブ油等の天然の植物油、動物油の違いによらず、ほとんどの食用油に約 1~10%程度含まれる脂質であり、長い食経験を有する物質の一つである。現時点では、天然由来の DAG を含む食品を摂取したことに起因すると考えられる健康被害は報告されていない。しかし、これらの従来の食品が含有する DAG の濃度はいずれも 10%未満であり、DAG 油のように高濃度(80%以上)に DAG を含有する食品の食経験は十分ではない。また、DAG 油に含まれる DAG は、大豆油、菜種油等を原料として、TAG を酵素処理等により分解し、DAG として再合成したものであり、天然由来の DAG を抽出・濃縮したものではない。(参照 23、24、25、26、27、図 2) DAG 油に含まれる DAG については、1,3-DAG と 1(3),2-DAG が 6~7 : 3~4 で混在していると報告されている。また、ラット単回混餌投与試験において、DAG を主成分とする油脂を投与された群と TAG を主成分とする油脂を投与された群との間において、血清中の 1(3),2-DAG 濃度は同等と報告されている。(参照 22)

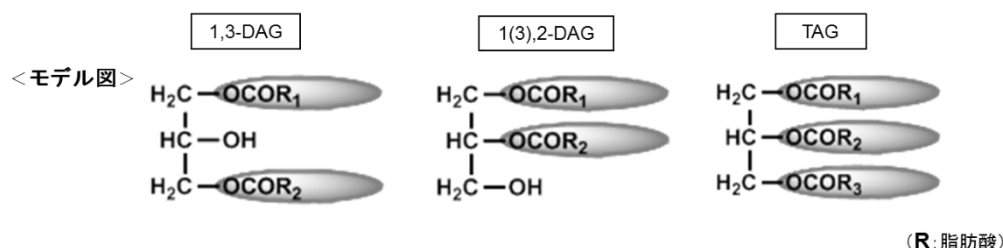


図 2. DAG 及び TAG の構造

事業者から提出された資料によると、DAG 油に含まれる油脂を構成する脂肪酸の組成は以下のとおりである。（表 1）なお、一般の食用油の多くは主にオレイン酸（C18：1）（約 30～60%）及びリノール酸（C18：2）（約 20～50%）から構成される油脂を含んでいる。（参照 22）

表 1. DAG 油に含まれる油脂を構成する脂肪酸

脂肪酸	炭素数：二重結合数	割合（%）
ミリスチン酸	C14：0	0.1
パルミチン酸	C16：0	3.1
パルミトレイン酸	C16：1	0.2
ステアリン酸	C18：0	1.1
オレイン酸	C18：1	38.9
リノール酸	C18：2	46.6
リノレン酸	C18：3	9.0
アラキジン酸	C20：0	0.3
エイコセン酸	C20：1	0.4
ベヘニン酸	C22：0	0.2
エルシン酸	C22：1	0.1

II. 食品健康影響評価

高濃度にジアシルグリセロール(DAG)を含む食品の安全性について、各種試験成績等に基づき食品健康影響評価を実施した。

2003 年 9 月 11 日、食品安全委員会から厚生労働大臣に対して「薬事・食品衛生審議会において行われた、当該食品の特定保健用食品としての安全性の審査の結果は、当委員会として妥当と考える。」旨の評価結果を通知している。

その後、2005 年 9 月から 2009 年 2 月までに追加試験として実施された DAG 油等の二段階発がん試験等の結果が厚生労働省から提出された。

その結果を検討したところ、上記評価については引き続き妥当なものと考えられ、DAG 油については、適切に摂取される限りにおいては、安全性に問題はないと判断したが、不純物として微量に含まれるグリシドール脂肪酸エステルについても検討することとした。

その後、評価要請の対象である、高濃度に DAG を含む食品は、2009 年 9 月に製造販売が中止され、既に流通しておらず、食品健康影響評価の対象が存在していない。このため、現状では国民がばく露する可能性はなく、更なるデータの入手は不可能である。また、摂取した期間、量、年齢等が人により異なるとともに、各人の背景（生活条件等の交絡要因）が様々であるため、過去に摂取した個人の生涯発がんリスクを判断することは困難である。したがって、高濃度に DAG を含む食品についてばく露評価を行うことができず、食品健康影響評価を完結することはできなかった。

なお、本食品健康影響評価の過程で明らかとなった DAG 油についての発がんプロモーション作用や、食用油に不純物として含まれている可能性のあるグリシドール脂肪酸エステルに関する知見等について、参考として取りまとめた。

〈参考 1〉 今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る試験の結果

- ・ マウスにおいて、DAG 油の経口投与による舌を含む口腔内、食道、前胃及び大腸への発がんプロモーション作用は認められなかった。
- ・ DAG 油の投与による乳腺の発がん性は認められなかった。
- ・ 上記の実験動物の知見は、ヒトにおける一日摂取目安量：181.5mg/kg 体重/日（DAG 油の一日摂取目安量 10g/人/日を、平均体重 55.1kg で除したもの）を上回る高用量²まで実施された試験により得られた。
- ・ 結果として、経口投与による DAG 油の発がんプロモーション作用は否定され、DAG 油はグリシドール脂肪酸エステルを不純物として含むが、実験動物を用いた試験系において、問題となる毒性影響は確認されなかった。
- ・ 以上より、ヒトが通常食品として DAG 油を摂取する場合の発がんプロモーション作用によるリスクは無視できると判断した。

〈参考 2〉 食品に含まれるグリシドール及びその脂肪酸エステルに関する知見

- ・ 食用油には、グリシドール脂肪酸エステルが不純物として微量に含まれている可能性があり、グリシドール脂肪酸エステルが代謝されたグリシドールについては、遺伝毒性発がん物質である可能性を否定できないと考えた。
- ・ 一方、グリシドール脂肪酸エステルについては、グリシドールでみられた以上の遺伝毒性は認められず、皮下投与での発がん性に関する試験成績からは、グリシドールでみられた腫瘍の発生及び程度を超えるような知見は得られていない。
- ・ 我が国で現在流通している食用油に含まれるグリシドール脂肪酸エステル濃度は低く、その全てが等モル量のグリシドールに変換されるという仮定の下、過大に見積もって試算しても、ばく露マージン（MOE）は 10,000 を僅かに下回ると試算され、一定のばく露マージンが確保されていた。
- ・ これらの結果は、現在使用されている食用油の摂取について、直接健康影響を示唆するものではないが、ALARA(As Low As Reasonably Achievable)の原則に則り、引き続き合理的に達成可能な範囲で、できる限りグリシドール脂肪酸エステルの低減に努める必要がある。
- ・ 今後、グリシドール脂肪酸エステルについて、個々の物質の体内動態や毒性に関する知見、ヒトにおけるばく露に関する情報や疫学研究等の科学的知見の収集が望まれる。

² ラットの発がんプロモーション作用に関する研究[試験 A]における最大投与量は、野生型ラットで 3,760 mg/kg 体重/日、Hras128 ラットで 4,090 mg/kg 体重/日。ラットの大腸癌促進作用試験[試験 B]における最大投与量は、4,076 mg/kg 体重/日。Apc ノックアウトマウス（Min マウス）における腸ポリープ形成に対する影響[試験 B-2]における最大投与量は、野生型マウスで 8,460 mg/kg 体重/日、Min マウスで 7,606 mg/kg 体重/日。ラットの中期多臓器発がん性試験[試験 C]における最大投与量は、2,937 mg/kg 体重/日。野生型ラットを用いた舌二段階発がん試験[試験 E]における最大投与量は、6,100 mg/kg 体重/日。Tg ラットを用いた舌二段階発がん試験（ポストイニシエーション期）[試験 F-1]における最大投与量は、野生型ラットで 6,200 mg/kg 体重/日、Hras128 ラットで 7,300 mg/kg 体重/日。Tg ラットを用いた舌二段階発がん試験[試験 F-2]における最大投与量は、野生型ラットで 6,200 mg/kg 体重/日、Hras ラットで 10,200 mg/kg 体重/日。Tg ラットを用いた舌・乳腺二段階発がん試験[試験 G]では、DAG 油を雄では 20 週間、雌では 15 週間、口腔内に最大 DAG 油 0.5 mL×週 2 回滴下投与した。

【参考 1】

今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に係る試験の結果

2015年3月

食品安全委員会

1. ジアシलगリセロール (DAG) 油の発がんプロモーション作用に関する研究 試験 A

6 週齢の発がん高感受性ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子トランスジェニック (Hras 128) ラット (以下「Hras 128 ラット」という。) 及びその同腹の野生型ラット (各群雄 16 匹、雌 15 匹) に、4-ニトロキノリン 1-オキシド(4NQO) を 10 週間飲水投与(10ppm) してイニシエーション処置を行った。同時に DAG 油を、総脂質量が 5.5% になるように脂質組成を調整した飼料により 20 週間 (雌 Hras 128 ラットについては 12 週間) 混餌投与した (用量は表 2 のとおり)。

実験終了時にと殺し、舌、食道、乳腺その他の臓器での腫瘍発生におけるプロモーション作用の有無について検討し、血液生化学的検査を行った。

DAG 油の投与に関連した体重、摂餌量及び摂水量への影響は認められなかった。

雄 Hras 128 ラットにおいて、4NQO (+) DAG 油高用量群 (⑥群) の舌の扁平上皮癌の発生頻度は 43.8% であり、4NQO (+) TAG 油高用量群 (③群) の 12.3% と比べ約 3.6 倍に増加したが、有意差はなかった。しかし、発生頻度の用量相関の傾向検定 (コクラン・アミテージの傾向検定) においては用量相関が認められた。さらに、舌の扁平上皮癌及び腫瘍 (乳頭腫 + 扁平上皮癌) の個体当たり個数についても、線形回帰分析により用量に相関した有意な増加が認められた (表 2-1)。一方、雌 Hras 128 ラット及び雌雄野生型ラットにおいては、DAG 油の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかった (表 2-2)。また、舌以外の臓器については、Hras 128 及び野生型ラットともに、DAG 油の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかった。(参照 28)

表 2. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

	野生型ラット		Hras 128 ラット	
	雄	雌	雄	雌
①4NQO (-) TAG 油 5.5%	0	0	0	0
②4NQO (-) DAG 油 5.5%	2,900	3,400	2,610	3,650
③4NQO (+) TAG 油 5.5%	0	0	0	0
④4NQO (+) DAG 油 1.375%+TAG 油 4.125%	690	870	720	1,000
⑤4NQO (+) DAG 油 2.75%+TAG 油 2.75%	1,400	2,460	1,440	2,090
⑥4NQO (+) DAG 油 5.5%	2,980	3,760	3,080	4,090

表 2-1. DAG 油の雄ラットの舌発癌に対する影響

投与群	野生型ラット				Hras 128 ラット			
	例数	腫瘍数／ラット		発生率 (%)	例数	腫瘍数／ラット		発生率 (%)
		扁平上皮癌	乳頭腫＋扁平上皮癌			扁平上皮癌	乳頭腫＋扁平上皮癌	
①群	16	0	0	0	16	0	0	0
②群	16	0	0	0	16	0	0	0
③群	16	0	0	0	16	0.13±0.34	0.31±0.48	12.3
④群	16	0	0	0	14 *	0.14±0.36	0.21±0.43	14.3
⑤群	15	0.13±0.35	0.13±0.35	13.3	15	0.20±0.41	0.73±0.80	20.0
⑥群	16	0.06±0.25	0.13±0.34	6.3	16	0.44±0.51	0.69±0.70	43.8

平均値±標準偏差

* ; P<0.05, 線形回帰分析

** ; P<0.05, コ克蘭・アミテージの傾向検定

表 2-2. DAG 油の雌ラットの舌発癌に対する影響

投与群	野生型ラット				Hras 128 ラット			
	例数	腫瘍数／ラット		発生率 (%)	例数	腫瘍数／ラット		発生率 (%)
		扁平上皮癌	乳頭腫＋扁平上皮癌			扁平上皮癌	乳頭腫＋扁平上皮癌	
①群	15	0	0	0	14	0	0	0
②群	15	0	0	0	12	0	0	0
③群	15	0.13±0.35	0.13±0.35	13.3	15	0	0	0
④群	13	0.08±0.28	0.08±0.28	7.7	15	0.07±0.26	0.07±0.26	6.7
⑤群	14	0.07±0.27	0.07±0.27	7.1	14	0	0	0
⑥群	13	0	0	0	15	0.07±0.26	0.07±0.26	6.7

2. DAG 油の大腸癌促進作用試験試験 B

(a) DAG 油のアゾキシメタン (AOM) 誘発ラット大腸のアベラントクリプトフォーカス (ACF) 形成に対する影響試験 B-1

6 週齢の F344 ラット (各群雄 12 匹) に、DAG 油を、総脂質量が 5～5.5% になるように脂質組成を調整した飼料により 4 週間混餌投与し、AOM (15 mg/kg 体重) を投与開始日翌日及び 7 日目の計 2 回皮下注投与した。対照群 (各群雄 6 匹) には、AOM の代わりに生理食塩水を皮下注投与した (用量は表 3 のとおり)。

大腸の前癌病変の代替マーカーである ACF 及び ACF を構成するアベラントクリプト (AC) を数えたところ、個体当たりの ACF 数には有意な変化は認められなかったものの、AOM (+) DAG 油高用量群 (⑤群) では ACF 当たり平均 AC 数が AOM (+) 大豆油群 (②群) に比べ、有意に減少していた (表 3-1)。

なお、DAG 油の投与に関連した毒性は認められなかった。(参照 29)

表 3. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

①AOM (+) コーン油 5% (試験施設基礎飼料)	0
②AOM (+) 大豆油 5.5%	0
③AOM (+) DAG 油 1.375%+大豆油 4.125%	976
④AOM (+) DAG 油 2.75%+大豆油 2.75%	1,950
⑤AOM (+) DAG 油 5.5%	3,921
⑥AOM (-) コーン油 5%	0
⑦AOM (-) 大豆油 5.5%	0
⑧AOM (-) DAG 油 1.375%+大豆油 4.125%	967
⑨AOM (-) DAG 油 2.75%+大豆油 2.75%	1,786
⑩AOM (-) DAG 油 5.5%	4,076

表 3-1. DAG 油のラット大腸における AOM 誘導 ACF 数への影響

	例数	ACF 数/大腸	AC 数/大腸	AC 数/ACF 数
①群	9	323.3±82.0(122%)	664.9±183.5(126%)	2.02±0.06*
②群	9	266.2±72.7(100%)	527.8±147.4(100%)	1.90±0.08
③群	9	259.2±60.9(97%)	489.0±124.1(93%)	1.85±0.10
④群	9	269.6±38.3(101%)	507.5±84.0(96%)	1.90±0.09
⑤群	9	253.7±60.1(95%)	418.9±98.0(79%)	1.70±0.11**

平均値±標準偏差, *, **: P<0.005, 0.001

(b) DAG 油の *Apc* ノックアウトマウス (Min マウス) における腸ポリープ形成に対する影響 **試験 B-2**

6 週齢の Min マウス (各群雄 12 匹) 及び野生型マウス (各群雄 6 匹) に DAG 油を、総脂質量が 5~5.5% になるように脂質組成を調整した飼料により 9 週間混餌投与した (用量は表 4 のとおり)。Min マウスはヒトの家族性大腸腺腫症のモデルマウスであり、*Apc* 遺伝子に変異を持ち、加齢とともに高トリグリセリド血症を発症し、腸ポリープの自然発生がみられる動物である。なお、化学発がん物質の投与は行われていない。

Min マウスの小腸及び大腸の発生ポリープ数を数えたところ、対照群 (①②群) に比べ、DAG 油群 (③④⑤群) では、用量相関性や有意差は認められず、DAG 油は Min マウスの腸ポリープ形成において影響を与えなかった (表 4-1)。(参照 29)

表 4. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

	Min マウス	野生型マウス
①コーン油 5% (試験施設基礎飼料)	0	0
②大豆油 5.5%	0	0
③DAG 油 1.375%+大豆油 4.125%	2,191	2,066
④DAG 油 2.75%+大豆油 2.75%	3,823	4,082
⑤DAG 油 5.5%	7,606	8,460

表 4-1. DAG 油の Min マウスにおける腸ポリープ形成に対する影響

	例数	腸ポリープ数/マウス	
		大腸	小腸+大腸
①コーン油 5% (試験施設基礎飼料)	9	1.3±0.3	84.8±13.8
②大豆油 5.5%	9	0.9±0.4	84.9±10.7
③DAG 油 1.375%+大豆油 4.125%	9	1.0±0.2	97.8±14.0
④DAG 油 2.75%+大豆油 2.75%	8	0.9±0.4	92.3±10.0
⑤DAG 油 5.5%	9	1.0±0.3	96.0±22.8

平均値±標準偏差

DAG 油を投与した野生型ラットでは、ACF 当たりの平均 AC 数が有意に減少した (試験 B-1)。一方、DAG 油は Min マウスの腸ポリープ形成においては有意な影響を与えなかった (試験 B-2)。野生型ラットを用いた試験 (試験 B-1) 及びノックアウトマウスを用いた試験 (試験 B-2) の 2 つの試験が一致して促進的な結果を示した場合には、大腸発がん促進作用が認められると判断すべきであるが、そのような結果は得られなかった。

3. DAG 油の中期多臓器発がん性試験 (試験 C)

6 週齢の F344 ラット (各群雄 20 匹) に、複数のイニシエーター (DMBDD)³ を 4 週間投与し、その後 DAG 油を、総脂質量が 5.3~5.5%になるように脂質組成を調整した飼料により 24 週間混餌投与した (用量は表 5 のとおり)。

大腸については、DAG 油低用量群及び中用量群 (③④群) で腫瘍性病変 (腺腫又は腺癌) の発生頻度が対照群 (②群) と比較して高い傾向を示したが有意差はなく、DAG 油高用量群 (⑤群) では対照群 (②群) と同程度の発生頻度であり、用量相関性は認められなかった (表 5-1)。

また、食道、前胃、小腸、肝臓、腎臓、膀胱、前立腺、鼻腔、肺、甲状腺、造血器系、神経系等についても、DAG 油の投与に関連した腫瘍性病変の増加は認められなかった。(参照 30)

表 5. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

①DMBDD (+) 餌由来脂質 5.3% (げっ歯類用標準基礎飼料)	0
②DMBDD (+) TAG 油 5.5%	0
③DMBDD (+) DAG 油 1.375%+TAG 油 4.125%	727
④DMBDD (+) DAG 油 2.75% + TAG 油 2.75%	1,456
⑤DMBDD (+) DAG 油 5.5%	2,937
⑥DMBDD (+) 高リノール酸 TAG 油 5.5%	0
⑦DMBDD (+) 高オレイン酸 TAG 油 5.5%	0
⑧DMBDD (+) 中鎖脂肪酸 TAG 油 5.5%	0

³ 実験開始時に *N*-nitrosodiethylamine (DEN) 100 mg/kg 体重を単回腹腔内投与、実験 4、7、11 及び 14 日目に *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 20 mg/kg 体重を計 4 回腹腔内投与、実験開始から 14 日目まで *N*-*n*-butyl-*N*-butan-4-ol-nitrosamine (BBN) を飲水投与 (0.05%)、実験 18、21、25 及び 28 日目に 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) 40 mg/kg 体重を計 4 回皮下注投与、実験 15 日目から 28 日目まで dihydroxy-di-*N*-propylnitrosoamine (DHPN) を飲水投与 (0.1%) した。

表 5-1. DAG 油のラット大腸における腫瘍性病変の発生への影響

	例数	発生数	発生頻度 (%)	個体あたりの個数
①群	20	10	50	0.8±0.9
②群	19	14	63	1.6±1.4
③群	20	19	95	2.3±1.4
④群	20	19	95	2.5±1.3
⑤群	20	14	70	2.2±2.0
⑥群	20	18	90	2.4±1.7
⑦群	20	20*	100*	2.5±1.4*
⑧群	20	18	90	2.1±1.3

平均値±標準偏差, *: P<0.05

4. 野生型ラット (SD ラット) を用いた舌二段階発がん試験 **試験 E**

試験 Aにおいて、発がんプロモーション作用を確認することができなかったことから、4NQO 誘発舌発がんへの DAG 油の修飾効果を、Tg ラットの背景系統である SD ラット (野生型ラット) を用いた二段階発がんモデルで検討した。6 週齢の野生型ラット (各群雄 30 匹) に 4NQO を 10 週間飲水投与 (10 ppm) し、1 週間の休薬後、DAG 油を、⑩群及び⑪群を除き総脂質量が 11%になるように脂質組成を調整した飼料により 24 週間混餌投与した (用量は表 6 のとおり)。

4NQO (+) 群の舌及び舌を除く口腔の粘膜に扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌が認められた。しかし、その発生頻度、個体当たり個数ともに群間に差はなかった。また、口腔内に生じた増殖性病変においても、群間に差はなかった。4NQO (-) 群には腫瘍性病変は認められなかった (表 6-1、表 6-2)。そのほか、DAG 油の投与による各臓器の腫瘍の発生増加を示す結果は認められず、血液生化学的検査においても投与の影響は認められなかった。

以上より、野生型ラットでは DAG 油の投与による舌を含む口腔における腫瘍性病変の増加は認められなかった。(参照 31)

表 6. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

①4NQO (+) DAG 油 11%	6,100
②4NQO (+) DAG 油 5.5%+TAG 油 5.5%	3,300
③4NQO (+) DAG 油 2.75%+TAG 油 8.25%	1,900
④4NQO (+) DAG 油 1.38%+TAG 油 9.62%	750
⑤4NQO (+) TAG 油 11%	0
⑥4NQO (+) 高リノール酸 TAG 油 11%	0
⑦4NQO (-) DAG 油 11%	5,400
⑧4NQO (-) TAG 油 11%	0
⑨4NQO (-) 高リノール酸 TAG 油 11%	0
⑩4NQO (+) DAG 油 5.5%	3,400
⑪4NQO (+) DAG 油 2.75%	1,700

表 6-1. DAG 油の舌の発がんにおける影響

投与群	例数	発生頻度 (%)			腫瘍数/ラット		
		乳頭腫	扁平上皮癌	乳頭腫+扁平上皮癌	乳頭腫	扁平上皮癌	乳頭腫+扁平上皮癌
①群	30	13.3	16.7	26.7	0.13±0.35	0.17±0.38	0.27±0.45
②群	30	10.0	13.3	20.0	0.10±0.31	0.13±0.35	0.23±0.50
③群	28	10.7	10.7	21.4	0.11±0.31	0.11±0.31	0.21±0.42
④群	30	10.0	20.0	30.0	0.10±0.31	0.20±0.41	0.30±0.47
⑤群	29	10.3	13.8	24.1	0.10±0.31	0.14±0.35	0.24±0.44
⑥群	30	13.3	20.0	33.3	0.17±0.46	0.20±0.41	0.37±0.56
⑦群	30	0	0	0	0	0	0
⑧群	29	0	0	0	0	0	0
⑨群	30	0	0	0	0	0	0
⑩群	29	3.4	13.8	17.2	0.03±0.19	0.14±0.35	0.17±0.38
⑪群	30	16.7	16.7	33.3	0.16±0.38	0.16±0.38	0.33±0.48

平均値±標準偏差

表 6-2. DAG 油の舌を除く口腔粘膜の発がんにおける影響

投与群	例数	発生頻度 (%)			腫瘍数/ラット		
		乳頭腫	扁平上皮癌	乳頭腫+扁平上皮癌	乳頭腫	扁平上皮癌	乳頭腫+扁平上皮癌
①群	30	26.7	43.3	56.7	0.30±0.53	0.63±0.85	0.93±0.98
②群	30	23.3	43.3	53.3	0.23±0.43	0.57±0.73	0.80±0.92
③群	28	21.4	39.3	50.0	0.29±0.60	0.64±0.95	0.93±1.15
④群	30	23.3	53.3	63.3	0.27±0.52	0.77±0.82	1.03±0.93
⑤群	29	24.1	55.2	65.5	0.38±0.78	0.79±0.86	1.17±1.07
⑥群	30	23.3	53.3	60.0	0.27±0.52	0.77±0.82	1.03±0.96
⑦群	30	0	0	0	0	0	0
⑧群	29	0	0	0	0	0	0
⑨群	30	0	0	0	0	0	0
⑩群	29	37.9	55.2	72.4	0.41±0.57	0.86±0.92	1.28±1.10
⑪群	30	36.7	50.0	66.7	0.43±0.63	0.70±0.79	1.13±1.04

平均値±標準偏差

5. Tg ラット (ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 Tg ラット (Hras 128 ラット)) を用いた舌二段階発がん試験 (ポストイニシエーション期) **試験 F-1**

試験 Aにおいて、雄 Hras 128 ラットにのみ、有意差はないものの、舌に扁平上皮癌が増加する結果が得られたが、(雌 Hras 128 ラット及び雌雄) 野生型ラットの結果では、舌、食道、乳腺その他の臓器に DAG 油の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかったことから、当該試験の再現性を確認するために、プロモーション期に DAG 油及び TAG 油を更に高用量で長期間、Hras 128 ラット及び野生型ラットに投与した場合の発がん修飾作用について検討された。

7 週齢の Hras 128 ラット (各群雄雌各 40 匹) とその同腹の野生型ラット (SD

ラット)(各群雌雄各 40 匹)に、4NQO を雄に 10 週間、雌に 6 週間飲水投与(10 ppm)した。1 週間の休薬後、DAG 油を、Hras 128 ラットの雄で 17 週間、雌で 8 週間、野生型ラットの雄で 25 週間、雌で 12 週間混餌投与した(用量は表 7 のとおり)。なお、TAG 油には、DAG 油の脂肪酸組成とほぼ同等になるよう大豆油と菜種油を 7:3 で混合したものが用いられた。

雄 Hras 128 ラットにおいては、舌、硬口蓋及び下顎のいずれにおいても、4NQO (+) DAG 油の投与に関連した腫瘍発生が増加は認められなかった(表 7-1、7-2)が、口腔全体(舌+硬口蓋+下顎)では増殖性病変(過形成+異形成+乳頭腫+扁平上皮癌)の個体当たり個数が 4NQO (+) DAG 油中用量群(②群)で対照群(①群)と比較して有意な高値を示した(表 7-2)。硬口蓋+下顎の腫瘍性病変(乳頭腫+扁平上皮癌)の発生頻度が 4NQO (+) DAG 油中用量群(②群)で対照群(①群)と比較して有意な高値を示し、個体当たり個数が 4NQO (+) DAG 油中用量群と高用量群(②③群)で対照群(①群)と比較して有意な高値を示したが、用量相関性は認められなかった(表 7-3)。また、前胃及び乳腺においては、DAG 油の投与に関連した腫瘍発生は認められなかった。雌 Hras 128 ラットにおいては、舌の増殖性病変のうち、過形成+異形成の発生頻度及び個体当たりの個数が 4NQO (+) DAG 油の用量に応じ僅かに増加した(表 7-4)。

舌、硬口蓋、下顎、前胃及び乳腺のいずれにおいても、4NQO (+) DAG 油の投与に関連した腫瘍発生は認められなかった。雄野生型ラットにおいては、硬口蓋の腫瘍(乳頭腫+扁平上皮癌)の発生頻度が、4NQO (+) DAG 油の用量に応じ有意差はないが減少傾向にあった。雌野生型ラットでは有意な腫瘍発生は認められなかった(参照 32)。

表 7. DAG 油の投与用量

	(mg/kg 体重/日)			
	野生型ラット		Hras 128 ラット	
	雄	雌	雄	雌
①4NQO (+) TAG 油 11%	0	0	0	0
②4NQO (+) DAG 油 5.5%+TAG 油 5.5%	2,300	3,200	2,400	3,600
③4NQO (+) DAG 油 11%	4,700	6,200	5,000	7,100
④4NQO (-) DAG 油 11%	4,000	6,200	4,500	7,300

表 7-1. DAG 油の雄ラット舌の増殖性病変の発生頻度及び個体当たりの発生個数に対する影響

投与群		例数	過形成＋異形成		乳頭腫		扁平上皮癌		合計	
			発 生 頻 度 (%)	病変数／ラット	発生頻度 (%)	病変数／ラット	発生頻度 (%)	病変数／ラット	発生頻度 (%)	病変数／ラット
野生型	①	40	42.5	0.7±1.0	17.5	0.2±0.5	15.0	0.2±0.6	62.5	1.1±1.2
	②	40	45.0	0.8±1.2	10.0	0.1±0.3	22.5	0.3±0.5	67.5	1.2±1.2
	③	40	50.0	0.8±1.1	15.0	0.2±0.4	20.0	0.2±0.5	72.5	1.2±1.2
	④	40	0	－	0	－	0	－	0	－
T g	①	40	35.0	0.6±1.1	22.5	0.2±0.4	45.0	0.5±0.6	85.0	1.3±1.1
	②	40	47.5	1.1±1.4	20.0	0.3±0.6	27.5	0.3±0.5	77.5	1.6±1.4
	③	40	45.0	0.9±1.3	20.0	0.3±0.5	42.5	0.5±0.6	87.5	1.6±1.3
	④	40	0	－	0	－	0	－		－

平均値±標準偏差

表 7-2. DAG 油の雄ラット口腔内（舌＋硬口蓋＋下顎）の増殖性病変の発生頻度及び個体当たりの発生個数に対する影響

	野生型ラット			Hras 128 ラット		
	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット
①4NQO (+) TAG 油 11%	40	87.5	2.0±1.4	40	90.0	1.9±1.3
②4NQO (+) DAG 油 5.5% +TAG 油 5.5%	40	90.0	2.0±1.5	40	90.0	2.6±1.6*
③4NQO (+) DAG 油 11%	40	90.0	2.0±1.4	40	95.0	2.5±1.6
④4NQO (-) DAG 油 11%	40	0	—	40	0	—

平均値±標準偏差, *: P<0.05

表 7-3. DAG 油の雄ラット口腔内（硬口蓋＋下顎）の腫瘍性病変の発生頻度及び個体当たりの発生個数に対する影響

	野生型ラット			Hras 128 ラット		
	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット
①4NQO (+) TAG 油 11%	40	72.5	0.9±0.6	40	50.0	0.5±0.5
②4NQO (+) DAG 油 5.5% +TAG 油 5.5%	40	70.0	0.8±0.6	40	77.5*	0.9±0.6*
③4NQO (+) DAG 油 11%	40	67.5	0.8±0.6	40	70.0	0.8±0.6*
④4NQO (-) DAG 油 11%	40	0	—	40	0	—

平均値±標準偏差, *: P<0.01

表 7-4. DAG 油の雌ラット舌の増殖性病変（過形成+異形成）の発生頻度
及び個体当たりの発生個数に対する影響

	野生型ラット			Hras 128 ラット		
	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット	例数	発生頻度 (%)	病変数／ラット
①4NQO (+) TAG 油 11%	40	22.5	0.3±0.7	40	15.0	0.2±0.4
②4NQO (+) DAG 油 5.5% +TAG 油 5.5%	40	17.5	0.2±0.5	40	20.0	0.2±0.5
③4NQO (+) DAG 油 11%	40	17.5	0.2±0.5	40	30.0	0.4±0.6
④4NQO (-) DAG 油 11%	40	0	—	40	0	—

平均値±標準偏差

6. Tg ラット（ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 Tg ラット（Hras 128 ラット））を用いた舌二段階発がん試験（イニシエーション期・ポストイニシエーション期両方投与）試験 F-2

試験 A)において、雄 Hras 128 ラットにのみ、有意差はないものの、舌に扁平上皮癌が増加する結果が得られたが、雌 Hras 128 ラット及び雌雄野生型ラットの結果では、舌、食道、乳腺その他の臓器に DAG 油の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかったことから、当該試験の再現性を確認するために、当該試験と同様にイニシエーション期・プロモーション期に DAG 油及び TAG 油を更に高用量で長期間、Hras 128 ラット及び野生型ラットに投与した場合の発がん修飾作用について検討された。

7 週齢の Hras 128 ラット（各群雄雌各 20 匹）とその同腹の野生型ラット（各群雌雄各 20 匹）に、4NQO を雄に 10 週間、雌に 6 週間飲水投与（10 ppm）してイニシエーションを行った。イニシエーション期とその後のポストイニシエーション期の両期間を通して、DAG 油を、総脂質量が 11%になるように脂質組成を調整した飼料により、Hras 128 ラットについては雄で 24 週間、雌で 11 週間、野生型ラットについては雄で 36 週間、雌で 52 週間混餌投与した（用量は表 8 のとおり）。なお、TAG 油には、DAG 油の脂肪酸組成とほぼ同等になるよう大豆油と菜種油を 7:3 で混合したものが用いられた。

雄 Hras 128 ラットにおいて、舌に DAG 油の投与に関連した腫瘍発生は認められなかったが、硬口蓋腫瘍の発生頻度並びに口腔内（硬口蓋+下顎）の腫瘍性病変の発生頻度及び個体当たり個数が、DAG 油高用量群（④群）で対照群（①群）より有意に減少した。イニシエーション処理をされた雄野生型ラットでは、舌癌の発生頻度及び個体当たり個数が、DAG 油高用量群（④群）で対照群（①群）より有意に増加した（表 8-1、8-2）。しかしながら、用量相関性がなく、雄の Tg ラットの結果と野生型ラットの結果で一貫性がないことから、当該試験の結果から結論を得ることはできないと判断した。雌では Hras 128 ラット、野生型ラットともに、有意な腫瘍の発生増加を認めなかった（参照 33）。

表 8. DAG 油の投与用量

(mg/kg 体重/日)

	野生型ラット		Hras 128 ラット	
	雄	雌	雄	雌
①4NQO (+) TAG 油 11%	0	0	0	0
②4NQO (+) DAG 油 2.75%+ TAG 油 8.25%	1,300	1,700	1,600	2,500
③4NQO (+) DAG 油 5.5% + TAG 油 5.5%	2,700	3,000	3,600	4,300
④4NQO (+) DAG 油 11%	5,300	6,200	7,200	10,200

表 8-1. DAG 油の雄ラット舌における腫瘍性病変の発生頻度及び個体当たりの発生個数に対する影響

投与群		例数	乳頭腫		扁平上皮癌		乳頭腫+扁平上皮癌	
			発生頻度 (%)	腫瘍数/ラット	発生頻度 (%)	腫瘍数/ラット	発生頻度 (%)	腫瘍数/ラット
野生型	①	20	10.0	0.1±0.3	10.0	0.1±0.3	20.0	0.2±0.4
	②	20	25.0	0.3±0.4	30.0	0.3±0.5	55.0	0.6±0.5
	③	20	35.0	0.4±0.6*	20.0	0.2±0.4	50.0	0.6±0.7*
	④	20	20.0	0.2±0.4	45.0*	0.5±0.5*	60.0	0.7±0.6*
Tg	①	20	15.0	0.3±0.7	45.0	0.5±0.5	50.0	0.7±0.9
	②	20	35.0	0.4±0.5	55.0	0.7±0.7	75.0	1.0±0.8
	③	20	25.0	0.3±0.6	60.0	0.6±0.5	80.0	0.9±0.6
	④	20	35.0	0.4±0.6	45.0	0.5±0.6	70.0	0.9±0.8

平均値±標準偏差, *: P<0.05,

表 8-2. DAG 油の雄ラット口腔内における腫瘍性病変の発生頻度及び個体当たりの発生個数に対する影響

投与群		例数	硬口蓋 ^{※1}	下顎 ^{※1}	硬口蓋 ^{※2} +下顎 ^{※1}		舌 ^{※3} +硬口蓋 ^{※2} +下顎 ^{※1}	
			発生頻度 (%)	発生頻度 (%)	発生頻度 (%)	腫瘍数/ラット	発生頻度 (%)	腫瘍数/ラット
野生型	①	20	60.0	10.0	80.0	0.8±0.4	100.0	2.1±1.3
	②	20	60.0	0	65.0	0.7±0.5	85.0	2.3±1.7
	③	20	65.0	15.0	75.0	0.8±0.5	95.0	2.7±1.8
	④	20	55.0	10.0	60.0	0.7±0.7	80.0	2.4±1.9
Tg	①	20	65.0	5.0	80.0	0.9±0.5	100.0	2.5±1.4
	②	20	50.0	15.0	90.0	1.0±0.4	100.0	2.6±0.8
	③	20	55.0	0	80.0	0.8±0.4	95.0	2.6±1.5
	④	20	30.0*	5.0	50.0*	0.5±0.5*	95.0	2.4±1.9

平均値±標準偏差, *: P<0.05,

※1: 扁平上皮癌,

※2: 乳頭腫+扁平上皮癌,

※3: 過形成+異形成+乳頭腫+扁平上皮癌

7. Tg ラット (発がん高感受性ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子トランスジェニック (Hras 128 ラット)) を用いた舌・乳腺二段階発がん試験(試験 G)

DAG 油の投与による舌を含む口腔内の腫瘍発生のプロモーション作用について、試験 A の結果の再現性を確認するために行われた試験 F-2 においても、結論を得る

ことはできなかったこと等から、さらに Hras 128 ラットを用いた舌・乳腺二段階発がん試験により検討された。

7 週齢の Hras 128 ラット及び野生型ラット（各群雄雌各 9 匹）に、4NQO を雄にのみ 10 週間飲水投与（10 ppm）し、イニシエーションを行った。DAG 油を、雄では 4NQO と同時に投与開始し 20 週間、雌では 15 週間、口腔内に滴下投与した（用量は表 9 のとおり）。雄では舌の腫瘍発生の増強作用、雌では乳腺の腫瘍発生の増強作用が検討された。さらに、乳腺では、PKC アイソフォームに係る mRNA の発現の状態が測定された。なお、TAG 油には、DAG 油の脂肪酸組成と同等の大豆油を用いた。

雄では、野生型ラットにおける口腔内（舌、硬口蓋及び下顎）の乳頭腫及び扁平上皮癌の発生頻度及び個体当たり個数において、DAG 油の投与に関連した増加は認められず、乳頭腫の発生頻度及び個体当たり個数並びに扁平上皮癌の個体当たり個数にあっては対照群（①群）と比較してむしろ有意に減少していた。Hras 128 ラットにおいても、DAG 油の投与による舌を含む口腔内の腫瘍発生の増加は認められなかった（表 9-1）。

雌では、Hras 128 ラットにおける乳腺の腺癌の個体当たり個数は、対照群（④群）と比較して DAG 油高用量群（⑦群）が有意に増加し、個体当たり腫瘍重量は、対照群（④群）と比較して DAG 油中用量群及び高用量群（⑥⑦群）に有意な増加がみられた。他方、野生型ラットにおいては、乳腺の腺癌の発生頻度、個体当たり個数及び個体当たり腫瘍重量のいずれについても DAG 油高用量群（⑦群）が対照群（④群）よりも低値であり、Hras 128 ラットにおける知見とは相矛盾する結果となった（表 9-2）。

表 9. DAG 油の投与用量

	野生型ラット		Hras 128 ラット	
	雄	雌	雄	雌
①4NQO（+）TAG 油 0.5 mL×週 2 回	○		○	
②4NQO（+）DAG 油 0.5 mL×週 1 回+TAG 油 0.5 mL×週 1 回	○		○	
③4NQO（+）DAG 油 0.5 mL×週 2 回	○		○	
④4NQO（-）TAG 油 0.5 mL×週 2 回		○		○
⑤4NQO（-）DAG 油 0.5 mL×週 0.5 回+TAG 油 0.5 mL×週 1.5 回		○		○
⑥4NQO（-）DAG 油 0.5 mL×週 1 回+TAG 油 0.5 mL×週 1 回		○		○
⑦4NQO（-）DAG 油 0.5 mL×週 2 回		○		○

表 9-1. DAG 油の雄ラットにおける口腔内発癌に対する影響

投与群		例数	乳頭腫		扁平上皮癌	
			発生頻度(%)	病変数／ラット	発生頻度(%)	病変数／ラット
野生型	①	8	63*	0.8±0.7	88	1.6±1.1
	②	8	25*	0.3±0.5	88	1.3±0.8
	③	9	11*	0.1±0.3*	89	1.4±0.9
Tg	①	8	75*	1.3±0.9	63	1.0±0.9
	②	8	63*	1.8±1.6	75	1.3±1.0
	③	9	56*	0.9±1.1	56	0.9±0.9

平均値±標準偏差, *: P<0.05

表 9-2. DAG 油の雌ラットにおける乳腺発癌に対する影響

投与群		例数	乳腺腫瘍（腺癌）		
			発生頻度（%）	病変数／ラット	腫瘍重量／ラット
野生型	④	9	22	0.6±1.1	15.8±46.0
	⑤	9	33	0.8±1.6	0.1± 0.4
	⑥	9	11	0.1±0.3	27.9±83.2
	⑦	9	0	0	0
Tg	④	9	22	0.4±1.0	0.8± 2.2
	⑤	9	44	0.7±1.0	6.3±14.1
	⑥	9	78	0.9±0.6	3.5± 4.2*
	⑦	9	78	1.3±1.1*	2.7± 3.7*

平均値±標準偏差, *: P<0.05

DAG 油 0.5 mL を週 2 回 4 週間口腔内に滴下投与した Hras 128 ラットの正常乳腺組織における PKC アイソフォーム（ η 、 λ 、 ν 等）に係る mRNA の発現レベルは、TAG 油 0.5 mL を週 2 回 4 週間投与した群（④群）と比較して増加した。なお、DAG 油を同様にばく露させた野生型ラットの正常乳腺組織においては、mRNA の発現レベルの増加は認められなかった。（参照 34）

8. 野生型マウス（ICR マウス）を用いた皮膚二段階発がん試験 D-1、D-2、D-3（参考）

DAG 油の発がんプロモーション作用について、7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン（DMBA）でイニシエーションを行ったマウス皮膚二段階発がん試験により検討された。

6 週齢の ICR マウス（各群雌 20 匹）の背部皮膚に DMBA を単回塗布（100 μ g）してイニシエーションを行った後、DAG 油を 1 日 1 回、週 2 日、40 週間背部皮膚に塗布した（用量は表 10 のとおり）（試験 D-1）

なお、陽性対照として 12-*O*-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート（TPA）を用いた。その結果、DAG 油の投与に関連した腫瘍発生は認められなかった。

また、6 週齢の ICR マウス（各群雌 25 匹）の背部皮膚に DMBA を単回塗布（100 μ g）してイニシエーションを行った後、DAG 油を 1 日 1 回（試験 D-2）又は 2 回（試験 D-3）、週 5 日、35 週間背部皮膚に塗布した（用量は表 10-1 及び 10-2 のとおり）。なお、1 日 1 回塗布（試験 D-2）では、陽性対照として TPA を用いた。

試験 D-2 では、DMBA (+) 大豆油群 (2-④群)、DMBA (+) アセトン対照群 (2-⑤群) で腫瘍発生が認められなかったのに対し、DMBA (+) DAG 油高用量群 (2-①群) において 17.4% に乳頭腫が、DMBA (+) TPA 陽性対照群 (2-⑥群) においては全例に腫瘍 (乳頭腫 + 扁平上皮癌) が発生した。なお、DMBA (-) DAG 油高用量群 (2-⑦群) では腫瘍発生が認められなかった。1 日 2 回塗布 (試験 D-3) では、DMBA (+) DAG 油高用量群 (3-①群) 及び DMBA (+) DAG 油中用量群 (3-②群) で腫瘍 (乳頭腫 + 扁平上皮癌) の発生頻度はそれぞれ 48.0%、44.0% であり、DMBA (+) 大豆油群 (3-③群) での 4.3% 及び DMBA (+) アセトン (溶媒) 対照群 (3-④群) での 0% に比べて有意に高かった。

以上より、DAG 油を単独で塗布して発がんは見られず、DMBA でイニシエーションを行ったマウスの皮膚に DAG 油を塗布したところ、発がんの促進が見られた。なお、大豆油の塗布においてはそのような作用は見られなかった。(参照 35)

表 10. DAG 油週 2 回塗布における皮膚腫瘍の発生頻度 (試験 D-1)

群	DMBA 処理	一日投与量	例数	皮膚病変 (%)		
				乳頭腫	扁平上皮癌	腫瘍合計
1-①	+	DAG 油 75 mg	18	5.6	0	5.6
1-②	+	DAG 油 22.5 mg	20	5.0	0	5.0
1-③	+	大豆油 85 mg	20	0	0	0
1-④	+	アセトン(溶媒) 150 μ L	20	10.0	0	10.0
1-⑤	+	TPA 2 μ g	10	60.0	40.0	80.0
1-⑥	-	DAG 油 75 mg	10	0	0	0
1-⑦	-	大豆油 85 mg	10	0	0	0
1-⑧	-	TPA 2 μ g	10	0	0	0

表 10-1. DAG 油 1 日 1 回塗布における皮膚腫瘍の発生頻度 (試験 D-2)

群	DMBA 処理	一日投与量	例数	皮膚病変 (%)		
				乳頭腫	扁平上皮癌	腫瘍合計
2-①	+	DAG 油 75 mg	23	17.4*	0	17.4*
2-②	+	DAG 油 30 mg	25	4.0	0	4.0
2-③	+	DAG 油 12 mg	25	8.0	0	8.0
2-④	+	大豆油 85 mg	25	0	0	0
2-⑤	+	アセトン(溶媒) 150 μ L	25	0	0	0
2-⑥	+	TPA 1.2 μ g	10	100.0	60.0	100.0
2-⑦	-	DAG 油 75 mg	25	0	0	0
2-⑧	-	大豆油 85 mg	25	0	0	0

* : $p < 0.05$ (第④群及び第⑤群との群間において)

表 10-2. DAG 油 1 日 2 回塗布における皮膚腫瘍の発生頻度 (試験 D-3)

群	DMBA 処理	一日投与量	例数	皮膚病変 (%)		
				乳頭腫	扁平上皮癌	腫瘍合計
3-①	+	DAG 油 150 mg	25	48.0 *	12.0	48.0 *
3-②	+	DAG 油 60 mg	25	44.0 *	4.0	44.0 *
3-③	+	大豆油 170 mg	23	4.3	0	4.3
3-④	+	アセトン(溶媒) 150 μ L	24	0	0	0

* : $p < 0.05$ (第③群及び第④群との群間において)

9. 今回の食品健康影響評価に当たり提示された高濃度に DAG を含む食品に係る試験の結果のまとめ

「DAG 油の発がんプロモーション作用に関する研究」 (試験 A) において認められた、舌に扁平上皮癌が増加する結果の再現性を確認するために、Tg ラット (Hras 128 ラット) 及び野生型ラットを用いた DAG 油の経口投与による試験 (試験 E、F) が行われた。そのほかに行われた、「DAG 油の大腸癌促進作用試験」 (試験 B)、「DAG 油の中期多臓器発がん性試験」 (試験 C)、マウス皮膚発がんプロモーション試験 (試験 D) 及び Tg ラット (Hras 128 ラット) を用いた舌・乳腺二段階発がん試験 (試験 G) の結果も踏まえ、各論点について、以下のとおりまとめられた。

なお、食品健康影響評価において遺伝子改変動物を用いた試験結果をもって判断を行うことについて、食品安全委員会としては、

- 遺伝子改変動物は、毒性等の機序の解明や発がん物質の短期スクリーニングには有用な場合があるものの、背景データが不足していること、通常動物との感受性の定量的差異が不明であること等により、定量的な解析には適当でないこと、
 - 今回の評価に当たり試験に用いた遺伝子改変動物は、諸外国や国際機関においてリスク評価に用いることについて合意が得られていないこと
- 等の理由により、試験 A、試験 B、試験 F 及び試験 G のうち遺伝子改変動物を用いて得られた知見については、あくまで食品健康影響評価の参考として用いるべきものと判断した。

①舌を含む口腔内の発がんプロモーション作用について

試験 A において、雄 Tg ラット (Hras 128 ラット) にのみ、有意差はないものの、舌に扁平上皮癌が増加する結果が得られた。一方、雌 Tg ラット及び雌雄野生型ラットの結果では、舌に DAG 油の投与に関連した腫瘍発生の増加は認められなかった。

試験 A の再現性を確認するために実施された試験 F において、DAG 油の投与による舌を含む口腔内の腫瘍発生については、雄 Tg ラット (Hras 128 ラット) の結果と、野生型ラットの結果との間で一貫性が認められなかったが、DAG 油に関する二段階発がん試験等 (試験 A～F) の結果から DAG 油の投与による舌を含む口腔内の発がんプロモーション作用は認められないと考えた。

また、実験動物数が少ないものの、**試験 G**において、Tg ラット (Hras 128 ラット) 及び野生型ラットにおいて、舌を含む口腔内の腫瘍発生の増加は認められず、DAG 油の投与による舌を含む口腔内の発がんプロモーション作用は認められないと考えた。

以上から、食品安全委員会としては、Tg ラットにおいて、DAG 油の投与による舌を含む口腔内の発がんプロモーション作用は認められないと考えた。

食品安全委員会としては、通常の野生型ラットを用いた試験で一部に有意な差が認められたものの、各種試験の結果を総合的に判断すると、DAG 油の投与による舌を含む口腔内の発がんプロモーション作用は認められないと判断した。

②大腸での発がんプロモーション作用について

「DAG 油の大腸癌促進作用試験」において、野生型ラットでは、ACF 当たり平均 AC 数が有意に減少し (**試験 B-1**)、DAG 油は Min マウスの腸ポリープ形成において影響を与えなかった (**試験 B-2**)。

また、中期多臓器発がん性試験等の DAG 油に関する二段階発がん試験等 (**試験 A、C、E、F、G**) においても、大腸に発がんプロモーション作用を示す結果は得られていない。

さらに、事業者から、野生型ラットに 10%DAG 油を 1 か月間混餌投与した後に、大腸内容物の 1,2-DAG 濃度を測定した結果が示されており、

- a. TAG 油との間で有意な差は認められていないこと、
- b. 野生型ラットに 23%という更に高用量まで DAG 油を 1 ヶ月間混餌投与した場合にあっても、大腸粘膜の細胞質及び膜における PKC 活性について、TAG 油との間で有意な差は認められていないこと
- c. DAG 油 (50 µg/mL) を、培養したヒト大腸由来細胞 (Caco2 細胞) に添加 60 分後に細胞を採取し、タンパク質の抽出、精製後に PKC 活性を測定した結果、PKC 活性に、TAG 油との間で有意な差は認められていないことが示されている (参照 36)。

以上から、食品安全委員会としては、DAG 油の投与による大腸における発がんプロモーション作用は認められないと判断した。

③Tg ラットを用いた試験において認められた乳腺腫瘍の発生増加について

試験 Gにおいて、雌 Tg ラット (Hras 128 ラット) に、DAG 油の投与による乳腺腫瘍の発生増加を示す結果が得られた。

しかし、

- a. 当該試験は、実験動物数が少なく、雌野生型ラットでは、DAG 油の投与により乳腺腫瘍の発生減少を示す結果が得られたこと、
- b. **試験 E**において乳腺腫瘍の発生増加を示す結果は認められなかったこと、
- c. **試験 A**及び**試験 F**においても、当該試験 (**試験 G**) より実験動物数が多いにも関わらず、雌 Tg ラット (Hras 128 ラット) に、乳腺腫瘍の発生増加を示す結果は認められなかったことから、

食品安全委員会は、**試験 G**における乳腺腫瘍の発生増加は、再現性のないものと考えた。

食品安全委員会は、本試験結果について、Tg ラットの正常乳腺組織における PKC アイソフォームに係る mRNA の発現レベルの増加が認められたものの、野

生型ラットの正常乳腺組織においてはそのような増加は認められないことを確認した。また、食品安全委員会は、DAG が口腔内で吸収され、血中に移行し、乳腺という遠隔かつ特定の組織に到達して作用するという事は、体内動態の観点から想定しにくいと考えた。

以上のことを踏まえ、食品安全委員会は、現時点では最終的に、発がん性の評価は、通常野生型ラットを用いた試験、すなわち、**試験 E** の発がん性試験の結果に基づいて判断することが適当であると考え、DAG 油の投与による乳腺の発がん性及び発がんプロモーション作用は認められないと判断した。

以上より、経口投与による DAG 油の発がんプロモーション作用は否定され、DAG 油は、グリシドール脂肪酸エステルを不純物として含むが、実験動物を用いた試験系において、問題となる毒性影響は確認されなかった。