



府食第585号
平成25年7月22日

厚生労働大臣
田村 憲久 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25年5月31日付け厚生労働省発健第0531第1号をもって貴省から当委員会に意見を求められた、水道により供給される水の水質基準改正に係る食品健康影響評価（亜硝酸態窒素）の結果は下記のとおりですので、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、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

亜硝酸性窒素（別名：亜硝酸態窒素）の耐容一日摂取量を 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日とする。

水道水評価書

硝酸性窒素・亜硝酸性窒素

2013年7月

食品安全委員会

目 次

	頁
<審議の経緯>	2
<食品安全委員会委員名簿>	3
<食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿>	4
要 約	6
I. 評価対象物質の概要	8
1. 起源・用途	8
2. 化学名、化学式、化学式量	8
3. 物理化学的性状	8
4. 現行規制等	8
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 毒性に関する科学的知見	9
(1) 体内動態	9
(2) 実験動物等への影響	12
(3) ヒトへの影響	39
2. 国際機関等の評価	50
3. 曝露状況	55
III. 食品健康影響評価	57
略号	63
<参照>	64

<審議の経緯>

－清涼飲料水の規格基準改正関係－

- 2003年 7月 1日 厚生労働大臣から清涼飲料水中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素並びに亜硝酸性窒素の規格基準改正に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
- 2003年 7月 18日 第3回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2010年 12月 16日 第9回化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会
- 2012年 2月 23日 第8回化学物質・汚染物質専門調査会幹事会
- 2012年 5月 24日 第432回食品安全委員会報告
- 2012年 5月 24日 から2012年6月22日まで 国民からの御意見・情報の募集
- 2012年 10月 24日 化学物質・汚染物質専門調査会座長代理より食品安全委員会委員長へ報告
- 2012年 10月 29日 第451回食品安全委員会（報告）
（同日付けで厚生労働大臣に報告）

－水道水の水質基準改正関係－

- 2013年 5月 31日 厚生労働大臣から水道水中の亜硝酸態窒素の水質基準設定に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
- 2013年 6月 10日 第477回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2013年 6月 25日 第10回化学物質・汚染物質専門調査会幹事会
- 2013年 7月 17日 化学物質・汚染物質専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2013年 7月 22日 第482回食品安全委員会（報告）
（同日付けで厚生労働大臣に報告）

※諮問文書の記載は「亜硝酸態窒素」となっているが、当該物質は「亜硝酸性窒素」と同一物質であり、本評価書においては「亜硝酸性窒素」と記載。

<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

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

*** : 2009年7月9日から

**** : 2011年1月13日から

<食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿>

(2011年9月30日まで)

佐藤 洋 (座長)

立松正衛 (座長代理)

青木康展*

安藤正典*

圓藤吟史※

圓藤陽子*

太田敏博**

川村 孝

熊谷嘉人*

渋谷 淳**

白井智之

津金昌一郎

寺本敬子

遠山千春

中室克彦*

長谷川隆一**

花岡研一

広瀬明彦*

村田勝敬

安井明美

山内 博

山中健三

吉永 淳

鰐渕英機

(2012年11月26日まで)

佐藤 洋¹ (座長¹)

長谷川隆一* (座長代理)

青木康展**

圓藤吟史※

圓藤陽子*

香山不二雄

熊谷嘉人*

渋谷 淳**

白井智之

祖父江友孝

田中亮太*

寺本敬子

遠山千春

中室克彦*

広瀬明彦*

増村健一*

福島哲仁²

村田勝敬

安井明美

吉永 淳

鰐渕英機※

※：幹事会

*：清涼飲料水部会

¹：2012年6月30日まで

²：2012年10月1日から

(2012年11月27日から)

圓藤 吟史 (座長)

長谷川隆一* (座長代理)

青木康展**

圓藤陽子*

香山不二雄

熊谷嘉人*

渋谷 淳**

白井智之

祖父江友孝

田中亮太*

寺本敬子

遠山千春

中室克彦*

広瀬明彦*

福島哲仁

増村健一*

村田勝敬**

安井明美

吉永 淳

鰐淵英機**

** : 幹事会

* : 清涼飲料水部会

要 約

水道により供給される水の水質基準の設定に係る化学物質として、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の食品健康影響評価を行った。

評価に用いた試験成績は、急性毒性試験（マウス、ラット及びウサギ）、亜急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ及びブタ）、慢性毒性試験及び発がん性試験（マウス及びラット）、神経毒性試験（ラット）、生殖・発生毒性試験（マウス、ラット、モルモット、ウサギ及びヒツジ）、遺伝毒性試験、疫学調査等の成績である。

非発がん毒性としては、ヒト、特に乳幼児において、飲料水を介した硝酸塩曝露とメトヘモグロビン（MetHb）血症との関連が報告されており、動物においても曝露による MetHb 濃度上昇が観察されている。また、ヒトにおいて、硝酸塩の曝露による心血管系や副腎への影響、糖尿病との関連、母親の妊娠中の曝露による生殖への影響や子どもの中樞神経系の先天奇形、腫瘍との関連を示唆した疫学研究がある。動物実験では硝酸塩や亜硝酸塩の投与による甲状腺、副腎、心臓への影響が報告されている。

硝酸塩及び亜硝酸塩は体内で発がん物質の N-ニトロソ化合物を生じ得ることが知られている。発がん性試験では、ラットへの亜硝酸塩の混餌投与で肝発がん性が、ラットへの亜硝酸塩の飲水投与で前胃の腫瘍が認められているが、両者とも再現性に乏しく、それぞれ一用量のみの試験でデータが十分でないこと、ヒトへの外挿性に乏しい変化と判断されること等から、今回の評価の対象とすることは困難と判断した。経口投与、特に混餌投与の場合には、摂取した亜硝酸の影響を反映できていない試験成績を示している可能性が高い。また、設定用量が低い試験成績が多く、亜硝酸自身が不安定であることから、亜硝酸塩の発がん性を定量的に評価するには、更なる知見の収集が必要と考えられた。

遺伝毒性については、硝酸塩は生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられる。亜硝酸塩は *in vitro* 試験において高用量で突然変異や染色体異常を誘発するが、*in vivo* 試験においては陰性であることから、*in vitro* 試験で認められた遺伝毒性が生体内で発現する可能性は低いものと考えられた。

したがって、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素については、非発がん毒性に関する耐容一日摂取量（TDI）を算出することが適切であると判断した。

硝酸性窒素の非発がん毒性に関する TDI については、硝酸性窒素を含む水で調製した人工乳を摂取した乳児において、硝酸性窒素濃度が 10 ppm 以下では MetHb 血症の報告はないとの指摘に基づき、最も感受性の高い 0～3 か月未満児の人工乳哺乳量及び体重を用いて、無毒性量（NOAEL）を硝酸性窒素として 1.5 mg/kg 体重/日とした。この値は最も感受性の高い乳児のものであるため不確実係数を適用せず、硝酸性窒素の TDI は 1.5 mg/kg 体重/日と設定した。

亜硝酸性窒素の非発がん毒性に関する TDI については、ラット 13 週間飲水投与試験において、副腎皮質球状帯の肥大が認められた試験データから、NOAEL は亜硝酸性窒素として 1.47 mg/kg 体重/日となり、不確実係数 100（種差：10、個体差：10）で除した、15 µg/kg 体重/日を亜硝酸性窒素の TDI と設定した。

以上から、硝酸性窒素の TDI を 1.5 mg/kg 体重/日、亜硝酸性窒素の TDI を 15 µg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象物質の概要

硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素は、水中においては硝酸イオン及び亜硝酸イオンとして存在する。このため、本評価においては、硝酸イオン及び亜硝酸イオンに含まれる窒素について評価したが、評価に当たっては、硝酸塩及び亜硝酸塩に係る知見も用いた。

1. 起源・用途

硝酸イオン及び亜硝酸イオンは自然由来のイオンであり、窒素循環の一部を担っている（参照 1）。窒素肥料、腐敗した動植物、家庭排水、下水等に含まれる窒素化合物は、水や土壤中で化学的・微生物学的に酸化及び還元を受け、アンモニア性窒素、硝酸性窒素、亜硝酸性窒素等になる（参照 2）。硝酸塩は主に無機肥料に使用されている。亜硝酸ナトリウムは、国際的には食品防腐剤として、特に塩漬け肉において使用されている（参照 1）。

2. 化学名、化学式、化学式量

硝酸性窒素（硝酸イオン、硝酸塩）／亜硝酸性窒素（亜硝酸イオン、亜硝酸塩）
英名：nitrate／nitrite
CAS No.：14797-55-8／14797-65-0
化学式： NO_3^- ／ NO_2^-
化学式量：62.00／46.00

3. 物理化学的性状

物理的性状：データなし
融点（℃）：データなし
沸点（℃）：データなし
比重（水=1）：データなし
水への溶解性：水に易溶
水オクタノール分配係数（log Pow）：0.21／0.06（SRC Kow Win）
蒸気圧（kPa（20℃））：データなし

4. 現行規制等

（1）法令の規制値等

水質基準値（mg/L）：硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素；10
水質管理目標値（mg/L）：亜硝酸態窒素；0.05（暫定）
環境基準値（mg/L）：硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素；10
その他基準：
給水装置の構造及び材質の基準（mg/L）：硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素；1.0
食品衛生法（mg/L）：
清涼飲料水の製造基準：ミネラルウォーター類、冷凍果実飲料及び原料用果汁
以外の清涼飲料水：硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素；10

ミネラルウォーター類：硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素；10

(2) 諸外国等の水質基準値又はガイドライン値

WHO (mg/L) (第4版)：硝酸イオンとして 50 (硝酸性窒素として 11) (短期曝露)

亜硝酸イオンとして 3 (亜硝酸性窒素として 0.9) (短期曝露)

EU (mg/L)：硝酸塩；50

亜硝酸塩；0.5* (ex water treatment works)

*硝酸塩濃度(mg/L)/50 + 亜硝酸塩濃度(mg/L)/3 ≤ 1 を満たすこと

米国環境保護庁 (EPA) (mg/L)：

硝酸塩；10 (窒素で測定。Maximum Contaminant Level)

亜硝酸塩；1 (窒素で測定。Maximum Contaminant Level)

欧州大気質ガイドライン (参照 3)：指針値 なし

その他基準：Codex Standard for Natural Mineral Waters (mg/L)；

硝酸塩；50

亜硝酸塩；0.1

II. 安全性に係る知見の概要

WHO 飲料水水質ガイドライン、EPA/統合リスク情報システム (IRIS) のリスト、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) の評価レポート、国際がん研究機関 (IARC) のモノグラフ等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した (参照 1、4~13)。

なお、本評価書においては、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の重量を mg NO₃⁻-N 及び mg NO₂⁻-N、μg NO₃⁻-N 及び μg NO₂⁻-N と表記する。

1. 毒性に関する科学的知見

(1) 体内動態

① 吸収

摂取された硝酸塩は、上部小腸から容易かつ完全に吸収される。亜硝酸塩は、胃と上部小腸の両方から直接吸収されるとされている。摂取された亜硝酸塩の一部は、吸収される前に胃の内容物と反応する (参照 1)。最近、健常人ボランティア 9 名を用いて行われた非盲検 3 期クロスオーバー試験において、経口投与された硝酸ナトリウム (NaNO₃) (0.06 及び 0.12 mmol/mmol Hb) の生物学的利用率は各 95 及び 98%であったと報告されている (参照 14)。

② 分布

硝酸塩、亜硝酸塩は組織全体に素早く分布される (参照 1、12)。硝酸塩は体液 (尿、唾液、胃液、汗、回腸液) に分布する (参照 15)。Cortas と Wakid (1991)

による、ヒト（5名）に NaNO_3 （470 $\mu\text{mol/kg}$ 体重）を経口摂取させた試験では、投与後に血漿、赤血球、唾液、尿中の硝酸塩が増加した（参照 16）。硝酸塩の輸送機序はヨウ化物、チオシアネートと共通である（参照 9）。摂取された硝酸塩の約 25%が唾液中に排出され、口内細菌の作用により一部（WHO は 20%、IARC 及び EPA は約 5%（参照 17）、JECFA は健常人が 5~7%で最高 20%（参照 9）としている）が唾液中で亜硝酸塩に還元される。その後飲み込まれた硝酸塩と亜硝酸塩は、再度胃の中に入る。

亜硝酸塩は、胎盤を通過し、胎児のメトヘモグロビン（MetHb）血症を引き起こすことがラットで示されている（参照 1）。授乳を介した影響については、出生後から亜硝酸塩を飲水投与され、MetHb 濃度が高い母ラットに授乳されている児ラットの MetHb 濃度は増加していなかったとの報告（参照 18）や、授乳中の女性ボランティアから食後 1 時間後に採取した唾液中の硝酸塩濃度は 0.2~0.5 mM と比較的高かったが、母乳中の濃度は平均 0.023 mM で、血漿中濃度より低かったとの報告（参照 19）等がある。

③ 代謝

吸収された亜硝酸塩は、血液中で速やかに酸化されて硝酸塩になる。血流中の亜硝酸塩はヘモグロビン（Hb）の MetHb への酸化に関与する（参照 1）。すなわち、ヘム基の Fe^{2+} は Fe^{3+} に酸化され、残存する亜硝酸塩がこの酸化されたヘム基と強固に結合する。 Fe^{3+} の形態は酸素との結合力が強いため、酸素の輸送に弊害が生じる（参照 13、20）。酸素輸送の減少は MetHb 濃度が正常な Hb 濃度の 10%以上になると生じ、チアノーゼを引き起こす（参照 7、8、21）。ヒトの正常な MetHb 濃度は生後 3 か月未満の乳児で 3%未満、それ以外では 2%未満である（参照 7、8、21）。MetHb の半減期は成熟ラットで約 90 時間との報告がある（参照 18）。

亜硝酸塩は、胃の内部でニトロソ化合物の前駆物質（例えば、食品中の第二級アミン、第三級アミン、アミド）と反応して、N-ニトロソ化合物を生成することがある。そのような内因性のニトロソ化は、動物と同様にヒトの胃液でも起こることが *in vivo*、*in vitro* の両方で示されており、そのほとんどの pH が低く、亜硝酸塩とニトロソ化合物の前駆物質が同時に存在するときに起こる（参照 7、8、22）。最近、亜硝酸ナトリウム（ NaNO_2 ）（1.0、2.0 g/L）又は NaNO_3 （12 g/L）を含む水を 7 日間飲水させたマウスの糞便中への総 N-ニトロソ化合物の排泄量は、硝酸塩では変化が認められなかったが亜硝酸塩では両用量群で有意に増加したこと（参照 23）、亜硝酸塩は薬剤と反応して N-ニトロソ化合物を生成すること（参照 24）等が報告されている。

④ 排泄

摂取された硝酸塩の大部分は、最終的に、硝酸塩、アンモニア又は尿素として尿中に排泄され、糞便中への排泄はごくわずかである。亜硝酸塩はほとんど排泄されない（参照 21、25、26）。Cortas と Wakid（1991）（参照 16）は、 NaNO_3

の経口投与後の硝酸塩のクリアランス速度は平均 25.8 mL/分であり、尿中の硝酸塩/クレアチニン比が投与後に 25~70 倍まで増加したことから硝酸塩は主に尿細管から排泄されると思われることを報告し、Wagner ら (1983) は健常若年者 12 名に ^{15}N 標識硝酸塩を経口摂取させた場合、48 時間以内に尿中に約 60% が硝酸イオンとして、3% がアンモニア又は尿素として排泄され、便への排泄は 0.1% 未満であったことを報告している。経口投与後の硝酸塩の体内半減期は約 5 時間との報告がある (参照 27) が、血中への吸収は同時に摂取する食品や曝露経路に左右され、高用量投与では尿中排泄率が高くなる可能性があるため、硝酸塩と亜硝酸塩の生理学的な半減期は 3~8 時間と推測される (参照 15)。亜硝酸塩は投与後速やかに血中から消失し、半減期は約 30 分と報告されている (参照 10)。

⑤ 硝酸塩の還元

ヒトの消化管でも細菌による硝酸塩の還元が起こる可能性があるが、通常、胃では起こらない (参照 1)。ただし、胃内の pH が 5 以上の場合には細菌が生育可能なため、消化管内の pH が一般的に高い乳幼児 (特に 0~3 か月齢) 等は硝酸塩による有害影響の高感受性集団である (参照 11)。Colbers ら (1995) は、粉ミルクを飲料水で溶かした人工乳を摂取している乳児、胃酸の分泌が普通の人よりも少ない患者、制酸剤を使用している患者のような胃液酸度の低い人で硝酸塩の還元が起こる可能性を報告している (参照 28)。胃内 pH が 1~7 である健常人で、pH と細菌のコロニー化及び胃内の亜硝酸塩濃度の間には、直接的な相関関係が観察され (参照 29、30)、胃腸疾患及び塩酸欠乏症の人の一部には、高い亜硝酸塩濃度 (6 mg/L) が認められた (参照 31~33)。ラットでは、硝酸塩の唾液中への活発な排出及び還元は実際にはほとんど起こらない (参照 34)。ラットでの硝酸塩還元の総量は、おそらくヒトよりも少ないと考えられる (参照 1)。

⑥ 硝酸塩及び亜硝酸塩の内因性合成

低濃度の硝酸塩及び亜硝酸塩の摂取後に、過剰な硝酸塩の排泄がしばしば観察されるが、これは体内で合成された硝酸塩に由来し、一般的な健常人では平均 1 mmol/日 (硝酸塩 62 mg/日、硝酸性窒素 14 mg/日に相当) が毎日、生合成される。硝酸塩生合成の主要な経路では、まずマクロフェージ (や細胞) によりアルギニンが一酸化窒素 (NO) 及びシトルリンに転化され、次に NO が酸化されて三酸化二窒素 (N_2O_3) に変わり、この N_2O_3 が水と反応して亜硝酸塩になる。亜硝酸塩は Hb と反応して速やかに酸化されて硝酸塩に変わる。なお、pH が中性の条件下では、これらの過程において、おそらく N_2O_3 との反応によりアミンがニトロソ化され得る (参照 1)。Speijers ら (1989) (参照 21) が提唱するニトロソ化経路を図 1 に示す。また、一定の生理的条件下 (低酸素症等) において、亜硝酸塩から NO への逆方向の転換が起こり得る (参照 12)。

ヒトでは、ボランティア (2 名) に ^{15}N 標識アルギニンを投与した結果、両名で尿中の硝酸塩に ^{15}N が取り込まれたことから、アルギニン-NO 経路の存在が確認されている (参照 35)。胃腸感染症は細網内皮系の活性化を介して硝酸塩の生

合成を増加させることが指摘されている（参照 1）。

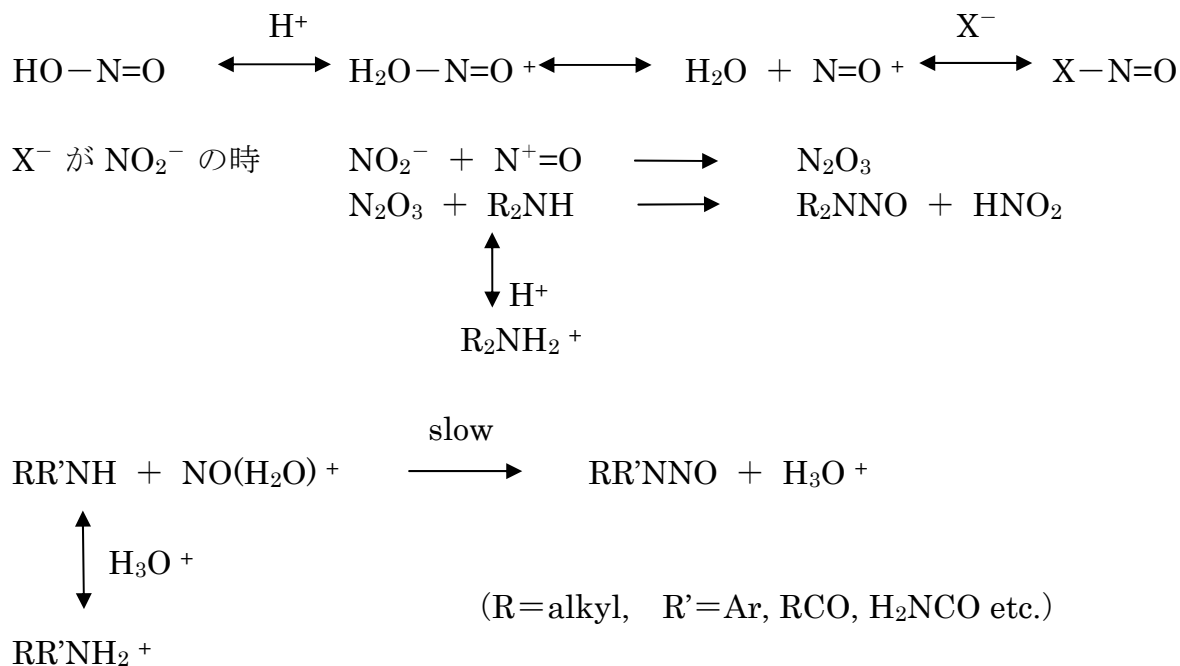


図 1 ニトロソ化経路 (Speijers ら (1989) (参照 21) より)

(2) 実験動物等への影響

① 急性毒性試験

硝酸塩

経口投与による急性毒性に関して、マウス、ラット及びウサギでは、 NaNO_3 としての半数致死量 (LD_{50}) が 1,600~9,000 mg/kg 体重と報告されている。反芻動物は、第一胃における硝酸塩の還元率が高いため硝酸塩の影響に対する感受性が高く、ウシでの NaNO_3 としての LD_{50} は 450 mg/kg 体重である (参照 1)。また、げっ歯類における硝酸イオンの LD_{50} は 1,200~6,600 mg/kg 体重と報告されている (参照 15)。

亜硝酸塩

亜硝酸塩は硝酸塩よりも毒性が強い (参照 1)。経口投与による急性毒性に関して、マウス及びラットで、 NaNO_2 としての LD_{50} は 85~220 mg/kg 体重と報告されている (参照 1、8、21)。また、げっ歯類における亜硝酸イオンの LD_{50} は 57~157 mg/kg 体重との報告がある (参照 15)。

② 亜急性毒性試験

硝酸塩

a. 1 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (雌、各投与群 4~8 匹) に硝酸カリウム (KNO_3 ; 飼料中濃度 0.5、1.0、2.5%) を 1 週間混餌投与 (飼料は細かな粒に挽いたトウモロコシと大豆の

油かす。ヨウ素 (I) 含有量 135 ppm) した後、¹³¹I を静脈注射して甲状腺による取込みを調べたところ、全投与群で用量依存的にヨウ素の取込みが抑制された (参照 36)。

また、著者らはこの試験においてヒツジ (5~6 匹) も対象とし、硝酸カリウム (飼料中濃度 1.5%。飼料はトウモロコシの穂軸 58%、トウモロコシ 24%、大豆の油かす 8%、糖蜜 7%、ミネラル 2%、尿素 1%) を混餌投与し (投与期間不詳)、¹³¹I を静脈注射した 6 日後の血清中の総 ¹³¹I 濃度は対照群 93,170 単位/分/100 mL 血清に対し投与群 59,580 単位/分/100 mL 血清、血清タンパク質と結合した ¹³¹I (PB¹³¹I) 濃度は対照群 83,510 単位/分/100 mL 血清に対し投与群 53,950 単位/分/100 mL 血清であった。血中 MetHb 量は投与による影響が認められなかった。また、血中 NO₃ 平均濃度は対照群 0.80 mg/100 mL に対し投与群 1.93 mg/100 mL であり、Bloomfield らは、ある程度の硝酸塩が第一胃を未変化体で通過し、正常な甲状腺機能を阻害すると考えられるとした (参照 36)。

b. 4 週間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (各投与群 10 匹) における KNO₃ (飼料中濃度 0、3%) の 4 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 1 に示す。

曝露群では甲状腺重量の増加、甲状腺ペルオキシダーゼ活性の低下、血中の総チロキシン (T4) 濃度及びトリヨードチロニン (T3) 濃度の低下、血中の甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度の上昇並びに尿中へのヨウ素排泄量のわずかな増加が認められた (参照 37)。

表 1 ラット 4 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	
KNO ₃	3%	甲状腺重量の増加、甲状腺ペルオキシダーゼ活性の低下、血中総 T4 濃度及び T3 濃度の低下、血中 TSH 濃度の上昇、尿中へのヨウ素排泄量のわずかな増加

c. 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) (j. 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) と一連の試験)

Fischer344 (F344) ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における NaNO₃ (飼料中濃度 0、1.25、2.5、5、10、20% : 0、625、1,250、2,500、5,000、10,000 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 7) ; 0、103、206、412、824、1,650 mg NO₃-N/kg 体重/日) の 6 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 2 に示す。

試験期間中の死亡が、20%投与群のすべての雌及び雄 7 匹で認められた。また、10%投与群の雌及び 20%投与群の雄で、対照群に比べて 10%以上の体重増加抑制が認められた。剖検では、10%、20%投与群の雌雄で MetHb 血症による血液及び脾臓の色の変化が観察された。

Maekawa らは NaNO_3 の最大耐容量を、飼料中濃度 5% としている (参照 38)。

表 2 ラット 6 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO_3	20% (1,650 mg NO_3^- -N/kg 体重/日)	死亡 (7/10)、体重増加抑制 MetHb 血症による血液・脾臓 の色の変化	死亡 (10/10) MetHb 血症による血液・脾臓の 色の変化
	10% (824 mg NO_3^- -N kg 体重/日)	MetHb 血症による血液・脾臓 の色の変化	体重増加抑制 MetHb 血症による血液・脾臓の 色の変化
	5% (412 mg NO_3^- -N /kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし

d. 28~90 日間亜急性毒性試験 (ラット) (k. 28~90 日間亜急性毒性試験 (ラット) と一連の試験)

Wistar ラット (雄、各投与群 5~10 匹) における塩化カリウム 36 mM (3,064 mg/L ; 対照群)、 KNO_3 (36 mM) の 28~90 日間飲水投与試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 3 に示す。90 日間の KNO_3 投与により、MetHb 濃度、副腎ともに投与による影響は認められなかった (参照 39)。

表 3 ラット 28~90 日間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄
KNO_3	36 mM	毒性所見なし

e. 6 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (雄、各投与群 10~12 匹) の咽喉粘膜に 6 か月間、水 (週 2 回) をブラシで投与し、0.1 N の塩酸 (HCl) を週 3 回若しくは週 2 回ブラシで投与し、又は NaNO_3 (400 mg/300 mL : 1,333 mg/L ; 220 mg NO_3^- -N/L) を飲水投与しながら 0.1 N の塩酸を咽喉粘膜に週 3 回 (NaNO_3 -HCl 週 3 投与群) 又は週 2 回 (NaNO_3 -HCl 週 2 投与群) ブラシで投与する試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 4 に示す。

NaNO_3 -HCl 週 3 投与群、 NaNO_3 -HCl 週 2 投与群で咽喉粘膜の炎症性変化 (リンパ球や肥満細胞の出現) は認められたが、上皮の異形成、上皮内腫瘍、浸潤性がん等は認められず、粘膜の潰瘍も観察されなかった。

Del Negro らは、今回の試験結果は胃食道部や咽喉における逆流が咽喉粘膜の発がん因子となるとの仮説とは一致しなかったとしている (参照 40)。

表4 ラット6か月か月亜急性毒性試験

物質	投与群	雌雄
NaNO ₃	1,333 mg/L (220 mg NO ₃ ⁻ -N/L) (NaNO ₃ -HCl 週3投与群)	咽喉粘膜の炎症性変化 (リンパ球や肥満細胞の出現)
	1,333 mg/L (220 mg NO ₃ ⁻ -N/L) (NaNO ₃ -HCl 週2投与群)	咽喉粘膜の炎症性変化 (リンパ球や肥満細胞の出現)

f. 30週間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (雌、各投与群 9~10 匹) における NaNO₃ (0、50、100、250、500 mg/L ; 0、8.24、16.5、41.2、82.4 mg NO₃⁻-N/L) の 30 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 5 に示す。

甲状腺による放射性ヨウ素の取込み量は 50 mg/L 投与群で減少し、250 mg/L 以上投与群で増加した。甲状腺ホルモンのうち、総 T3、遊離 T4 及び TSH の血中濃度が 50、250 及び 500 mg/L 投与群で減少し、遊離 T3 の血中濃度は 250 mg/L 以上投与群で減少した。血中総 T4 濃度は 100 mg/L 投与群で増加した。甲状腺重量は全投与群で用量依存的に増加した。甲状腺の組織変化としては、250 mg/L 以上投与群で、強いうっ血と濾胞過形成を認めた。濾胞上皮の円柱状の肥大、コロイドの消失、濾胞上皮の濾胞内への乳頭状陥入等が認められた (参照 41)。

表5 ラット30週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雌
NaNO ₃	500 mg/L (82.4 mg NO ₃ ⁻ -N/L)	甲状腺重量増加 甲状腺の放射性ヨウ素取込み増加 血中総 T3、遊離 T4、TSH、遊離 T3 濃度減少 甲状腺の組織変化
	250 mg/L (41.2 mg NO ₃ ⁻ -N/L)	甲状腺重量増加 甲状腺の放射性ヨウ素取込み増加 血中総 T3、遊離 T4、TSH、遊離 T3 濃度減少 甲状腺の組織変化
	100 mg/L (16.5 mg NO ₃ ⁻ -N/L)	甲状腺重量増加 血中 T4 濃度増加
	50 mg/L (8.24 mg NO ₃ ⁻ -N/L)	甲状腺重量増加 甲状腺の放射性ヨウ素取込み減少 血中総 T3、遊離 T4、TSH 濃度減少

g. 105~125 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (雌 2 匹、雄 1 匹) における NaNO₃ (飼料中濃度 2% : 500 mg/kg 体重 /日 JECFA 換算 ; 82.4 mg NO₃⁻-N/L) の 105~125 日間混餌投与試験が行わ

れた。投与群の毒性所見を表 6 に示す。

投与による有害影響、血液異常は観察されなかった（参照 42）。

表 6 イヌ 105～125 日間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄
NaNO ₃	500 mg/kg 体重/日 (82.4 mg NO ₃ ⁻ -N/L)	毒性所見なし

h. 5 週間亜急性毒性試験（ブタ）

ブタ（各投与群 9 匹）に KNO₃（飼料中濃度 0、3%）を 5 週間混餌投与し（飼料は小麦 36%、大麦 38%、大豆ミール 20%、ミネラル混合物（P が 35 g、I が 10 mg）2%、ビタミン混合物 1%）、その後 1 週間、飼料に 0.8 mg/kg の I を更に添加して混餌投与する試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 7 に示す。

投与 5 週間後の時点での硝酸塩投与群の血清 T3 濃度は、硝酸塩を含まない餌を自由に摂餌させた対照群に比べて有意に低かった（T4 濃度も低下）。投与群の血清 T3 及び T4 濃度は投与 5 週目から 6 週目の 1 週間に対照群と同程度まで回復した（参照 43）。

なお、WHO（参照 1）は、この試験や上述の Bloomfield ら（参照 36）の試験等で、無機硝酸塩が甲状腺腫誘発物質（goitrogen）である可能性について触れている。

表 7 ブタ 5 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄
KNO ₃	3%	血清 T3、T4 濃度低下（投与 5 週時）

亜硝酸塩

i. 14 週間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F₁ マウス（雌雄、各投与群 10 匹）における NaNO₂（0、375、750、1,500、3,000、5,000 ppm：雄 0、90、190、345、750、990 mg/kg 体重/日；0、18.3、38.6、70.0、152、201 mg NO₂⁻-N /kg 体重/日。雌 0、120、240、445、840、1,230 mg/kg 体重/日；0、24.3、48.7、90.3、170、250 mg NO₂⁻-N /kg 体重/日）の 14 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 8 に示す。

体重減少は 5,000 ppm 投与群の雄で、飲水量の減少は 1,500 ppm 以上投与群の雄で認められた。3,000 ppm 以上投与群では雄で脾臓の相対重量増加が、雌で心臓、腎臓、肝臓及び脾臓の絶対・相対重量増加が認められた。5,000 ppm 投与群の雌雄で前胃の扁平上皮細胞過形成の発生頻度が増加した。脾臓での髓外造血の亢進が 1,500 ppm 以上投与群の雌及び 3,000 ppm 以上投与群の雄で多

く認められた（参照 44）。

表 8 マウス 14 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	5,000 ppm (雄 ; 201 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 250 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	体重減少、 前胃の扁平上皮細胞過形成の発生頻度増加	前胃の扁平上皮細胞過形成の発生頻度増加
	3,000 ppm 以上 (雄 ; 152 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 170 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	脾臓相対重量増加 脾臓での髓外造血亢進	心臓・腎臓・肝臓・脾臓の絶対及び相対重量増加
	1,500 ppm 以上 (雄 ; 70.0 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 90.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	飲水量減少	脾臓での髓外造血亢進
	750 ppm (雄 ; 38.6 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 48.7mg NO ₂ -N/kg 体重/日) 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

j. 6 週間亜急性毒性試験（ラット）（c. 6 週間亜急性毒性試験（ラット）と一連の試験）

F344 ラット（雌雄、各投与群 10 匹）における NaNO₂（水中濃度 0、0.06、0.125、0.25、0.5、1% : 0、60、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 8） ; 0、1.22、25.4、50.7、101、203 mg NO₂-N /kg 体重/日）の 6 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 9 に示す。

試験期間中の死亡が、0.5%投与群の雌雄各 1 匹及び 1%投与群の雌 4 匹で認められた。また、1%投与群の雌雄で体重増加抑制（対照群に比べて 10%以上）が認められた。剖検では、0.5%、1%投与群の雌雄で MetHb 血症による血液及び脾臓の色の変化が観察された。

Maekawa らは NaNO₂ の最大耐容量を飲料水中濃度 0.25%としている（参照 38）。

表9 ラット6週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	1% (203 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	体重増加抑制、MetHb 血症による血液・脾臓の色の変化	死亡 (4/10)、体重増加抑制 MetHb 血症による血液・脾臓の色の変化
	0.5% (101 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	死亡 (1/10)、MetHb 血症による血液・脾臓の色の変化	死亡 (1/10)、MetHb 血症による血液・脾臓の色の変化
	0.25% (50.7 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし

k. 28～90 日間亜急性毒性試験 (ラット) (d. 28～90 日間亜急性毒性試験 (ラット) と一連の試験)

Wistar ラット (雄、各投与群 5～10 匹) における塩化カリウム 36 mM (3,064 mg/L; 対照群)、亜硝酸カリウム (KNO₂) の 28～90 日間飲水投与試験が行われた。KNO₂ については 3.6、12、36 mM (50.4、168、504 mg NO₂⁻-N/L) を 90 日間又は 36 mM を 28、56 日間投与する群の他、36 mM を 90 日間投与後 30 又は 60 日間の回復期間を設ける群を設定した。各投与群で認められた毒性所見を表 10 に示す。

高用量の KNO₂ を 28 及び 56 日間投与した群で血中 Hb 濃度の統計学的に有意な減少が認められたが、90 日間投与群及びその後の回復期間には認められなかった。高用量の KNO₂ 投与群では MetHb 濃度の統計学的に有意な上昇も認められた (28 日間投与) が、投与期間の経過と共に減少した。中用量以上の KNO₂ 投与群で副腎皮質球状帯のわずかな肥大が認められ、高用量投与群では、28 日間投与で、わずかな肥大が認められ、56 日間及び 90 日間投与でもその作用は作用は変わらなかった。90 日間投与後 30 日目までわずかな肥大が依然として認められた (副腎皮質球状帯の表面積はほぼ同じ) が、投与後 60 日目には対照群と有意差が認められなかった。(参照 39)。

表10 ラット28～90日間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄
KNO ₂	36 mM (504 mg NO ₂ ⁻ -N/L)	血中 Hb 濃度減少 (28 日間、56 日間) 血中 MetHb 濃度上昇 (28 日間) 副腎皮質球状帯のわずかな肥大 (28 日間、56 日間、90 日間、90 日間投与後 30 日目)
	12 mM (168 mg NO ₂ ⁻ -N/L)	副腎皮質球状帯のわずかな肥大
	3.6 mM (50.4 mg NO ₂ ⁻ -N/L)	毒性所見なし

l. 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における KNO₂ (0、100、300、1,000、3,000 mg/L; 雄 0、8.9、24.6、77.5、199.2 mg/kg 体重/日; 0、1.47、4.05、

12.8、32.8 mg NO₂-N /kg 体重/日。雌 0、10.9、31.1、114.4、241.7 mg/kg 体重/日；0、1.80、5.12、18.8、39.8 mg NO₂-N /kg 体重/日) の 13 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 11 に示す。

全投与群に用量依存的な副腎皮質球状帯の肥大が観察されたが、有意差が認められたのは雄では 300 mg/L 以上投与群、雌では 1,000 mg/L 以上投与群のみであった。血中 MetHb 濃度の上昇が最高用量投与群の雌雄で有意に (p<0.05) 認められた。一方、血中 Hb 濃度は 1,000 mg/L 投与群の雌雄及び 3,000 mg/L 投与群の雄で有意に減少し、赤血球数は 1,000 mg/L 投与群の雌及び 3,000 mg/L 投与群の雌雄で有意に減少した。また、3,000 mg/L 投与群の雄では腎臓及び脳の、雌では腎臓及び脾臓の相対重量増加が認められた。

Ti1 らは、全投与群で副腎皮質球状帯の変化が認められたとして、無作用量 (NOEL) は算出できないとしている (参照 45)。

WHO は、有意な副腎皮質球状帯の肥大に基づき、この試験における無作用量 (NOEL) を KNO₂ として 100 mg/L (亜硝酸イオンに換算して 5.4 mg/kg 体重/日) としている (参照 8、46)。

表 11 ラット 13 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
KNO ₂	3,000 mg/L (雄；32.8 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；39.8 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	血中 MetHb 濃度上昇、血中 Hb 濃度減少、赤血球数減少 腎臓・脳の相対重量増加	副腎皮質球状帯の肥大 血中 MetHb 濃度上昇、赤血球数減少 腎臓・脾臓の相対重量増加
	1,000 mg/L (雄；12.8 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；18.8 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	血中 Hb 濃度減少	副腎皮質球状帯の肥大 血中 Hb 濃度減少、赤血球数減少
	300 mg/L 以上 (雄；4.05 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；5.12 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	副腎皮質球状帯の肥大	毒性所見なし
	100 mg/L (雄；1.47 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；1.80 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし

m. 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における KNO₂ (0、12.5、25、50、100、3,000 mg/L；0、2.06、4.12、8.24、16.5、494 mg NO₂-N/L；50 mg/L は約 5 mg KNO₂/kg 体重/日 (0.82 mg NO₂-N/kg 体重/日))、又は NaNO₂ (81、2,432 mg/L；16.5、494 mg NO₂-N/L) の 13 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 12 に示す。

雌雄の KNO_2 3,000 mg/L 投与群で血中 MetHb 濃度が有意に ($p < 0.05$) 上昇し、雌では血中 Hb 濃度も有意に ($p < 0.01$) 上昇した。雌の NaNO_2 2,432 mg/L 投与群では血中 MetHb 濃度の上昇、赤血球数減少が有意に ($p < 0.05$) 認められた。また、これらの 3 投与群では腎臓相対重量の有意な増加が観察された。副腎皮質球状帯の肥大は雌雄の KNO_2 3,000 mg/L 投与群及び雄の NaNO_2 2,432 mg/L 投与群で有意に ($p < 0.05$) 発生頻度が上昇し、100 mg/L の KNO_2 投与群の雌雄及び 2,432 mg/L の NaNO_2 投与群雌で有意差はないが増加傾向が観察された。

Kuper らは、副腎皮質球状帯の肥大が 100 mg/L の KNO_2 投与群から認められていることに基づき、 KNO_2 の NOAEL を 50 mg/L (約 5 mg KNO_2 /kg 体重/日 (0.82 mg NO_2^- -N/kg/体重/日)) としている (参照 47)。

表 12 ラット 13 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
KNO_2	3,000 mg/L (494 mg NO_2^- -N/L)	副腎皮質球状帯の肥大 (有意差あり) 血中 MetHb 濃度上昇 腎臓の相対重量増加	副腎皮質球状帯の肥大 (有意差あり) 血中 MetHb 濃度上昇、血中 Hb 濃度上昇 腎臓の相対重量増加
	100 mg/L (16.5 mg NO_2^- -N/L) (約 1.64 mg NO_2^- -N/kg 体重/日)	副腎皮質球状帯の肥大の増加傾向 (有意差なし)	副腎皮質球状帯の肥大の増加傾向 (有意差なし)
	50 mg/L 以下 (8.24 mg NO_2^- -N/L) (約 5 mg KNO_2 /kg 体重/日: 約 0.82 mg NO_2^- -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし
NaNO_2	2,432 mg/L (494 mg NO_2^- -N/L)	副腎皮質球状帯の肥大の増加傾向 (有意差あり)	血中 MetHb 濃度上昇、赤血球数減少 腎臓の相対重量増加 副腎皮質球状帯の肥大の増加傾向 (有意差なし)
	81 mg/L (16.5 mg NO_2^- -N/L)	毒性所見なし	毒性所見なし

n. 14 週間亜急性毒性試験 (ラット)

F344/N ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における NaNO_2 (0、375、750、1,500、3,000、5,000 ppm : 雄 0、30、55、115、200、310 mg/kg 体重/日 ; 0、6.09、11.2、23.3、40.6、62.9 mg NO_2^- -N/kg 体重/日、雌 0、40、80、130、225、345 mg/kg 体重/日 ; 0、8.12、16.2、26.4、45.7、70.0 mg NO_2^- -N/kg 体重/日) の 14 週間飲水投与試験が行われた。また、別のラット (雌雄、各投与群 15 匹) における同じ用量設定での NaNO_2 の 70 又は 71 日間飲水投与試験が行われ、臨床病理学検査が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 13 に示す。

14週間 3,000 ppm 以上投与群の雄及び 5,000 ppm 投与群の雌で体重減少が認められた。5,000 ppm 投与群の雄及び 3,000 ppm 以上投与群の雌で飲水量の減少が認められた。3,000 ppm 以上投与群の雌雄で網状赤血球数が増加し、前駆体を含む赤血球系の数は 5,000 ppm 投与群の雌雄で 19 日目に減少し、14週に増加した。MetHb 濃度は 14 週間継続して全投与群で増加していたが、5%以上の MetHb が認められたのは 5,000 ppm 投与群の雄及び 3,000 ppm 以上投与群の雌であった。3,000 ppm 以上投与群の雌雄で腎臓、脾臓の相対重量増加が認められた。骨髄における造血機能が投与群で亢進した。5,000 ppm 投与群の雌雄で前胃の扁平上皮細胞過形成の発生頻度が増加した。臨床所見としては眼の変色（茶色）、口・舌・耳・肢のチアノーゼが 3,000 ppm 以上投与群の雄及び 1,500 ppm 以上投与群の雌で認められた（参照 44）。

JECFA は、3%未満の MetHb 生成は有害とは考えられないとして NOEL 選定のエンドポイントに用いていない（参照 10）。

表 13 ラット 14 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	5,000 ppm (雄 ; 62.9 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日、 雌 ; 70.0 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	飲水量減少、MetHb 増加 (5% 以上)、前胃の扁平上皮細胞過 形成の頻度増加	体重減少、前胃の扁平上皮細 胞過形成の頻度増加
	3,000 ppm 以上 (雄 ; 40.6 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日、 雌 ; 45.7 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	体重減少、網状赤血球数増加、 腎臓・脾臓の相対重量増加、眼 の変色、チアノーゼ	飲水量減少、網状赤血球数増 加、MetHb 増加 (5%以上)、 腎臓・脾臓の相対重量増加
	1,500 ppm 以上 (雄 ; 23.3 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日、 雌 ; 26.4 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	—	眼の変色、チアノーゼ
	375 ppm 以上 (雄 ; 6.09 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日、 雌 ; 8.12 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	MetHb 増加、骨髄における造 血機能亢進	MetHb 増加、骨髄における 造血機能亢進

③ 慢性毒性試験及び発がん性試験

硝酸塩

a. 18 か月間慢性毒性試験（マウス）

NMRI マウス（雌、各投与群 100 匹）における硝酸塩（0（対照群；飲料水中硝酸濃度 3 mg/L、飼料中の総 N 量 3.55%）、100、1,000 mg/L : 0、30、300 mg/kg 体重/日 ; 0、1.07、10.7 mg NO₃⁻-N /kg 体重/日）の 18 か月間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 14 に示す。

体重、肝機能（血清 ALT（アラニンアミノトランスフェラーゼ）、総タンパク質濃度）、腎機能（血清クレアチニン、尿素）、血中のコレステロール、トリアシルグリセロール濃度、血清アンモニウム濃度、赤血球数、Hb 値、N-グリコシル-ノイラミン酸濃度（腫瘍マーカーとして）等を調べたところ、高用量投与群では体重減少、早期の死亡が認められたが、それ以外の影響は認められなかった（参照 48）。

表 14 マウス 18 か月間慢性毒性試験

物質	投与群	雌
硝酸塩	1,000 mg/L (10.7 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	体重減少、早期の死亡
	100 mg/L (1.07 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし

b. 2 年間慢性毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、雌雄、各投与群 20 匹）における NaNO₃（飼料中濃度 0、0.1、1、5、10%：1%は NaNO₃として 500 mg NaNO₃/kg 体重/日；硝酸イオンとして 370 mg NO₃⁻/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 7）；82.4 mg NO₃⁻-N/kg 体重/日）の 2 年間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 15 に示す。

全体的な病理組織学的検査を実施したが、異常所見やがんの増加は認められず、1%以上投与群で軽度の成長抑制のみが認められた。5%以下の投与群では形態変化は認められなかった（参照 42）。

Speijers ら（参照 21）及び JECFA（参照 7）は、5%以上投与群で軽度の成長抑制が認められたとして、この試験における NOEL を 1%（NaNO₃として 500 mg NaNO₃/kg 体重/日、硝酸イオンとして 370 mg NO₃⁻/kg 体重/日）としている。

表 15 ラット 2 年間慢性毒性試験

物質	投与群	雌
NaNO ₃	5%以上	軽度の成長抑制 (Speijers ら、JECFA)
	1%以上 (82.4 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	軽度の成長抑制 (Lehman)
	0.1%	毒性所見なし

c. 2 年間発がん性試験（ラット）（g. 2 年間発がん性試験（ラット）と一連の試験）

F344 ラット（雌雄、各投与群 50 匹、8 週齢）における NaNO₃（飼料中濃度 0、2.5、5%：0、1,250、2,500 mg/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 7）；0、206、412 mg NO₃⁻-N /kg 体重/日）の 2 年間混餌投与試験が行われた。各投与群で認

められた毒性所見を表 16 に示す。

雌雄の高用量投与群の体重が対照群に比べて最大で 10% 近く減少した。累積死亡率は対照群で最も高かった。NaNO₃ の投与による発がん頻度増加は認められなかった。各臓器において最初に発がんするまでの期間にも、投与群と対照群で有意差は認められなかった（参照 38）。

表 16 ラット 2 年間発がん性試験

物質	投与群	雌雄
NaNO ₃	5 % (412 mg NO ₃ -N/kg 体重/日)	体重減少
	2.5% (206 mg NO ₃ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし

亜硝酸塩

d. 18 か月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（雌雄、対照群 20 匹、それ以外の各投与群 50 匹、8 週齢）における NaNO₂ (0, 0.125, 0.25, 0.5% ; 0, 1,000, 2,500, 5,000 mg/L : 0, 200, 500, 1,000 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 8) ; 0, 40.6, 101, 203 mg NO₂-N /kg 体重/日) の 18 か月間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 17 に示す。

投与群において様々な腫瘍（胸腺リンパ腫、非胸腺性のリンパ性白血病、肺の腺腫及び癌、結合組織の良性及び悪性腫瘍等）が観察されたが、腫瘍の発生頻度、腫瘍が発生するまでの時間に対照群と有意な差は認められなかった（参照 49）。

表 17 マウス 18 か月間発がん性試験

物質	投与群	雌雄
NaNO ₂	1,000 mg/kg 体重/日以下 全投与群 (203 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし

e. 2 年間慢性毒性試験（マウス）

B6C3F₁ マウス（雌雄、各投与群 50 匹）における NaNO₂ (0, 750, 1,500, 3,000 ppm : 雄 0, 60, 120, 220 mg/kg 体重/日 ; 0, 12.2, 24.3, 44.6 mg NO₂-N /kg 体重/日。雌 0, 45, 90, 165 mg/kg 体重/日 0, 9.13, 18.3, 33.5 mg NO₂-N /kg 体重/日) の 2 年間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 18 に示す。

3,000 ppm 投与群の雌で体重減少が認められた。投与群の飲水量は対照群に比べて一般的に少なかった。投与群の雌において前胃の扁平上皮細胞の乳頭腫及び癌を合わせた発生頻度は、有意差はないものの、増加傾向が認められた（対

照群 1/50、投与群は用量順に各 0/50、1/50、5/50)。3,000 ppm 投与群の雄では腺胃上皮過形成の発生頻度 (10/50) が対照群 (0/50) に比べて有意に高かった ($p < 0.01$) (参照 44)。

表 18 マウス 2 年間慢性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	3,000 ppm (雌雄 ; 33.5 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	腺胃上皮過形成の増加	体重減少
	1,500 ppm (雌雄 ; 18.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見なし	毒性所見なし

f. 2 年間慢性毒性試験 (ラット)

F344/N ラット (雌雄、各投与群 50 匹) における NaNO₂ (0、750、1,500、3,000 ppm : 雄 0、35、70、130 mg/kg 体重/日 ; 0、7.10、14.2、26.4 mg NO₂-N /kg 体重/日。雌 0、40、80、150 mg/kg 体重/日 ; 0、8.12、16.2、30.4 mg NO₂-N /kg 体重/日) の 2 年間飲水投与試験が行われた。また、別の F344/N ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における同じ用量設定での 12 か月間飲水投与試験が行われ、血中 MetHb の動態等が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 19 に示す。

2 年間 3,000 ppm 投与群の雌雄において、試験期間を通して体重減少及び飲水量の減少が認められ、前胃上皮過形成の発生頻度が有意に増加した ($p < 0.01$)。

1,500 ppm 投与群の雌で乳腺の線維腺腫の発生頻度が有意に増加したが、より高用量の 3,000 ppm 投与群で増加が認められていないこと、腺腫と癌腫の発生頻度増加が並行して認められないこと及びバックグラウンドの発生頻度が高いことから、NaNO₂ 投与に関連したものとは考えられなかった。

1,500 ppm 以上投与群の雌雄では単核球性白血病を発症する頻度が有意に ($p < 0.05$) 低かった。

なお、血中 MetHb 濃度については、NaNO₂ を投与して 2 週目、3 か月目に、1,500 ppm 以上投与群の雌雄で有意な上昇 ($p < 0.05$) が認められた (参照 44)。

表 19 ラット 2 年間慢性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	3,000 ppm (雄 ; 26.4 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 30.4 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	前胃上皮過形成の発生頻 度増加	前胃上皮過形成の発生頻度増 加
	1,500 ppm 以上 (雄 ; 14.2 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 16.2 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	血中 MetHb 濃度上昇	血中 MetHb 濃度上昇
	750 ppm (雄 ; 7.10 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌 ; 8.12 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし

この試験により、Mirvish らによって行われた Wistar ラット（各投与群 45 匹）における NaNO₂（0、3,000 ppm : 全投与量 63 g/kg 体重）の 1 年間飲水投与試験（参照 50）で認められた前胃乳頭腫の発生頻度の上昇が、2 年間の投与によっても再現されず、腫瘍まで進展せずに前胃粘膜上の過形成で止まることが確認された。なお、前胃はヒトに対応する臓器がないため、これらの試験結果は外挿性に乏しい変化であると判断される。

g. 2 年間発がん性試験（ラット）（c. 2 年間発がん性試験（ラット）と一連の試験）

F344 ラット（雌雄、各投与群 50 匹、8 週齢）における NaNO₂（水中濃度 0、0.125、0.25% : 0、125、250 mg/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 8） ; 0、25.4、50.7 mg NO₂-N/kg 体重/日）の 2 年間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 20 に示す。

雌雄の高用量投与群の体重が対照群に比べて最大で 10% 近く減少した。累積死亡率は対照群で最も高かった。NaNO₂ の投与による発がん頻度増加は認められず、雌の高用量投与群の発がん頻度は対照群に比べて低かった（ $p < 0.05$ ）。各臓器において最初に発がんするまでの期間にも、投与群と対照群で有意差は認められなかった。なお、F344 ラットは系統的に単核球性白血病を発症しやすく対照群雌雄ラットの 27~36% に認められたが、雌の低用量投与群を除く全投与群の発生頻度は対照群に比べて低かった（ $p < 0.05$ ）（参照 38）。

表 20 ラット 2 年間発がん性試験

物質	投与群	雌雄
NaNO ₂	0.25 % (50.7 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	体重減少
	0.125 % (25.4 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし

h. 2 年間発がん性試験 (ラット)

F344 ラット (雌雄、各投与群 24 匹、7~8 週齢) における NaNO₂ (飼料中濃度 0、2,000 ppm : 0、100 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 8) ; 0、20.3 mg NO₂-N/kg 体重/日) の 2 年間混餌投与試験又は NaNO₂ (水中濃度 0、2,000 ppm : 0、200 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 8) ; 0、40.6 mg NO₂-N/kg 体重/日) の 2 年間 (週 5 回、100 mL/週) 飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 21 に示す。

NaNO₂ を混餌投与された雌ラットで肝臓の悪性新生物 (癌及び腫瘍性結節) の発生頻度が対照群に比べて有意に高かったが、雄では有意差は認められなかった。飲水投与された雌ラットにおいても、有意差はないものの肝臓の悪性新生物の発生頻度は上昇していた。混餌投与群の雌雄ラット及び飲水投与群の雌ラットにおいて、単核球性白血病の発生頻度が対照群に比べて有意に低かった (参照 51)。この試験においては、体重、摂餌・摂水量等のデータが記載されていない。

表 21 ラット 2 年間発がん性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	混餌投与 2,000 ppm (20.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	肝臓の悪性新生物 (癌及び腫瘍性結節) の発生頻度上昇
	飲水投与 2,000 ppm (40.6 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	統計学的に有意な毒性所見なし

この試験の追試として行われた F344 ラット (雌雄、各投与群 20~24 匹) における NaNO₂ (飼料中濃度 0、2,000 ppm) の 2 年間混餌投与試験 (参照 52) では、雌において肝細胞腺腫と癌のそれぞれの発生頻度上昇が認められたが、上記の試験と同様に、体重、摂餌・摂水量等のデータがなく、一用量のみの試験である。

i. 2 年間慢性毒性試験 (ラット)

ラット (雄、各投与群 8 匹、3 か月齢) における NaNO₂ (0、100、1,000、2,000、3,000 mg/L : 3,000 mg/L は約 250~350 mg/kg/日 ; 100 mg/L は 10 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 8) ; 0、2.03、20.3、40.6、60.9 mg NO₂-N/kg

体重/日) の 24 か月間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 22 に示す。

死亡率、成長、総 Hb 濃度などへの影響は認められなかったが、血中 MetHb 濃度が 1,000 mg/L 以上投与群で有意に増加した(1,000 mg/L 投与群から順に、総 Hb 量の 5%、12%、22%)。病理組織学的な変化は主に肺及び心臓で認められ、1,000 mg/L 以上投与群の肺では肺気腫とリンパ球浸潤を伴う気管支の拡張が重度かつ高頻度に観察された。心臓については、1,000 mg/L 以上の投与群で細胞浸潤を伴う小線維化巣が一部の動物に認められた。最高用量投与群では強い心筋変性を伴う間質へのびまん性細胞浸潤の増加が高頻度に認められ、この群の投与が長期に及ぶとラットの冠動脈は薄くなり拡張していた。しかしこれらの病理学的変化に関しては、有効匹数や発生頻度は示されていない(参照 18)。

JECFA (参照 8) では、この試験の NOEL を 100 mg/L (NaNO₂として 10 mg/kg 体重/日、亜硝酸イオンとして 6.7 mg/kg 体重/日相当) としている。

表 22 ラット 2 年間慢性毒性試験

物質	投与群	雄
NaNO ₂	3,000 mg/L (60.9 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	心臓における強い心筋変性を伴う間質へのびまん性細胞浸潤の増加、冠動脈が薄くなり拡張
	1,000 mg/L 以上 (20.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	MetHb 濃度増加 肺気腫とリンパ球浸潤を伴う気管支の拡張
	100 mg/L (2.03 mg NO ₂ -N/kg 体重/日) (6.7 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし

j. 二世世代混餌投与試験 (ラット) (⑤生殖・発生毒性試験 i. と同一試験)

Sprague-Dawley (SD) ラット (雌雄) における NaNO₂ (飼料中濃度平均 246~263 ppm : 12 mg/kg 体重/日 (飼料中濃度 240 ppm に対し) JECFA 換算 (参照 8) ; 2.43 mg NO₂-N/kg 体重/日) の二世世代 (F₂ が 125 週齢になるまで) にわたる混餌投与試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 23 に示す。

児動物の数、出生後死亡率及び寿命への影響は認められなかった。F₁ 及び F₂ 世代の肝細胞癌、神経系、結合組織、腺上皮等の腫瘍の発生頻度には NaNO₂ 投与群と対照群で差が認められなかったが、リンパ網内系の腫瘍の発生頻度が投与群で高かった (投与群 27%、対照群 6%) (参照 53)。

表 23 ラット二世世代生殖発生毒性試験

物質	投与群	F ₀	F ₁ 及び F ₂
NaNO ₂	246~263 ppm (240 ppm に対し 2.43 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	リンパ網内系の腫瘍の発生頻度上昇

ただし、ラットにおける NaNO_2 (飼料中濃度 0、250、1,000、2,000 ppm) の混餌投与試験 (参照 54) で観察された亜硝酸塩によるリンパ腫増加所見は、後の FDA のワーキンググループによる病理組織診断の再調査により、髄外造血巣、形質細胞集簇巣又は組織球肉腫という別の診断名に変更されるべきものであることが判明し再集計した結果、有意差のある腫瘍性病変の発生は認められていない (参照 12)。

〔亜硝酸塩の発がん性について〕

亜硝酸による発がん性に関しては、経口投与で見出される発がん性の場合、摂取した亜硝酸と胃内の低 pH 条件下で餌中のアミン類との反応で生成される N-ニトロソ化合物による発がん影響の可能性とともに、亜硝酸入りの餌の調製ないし保存過程 (参照 55) で生じる N-ニトロソ化合物による発がん影響を反映した結果であることが指摘されており、特に混餌投与の場合、摂取した亜硝酸の影響を反映できていない試験成績を示している可能性が高い。

上記試験のうち、混餌投与 (h. 2 年間発がん性試験 (ラット)) で肝発がん性が、飲水投与 (f. 2 年間慢性毒性試験 (ラット)) において前胃の腫瘍がそれぞれ認められている。混餌投与で認められた肝発がん性については、雌だけに反応性が認められた理由が不明なこと、ラットに肝発がんプロモーション作用が認められていないこと (下記【参考】参照)、他のグループの同等の試験で同様の結果が再現されないこと、一用量のみの試験であることから、評価の対象とすることは困難と判断した。また、飲水投与で認められた前胃の腫瘍についても、良性腫瘍止まりであること及びラットの前胃に該当する臓器がヒトにないため外挿性に乏しい変化と判断されることから、今回の評価の対象とはしなかった。

また、IARC は、多くの試験で亜硝酸の発がん性が陰性結果である理由として、亜急性毒性試験の多くで認められた高用量域での反応性に比較して設定用量が低いことや亜硝酸の不安定性などを挙げており (参照 12)、亜硝酸塩の発がん性を定量的に評価するには、更なる知見の収集が必要である。

〔参考〕発がん修飾作用、複合曝露による影響

亜硝酸塩の発がんプロモーション作用について、Kuroiwa ら (参照 56) は N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) でイニシエートした後、 NaNO_2 を 32 週間飲水投与した F344 ラット (雄) で前胃の上皮過形成や腫瘍性病変の増加は認められないことを報告し、Okazaki ら (参照 57) は同様の飲水投与により前胃の上皮過形成のみ有意に増加したと報告している。また、逆流性食道炎モデル F344 ラット (雄) を Kuroiwa ら (参照 56) と同様に NaNO_2 に飲水曝露させた結果、食道の過形成の増加は認められなかった (参照 58)。なお、これらの試験において NaNO_2 を他の影響物質と複合曝露した結果、緑茶カテキンとの複合曝露では前胃の腫瘍性病変の発生頻度及び数の有意な増加が (参照 56)、アスコルビン酸との複合曝露では前胃の過形成及び癌、腺胃の

組織変化（参照 57）並びに食道の過形成も増加がみられた（参照 58）。

Kitamura らは、ジエチルニトロソアミン及び 1,2-ジメチルヒドラジンを用いてイニシエートした後、 NaNO_2 を 27 週間飲水投与した F344 ラット（雄）では肝臓、結腸の癌の発生頻度は増加しなかったが、 NaNO_2 の飲水投与を発がん物質であるヘテロサイクリックアミンの一種である 2-amino-3-methylimidazo[4, 5-f] quinoline (IQ) との混餌投与と併用した場合、IQ 単独投与に比べて、肝臓癌、結腸腺腫及び Zymbal 腺癌の発生頻度の増加が認められ、 NaNO_2 は IQ による結腸や Zymbal 腺の発がんを促進することが示唆されたと報告している（参照 59）。更に、Kitamura らは、SD ラット（雌、各投与群 10～20 匹）に別のヘテロサイクリックアミン（2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine ; PhIP）を強制経口投与しながら NaNO_2 を飲水投与した場合に、PhIP 単独投与に比べて最初に乳腺腫瘍が認められる時期が遅くなり、乳腺腫瘍の発生頻度、数及び体積の減少傾向が認められ、 NaNO_2 は PhIP によるラット乳腺腫瘍の発がん促進作用はないことが示唆されたという報告もしている（参照 60）。

F344 ラット（雄）に NaNO_2 を 12 週間飲水投与した後、ブチルヒドロキシアニソールを用いてプロモーション作用を検討した試験で前胃の組織変化は観察されず、アスコルビン酸の混餌投与を併用した場合も腫瘍性の組織変化は認められなかったことから、*in vitro* では NaNO_2 とアスコルビン酸の複合曝露により酸化的 DNA 損傷に因る遺伝毒性が認められたものの、イニシエーション作用は認められなかったと報告されている（参照 61）。

複合曝露によるその他の影響については、カテコール（混餌投与）及び NaNO_2 （飲水投与）に 2 週間複合曝露した F344 ラット（雄）において、各物質の単独投与では認められない前胃上皮過形成や粘膜の浮腫、線維化等が認められ、8-ヒドロキシデオキシグアノシンの増加及び免疫組織学検査におけるニトロチロシン陽性の上皮細胞が観察されたことから、酸化ストレスが生じていることが報告されている（参照 62）。

④ 神経毒性試験

亜硝酸塩

a. 2 か月間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、雄、3 か月齢）の大脳皮質に電極を埋め込み、 NaNO_2 （0、100、300、2,000 mg/L : 0、10、30、200 mg/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 8） ; 0、2.03、6.09、40.6 mg $\text{NO}_2\text{-N}$ /kg 体重/日）を 2 か月間飲水投与し、投与前、投与中、及び投与終了 4 か半月後に脳波検査を実施した。各投与群で認められた毒性所見を表 24 に示す。

2,000 mg/L 投与群で脳波の増加が認められた。また全投与群で、脳波に突発的な突出が観察された（参照 18）。

表 24 ラット 2 か月間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄
NaNO ₂	2,000 mg/L (40.6 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	脳波の増加
	100 mg/L (2.03mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日) 以上	脳波に突発的な突出

⑤ 生殖・発生毒性試験

硝酸塩

a. 発生毒性試験（ラット）

Wistar ラット（雌、各投与群 8～12 匹）における NaNO₃（0、17.5、50、150、450、900 mg/L ; 0、2.88、8.24、24.7、74.1、148 mg NO₃⁻-N/L）の妊娠 7～21 日の飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 25 に示す。

全投与群で、着床後胚損失率、胎児の体重及び肛門生殖器間距離並びに雄胎児（妊娠 21 日）の血中テストステロン濃度並びに精巣のテストステロン及びプロゲステロン濃度に対する影響は認められなかった。なお、*in vitro* でのラット下垂体細胞、ヒトの副腎皮質癌細胞への NaNO₃ 曝露においても、抗アンドロゲン作用は観察されなかった（参照 63）。

表 25 ラット発生毒性試験

物質	投与群	母動物	児動物
NaNO ₃	900 mg/kg 体重/日 (148 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見なし	毒性所見なし

b. 143～204 日間亜急性毒性試験（モルモット）（j. 100～240 日間亜急性毒性試験（モルモット）と一連の試験）

モルモット（雌、各投与群 3～6 匹）における KNO₃（0、300、2,500、10,000、30,000 mg/L : 0、12、102、507、1,130 mg NO₃⁻-N/kg 体重/日）の 143～204 日間飲水投与試験が行われた。なお、この試験では雄のモルモット（各群 1 匹）を雌と同じケージで飼育した（雌と同様に飲水曝露されたと推測される）。各投与群で認められた毒性所見を表 26 に示す。

いずれの投与群でも体重増加、餌及び水の摂取への影響並びに生殖器の肉眼・顕微鏡的变化は認められなかった。30,000 mg/L 投与群では出生児数の減少（対照群 31、投与群 2）及び胎児死亡率の増加（対照群 3%、投与群 67%）が認められ、相対的な生殖パフォーマンスが低下した（対照群を 100%として 8%）。

また、Sleight らは、いずれの投与でも全群で妊娠が認められたことから、

KNO₃により雄の受精能力は阻害されないと推測した（参照 64）。

WHO は、この試験における KNO₃ の NOEL を 10,000 mg/L（507 mg NO₃⁻-N/kg 体重/日）と記載している（参照 1）。

表 26 モルモット 143～204 日間亜急性毒性試験

物質	投与群	母動物	児動物
KNO ₃	30,000 mg/L (1,130 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	出生児数減少、胎児死亡率増加
	10,000 mg/L 以下 (507 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見なし	毒性所見なし

c. 22 週間亜急性毒性試験（ウサギ）

ウサギにおける硝酸塩（0、250、500 mg/L）の 22 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見表 27 に示す。

生殖指標（受胎率、同腹児数、出生時又は離乳時の体重）、血漿レチノールやプロゲステロン濃度及び Hb 濃度について調べたところ、投与群の児動物（飲水中の硝酸塩に 5 週間曝露）に肝臓のレチノール濃度低下が認められた。Hb 値については、高用量投与群の母動物においてわずかな減少が認められた。生殖指標への有害影響は認められなかった（参照 7、65）。

表 27 ウサギ 22 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	母動物	児動物
硝酸塩	500 mg/L	毒性所見なし	肝臓のレチノール濃度低下
	250 mg/L	毒性所見なし	肝臓のレチノール濃度低下

d. 生殖・発生毒性試験（ヒツジ）

交配種のヒツジ（雌、各投与群 6～7 匹、1 歳）に様々な濃度の硝酸イオンを含む様々な飼料を妊娠 21～49 日から出産まで混餌投与する試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 28 に示す。

NaNO₃ を添加した干し草（硝酸イオン 3.4%含有）投与群と、添加していない干し草（硝酸イオン 0.03%含有）投与群とで、血中 Hb 濃度及び Ht 値に差異は認められなかったが、MetHb 濃度が硝酸イオン添加飼料摂餌群で高かった（p<0.01）。出生時体重に有意差は認められず、流産は硝酸イオン添加群 3 匹、非添加群 2 匹で認められた。妊娠期間は硝酸イオン添加飼料摂餌群の母動物で短かった（p<0.05）が、正常範囲内の変化であった（参照 66）。

なお、Speijers ら（参照 21）及び JECFA（参照 7）では、本試験及び別のウシを用いた混餌投与試験について、重度の MetHb 血症を引き起こす用量にお

いても流産等の妊娠への影響は認められなかったとしている。

表 28 ヒツジ生殖発生毒性試験

物質	投与群	母動物	児動物
NaNO ₃	硝酸イオン 3.4%含有	MetHb 濃度上昇	毒性所見なし

亜硝酸塩

e. 14 週間亜急性毒性試験（マウス）（②i. 14 週間亜急性毒性試験（マウス）と同一試験）

B6C3F₁ マウス（雌雄、各投与群 10 匹）における NaNO₂（0、375、750、1,500、3,000、5,000 ppm：雄 0、90、190、345、750、990 mg/kg 体重/日；0、18.3、38.6、70.0、152、201 mg NO₂-N /kg 体重/日。雌 0、120、240、445、840、1,230 mg/kg 体重/日；0、24.3、48.7、90.3、170、250 mg NO₂-N /kg 体重/日）の 14 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 29 に示す。

雄の 3,000 ppm 以上投与群で有意な精巣変性（ $p \leq 0.05$ ）が認められた。雄の 5,000 ppm 投与群で精子の運動性の有意な減少（ $p \leq 0.01$ ）が認められた。雌の 1,500 及び 5,000 ppm 投与群において性周期の有意な延長（各 $p \leq 0.05$ 、 $p \leq 0.01$ ）が認められた（参照 44）。

表 29 マウス 14 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	5,000 ppm (雄；201 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；250 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	精巣変性、精子の運動 性減少	性周期延長
	3,000 ppm (雄；152 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；170 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	精巣変性	毒性所見なし
	1,500 ppm (雄；70.0 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；90.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	性周期延長
	750 ppm (雄；38.6mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌；48.7 mg NO ₂ -N/kg 体重/日) 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

f. 二世世代生殖発生毒性試験（マウス）

Swiss CD-1 マウスに NaNO₂（0、0.06、0.12、0.24%：0、約 125、260、425 mg/kg 体重/日；0、25.4、52.8、86.2 mg NO₂-N /kg 体重/日）を飲水投与する二世世代試験が、継続的繁殖による生殖的評価（RACB）プロトコールに基づき実施された。なお、F₁ 世代の交配試験は 0.24% 投与群及びその対照群につ

いてのみ実施した。各投与群で認められた毒性所見を表 30 に示す。

0.24%投与群の F₀ では飲水量が減少した (p<0.05) が、体重の変化は認められなかった。NaNO₂ 投与による F₀ の生殖 (同腹児数、児動物の体重、妊娠期間) への影響は観察されなかった。0.24%投与群の F₁ (7~21 日齢) の体重が減少した (p<0.05) が、死亡率や成熟した際の体重に変化は認められなかった。

0.24%投与群の F₁ では、飲水量が減少した (p<0.05) が、試験終了時の体重及び各臓器重量に対照群との差は認められなかった。NaNO₂ 投与による F₁ の交配、妊娠及び出産に対する影響は認められず、F₂ の出生数、体重、生存率に対する影響も認められなかった。また、F₁ の性周期のパターン及び長さ、精子の濃度、運動性並びに生存率に対する影響も認められなかった。Chapin らはこの試験の生殖毒性の NOAEL を 0.24% (425 mg/kg 体重/日 ; 86.2 mg NO₂-N /kg 体重/日) とした (参照 67)。

また、JECFA (参照 10) はこの試験の生殖毒性の NOEL を 420 mg/kg 体重/日 (86.2 mg NO₂-N/kg 体重/日) としている。

表 30 マウス二世代生殖発生毒性試験

物質	投与群	F ₀	F ₁	F ₂
NaNO ₂	0.24% (86.2 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	飲水量減少	7~21 日齢の体重減少、 飲水量減少	毒性所見なし
	0.12% (52.8 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見 なし	毒性所見なし	毒性所見なし

g. 14 週間亜急性毒性試験 (ラット) (②n. 14 週間亜急性毒性試験 (ラット) と同一試験)

F344/N ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における NaNO₂ (0、375、750、1,500、3,000、5,000 ppm : 雄 0、30、55、115、200、310 mg/kg 体重/日 ; 0、6.09、11.2、23.3、40.6、62.9 mg NO₂-N/kg 体重/日。雌 0、40、80、130、225、345 mg/kg 体重/日 ; 0、8.12、16.2、26.4、45.7、70.0 mg NO₂-N/kg 体重/日) の 14 週間飲水投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 31 に示す。

精子の運動性が雄の 1,500 及び 5,000 ppm 投与群で減少した (参照 44)。

JECFA (参照 10) は、この試験の NOEL を NaNO₂ として 55 mg/kg 体重/日 (750 ppm ; 11.2 mg NO₂-N/kg 体重/日) としている。

表 31 ラット 14 週間亜急性毒性試験

物質	投与群	雄	雌
NaNO ₂	5,000 ppm (雄; 62.9 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌; 70.0 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	精子の運動性減少	毒性所見なし
	3,000 ppm (雄; 40.6 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌; 45.7 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	毒性所見なし
	1,500 ppm (雄; 23.3 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌; 26.4 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	精子の運動性減少	毒性所見なし
	750 ppm (雄; 11.2 mg NO ₂ -N/kg 体重/日、 雌; 16.2 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見なし	毒性所見なし

h. 発生毒性試験 (ラット)

妊娠ラット (系統不明、雌、各投与群 12 匹) における NaNO₂ (2,000、3,000 mg/L:200、300 mg/kg 体重/日 JECFA 換算 (参照 8); 40.6、62.9 mg NO₂-N/kg 体重/日) の授乳 21 日までの飲水投与試験が行われた (投与開始時期は不明)。対照群として、妊娠ラット (雌、7 匹) に NaNO₂ を含まない水を飲水投与した群、非妊娠ラットに同じ用量設定で NaNO₂ を飲水投与した群の 2 群を用いた。各投与群で認められた毒性所見を表 32 に示す。

2,000 mg/L の NaNO₂ を投与された妊娠ラットの Hb 濃度の減少が認められ、貧血が認められた。妊娠ラットは同用量の NaNO₂ を投与された非妊娠ラットに比べて MetHb 濃度が高く、感受性が高いことが示唆された。児動物については、死亡率が対照群 (6%) に比べて投与群で高かった (2,000 mg/L 投与群 30%、3,000 mg/L 投与群 53%)。出生時体重は各群で同程度であったが、投与群では成長が遅延し、21 日齢の体重は対照群 51.5 g に対し 2,000 mg/L 投与群で 29.5 g、3,000 mg/L 投与群で 18.5 g であった。その後、この成長の遅れは改善し、62 日齢の平均体重は対照群 213 g、投与群では各 181 g、172 g であった。投与群の児動物の MetHb 濃度異常は認められなかったが、平均 Hb 値は低く、通常の 20% 未満であった。(参照 18)。

表 32 ラット発生毒性試験

物質	投与群	親動物（雌）	児動物
NaNO ₂	3,000 mg/L (62.9 mg NO ₂ ⁻ -N /kg 体重/日)	—	死亡率増加、 21 日齢での成長遅延、 Hb 濃度減少
	2,000 mg/L (40.6 mg NO ₂ ⁻ -N /kg 体重/日)	貧血 (Hb 濃度 減少)	死亡率増加、 21 日齢での成長遅延、 Hb 濃度減少

i. 二世世代生殖・発生毒性試験（ラット）（③慢性毒性試験及び発がん性試験
j. と同じ試験）

SD ラット（雌雄）における NaNO₂（飼料中濃度平均 246～263 ppm: 12 mg/kg 体重/日（飼料中濃度 240 ppm に対し） JECFA 換算（参照 8）；2.43 mg NO₂⁻-N/kg 体重/日）の二世世代（F₂ が 125 週齢になるまで）にわたる混餌投与試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 33 に示す。

児動物の数、出生後死亡率及び寿命への影響は認められなかった。F₁ 及び F₂ 世代の肝細胞癌、神経系や結合組織、腺上皮等の腫瘍の発生頻度には NaNO₂ 投与群と対照群で差が認められなかったが、リンパ網内系の腫瘍の発生頻度が投与群で高かった（投与群 27%、対照群 6%）（参照 53）。

表 33 ラット二世世代生殖発生毒性試験

物質	投与群	F ₀	F ₁ 及び F ₂
NaNO ₂	246～263 ppm (240 ppm に対し 2.43 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	毒性所見なし	リンパ網内系の腫瘍の発 生頻度上昇

j. 100～240 日間亜急性毒性試験（モルモット）（b. 143～204 日間亜急性毒
性試験（モルモット）と一連の試験）

モルモット（雌、各投与群 3～6 匹）における KNO₂（0、300、1,000、2,000、3,000、4,000、5,000、10,000 mg/L : 0、110、270、940、1,110、1,190、1,490、3,520 mg/kg 体重/日 JECFA 換算（参照 8）；0、18、45、154、182、192、244、577 mg NO₂⁻-N/kg 体重/日）の 100～240 日間飲水投与試験が行われた。なお、この試験では雄のモルモット（各群 1 匹以上）を雌と同じケージで飼育した（雌と同様に飲水曝露されたと推測される）。各投与群で認められた毒性所見を表 34 に示す。

摂餌・摂水量への影響は認められなかったが、10,000 mg/L 投与群で体重増加抑制が認められた。高用量投与群で Hb 濃度がわずかに減少した。MetHb 濃度は Hb の 20% 未満であったが、限られた数の血液サンプルしか採取していなかった。MetHb 濃度は 10,000 mg/L 投与群で最も高かった。

生殖に対する強い影響は 5,000 mg/L 以上投与群で認められた。これらの投与

群では生児は生まれず（胎児死亡率 100%）、対照群を 100%とした場合の生殖パフォーマンスは 0%であった。組織検査では、核凝縮、核崩壊及び石灰化を伴う壊死巣を特徴とする胎盤の変性、子宮の腔内・内膜や子宮頸部上皮におけるリンパ球や好中球の蓄積を伴う炎症性病変が、特に 5,000 mg/L 投与群で観察された。

Sleight らは、いずれの投与群でも妊娠が認められたことから、KNO₂による雄の受精能力低下は認められなかったとしている（参照 64）。

表 34 モルモット 100～240 日間亜急性毒性試験

物質	投与群	母動物	胎児
KNO ₂	10,000 mg/L (577 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	体重増加抑制、MetHb 濃度上昇 (<20%Hb)	全胎児死亡
	5,000 mg/L (244 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)	胎盤の壊死性病変、子宮及び子宮頸部の炎症性病変	全胎児死亡
	4,000 mg/L (192 mg NO ₂ -N/kg 体重/日)以下	毒性所見なし	毒性所見なし

⑥ 遺伝毒性試験

硝酸塩

硝酸性窒素の遺伝毒性試験の結果を表 35、36 に示す。

硝酸塩の遺伝毒性試験は 1970 年代の古いものが多く、評価の対象となる試験は少ない。NaNO₃ 及び KNO₃ の細菌を用いた復帰突然変異試験は陰性であった（参照 68、69）。チャイニーズハムスター線維芽細胞（CHL 細胞）を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、KNO₃ は陰性であったが、NaNO₃ は 4 mg/mL 以上の高用量で陽性を示した（参照 68）。JECFA の評価では高濃度のナトリウムイオンによる間接的な影響の可能性があると考えられている（参照 7）。

ラット及びマウスを用いた *in vivo* での染色体異常試験及び小核試験における陽性に関する論文がルーマニアから報告されているが（参照 70）、2 回投与では用量相関性が明瞭でなく、2 週間の連続投与のみで陽性となっている。WHO、JECFA の評価では N-ニトロソ化合物の生成が否定できないとされている（参照 1、7）。

硝酸塩には、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

表 35 硝酸性窒素の *in vitro* 遺伝毒性試験結果

	試験の種類 (名称)	対象	試験結果		著者名、発行年
			代謝 活性有	代謝 活性無	
原核生物：					
KNO ₃	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA92、TA94、TA98、 TA100、TA1535、 TA1537	—	—	Ishidate et al. 1984 (参照 68)
NaNO ₃			—	—	
KNO ₃	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537 TA1538 <i>E. coli</i> WP2	—	—	Prival et al. 1991 (参照 69)
真核生物：					
NaNO ₃	染色体異常試験	CHL 細胞		+*	Ishidate et al. 1984 (参照 68)
KNO ₃				—	

* 4 mg/mL 以上の用量でのみ陽性

表 36 硝酸性窒素の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

	試験の種類 (名称)	対象	試験結果	著者名、発行年
NaNO ₃	小核試験	マウス骨髄	±* 強制経口投与(2回)	Luca et al. 1985 (参照 70)
	染色体異常試験	ラット骨髄	— 強制経口投与(2回) + 強制経口投与(2週間)	
		マウス骨髄	±* 強制経口投与(2回)	

* 用量相関性がみられない、又は1用量のみでの有意差

亜硝酸塩

亜硝酸性窒素の遺伝毒性試験の結果を表 37、38 に示す。

亜硝酸塩についても 1970 年代の古い試験や、ニトロソ化反応を目的とした試験が大半で、亜硝酸塩自体の遺伝毒性評価に用いることが可能であるという報告は多くはない。NaNO₂ 及び KNO₂ の細菌を用いた復帰突然変異試験はいずれも陽性である (参照 44、68、69、71)。NaNO₂ は CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験で陽性であった (参照 68)。マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた突然変異試験でみられた陽性反応は 70 mM 以上の高用量であり、50 mM 以上の NaCl でみられる染色体異常と同様、高濃度のナトリウムイオンによる間接的な影響と考察されている (参照 72)。

NaNO₂ の *in vivo* 染色体異常試験及び小核試験では、NaNO₃ と同様、ルーマニアで行われた試験で弱陽性の報告があるが (参照 73)、用量相関性がみられず、JECFA の評価では N-ニトロソ化合物の生成が原因であった可能性があることを指摘している (参照 8)。一方、NTP で実施されたマウス及びラットを用いた小核試験はいずれも陰性であった (参照 44)。また、マウスを用いた小核試験 (腹

腔内投与及び強制経口投与) においても陰性の報告がある (参照 74)。

高濃度の亜硝酸塩は *in vitro* 試験で突然変異や染色体異常を誘発するが、*in vivo* 試験においては陰性であり、*in vitro* で認められた遺伝毒性が生体内で発現する可能性は低いものと考えられた。

表 37 亜硝酸性窒素の *in vitro* 遺伝毒性試験結果

	試験の種類 (名称)	対象	試験結果		備考 著者名、発行年
			代謝 活性有	代謝 活性無	
原核生物：					
KNO ₂	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、 TA1538 <i>E. coli</i> WP2	+	+	Prival et al. 1991 (参照 69)
NaNO ₂			+	+	
		<i>S. typhimurium</i> TA100、TA1530、 TA1535、TA102	+	+	Balimandawa et al. 1994 (参照 71)
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA100、TA98	+	+	NTP TR495, 2001 (参照 44)
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA92、TA94、TA98、 TA100、TA1535、TA1537	+	+	Ishidate et al. 1984 (参照 68)
真核生物：					
NaNO ₂	染色体異常	CHL 細胞		+	Ishidate et al. 1984 (参照 68)
	マウスリンフォーマ試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y/TK ⁺		-*	Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988 (参照 72)

* 70mM 以上の用量でのみ陽性

表 38 亜硝酸性窒素の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

	試験の種類 (名称)	対象	試験結果	著者名、発行年
NaNO ₂	小核試験	マウス骨髄	- 腹腔内投与 (1 回) - 腹腔内投与 (4 回) - 強制経口投与 (1 回)	Hayashi et al. 1988 (参照 74)
		ラット骨髄 マウス骨髄 マウス末梢血	- 腹腔内投与 (3 回) - 腹腔内投与 (3 回) - 飲水投与 (14 週)	NTP TR495, 2001 (参照 44)
		マウス骨髄	±* 強制経口投与 (2 回)	Luca et al. 1987 (参照 73)
	染色体異常	マウス骨髄 ラット骨髄 ウサギ骨髄	±* 強制経口投与 (2 回) ±* 強制経口投与 (2 回) ±* 飲水投与 (3 か月)	

* 用量相関性がみられない

(3) ヒトへの影響

①急性毒性

ヒト経口致死量は亜硝酸イオンが 33 (子ども、高齢者) ~250 mg/kg 体重、硝酸イオンが 67~833 mg/kg 体重と報告されている (参照 75)。

NaNO₂ を血管拡張剤又はシアン化物の解毒剤として用いた場合、30~300 mg/人 (0.5~5 mg/kg 体重相当) で毒性は認められなかった (参照 8)。

硝酸アンモニウム (7~10.5 g) を経口投与 (単回) された大人では嘔吐及び下痢が認められたが、MetHb 濃度の上昇は生じなかった (参照 7、21)。硝酸塩の急性毒性として腹痛を伴う急速かつ重篤な胃腸炎、血尿及び血便が、慢性毒性としては消化不良、精神的な抑うつ、頭痛及び衰弱が挙げられている (参照 7、76)。

②MetHb 血症

MetHb 生成の兆候がみられる経口摂取量は、亜硝酸イオンとして 0.4~200 mg/kg 体重 (参照 8) 又は硝酸イオンとして 33~83 mg/kg 体重若しくは 100~150 mg/kg 体重 (参照 7) であった。

MetHb 血症の高感受性集団として、乳幼児 (MetHb に酸化されやすい胎児性 Hb の存在、MetHb 還元酵素の欠乏及び亜硝酸塩への高い還元率のため)、妊婦及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠乏症又は MetHb 還元酵素欠乏症の人が挙げられている (参照 7、21)。

生後 3 か月未満の乳児について、硝酸塩の 80%が亜硝酸塩に還元されると仮定すると、中毒量 (MetHb の生成率 10%以上) は硝酸塩として 1.5~2.7 mg/kg 体重である (参照 75) が、実際の MetHb 血症の症例では、硝酸塩の摂取量は 37.1~108.6 mg/kg 体重、平均 56.7 mg/kg 体重であった (参照 7)。また、乳児性 MetHb 血症の臨床症例 (ほとんどが生後 3 か月未満の乳児) の 97.7%は飲料水中の硝酸塩濃度が 44.3~88.6 mg/L 以上で認められた (参照 77) との報告があるが、これらの症例は細菌に汚染された自家用井戸水の摂取と関連していたことから、実際には胃腸感染症による内因性の硝酸塩 (亜硝酸塩) 合成の増加に因る可能性が指摘されている (参照 7)。Walton は、乳児の MetHb 血症に関する文献調査に基づき、乳児のミルクの調製に使用する水の硝酸性窒素濃度が 10 ppm 以下における発症の報告はないとしている (参照 77)。また、2002 年にパレスチナのガザ地区で 3~6 か月児 338 名を対象に実施された横断研究において、母乳摂取児と比べて人工乳 (煮沸水を用いて調製) を摂取している乳児では MetHb 濃度が高い (5%超) 児が多く、また、井戸水中の硝酸塩の平均濃度が高い地域の乳児の平均 MetHb 濃度が高かったことが報告されている (参照 78)。

米国で 1~8 歳の子どもを対象に、硝酸塩濃度の高い井戸水 (硝酸塩として 100~500 mg/L、硝酸性窒素として 22~111 mg/L) を摂取する子ども (64 名) と、硝酸塩濃度の低い水 (硝酸塩として 44 mg/L 以下、硝酸性窒素として 10 mg/L 以下) を摂取する子ども (38 名) の MetHb 濃度を比較した結果、両者に差はなく、MetHb 濃度は正常の範囲内であった。このことから、年長の子どもは硝酸塩の影響に対する感受性が比較的低いことが示唆された (参照 79)。一方、モロッコで

乳児及び 1～7 歳の子どもを対象に実施された横断研究では、硝酸イオン濃度が 50mg/L 以上の曝露群では、血中 MetHb 濃度は対照群（硝酸イオン濃度が 2.99 mg/L）と比べ、有意に高くなっていた（参照 80）。

MetHb 血症の成人症例としては、4～50 g の硝酸塩（硝酸塩として 67～833 mg/kg 体重相当）を摂取（単回）後に死亡した例が報告されている（参照 7、21）が、これは胃の酸性度が低下した特別なリスク群での症例であった。また、健康人ボランティア（18～35 歳、各投与群 10 名）に NaNO₃（15 mg/kg 体重）又は水を 28 日間摂取させた研究で、MetHb 濃度は各々 0.25%、0.24% で硝酸塩曝露による増加は認められなかったことが報告されている（参照 81）。

なお、Ward ら米国 NIH/NCI（National Institutes of Health/National Cancer Institute）の作業グループによる、飲料水中の硝酸塩と MetHb 血症についての総説では、以下のように記載されている。

飲料水中亜硝酸イオン濃度と乳幼児の MetHb 濃度とが相関なしとしている研究はほとんどないが、大部分は低濃度の亜硝酸イオンと少数の乳幼児を用いた研究である。MetHb 濃度の上昇が認められる場合でも、臨床症状として MetHb 血症が認められることは稀であるとした報告がある。MetHb 濃度を増加させる共因子として乳幼児の下痢や呼吸器疾患が、MetHb 生成から保護する効果があるものとしてビタミン C の摂取が報告されている。硝酸塩の曝露のみを MetHb 血症の原因とするのではなく、MetHb 血症を引き起こす要因間の関係をよりよく理解したうえで、各要因の相対的重要度を評価すること及び飲料水中の硝酸塩曝露が MetHb 血症のリスクとなる条件を特定することが必要である（参照 82）。

③発がん性

亜硝酸塩は、ヒトの胃でアミン等と反応して N-ニトロソ化合物を生成することがある。N-ニトロソ化合物の多くは動物での発がん性が知られている（参照 8、21）。

a. 胃癌及び消化器がん

チリの 25 県 202 地域（都市）に供給されている飲料水中の硝酸性窒素（0～30 ppm）濃度と胃癌死亡率の相関を調べた調査では、相関は認められなかった（参照 7、83）。

また、デンマークの研究では、飲料水中の硝酸塩濃度が高い都市（平均 6.8 mg/L）の胃癌発生頻度が硝酸塩濃度の低い都市に比べて高く、硝酸塩と胃癌とに弱い因果関係があり得ると結論している（参照 84）。一方、WHO（参照 25）は、胃癌の発生頻度低下と窒素肥料使用増加は同時期に起こっていること、社会経済的要因の影響及び各都市の二つの学校で測定した尿中硝酸塩濃度（摂取量を反映していると推測される）に有意差がないことを指摘している。

イギリスのある地域において、公共水道水中の硝酸塩濃度が高い地域の女性の胃癌死亡率が国全体の死亡率に比べて高いとの報告がある（参照 85）が、その後、観察期間を延長したうえで、標準化死亡比（SMR）の計算時に社会階級分布と鉦

夫の割合で補正を行って再検討した結果、胃癌死亡率に全国データとの間で有意差は認められなかったことが報告されている（参照 86）。また、その後、イギリスの郊外や都市部で同様に公共用水中の硝酸塩濃度と胃癌死亡率の相関を調べた複数の研究でも、相関は認められていない（参照 25）。

北フランスの 753 の地区で飲料水中の硝酸塩濃度 (21.4 mg/L 以下、地区の 93% では 9.7 mg/L 以下) と消化器がん死亡率の相関を調べた結果、相関は認められなかったと報告されている（参照 25、87）。

ハンガリーの 230 箇所で、井戸水中の硝酸塩濃度と胃癌発生頻度の関係について、硝酸塩濃度については 100 ppm、胃癌発生頻度については 2×10^{-4} を境界として、高、低 2 群に分けて調べた調査では、全体の 60% (139 箇所) で胃癌発生頻度が高く、そのうち 127 箇所は高硝酸塩濃度地域、12 箇所が低硝酸塩濃度地域であった。胃癌発生頻度、硝酸塩濃度とも低いのは 13 箇所で、残り 78 箇所は胃癌発生頻度が低く硝酸塩濃度が高い地域であった（参照 88）。WHO は、この調査について、多くの集団のサイズが小さく、硝酸塩濃度のばらつきについての情報がないことから、信頼性に疑問が残るとしている（参照 25）。

Xu は、総説において、中国で、胃癌のリスクが高い地域の野菜や飲料水中の硝酸塩及び亜硝酸塩の濃度が胃癌低リスク地域より高いこと、また、慢性胃炎患者の絶食時の唾液、胃液中の硝酸塩及び亜硝酸塩濃度が胃癌高リスク地域の方が高いことを示し、高リスク地域では食道の異形成も広くみられること並びに食事は硝酸塩、亜硝酸塩、2 級アミン及びニトロソアミンが多くビタミン C が少ないという特徴があることを報告している（参照 89）。

上記の各国のデータから、WHO は、10 mg/L 以下の硝酸塩を含有する飲料水の摂取と胃癌との相関を示唆する説得力のある証拠は見出せないとしている。更に、それ以上の濃度における硝酸塩と胃癌の相関を示す疫学的エビデンスもないが、入手データが不十分であるため、相関を否定することはできないとしている（参照 25）。

スペインの 258 自治体での胃及び結腸癌死亡率と飲料水中の硝酸塩濃度を比較した地域相関研究で、硝酸塩の摂取量が多いほど胃癌の死亡率が増加し、50 mg/L を超える硝酸塩を含む飲料水を摂取している集団における、硝酸塩摂取量が少ない集団に対する胃癌の相対リスクは男性が 1.9 (95%信頼区間 (CI); 1.36~2.67)、女性 1.8 (95%CI; 1.15~2.87) ($p < 0.05$) であった（参照 90）。JECFA は、この研究について、交絡因子の補正がなされているかどうか不明であるとしている（参照 9）。

Sandor らが、飲料水中の硝酸塩濃度が高い (平均 98 mg/L) 集団について胃癌 SMR の経験的ベイズ推定量を算出し、硝酸塩濃度との関連について調べた研究 (喫煙、民族、集団の大きさによる交絡因子について補正) では、硝酸塩の平均濃度から胃癌死亡率を予測できることが有意に示され ($p=0.05$)、オッズ比 1.5 (95%CI; 1.1~2.1) であったと報告されている（参照 9、91）。

台湾において、胃癌で 1987~1991 年に死亡した 6,766 名及び同数の対照につ

いて飲料水中の硝酸性窒素濃度（台湾水供給会社のデータ）を調べた地域相関研究では、硝酸塩摂取による胃癌死亡率の差異は認められず、胃癌死亡オッズ比は0.23～0.44 mg/Lの硝酸塩摂取群で0.95（95%CI; 0.87～1.03）、0.45 mg/Lを超える硝酸塩摂取群で1.02（95%CI; 0.93～1.11）であった（参照 92）。その後も同様の研究が実施され、1999年～2003年に結腸癌で死亡した2,234名及び胃腸関連疾患以外の原因で死亡した同数の対照を用いた研究では、硝酸性窒素の低用量摂取群（0.22 mg/L以下）と比べた高用量摂取群（0.23～0.45 mg/L、0.48～2.86 mg/L）の結腸癌死亡オッズ比は共に0.98（各95%CI; 0.84～1.14、0.83～1.16）であり、飲料水を介した硝酸塩曝露と結腸癌による死亡について統計学的に有意な相関は認められなかった（参照 93）。

2000～2006年に膵臓癌で死亡した2,412名及び硝酸塩摂取との相関が過去の研究から疑われる疾病（胃、膀胱、結腸・直腸、肺、食道、頭頸部の悪性腫瘍、非ホジキンリンパ腫）以外で死亡した同数の対照を用いた台湾の研究でも、硝酸性窒素の低用量摂取群（0.18 mg/L以下）に比べた高用量摂取群（0.19～0.45 mg/L、0.48～2.86 mg/L）の膵臓癌死亡のオッズ比は各1.03（95%CI; 0.90～1.18）、1.1（95%CI; 0.96～1.27）であり、飲料水を介した硝酸塩曝露と膵臓癌による死亡に統計学的に有意な相関は認められなかった（参照 94）。

24か国39民族から無作為選択した3,303名の24時間尿サンプル（1986～1987年）中の硝酸塩について年齢及び性別で標準化し、国ごとに平均した濃度と各国の胃癌死亡率（1986～1988年）との関連を地域相関回帰分析した結果、24か国のピアソン相関係数は男性0.63（ $p=0.001$ ）、女性0.56（ $p<0.005$ ）であり、ナトリウム及び硝酸塩を独立変数として胃癌死亡率について重回帰分析した重相関係数（ R^2 ）は男性0.61、女性0.54（共に $p<0.001$ ）であった。Joossensらは、硝酸塩はナトリウムと共に胃癌死亡率を増加させるリスク要因として重要であることが示唆されたとしている（参照 95）。JECFA、はこの研究について、発がんまでに要した時間の記述がなく、尿の採取時期と胃癌死亡率を調べた時期がずれていることを指摘している（参照 9）。

イギリスで、約2万人が、同質の水が供給されている148の地域において、硝酸塩濃度（1990～1995年）と発がん頻度（1975～1994年）との相関を調べた結果、胃及び食道癌との相関は認められなかったと報告されている（参照 96）。

エジプトの横断研究で、口腔癌患者42名における唾液中の硝酸塩濃度（44 $\mu\text{g/mL}$ ）、亜硝酸塩濃度（8.3 $\mu\text{g/mL}$ ）及び硝酸塩還元酵素活性（74 nmol/mL/分 ）は健康なヒト40名（各27 $\mu\text{g/mL}$ 、5.3 $\mu\text{g/mL}$ 、46 nmol/mL/分 ）に比べていずれも高く（ $p<0.05$ ）、口腔癌リスクのオッズ比は唾液中の硝酸塩濃度が25～40 $\mu\text{g/mL}$ で3.3（95%CI; 1.1～9.8）、40 $\mu\text{g/mL}$ 以上で4.3（95%CI; 1.4～13.3）、亜硝酸塩濃度が7.5 $\mu\text{g/mL}$ 以上で3.0（95%CI; 1.0～9.3）、硝酸塩還元酵素活性が50 nmol/mL/分 以上で2.9（95%CI; 1.1～7.4）と高かった（ $p<0.05$ ）（参照 97）。

症例対照研究としては、胃の腺癌と組織診断された患者92名、対照128名において、食事アンケート調査から推定した硝酸塩及び亜硝酸塩の摂取量と胃癌リ

スクとの間には相関が認められなかったとのフランスの報告（参照 98）がある一方、胃癌と組織診断された患者 746 名、非腫瘍性の消化管以外の疾患で通院した対照 2,053 名におけるメチオニン、食塩及び亜硝酸塩の摂取と発がんとの相関を調べたイタリアの症例対照研究では、低用量のメチオニン及び亜硝酸塩（2.7 mg/日以下）摂取群に比べ、低用量のメチオニン及び高用量の亜硝酸塩（2.7 mg/日以上）摂取群の胃癌オッズ比は 1.5（95%CI;1.0～2.1）及び高用量のメチオニン及び亜硝酸塩摂取群のオッズ比は 2.5（95%CI;1.9～3.2）（いずれも統計学的に有意）であり、亜硝酸塩摂取が胃発がんリスク増加に関連することが示唆されている（参照 99）。

メキシコでの 2004～2005 年に胃癌と診断された患者 228 名及び対照 467 名についての人口ベースの症例対照研究において、動物性食品からの硝酸塩、亜硝酸塩摂取量（食事アンケート調査から推定）が多い群（各 3.9 mg/日以上、0.4 mg/日以上）の胃癌リスクは低い群（各 1.7 mg/日以下、0.2 mg/日以下）に比べて約 2 倍（オッズ比は各 1.92（95%CI; 1.23～3.02）、1.56（95%CI; 1.02～2.4））であった。なお、野菜及び果実からの硝酸塩及び亜硝酸塩摂取については胃癌リスクとの相関は認められなかった（参照 100）。

韓国の胃癌患者 136 名及び同数の対照について、食事からの硝酸塩摂取量及び亜硝酸塩摂取量と抗酸化ビタミン摂取量の比を推定し（食事に関するアンケート実施）、胃癌リスクとの関連を調べた結果、硝酸塩摂取の絶対量との相関は認められなかったが、ビタミン E 及び葉酸に対する硝酸塩の比が高い場合に胃癌リスクが高かった（オッズ比は各 2.78（95%CI; 1.01～7.67）、3.37（95%CI; 1.28～8.87）。葉酸のみ有意差あり）（参照 101）。

喉頭癌、食道癌又は口腔癌の患者 645 名と対照 458 名（喫煙、飲酒等のリスク因子で補正）を用いた米国の人口ベースの症例対照研究では、食事からの硝酸塩及び亜硝酸塩摂取と喉頭癌及び口腔癌との相関は認められず、食道癌については亜硝酸塩摂取量が 1.06 mg/日以下の群と比べた 1.06～1.6、1.6 mg/日以上の群のオッズ比は各 1.17（95%CI; 0.57～2.38）、1.58（95%CI; 0.73～3.44）であり、硝酸塩摂取量が 134 mg/日以下の群と比べた 134～226、226 mg/日以上群のオッズ比は各 0.71（95%CI; 0.38～1.33）、0.44（95%CI; 0.24～0.93）であった（統計学的有意差なし）。ただし、潰瘍痛の病歴を有するヒトに限定した場合、低用量摂取群と比べた亜硝酸塩の高用量摂取群における食道癌リスクは 7.33（95%CI; 1.30～41.43）であった（参照 102）。一方、食道の腺癌（組織検査で診断確定。282 名）、胃噴門部の腺癌（255 名）、食道扁平上皮癌（206 名）及び噴門以外の胃の腺癌（352 名）並びに対照（687 名）について、栄養素摂取量と発がんリスクとの相関を調べた米国の人口ベースの症例対照研究では、四種類のがん全てについて、葉酸やβ-カロテン、食物繊維等の栄養素摂取については逆相関が、コレステロール、動物性タンパク質及びビタミン B₁₂ については正の相関が認められたが、亜硝酸塩摂取との相関が認められたのは胃（噴門以外）の腺癌（オッズ比 1.65（95%CI; 1.26～2.16））のみであり、食道癌との相関は認められなかった（参照 103）。直腸・結腸がんの女性（20～74 歳の 475 名）と対照（1,447 名）

を用いた米国の人口ベースの症例対照研究では、飲料水を介した硝酸性窒素への曝露（居住地域に近い 1994 年の水質調査測定値を当てはめた）による全結腸癌リスクの増加は認められなかったが、近位結腸癌に限り、最高用量群（硝酸性窒素として 10 ppm 以上）のリスクが最低用量群（硝酸性窒素として <0.5 ppm）に比べて 2.9 倍（95%CI; 1.52~5.56）高かった（参照 104）。

結腸・直腸の腺腫患者 146 名、対照 228 名（ポリープなし）を用いた診療所ベースの症例対照研究において、加工肉からの亜硝酸塩摂取量が高い群（0.16~1.23 mg/日）で結腸・直腸腺腫のリスク増加（オッズ比 1.7（95%CI; 0.9~3.2））。有意差なし）が認められ、亜硝酸塩と硝酸塩の合計摂取量が高い群（0.48~2.76 mg/日）では更にわずかなリスク増加（オッズ比 2.0（95%CI; 1.0~3.9））が観察された。Ward らは、亜硝酸塩と硝酸塩の合計摂取量 0.5 mg 毎に結腸・直腸腺腫のリスクは 30%増加（95%CI; 1.0~1.8）すると推定した（参照 105）。

米国の胃遠位部及び食道の腺癌患者（各 79 名、84 名）、対照 321 名を用いた人口ベースの症例対照研究において、動物性食品からの硝酸塩及び亜硝酸塩摂取量が多い群は低い群（3.8 mg/日以下の摂取）に比べて胃遠位部のがんのリスクが増加傾向（5.7~8.3 mg/日以下の摂取群のオッズ比は 1.8（95%CI; 0.8~3.8））、食道癌リスクは有意に増加（オッズ比は 5.7~8.3 mg/日以下の摂取群で 1.7（95%CI; 0.7~4.1）、8.3 mg/日以上摂取群で 2.2（95%CI; 0.9~5.7）。 $p=0.015$ ）した。胃遠位部のがんについては、飲料水、加工肉の両方からの硝酸塩摂取量が高い群における、両方が低い群に対するオッズ比が最も高かった。一方、飲料水については、硝酸性窒素を 10 mg/L 以上含む水への曝露期間、及び硝酸性窒素イオンの 20 年間の平均濃度（2.45 mg/L 未満~4.32 mg/L 超）のいずれも、どちらのがんとも有意な相関は認められなかった（参照 106）。

オランダの後ろ向きコホート研究では男性 1,688 名、女性 1,812 名を 6.3 年追跡し、胃癌（全部で男性 219 名、女性 63 名）の人-年リスクを推定した結果、食事及び飲料水からの平均亜硝酸塩摂取量が 0.01（参照用量）、0.04、0.09、0.16、0.35 mg/日の群の胃癌相対リスクは各 1.0、1.2（95%CI; 0.78~1.86）、1.2（95%CI; 0.77~1.82）、0.9（95%CI; 0.56~1.37）、1.4（95%CI; 0.95~2.18）で有意な相関は認められなかった（参照 107）。

フィンランドで 9,985 名の男女を最長 24 年間追跡したコホート研究でも、硝酸塩及び亜硝酸塩の摂取（過去 1 年間の食事についてのインタビューから推定。硝酸塩 77 mg/日、亜硝酸塩 5.3 mg/日）と消化器がん（胃、直腸・結腸）の発症リスク（全部で 189 例）との有意な相関は認められなかった（参照 108）。

Winter らは、気体（NO 等）は通すが水素イオンは通さない構造のチューブに 2 級アミン（モルフォリン）を詰めたものを健常人ボランティア（ピロリ菌感染なし）の胃腸管上部に 2 時間挿入し、KNO₃（2 mmol）の摂取有りと無しの条件で N-ニトロソモルフォリンの濃度を調べた結果、管が胃酸に曝露される部位における N-ニトロソモルフォリンの生成が、硝酸塩を摂取した場合には摂取無しの場合の 2 倍であったと報告している（参照 109）。

早期胃癌患者において胃のピロリ菌を完全に除菌すると胃液への酸及びアスコルビン酸の分泌が増加し胃液中の硝酸塩濃度が減少することが報告されている（参照 110）。

b. 非ホジキンリンパ腫（NHL）

NHL との相関については、Ward らが、NHL の患者 156 名（1983～1986 年）、対照 527 名を対象とした米国（ネブラスカ州）の症例対照研究で、公共水道水からの硝酸性窒素 4 mg/L 以上（硝酸塩として 18 mg/L）の摂取と NHL の発症リスクに正の相関（オッズ比 2.0（95%CI; 1.1～3.6））が認められたと報告している（参照 111）。

NHL の患者（1998～2000 年）181 名、対照 142 名を用いた米国（アイオワ州）の人口ベースの症例対照研究では、飲料水中の硝酸塩の平均濃度が高い群（硝酸性窒素として 2.90 mg/L 以下）若しくは年平均濃度 5 mg/L 以上の硝酸塩に 10 年以上飲水曝露された群において NHL との相関は認められず（オッズ比は各 1.2（95%CI; 0.6～2.2）、1.4（95%CI; 0.7～2.9））、食事からの硝酸塩摂取量（アイオワ州以外にデトロイト州などを含む計 4 州の患者及び対照について推定）は NHL リスクと逆の相関が認められた（170 mg/日以上摂取群のオッズ比は 0.54（95%CI; 0.34～0.86））が、食事からの亜硝酸塩摂取量は NHL のリスク増加と相関した（1.21 mg/日以上摂取群のオッズ比は 3.1（95%CI; 1.7～5.5））。このことから Ward らは、公共水道水中の硝酸性窒素の平均濃度（特に 3 mg/L 以下）は、NHL リスクと相関しなかったと結論している（参照 112）。また、米国ミネソタ州で白人男性 NHL 患者 73 名、対照 147 名を対象に実施された人口ベースの症例対照研究では、飲料水からの硝酸塩摂取量（居住地の公共水道水の記録から推定。最高用量群の中央値; 2.4 mg/L）と NHL との相関は認められなかった（参照 113）。他、職業を介した硝酸塩、亜硝酸塩、ニトロソアミンの累積曝露について、推定曝露量と NHL 発生頻度に正の相関が認められた（慢性リンパ球性白血病との相関はなし）ことが、ドイツの人口ベースの症例対照研究で報告されている（参照 114）。

c. 脳腫瘍及び神経系腫瘍

妊娠中の母親の曝露と子どもの脳神経系障害の相関についての米国の症例対照研究では、母親の硝酸塩や亜硝酸塩摂取（妊娠中に居住していた家の水道水中濃度について計深棒を用いて測定）による子どもの脳腫瘍発症リスクは 1.1（95%CI; 0.7～2.0）、母親の井戸水摂取によるリスクについては減少する地域と増加する地域があり、一貫性がなかった（参照 115）。

神経系腫瘍と診断された 18 歳以下の子どもの母親 300 名、対照 574 名において食事からの硝酸塩、亜硝酸塩摂取量（アンケート調査により推定）と神経系腫瘍リスクとの相関は認められなかったとのイスラエルの報告（参照 116）、原発性脳腫瘍と診断された 20 歳以下の子ども（540 名）の母親、対照 801 名において、NaNO₂ を保存料として用いた肉からの妊娠期間における亜硝酸塩一日平均摂取

量増加により子どもの脳腫瘍リスクが増加した ($p < 0.005$ 。野菜からの硝酸塩摂取量との相関は認められず) ことから、体内で生成された N-ニトロソ化合物への妊娠中の曝露と子どもの脳腫瘍発症との相関が示唆されたとする米国の報告 (参照 117) 等がある。

神経膠腫の成人白人男女 130 名、対照 319 名についての米国 (ネブラスカ州) における人口ベースの症例対照研究で、公共水道水中の硝酸性窒素の 20 年間の平均濃度 (2.38 mg/L 以下を参照用量とし、用量群は 4.32 mg/L 以上が最高用量の 3 群) と神経膠腫との相関は認められなかった (オッズ比は 1.2 (95%CI; 0.6~2.3) ~1.4 (95%CI; 0.7~2.7))。また、5 mg/L あるいは 10 mg/L 以上の硝酸性窒素を含む公共水道水に曝露された期間についても神経膠腫との相関は認められず (オッズ比は 1.1 (95%CI; 0.5~2.2) ~1.8 (95%CI; 0.8~4.1))、食事からの亜硝酸塩摂取推定量との相関も認められなかった (参照 118)。

イギリスで、各平均約 2 万人が同質の水を供給されている 148 の地域において硝酸塩濃度 (1990~1995 年) と発がん頻度 (1975~1994 年) の相関を調べた結果、脳及び中枢神経系の癌の発生頻度が高硝酸塩濃度の地域で高く、硝酸塩摂取量が高い集団 (平均 30 mg/L) の低い集団 (2.4 mg/L) に対する相対リスクは 1.2 (95%CI; 1.1~1.3) であった (参照 96)。

d. 膀胱癌、前立腺癌

オランダにおいて、硝酸塩曝露 (食事を介した曝露量については過去の食事アンケート調査結果と食品含有濃度データベースから推定、飲料水を介した曝露量については各人の居住する郵便番号の地域に水を供給している会社のベースラインデータから計算し、5 群に分けた) と膀胱癌との相関を 9.3 年間追跡して調べたコホート研究がある (症例 889 名、対照 4,441 名)。硝酸塩曝露量が最低の用量群に対する最高用量群の膀胱癌発生頻度の比は食事、飲料水共に 1.06 (各 95%CI; 0.81~1.31, 0.82~1.37)、食事と飲料水を合計した曝露について 1.09 (95%CI; 0.84~1.42) で曝露との相関は認められなかった (参照 119)。

1999~2003 年に膀胱癌で死亡した 513 名及び泌尿生殖器関連疾病以外で死亡した同数の対照を用いた台湾での地域相関研究では、硝酸性窒素の低用量摂取群 (0.18 mg/L 以下) に比した高用量摂取群 (0.19~0.45 mg/L, 0.48~2.86 mg/L) の膀胱癌死亡オッズ比は各 1.76 (95%CI; 1.28~2.42)、1.96 (95%CI; 1.41~2.72) であり、飲料水を介した硝酸塩曝露と膀胱癌による死亡には正の相関が認められた (参照 120)。

スペインの 258 自治体で膀胱、前立腺癌死亡率と飲料水中の硝酸塩濃度を比較した地域相関研究で、硝酸塩の摂取量が多いほど前立腺癌の死亡率が増加し、50 mg/L を超える硝酸塩を含む飲料水を摂取している集団における、硝酸塩摂取量が少ない集団に対する前立腺癌の相対リスクは 1.9 (95%CI; 1.20~2.88) であった (参照 90)。この研究について、JECFA は、交絡因子の補正がなされているかどうか不明としている (参照 9)。

e. 腎細胞癌、下部尿路癌

腎細胞癌の患者（1986～1989年）201名、対照1,244名（硝酸塩測定値が存在する公共の水道水を使用している集団）を用いた米国での人口ベースの症例対照研究において、公共水道水の硝酸塩濃度の平均値（10年以上）が5 mg/L以上群の腎細胞癌発症リスクは増加せず（オッズ比 1.03（95%CI; 0.66～1.60））、硝酸塩摂取との相関は認められなかった（参照 121）。一方、米国国立衛生研究所-米国退職者協会食事・健康調査（NIH-AARP Diet and Health Study）コホートにおける食事由来の硝酸塩及び亜硝酸塩の摂取量と全腎細胞癌及び明細胞腺癌のサブタイプごとのリスクの関係を調べた調査では、平均 9.1 年間の追跡調査期間で参加者 491,841 名中 1,816 例の全腎細胞癌（明細胞腺癌 498 例、乳頭腺癌 115 例）が確認され、動物性食品からの亜硝酸塩の摂取量が最も多い第 5 五分位群（0.31～2.27 g/1,000 cal）と最も少ない第 1 五分位群（0.00～0.13 g/1,000 cal）を比較した全腎細胞癌及び明細胞腺癌のハザード比はそれぞれ 1.28（95%CI; 1.10～1.49、P<0.01）及び 1.68（95%CI; 1.25～2.27、P<0.01）であった。また、加工肉及びその他の動物性食品からの亜硝酸塩摂取の明細胞腺癌ハザード比はそれぞれ 1.33（95%CI; 1.01～1.76、P<0.01）及び 1.78（95%CI; 1.34～2.36、P<0.01）であり、動物性食品由来の亜硝酸塩が腎細胞癌、特に明細胞癌のリスクを増加することが示唆されたが、植物性食品や食品全体からの亜硝酸塩の摂取量との関連はみられなかった。なお、本調査においては、摂取カロリー当たりの亜硝酸塩量をみているが、個人の曝露量は不明である（参照 122）。

下部尿路癌との相関を調べたハワイの症例対照研究では、日系男性で現在の食事からの亜硝酸塩、ニトロソアミンの摂取と下部尿路癌リスクに正の相関が認められ（高用量群と低用量群のオッズ比は亜硝酸塩 2.0（95%CI; 1.0～4.0、p<0.05）、ニトロソアミン 3.0（95%CI; 1.4～6.4、p=0.01））、加工肉の摂取も発がんリスク増加と相関したが、女性や白人男性では相関が認められなかった（参照 123）。JECFAはこの研究について、発がんリスク増加が加工肉に含まれる亜硝酸塩、脂質、ナトリウムに起因するのか、それらを油で揚げたことに因るのか決められないとしている（参照 10）。

北フランスの 753 の地区で飲料水中の硝酸塩濃度（21.4 mg/L 以下、93%は 9.7mg/L 以下）と泌尿器のがん死亡率の相関を調べた結果、相関は認められなかった（参照 25、87）。

f. 肝臓癌

肝臓癌については、タイの胃癌及び肝臓癌が多い地域における食事からの硝酸塩、亜硝酸、ニトロソジメチルアミン（NDMA）塩摂取量が他の地域に比べて高かったとの横断研究（参照 124）がある。

g. 発がん率

米国で 10 年以上同じ水を摂取し続けている 55～69 歳の女性 21,997 名（内

16,541名は公共用水を、残りは私設の井戸水を摂取)を対象に、硝酸塩摂取量(硝酸性窒素として0.36、1.0、2.4 mg/L、硝酸イオンとして1.6、4.5、11 mg/L相当)と発がん率(がん登録データに基づく。全部で3,150名)との相関を調べた結果、NHL、白血病、メラノーマ、結腸・脳・肺・膵臓・腎臓のがんとの一貫した相関は認められなかったが、膀胱・卵巣癌とは正の相関が、子宮・直腸癌とは負の相関が認められた(参照125)。JECFAは、この研究について、用量相関関係が認められず、他の要因による影響の可能性があるとしている(参照9)。

介入研究としては、中国における麻の繊維工場労働者の内、唾液中の亜硝酸イオン濃度が10 mg/Lを超えていて症状があるヒトを対象に抗生物質と「ニトロソアミン破壊物質」で予防的治療を行った結果、介入群の発がん率が対照群に比べて55%低かったとの報告がある(参照126)が、JECFAは、この研究は追跡手法や年齢による標準化をしていない等の問題があり、対照群の発がん率が研究期間中に大きく変化していること、亜硝酸イオンとの相関が疑われる胃癌等が介入群でも比例して増加していること等から、解釈が難しいとしている(参照10)。

④その他の影響

a. 心血管系疾患

心血管系への影響を飲料水中の硝酸塩濃度と関連づける研究からは、一貫した結果は得られていない(参照25)が、血圧増加と飲料水を介した硝酸塩曝露との相関を見出した研究もあることがWardら(参照82)の総説に紹介されている。また、17名(男性15名、女性2名)の健常人ボランティアを用いて行われた無作為化二重盲検クロスオーバー試験で、NaNO₃(0.1 mmol/kg体重/日)を添加した食事を摂取(3日間)した被験者の収縮期血圧及び心拍数はプラセボ摂取群と変わらなかったが、拡張期血圧及び動脈圧が有意に低かったことが報告されている(参照127)。

b. 副腎への影響

副腎への影響については、調理した野菜から0.5 mg/kg体重/日のNaNO₂を9日間摂取したヒトで尿中への17-ヒドロキシステロイド、17-ケトステロイドの排泄が減少し、副腎ステロイド生成の減少が示唆されたことが報告されている(参照128)。

c. 甲状腺腫

過去に飲料水中の硝酸塩による甲状腺腫発生頻度の増加、甲状腺腫の大きさと用量-反応関係が報告されている(参照1、129~131)。

健常人ボランティア(18~35歳)を介入群(10名)と対照群(10名)に分け、前者には15 mg/kg体重のNaNO₃を、後者には水のみを28日間摂取させ、甲状腺機能への影響を調べる無作為化非劣性試験が実施された(ヨウ素、硝酸塩が少ない食事を試験前から試験期間中摂取)。甲状腺の¹³¹I取込み量、甲状腺ホルモ

ン (T₃、リバーストリヨードチロニン (rT₃¹)、T₄、TSH) 血中濃度に両群で差は認められず、硝酸塩曝露による甲状腺への影響は認められなかった(参照 81)。一方、ヒトにおける硝酸塩の抗甲状腺作用については、食品中のヨウ素が十分な場合は弱い、栄養学的なヨウ素欠乏症が存在する場合には強い影響を及ぼす(参照 129、130) とした報告もある。また、Tajtáková らの学童 (10~13 歳) を対象としたハンガリーにおける横断研究で、井戸水中の硝酸塩濃度が高い地域 (51~274 mg/L) の学童 (324 名中血液を採取できたのは 315 名) は低い地域 (2 mg/L 以下) の学童 (168 名中血液を採取できたのは 109 名) に比べて甲状腺の体積、血中 TSH が 4 mU/L 以上の頻度、甲状腺ペルオキシダーゼ抗体陽性の頻度が高い (血中の総 T₄ 濃度、T₃ 濃度は有意差なし) ことが報告されている (参照 132)。

Gatseva らが、ブルガリアの中央制御による水供給を受けている二つの村、すなわち、飲料水中硝酸塩濃度が高い村 (研究時は 75 mg/L、23 年間の平均は 76.5 mg/L) と硝酸塩に曝露されていない村 (研究時は 8 mg/L、23 年間の平均は 10.7 mg/L) の学童 (7~14 歳。曝露群 156 名、非曝露群 163 名) について、尿中のヨウ素濃度、甲状腺腫の発生頻度を調べた結果、尿中ヨウ素濃度に有意差は認められなかったが、甲状腺腫が硝酸塩曝露群において非曝露群に比べ有意に多かった (曝露群 13.5%、非曝露群 4.9%。オッズ比 3.014 (95%CI; 1.293~7.027)) (参照 133)。また、同じ Gatseva らが、飲料水中硝酸塩濃度が高い (研究時は 93 mg/L、23 年間の平均は 89.7 mg/L) 別の村と硝酸塩に曝露されていない同じ村に住む妊娠女性及び幼児について、同様に甲状腺への影響を調査した。その結果、曝露群の妊娠女性 (26 名) の尿中ヨウ素濃度が非曝露群 (22 名) に比べて低く、甲状腺腫発生頻度 (34.6%。オッズ比 5.294 (95%CI; 1.003~27.939)) が有意に高かった。また幼児 (3~6 歳) では、曝露群 (50 名) の尿中ヨウ素濃度が非曝露群 (49 名) に比べて低く (p<0.001)、甲状腺腫発生頻度 (28.0%。オッズ比 2.333 (95%CI; 0.8491~6.412)) も非曝露群 (14.3%) より高いものの、有意差は認められなかった (参照 134)。

最近ポメラニアで実施された、尿中硝酸塩濃度 (全体の平均は 53.1 mg/L) が高いヒト (75 パーセントイル値 69.0 mg/L 超) と正常のヒトの甲状腺の構造や大きさを比較した横断研究では、甲状腺の体積に有意差は認められず、甲状腺腫の発生頻度は各 35.5%、34.7% (オッズ比は 1.01 (95%CI; 0.86~1.19)) で有意差は認められなかった (参照 135)。

d. 糖尿病

子どもの I 型糖尿病については、いくつかの横断研究で発症率と飲料水中の硝酸塩濃度に正の相関が認められたことが Ward らの総説 (参照 82) で報告されているが、イタリアで行われた横断研究では飲料水中の硝酸イオン濃度中央値 (28.9 mg/L 以下) と I 型糖尿病の相対リスク (最低用量曝露群と比較) は逆行する傾向が認められたことが報告されている (参照 136)。また II 型糖尿病について、高

¹ T₃ の不活性型。

齢の患者と健康なヒトで血清の亜硝酸塩及び硝酸塩の濃度を比較した結果、患者で有意に高かったとの報告（参照 137）がある。

e. 生殖・発生毒性

生殖・発生毒性については、神経管欠損を有する子どもの母親 538 名、対照 539 名に妊娠前後の水道水、食事摂取についてインタビューした米国における人口ベースの症例対照研究で、16 mg/L 以上の硝酸イオン摂取は無脳症のリスク増加と相関が認められた（参照 138）。また、米国において、口唇口蓋裂、四肢欠損又は神経管閉鎖障害を有する子どもの母親（症例群、6,544 名）と先天性奇形のない子どもを有する母親（対照群、6,807 名）を対象とした、母親の亜硝酸塩の摂取量と子どもの先天性異常との関係を調査した症例対照研究では、摂取量の第 1 四分位に対する第 4 四分位の調整オッズ比は、動物性食品からの亜硝酸塩摂取量と口唇裂では 1.32（95%CI; 1.01~1.72）、亜硝酸塩の全摂取量と四肢の中間欠損では 4.70（95%CI; 1.23~17.93）であったが、全般的には神経管閉鎖障害、口唇裂又は四肢欠損は亜硝酸塩の摂取量とは有意な関連がみられなかった。なお、本調査においては、各症例における亜硝酸塩の推定平均摂取量の記載があるが、各四分位の摂取量及び曝露期間は不明である（参照 139）。この他にもいくつかの研究において、飲料水を介した硝酸塩の摂取による中枢神経系の先天奇形のリスク増加が認められたが、生殖毒性（自然流産、死産、早産、子宮内発育遅延等）と飲料水からの硝酸塩摂取の相関については一貫した結果が得られていないことが、Ward らによる総説に記載されている（参照 82）。

また、オーストラリアの 16,229 名の女性に対する横断研究において、飲料水中の硝酸塩濃度が中等度（0.125~0.350 mg/L）あるいは高い群（>0.350 mg/L）の前期破水発生頻度が硝酸塩濃度の低い群に比べて高かった（補正オッズ比は 1.23（95%CI; 1.03~1.52）あるいは 1.47（95%CI; 1.20~1.79））との報告（参照 140）がある他、飲料水中の硝酸塩濃度（40~60 mg/L）が乳幼児突然死症候群の発生頻度に影響する可能性を指摘した報告（参照 141）等がある。

2. 国際機関等の評価（表 39、40）

(1) 国際がん研究機関（IARC）（参照 12）

グループ 2A：ヒトに対して恐らく発がん性がある。

食品中の亜硝酸塩の発がん性については、ヒトでの証拠は限定的である。食品中の亜硝酸塩は胃癌発生頻度増加と相関する。

食品中の硝酸塩の発がん性については、ヒトでの証拠は不十分である。

飲料水中の硝酸塩の発がん性については、ヒトでの証拠は不十分である。

亜硝酸塩とアミンあるいはアミドとの組み合わせによる発がん性については、実験動物で十分な証拠がある。

亜硝酸塩それ自体の発がん性については、実験動物で限定的な証拠がある。

硝酸塩の発がん性については、実験動物での証拠は不十分である。

(2) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)

①硝酸塩 (参照 7、9)

JECFA は、ラットの長期毒性試験 (参照 42) で得られた NOEL 370 mg/kg 体重/日 (硝酸イオンとして) に安全係数 100 を適用し、一日摂取許容量 (ADI) を 0~3.7 mg/kg 体重/日 (硝酸イオンとして) と算出した。

同会議は、硝酸塩による毒性は主に、*in vivo* で亜硝酸塩に変換する結果であると結論した。第 59 回会合 (2002 年) において、亜硝酸イオンの ADI は 0~0.07 mg/kg 体重/日に設定され、亜硝酸塩についての新しいデータは硝酸塩について以前に設定された ADI を大きく変更する根拠を与えなかったため、委員会は、第 44 回会合 (1995 年) においてラット長期毒性試験の NOEL 500 mg/kg 体重/日 (硝酸ナトリウムとして) に安全係数 100 を適用して設定した ADI 0~5 mg/kg 体重/日 (NaNO₃ として)、0~3.7 mg/kg 体重/日 (硝酸イオンとして) を維持することとした。

②亜硝酸塩 (参照 10)

JECFA は、ラットを用いた 2 年間の試験での心肺への影響に基づく NOEL 6.7 mg/kg 体重/日 (亜硝酸イオンとして) に安全係数 100 を適用し、ADI を 0~0.07 mg/kg 体重/日 (亜硝酸イオンとして) とした。この ADI は、3 か月齢以下の乳児には適用されない。

第 44 回会合 (1995 年) においては、NOEL 6.7 mg/kg 体重/日及びラットを用いた 90 日間毒性試験での副腎皮質球状帯の肥大に基づく NOEL 5.4 mg/kg 体重/日 (亜硝酸イオンとして) に安全係数 100 を適用し、ADI を 0~0.06 mg/kg 体重/日 (亜硝酸イオンとして) とした。しかし、副腎のごくわずかな肥大は血圧の小さな変動に対する生理的な順応を反映しており、副腎への直接的な毒性作用と考えるべきではないと第 59 回会合 (2002 年) では結論し、この NOEL を採用しなかった。

亜硝酸塩は、MetHb 血症を引き起こすが、これは単回投与後に起こる可能性があるため、亜硝酸塩について急性の参照用量を設定するのが適切であると思われる。しかし、本会合においてレビューできたデータは主に長期毒性に関するものであり、急性の参照用量を設定するには適切でなかった。同会議は、今後の会合において亜硝酸塩の急性毒性についてレビューすべきであると勧告した。

(3) WHO 飲料水水質ガイドライン及び根拠文書 (参照 1、4、5、6)

硝酸塩のガイドライン値は、短期間曝露された乳幼児 (ヒト) の MetHb 血症に基づき、50 mg/L とされた。ただし、微生物による汚染とそれに伴う消化管の感染症はリスクを顕著に増加させるため、微生物汚染の点で安全な水でなければならない。

亜硝酸塩のガイドライン値は、短期曝露に対しては、乳幼児 (ヒト) において、0.4 mg/kg 体重/日から 200 mg/kg 体重/日を超える投与量で MetHb 血症が認められたことから、最小値の 0.4 mg/kg 体重/日に基づき、体重 5 kg、飲水量 0.75 L

を仮定して、3 mg/L（端数切捨て）と算出された。

飲料水中の硝酸塩及び亜硝酸塩に同時に曝露される可能性があるため、各物質のガイドライン値（GV）に対する濃度（C）の比の和は1を超えないようにすべきである。

慢性曝露に対しては、JECFA が硝酸塩の ADI 0～3.7 mg/kg 体重/日、亜硝酸塩の ADI 0～0.07 mg/kg 体重/日を提案している（参照 9、10）。硝酸塩の ADI 0～3.7 mg/kg 体重/日は、硝酸塩／亜硝酸塩の代謝における既知の種差を考慮すると、ヒトのリスク評価に用いるには適切でないと考えた。

（4）米国環境保護庁（US EPA）

Integrated Risk Information System (IRIS)（参照 11）

EPA/IRIS では、化学物質の評価を、TDI に相当する経口参照用量（経口 RfD）として慢性非発がん性の情報を提供している。また、もう一方で、発がん影響について、発がん性分類についての情報を提供し、必要に応じて、経口曝露によるリスクについての情報を提供している。

① 経口 RfD

a. 硝酸性窒素（EPA/IRIS, 1991（参照 11））

臨界影響	用量*	不確実 係数 (UF)	修正係数 (MF)	参照用量 (RfD)
MetHb 血症の初期臨床症状 (MetHb レベル 10%超過 時)	NOAEL: 硝酸性窒素 10 mg/L (換算値: 1.6 mg/kg 体重/日) **	1 ***	1	1.6 mg/kg 体重/日
(調製乳を摂取した 0～3 か月齢乳児)	LOAEL: 硝酸性窒素 11～20 mg/L (換算値: 1.8～3.2 mg/kg 体重/日)			
ヒト疫学調査(参照 77, 142)				

* 硝酸塩 4.4 mg が硝酸性窒素 1 mg/L に相当するとして換算。

** 体重 4 kg の乳児の調製乳を介した飲水量を 0.64 L/日とし、10 mg/L×0.64 L/日/4 kg = 1.6 mg/kg 体重/日

*** 感受性の最も高いヒト亜集団（乳児）での重篤な影響の NOAEL であることから 1

b. 亜硝酸性窒素（EPA/IRIS, 1997（参照 11））

影響 (Critical Effect)	用量	不確実 係数 (UF)	修正係数 (MF)	参照用量 (RfD)
MetHb 血症 (調製乳を慢性的に摂取し た乳児)	NOEL: 飲料水中濃度 10 ppm (換算値: 1.0 mg/kg 体重/日) *	1 **	10 ***	1 × 10 ⁻¹ mg/kg 体重 /日
(参照 77)	LOAEL: 飲料水中濃度 11～20 ppm			

* 体重 10 kg の子どもの飲水量を 1 L/日として、10 mg/L×1 L/日/10 kg = 1.0 mg/kg 体重/日

** 感受性の高いヒト集団（乳児）への重篤な毒性影響（MetHb 血症）の NOEL であること、長期間曝露のデータであることから UF は不使用。

***亜硝酸塩自体の毒性について 10

② 発がん性

データなし

(5) 我が国における水質基準の見直しの際の評価（参照 2）

JECFA は、1995 年に、亜硝酸塩に関してラットを用いた 13 週間の飲水投与試験での副腎皮質球状帯の過形成を根拠にした NOEL : 5.4 mg NO₂/kg 体重/日と、ラットを用いた 2 年間の飲水投与試験での心臓及び肺の組織学的変化を根拠にした NOEL : 6.7 mg NO₂/kg 体重/日を基に、不確実係数 100（種間差及び種内差）から ADI を 0.06 mg NO₂/kg 体重/日と設定した。

WHO は、1998 年の評価で、乳幼児の MetHb 血症（急性影響）（参照 77）のために硝酸イオンの現存の指針値 50 mg/L の維持について確認した。亜硝酸塩については、JECFA で設定した毒性データに基づく ADI を採用し、飲料水の寄与率を 10% とし、体重 60 kg の人が 1 日 2 L 飲むと仮定すると、亜硝酸イオンの指針値は 0.2 mg/L とした。

我が国における水質基準の見直しの際の評価では、JECFA 及び WHO に基づき、硝酸性窒素に関しては、Walton（1951）をもとに幼児の MetHb 血症の防止の観点から 10 mg/L 以下（硝酸性窒素として）とした。また、亜硝酸性窒素に関しては、極めて低い濃度であり、硝酸性窒素と同時に測定することが可能であることから、硝酸性窒素と亜硝酸性窒素の合計量について 10 mg/L とし、ADI 0.06 mg NO₂/kg 体重/日から評価値は 0.05 mg/L（1 日 2 L 水摂取、体重 50kg、寄与率 10%）とした。

表 39 WHO 等による硝酸性窒素のリスク評価

	根拠	NOAEL	不確実係数	評価値
JECFA (2002)	ラット長期毒性試験 イヌ短期毒性試験	NOEL 500 mg/kg 体 重/日	安全係数 100	ADI 0~3.7 mg/kg 体重/日 (硝酸イオンと して) 0~5 mg/kg 体重/日 (硝酸ナトリウ ムとして)
WHO/DWGL 第 4 版 (2011)	短期曝露された乳幼児 (ヒト) の MetHb 血症 (参照 1)	50 mg/L (硝酸イオ ンとして)		ガイドライン値 50 mg/L (硝酸イオンと して)
EPA/IRIS (1991)	MetHb 血症の初期臨床症状 (MetHb レベル 10%超過時) (調製乳を摂取した 0~3 か月 齢乳児) (参照 77、142)	1.6 mg/kg 体 重/日	1 (感受性の最 も高いヒト亜 集団 (乳児) での重篤な影 響の NOAEL であることか ら)	経口 RfD 1.6 mg/kg 体重/日 (硝酸性窒素と して)
厚生労働省 水道水 (2003)	幼児の MetHb 血症	10 mg/L	—	基準値 10 mg/L (硝酸性窒素と して)

表 40 WHO 等による亜硝酸性窒素のリスク評価

	根拠	NOAEL (mg/kg 体重/日)	不確実係数	評価値 (mg/kg 体重/日)
JECFA (2002)	ラットを用いた 2 年間の試験 での心肺への影響 (参照 9)	NOEL 6.7 (亜硝酸イオンとして)	安全係数 100	ADI 0~0.07 (亜硝酸イオンとして)
WHO/DWGL 第 4 版 (2011)	短期曝露 乳幼児 (ヒト) の MetHb 血症 (参照 1)	LOAEL 0.4 (亜硝酸イオンとして)		ガイドライン値 3 mg/L (亜硝酸イオンとして)
EPA/IRIS (1997)	MetHb 血症 (調製乳を慢性的に摂取した 0 ~乳児) (参照 77)	NOEL 1.0 (飲料水中濃度 10 ppm)	1 修正係数 10	経口 RfD 0.1
		LOAEL (飲料水中濃度 11~20 ppm)		
厚生労働省 水道水 (2003)				JECFAに基づき ADI 0.06 (亜硝酸イオンとして)

3. 曝露状況

平成22年度の水道統計における硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の水道水の検出状況 (表41) から、各測定地点における最高値別で見ると、原水においては、水道法水質基準値 (10 mg/L) の100%超過箇所が17箇所あったが、ほとんどが20%以下 (4,434/5,337) であった。また、浄水においては、同様に80%超過100%以下の箇所が16箇所あったが、ほとんどが20%以下 (4,718/5,811) であった。

平成22年度水道統計における亜硝酸態窒素の水道水の検出状況 (表42) から、各測定地点における最高値別で見ると、原水においては、水質管理目標値 (0.05 mg/L ; 暫定) の100%超過箇所が50箇所あったが、ほとんどが10%以下 (1,346/1,658) であった。また、浄水においては、同様に50%超過60%以下の箇所が1箇所あったが、ほとんどが10%以下 (2,185/2,204) であった。

表 41 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素 水道水での検出状況（参照 143）²

浄水／原水の別	水源種別	測定地点数	基準値に対する度数分布表										
			5%以下	5%超過 10%以下	10%超過 20%以下	20%超過 30%以下	30%超過 40%以下	40%超過 50%以下	50%超過 60%以下	60%超過 70%以下	70%超過 80%以下	80%超過 100%以下	100%超過
			～0.50 mg/L	～1.00 mg/L	～2.00 mg/L	～3.00 mg/L	～4.00 mg/L	～5.00 mg/L	～6.00 mg/L	～7.00 mg/L	～8.00 mg/L	～10.00 mg/L	10.01 ～ mg/L
原水	全体	5,337	2,251	1,165	1,018	368	213	138	68	39	28	32	17
	表流水	1,077	538	284	193	39	13	8	0	1	0	1	0
	ダム湖沼	283	169	76	30	2	5	1	0	0	0	0	0
	地下水	3,107	1,089	649	666	276	164	112	57	33	21	25	15
	その他	848	447	152	122	49	31	16	11	5	7	6	2
浄水	全体	5,811	2,077	1,442	1,199	515	299	122	74	50	17	16	0
	表流水	1,070	460	320	221	42	21	2	4	0	0	0	0
	ダム湖沼	276	152	69	45	5	5	0	0	0	0	0	0
	地下水	3,083	859	714	716	349	200	103	63	46	17	16	0
	その他	1,365	598	333	214	119	73	17	7	4	0	0	0

（平成 22 年度調査結果）

表 42 亜硝酸態窒素 水道水での検出状況（参照 143）²

浄水／原水の別	水源種別	測定地点数	基準値に対する度数分布表										
			10%以下	10%超過 20%以下	20%超過 30%以下	30%超過 40%以下	40%超過 50%以下	50%超過 60%以下	60%超過 70%以下	70%超過 80%以下	80%超過 90%以下	90%超過 100%以下	100%超過
			～0.005 mg/L	～0.010 mg/L	～0.015 mg/L	～0.020 mg/L	～0.025 mg/L	～0.030 mg/L	～0.035 mg/L	～0.040 mg/L	～0.045 mg/L	～0.050 mg/L	0.051 ～ mg/L
原水	全体	1,658	1,346	91	38	48	18	26	10	10	7	14	50
	表流水	504	301	56	21	38	14	19	7	4	7	7	30
	ダム湖沼	163	102	18	13	4	3	4	2	4	0	4	9
	地下水	783	749	12	1	5	0	3	0	2	0	2	9
	その他	200	187	5	3	1	0	0	1	0	0	1	2
浄水	全体	2,204	2,185	12	3	2	1	1	0	0	0	0	0
	表流水	517	511	2	2	1	0	1	0	0	0	0	0
	ダム湖沼	153	152	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	地下水	1,051	1,040	8	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	その他	477	476	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

（平成 22 年度調査結果）

² 表流水、ダム湖沼、地下水、その他の合計数と全体数に相違があるが、日本水道協会（2010）の調査結果のまま記載。

Ⅲ. 食品健康影響評価

硝酸イオン及び亜硝酸イオンは自然由来のイオンであり、窒素循環の一部を担っている。自然水中などに存在する硝酸イオンは、条件により一部がヒトの消化器系において亜硝酸性イオンに還元される。亜硝酸イオンは、血液中で Hb と反応して MetHb を生じ、MetHb 血症の原因となる。硝酸塩及び亜硝酸塩は胃で食品に含まれるアミン等と反応して N-ニトロソ化合物を生じ得ることが知られている。

ヒト、特に乳幼児において、飲料水を介した硝酸塩曝露と MetHb 血症との関連が報告されており、また、動物においても曝露による MetHb 濃度上昇が観察されている。また、ヒトにおいて、硝酸塩の曝露による心血管系や副腎への影響、糖尿病との関連、母親の妊娠中の曝露による生殖への影響や子どもの中樞神経系の先天奇形、腫瘍との関連を示唆した疫学研究がある。動物実験では硝酸塩や亜硝酸塩の投与による甲状腺、副腎、心臓への影響が報告されている。

発がん性に関して、IARC は、硝酸塩及び亜硝酸塩をヒトに対しておそらく発がん性がある物質（グループ 2A）に分類し、硝酸塩について「飲料水中の硝酸塩の発がん性については、ヒトでの証拠は不十分である」とし、亜硝酸塩について「食品中の亜硝酸塩の発がん性については、ヒトでの証拠は限定的である」としている。

動物を用いた発がん性試験では、ラットへの亜硝酸塩の混餌投与で肝発がん性が認められ、ラットへの亜硝酸塩の飲水投与で前胃の腫瘍が認められているが、両者とも再現性に乏しく、それぞれ一用量のみの試験でデータが十分でないこと、ヒトへの外挿性に乏しい変化と判断されること等から、今回の評価の対象とすることは困難と判断した。経口投与の場合、特に混餌投与では摂取した亜硝酸の影響を反映できていない試験成績を示している可能性が高い。また、設定用量が低い試験成績が多く、亜硝酸自身が不安定であることから、亜硝酸塩の発がん性を定量的に評価するには、更なる知見の収集が必要と考えられた。

また、遺伝毒性試験の知見から、硝酸塩には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられる。亜硝酸塩は *in vitro* 試験において高用量で突然変異や染色体異常を誘発するが、*in vivo* 試験においては陰性であることから、*in vitro* 試験で認められた遺伝毒性が生体内で発現する可能性は低いものと考えられる。

上記のことから、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素について、非発がん影響に基づき TDI を算出することが適切であると考えられた。

1. 硝酸性窒素

高濃度（20 ppm 以上）の硝酸性窒素を含む水で調製した人工乳を摂取した乳児では MetHb 血症が生じることが報告されているが、硝酸性窒素の濃度が 10 ppm 以下で乳児における MetHb 血症発症の報告はないことが指摘されている。したがって MetHb 血症を指標とした硝酸性窒素の NOAEL は 10 ppm（10 mg/L）と考えることができる。

また、胃内の pH が 5 以上だと細菌が生育可能なため、消化管内の pH が一般的に高い乳幼児（特に 0～3 か月齢）等は硝酸塩による有害影響の高感受性集団である。

上記のことから、2 か月児の人工乳哺乳量を平均 865 mL/日³、2 か月児の体重を平均 5.7 kg⁴と仮定とすると、この NOAEL は 1.5 mg/kg 体重/日に相当する。なお、この値は、このエンドポイントに関して最も感受性の高い乳児において得られているものであるため、不確実係数の適用は不要である。

以上より、硝酸性窒素の TDI を 1.5 mg/kg 体重/日と算出した。

2. 亜硝酸性窒素

亜硝酸塩そのもので非発がん影響を調べたヒトの疫学調査はないが、実験動物においては、副腎皮質の肥大、MetHb の増加等が認められている。

最も低いNOAELを示したのは二例あり、いずれもWistarラット（雌雄）におけるKNO₂の13週間飲水投与試験である。いずれの試験も副腎皮質球状帯の肥大を指標として、NOAELはそれぞれ1.64 mg/kg体重/日、1.47 mg/kg体重/日（亜硝酸性窒素として）であった。JECFAにおける第59回会合（2002年）では、副腎皮質のごくわずかな肥大は、血圧の小さな変動に対する生理的な順応を反映し、毒性学的な意義は乏しいと判断しているが、副腎皮質球状帯肥大の発生機序は十分解明されていないものの、二つの異なる試験で投与群に一致して認められた変化であることから毒性影響と判断された。

これらの影響に基づき、NOAEL は亜硝酸性窒素として 1.47 mg/kg 体重/日と判断された。

この NOAEL に不確実係数 100（種差 10、個体差 10）を適用し、亜硝酸性窒素の非発がん毒性に関する TDI を 15 µg/kg 体重/日（亜硝酸性窒素として）と算出した。なお、不確実係数に関しては、副腎皮質球状帯の肥大は自然発生的に認められる変化であり、より長期の投与試験で相当する変化ないし関連する変化を認めていないことから、根拠とする試験に亜急性毒性試験を用いたことに対する追加の係数は不必要と判断した。

以上より、亜硝酸性窒素のTDIを15 µg /kg体重/日と設定した。

硝酸性窒素

TDI 1.5 mg/kg体重/日

(TDI 設定根拠)	疫学調査
(NOAEL 設定根拠所見)	乳児におけるMetHb血症
(NOAEL)	1.5 mg/kg体重/日
(不確実係数)	適用なし

³ 産業技術総合研究所化学物質リスク管理センター曝露係数ハンドブック

http://unit.aist.go.jp/riss/crm/exposurefactors/documents/factor/other_intake/intake_artificialmilk.pdf

⁴ 平成 12 年乳幼児身体発育調査報告書（厚生労働省、平成 13 年）に記載の 0 年 2～3 月未満の男児平均体重 5.88 kg、女児平均体重 5.53 kg の平均値

<参考>

非発がん毒性を指標とした場合、上記の1.5 mg/kg体重/日を用いて、寄与率を10%とし、体重50 kgの人が1日あたり2 L飲料水を摂取した場合の濃度は3.75 mg/Lとなる。

亜硝酸性窒素

TDI	15 µg/kg体重/日
(TDI 設定根拠)	13週間飲水投与試験
(動物種)	ラット
(期間)	13週間
(投与方法)	飲水投与
(NOAEL 設定根拠所見)	副腎皮質球状帯の肥大
(NOAEL)	1.47 mg/kg体重/日
(不確実係数)	100 (種差10、個体差10)

<参考>

非発がん毒性を指標とした場合、上記の15 µg/kg体重/日を用いて、寄与率を10%とし、体重50 kgの人が1日あたり2 L飲料水を摂取した場合の濃度は37.5 µg/Lとなる。

表 43 硝酸塩の各試験における NOAEL 等

番号	動物種・ 系統・性・ 動物数/群	試験種	エンドポイント	NOAEL (mg/kg 体重/ 日)	LOAEL (mg/kg 体重/ 日)	備考
亜 b.	ラット Wistar 10	4 週間混餌投 与	甲状腺重量の増加、甲状腺ペルオキシダーゼ活性の低下、血中総 T4 濃度及び T3 濃度の低下、血中 TSH 濃度の上昇、尿中へのヨウ素排泄量のわずかな増加 (KNO ₃ 3%混餌)		3%	KNO ₃
亜 c.	ラット F344 雌雄 10	6 週間混餌投 与	MetHb 血症による血液・脾臓の色の変化 (824 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	最大耐容量 NO ₃ ⁻ -N ; 412 (5%) [A]		NaNO ₃
亜 e	ラット Wister 雄 10 ~ 12	6 か月飲水投 与	咽喉粘膜の炎症性変化 (リンパ球や肥満細胞の出現) (220 mg NO ₃ ⁻ -N/L)			NaNO ₃ -H Cl
亜 f.	ラット Wistar 雌 9~10	30 週間飲水投 与	甲状腺重量増加 (8.24 mg NO ₃ ⁻ -N/L)			NaNO ₃
亜 h.	ブタ	5 週間混餌投 与	血清 T4 濃度及び T3 濃度の低下 (投与 5 週時) (KNO ₃ 3%混餌)			KNO ₃
慢 a.	マウス NMRI 雌 100	18 か月間飲水 投与	体重減少、早期の死亡 (10.7 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)			硝酸塩
慢 b.	ラット 雌雄 20	2 年間混餌投 与	軽度の成長抑制(Lehman は 1%-とし、JECFA は 5%-としている)	NOEL NO ₃ ⁻ ; 370 (1%) (NO ₃ ⁻ -N ; 82.4) [J]		NaNO ₃
慢 c.	ラット F344 雌雄 50	2 年間混餌投 与	体重減少 (5% ; 412 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₃
生 b.	モルモット 雌 3~6	KNO ₃ ; 143~ 204 日間飲水 投与	生児出生数減少、胎児死亡率増加 (1,130 mg NO ₃ ⁻ -N/kg 体重/日)	NOEL KNO ₃ ; 10,000 mg/L (NO ₃ ⁻ -N ; 507) [W]	KNO ₃ ; 30,000 mg/L (NO ₃ ⁻ -N ; 1,130) [W]	KNO ₃
生 c.	ウサギ	22 週間飲水投 与	児動物で肝臓のレチノール濃度低下 (硝酸塩 250 mg/L)			硝酸塩
生 d.	ヒツジ 雌 6~7	妊娠 21~49 日混餌投与	母動物で MetHb 血症 (硝酸イオン 3.4%含有)	母動物が重度の MetHb 血症となる用量で流産等妊娠への影響なし [J]		硝酸イオン

亜：亜急性毒性試験、慢：慢性毒性及び発がん性試験、生：生殖・発生毒性試験

[A]：著者、[W]：WHO、[J]：JECFA (各機関及び著者が算出したものを NO₃⁻-N に換算して記載)

表 44 亜硝酸塩の各試験における NOAEL 等

番号	動物種・ 系統・性・ 動物数/群	試験種	エンドポイント	NOAEL (mg/kg 体重/ 日)	LOAEL (mg/kg 体 重/日)	備考
亜 i.	マウス B6C3F ₁ 雌雄 10	14 週間飲水投 与	飲水量減少 (70.0 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
亜 j.	ラット F344 雌雄 10	6 週間飲水投 与	死亡、MetHb 血症による 血液・脾臓の色の変化 (50.7 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	最大耐容量 NO ₂ ⁻ -N ; 50.7 (0.25%) [A]		NaNO ₂
亜 k.	ラット Wistar 雄 5~10	28~90 日間飲 水投与 (高用量 KNO ₂ 群は 28・56 日 間、あるいは 90 日間投与後 回復期間 30・ 60 日間でも試 験)	副腎皮質球状帯肥大 (168 mg NO ₂ ⁻ -N/L)			KNO ₂
亜 l.	ラット Wistar 雌雄 10	13 週間飲水投 与	副腎皮質球状帯肥大 (4.05 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	NOEL NO ₂ ⁻ ; 5.4 (NO ₂ ⁻ -N; 1.47)[W]		KNO ₂
亜 m.	ラット Wistar 雌雄 10	13 週間飲水投 与	副腎皮質球状帯肥大, (KNO ₂ ; 100 mg/L)	KNO ₂ ; 5 (NO ₂ ⁻ -N; 0.82) [A]		KNO ₂ NaNO ₂
亜 n.	ラット F344/N 雌雄 10 (雌雄 15 ; 臨床 病理学検 査のため)	14 週間飲水投 与 (70~71 日間 飲水投与 ; 臨 床病理学検 査のため)	MetHb 増加、骨髄にお ける造血機能亢進 (6.09 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
慢 e.	マウス B6C3F ₁ 雌雄 50	2 年間飲水投 与	雄で腺胃上皮過形成の 増加、雌で体重減少 (33.5 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
慢 f.	ラット F344/N 雌雄 50	2 年間飲水投 与	血中 MeHb 濃度増加 (14.2 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
慢 g.	ラット F344 雌雄 50	2 年間飲水投 与	体重減少 (50.7 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
慢 h.	ラット F344 混餌投 与 ; 雌雄 24、 飲水投 与 ; 雌雄 24	2 年間混餌/ 飲水投与	混餌投与 : 雌で肝臓の悪 性新生物の発生頻度上 昇 (20.3 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂

番号	動物種・系統・性・動物数/群	試験種	エンドポイント	NOAEL (mg/kg 体重/日)	LOAEL (mg/kg 体重/日)	備考
慢 i.	ラット雄 8	2 年間飲水投与	MetHb 濃度上昇、肺気腫とリンパ球浸潤を伴う気管支の拡張 (20.3 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	NOEL NaNO ₂ ; 10 NO ₂ ⁻ ; 6.7 (NO ₂ ⁻ -N ; 2.03) (100 mg/L) [J]		NaNO ₂
慢 j. 生 i.	ラット SD	二世世代混餌投与	F ₁ 及び F ₂ でリンパ網内系腫瘍が高頻度で発生 (2.43 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
神 a.	ラット雄	2 か月飲水投与	脳波に突発的な突出 (2.03 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
生 e.	マウス B6C3F ₁ 雌雄 10	14 週間飲水投与	雌の性周期延長 (90.3 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
生 f.	マウス Swiss CD-1	二世世代飲水投与	生殖への影響なし	生殖毒性 NaNO ₂ ; 425 (0.24%) (NO ₂ ⁻ -N ; 86.2) [A] 生殖毒性 NOEL NaNO ₂ ; 420 (0.24%) (NO ₂ ⁻ -N ; 85.2)[J]		NaNO ₂
生 g.	ラット F344/N 雌雄 10	14 週間飲水投与	精子の運動性減少 (23.3 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)	NOEL NaNO ₂ ; 55 (750 ppm) (NO ₂ ⁻ -N ; 11.2) [J]		NaNO ₂
生 h.	ラット雌 12	妊娠～授乳 21 日飲水投与	児動物 ; 死亡率増加、21 日齢での成長遅延 母動物 ; MetHb 濃度上昇 (40.6 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			NaNO ₂
生 j.	モルモット雌 3～6	KNO ₂ ; 100～240 日間飲水投与	児動物 ; 全胎児死亡 母動物 ; 胎盤の壊死性病変、子宮及び子宮頸部の炎症性病変 (244 mg NO ₂ ⁻ -N/kg 体重/日)			KNO ₂

亜：亜急性毒性試験、慢：慢性毒性及び発がん性試験、生：生殖・発生毒性試験

[A]：著者、[W]：WHO、[J]：JECFA (各機関及び著者が算出したものを NO₂⁻-N に換算して記載)

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日摂取許容量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
CHL 細胞	チャイニーズハムスター線維芽細胞
EPA	米国環境保護庁
CI	信頼区間
F344 ラット	Fischer344 ラット
Hb	ヘモグロビン
IARC	国際がん研究機関
IQ	2-amino-3-methylimidazo[4, 5-f]quinoline
IRIS	統合リスク情報システム
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
KNO ₂	亜硝酸カリウム
KNO ₃	硝酸カリウム
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
MetHb	メトヘモグロビン
NaNO ₂	亜硝酸ナトリウム
NaNO ₃	硝酸ナトリウム
NHL	非ホジキンリンパ腫
NO	一酸化窒素
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
N ₂ O ₃	三酸化二窒素
PhIP	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine
RfD	参照用量
SD ラット	Sprague-Dawley ラット
SMR	標準化死亡比
T3	トリヨードチロニン
T4	チロキシン
TDI	耐容一日摂取量
TSH	甲状腺刺激ホルモン
UF	不確実係数

<参照>

- 1 WHO. Nitrate and nitrite in drinking-water, Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. WHO/SDE/WSH/07.01/16. 2007.
- 2 厚生労働省. 水質基準の見直しにおける検討概要 平成 15 年 4 月、厚生科学審議会、生活環境水道部会、水質管理専門委員会. 2003
- 3 World Health Organization(WHO). Air Quality Guidelines for Europe, Second edition. 2000
- 4 WHO. Guidelines for Drinking Water Quality, Fourth edition, 2011.
- 5 WHO. Guidelines for Drinking Water Quality, First addendum to Third edition, vol.1, 2006
- 6 WHO. Guidelines for Drinking Water Quality, Second addendum to Third Edition. 2008
- 7 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Nitrate. WHO Food Additives Series 35. 1996a
- 8 JECFA. NITRITE and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. WHO Food Additives Series 35. 1996b
- 9 JECFA. Nitrate and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. WHO Food Additives Series 50. 2002a.
- 10 JECFA. Nitrite and potential endogenous formation of N-nitroso compounds. WHO Food Additives Series 50. 2002b.
- 11 US Environmental Protection Agency (EPA), Integrated Risk Information System (IRIS). (<http://www.epa.gov/iris/>). 1991/1997.
- 12 International Agency for Research on Cancer(IARC). IARC monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans. vol. 94, Ingested Nitrates and Nitrites, and Cyanobacterial Peptide Toxins. (2010).
- 13 U.S. National Research Council(NRC). *Nitrate and nitrite in drinking water*. Subcommittee on Nitrate and Nitrite in Drinking Water, Committee on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Science. 1995
- 14 Hunault CC, van Velzen AG, Sips AJ, Schothorst RC, Meulenbelt J. Bioavailability of sodium nitrite from an aqueous solution in healthy adults. *Toxicol Lett.* 2009; 190: 48-53
- 15 International Programme on Chemical Safety(IPCS). Poisons Information Monograph, Group PIM G016, Nitrates and nitrites. 1999

- 16 Cortas NK, Wakid NW. Pharmacokinetic aspects of inorganic nitrate ingestion in man. *Pharmacology and Toxicology*. 1991; 68: 192-195.
- 17 NAS The health effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds. Part 1 of a two-part study by the Committee on Nitrite and Alternative Curing Agents in Food. Report by the US National Research Council, National Academy of Sciences. Washington, DC, National Academy Press. 1981
- 18 Shuval HI, Gruener N. Epidemiological and toxicological aspects of nitrates and nitrites in the environment. *American Journal of Public Health*. 1972; 62: 1045-1052.
- 19 Green LC, Tannenbaum SR, Fox JG. Nitrate in man and canine milk. *The New England Journal of Medicine*. 1982; 306: 1367–1368.
- 20 Jaffé ER. Methaemoglobinaemia. *Clinical haematology*. 1981; 10: 99-122.
- 21 Speijers GJA, van Went GF, van Apeldoorn ME, Montizaan GK, Janus JA, Canton JH, van Gastel CAM et al. Integrated criteria document nitrate; effects. Appendix to RIVM Report No. 758473012. Bilthoven, Rijksinstituut voor de Volksgezondheid en Milieuhygiëne (National Institute of Public Health and Environmental Protection) (RIVM Report No. A758473012). 1989
- 22 Shephard SE. Endogenous formation of N-nitroso compounds in relation to the intake of nitrate or nitrite. In: *Health aspects of nitrate and its metabolites (particularly nitrite)*. Proceedings of an international workshop, Bilthoven (Netherlands), 8–10 November 1994. Strasbourg, Council of Europe Press, pp. 137-150. 1995
- 23 Mirvish SS, Davis ME, Lisowyj MP, Gaikwad NW. Effect of feeding nitrite, ascorbate, hemin, and omeprazole on excretion of fecal total apparent N-nitroso compounds in mice. *Chem Res Toxicol*. 2008; 21(12): 2344-2351.
- 24 Brambilla G, Martelli A. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug-nitrite interaction products. *Mutat Res*. 2007; 635(1): 17-52.
- 25 WHO Health hazards from nitrate in drinking-water. Report on a WHO meeting, Copenhagen, 5–9 March 1984. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe (Environmental Health Series No. 1). 1985b
- 26 ICAIR Life Systems, Inc. The drinking water criteria document on nitrate/nitrite. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Drinking Water. 1987
- 27 Wagner DA, Schultz DS, Deen WN, Young VR, Tannenbaum SR. Metabolic fate of an oral dose of ¹⁵N-labeled nitrate in humans: Effect of diet supplementation with ascorbic acid. *Cancer Research*. 1983; 43: 1921-1925.
- 28 Colbers EPH, Hegger C, Kortboyer JM, Meulenbelt J. A pilot study to investigate nitrate and nitrite kinetics in healthy volunteers with both normal and artificially increased gastric pH after sodium nitrate ingestion. Bilthoven, Rijksinstituut voor de Volksgezondheid en Milieuhygiëne (National Institute of Public Health and Environmental Protection) (RIVM Report No. 235802001). 1996

- 29 Mueller RL, Hagel HJ, Greim G, Ruppin H, Domschke W. Endogenous synthesis of carcinogenic N-nitroso compounds: bacterial flora and nitrite formation in the healthy human stomach. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene B*. 1983; 178: 297-315 (in German).
- 30 Mueller RL, Hagel HJ, Wild H, Ruppin H, Domschke W. Nitrate and nitrite in normal gastric juice. Precursors of the endogenous N-nitroso compound synthesis. *Oncology*. 1986; 43: 50-53.
- 31 Rudell WS, Bone ES, Hill MJ, Blendis LM, Walters CL. Gastric juice nitrite: a risk factor for cancer in the hypochlorhydric stomach? *Lancet*, 1976; 2: 1037-1039.
- 32 Rudell WS, Bone ES, Hill MJ, Walters CL. Pathogenesis of gastric cancer in pernicious anaemia. *Lancet*. 1978; 1: 521-523.
- 33 Dolby JM, Webster ADB, Borriello SP, Barclay FE, Bartholomew BA, Hill MJ. Bacterial colonization and nitrite concentration in the achlorhydric stomachs of patients with primary hypogammaglobulinaemia or classical pernicious anaemia. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1984; 19: 105-110.
- 34 Walker R. The conversion of nitrate into nitrite in several animal species and man. In: *Health aspects of nitrate and its metabolites (particularly nitrite)*. Proceedings of an international workshop, Bilthoven (Netherlands), 8–10 November 1994. Strasbourg, Council of Europe Press, pp. 115-123. 1995
- 35 Leaf CD, Wishnok JS, Tannenbaum SR. L-arginine is a precursor for nitrate biosynthesis in humans. *Biochemical and biophysical research communications*, 1989; 163: 1032-1037.
- 36 Bloomfield RA, Welsch CW, Garner GB, Muhrer ME. Effect of dietary nitrate on thyroid function. *Science*, 1961; 134: 1690.
- 37 Mukhopadhyay S, Ghosh D, Chatterjee A, Sinha S, Tripathy S, Chandra AK. Evaluation of possible goitrogenic and anti-thyroidal effect of nitrate, a potential environmental pollutant. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2005; 49(3): 284-288.
- 38 Maekawa A, Ogiu T, Onodera H, Furuta K, Matsuoka C, Ohno Y, Odashima S.. Carcinogenicity studies of sodium nitrite and sodium nitrate in F-344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1982; 20: 25-33.
- 39 Boink BTJ, Dormans JAMA, Speijers GJA The role of nitrite and/or nitrate in the etiology of the hypertrophy of the adrenal zona glomerulosa of rats. In: *Health aspects of nitrate and its metabolites (particularly nitrite)*. Proceedings of an international workshop, Bilthoven (Netherlands), 8–10 November 1994. Strasbourg, Council of Europe Press, pp. 213-228. 1995
- 40 Del Negro A, Araújo MR, Tincani AJ, Meirelles L, Martins AS, Andreollo NA. Experimental carcinogenesis on the oropharyngeal mucosa of rats with hydrochloric acid, sodium nitrate and pepsin. *Acta Cir Bras*. 2008; 23(4): 337-342.

- 41 Eskiocak S, Dundar C, Basoglu T, Altaner S. The effects of taking chronic nitrate by drinking water on thyroid functions and morphology. *Clin Exp Med.* 2005; 5(2): 66-71.
- 42 Lehman AJ. Quarterly report to the Editor on Topics of Current Interest. Nitrates and Nitrites in Meat Products. *Quart. Bull.Ass. Food Drug Off.* 1958; 22: 136-138.
- 43 Jahreis G, Hesse V, Schone F, Hennig A, Gruhn K. Effect of chronic dietary nitrate and different iodine supply on porcine thyroid function, somatomedin-C-level and growth. *Experimental and clinical endocrinology, Leipzig,* 1986; 88: 242-248.
- 44 U.S. National Toxicology Program(NTP). NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite (CAS No. 7632-00-0) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (drinking water studies). NTP TR495. 2001
- 45 Til HP, Falke HE, Kuper CF, Willems MI. Evaluation of the oral toxicity of potassium nitrite in a 13-week drinking-water study in rats. *Food chemistry and toxicology.* 1988; 26(10): 851-859.
- 46 WHO Evaluation of certain food additives and contaminants. Geneva, World Health Organization, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, pp. 29-35 (WHO Technical Report Series No. 859). 1995
- 47 Kuper F, Til HP Subchronic toxicity experiments with potassium nitrite in rats. In: Health aspects of nitrate and its metabolites (particularly nitrite). Proceedings of an international workshop, Bilthoven (Netherlands), 8–10 November 1994. Strasbourg, Council of Europe Press, pp. 195-212. 1995
- 48 Mascher F, Marth E. Metabolism and effect of nitrates. *Central European Journal of Public Health.*1993; 1: 49-52.
- 49 Inai K, Aoki Y, Tokuoka S. Chronic toxicity of sodium nitrite in mice, with reference to its tumorigenicity. *Gann.* 1979; 70: 203-208.
- 50 Mirvish SS, Bulay O, Runge RG, Patil K . Study of the carcinogenicity of large doses of dimethylnitramine, N-nitroso-L-proline, and sodium nitrite administered in drinking water to rats. *J Natl Cancer Inst.*1980; 64:1435–1442.
- 51 Lijinsky W, Kovatch R, Riggs CW. Altered incidences of hepatic and hemopoietic neoplasms in F344 rats fed sodium nitrite. *Carcinogenesis.* 1983; 4(9): 1189-1191.
- 52 Lijinsky W. Induction of tumours in rats by feeding nitrosatable amines together with sodium nitrite. *Food Chem Toxicol.* 1984; 22:715–720.
- 53 Shank RC, NewbernE PM. Dose-response study of the carcinogenicity of dietary sodium nitrite and morpholine in rats and hamsters. *Food and Cosmetics Toxicology.* 1976; 14: 1-8.

- 54 Newberne PM. Nitrite promotes lymphoma incidence in rats. *Science*.1979; 204:1079–1081.
- 55 Aoyagi M, Matsukura N, Uchida E et al. (1980). Induction of liver tumors in Wistar rats by sodium nitrite given in pellet diet. *J Natl Cancer Inst*.1980; 65:411–414.
- 56 Kuroiwa Y, Ishii Y, Umemura T, Kanki K, Mitsumori K, Nishikawa A, Nakazawa H, Hirose M. Combined treatment with green tea catechins and sodium nitrite selectively promotes rat forestomach carcinogenesis after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Sci*. 2007; 98(7): 949-957.
- 57 Okazaki K, Ishii Y, Kitamura Y, Maruyama S, Umemura T, Miyauchi M, Yamagishi M, Imazawa T, Nishikawa A, Yoshimura Y, Nakazawa H, Hirose M. Dose-dependent promotion of rat forestomach carcinogenesis by combined treatment with sodium nitrite and ascorbic acid after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: possible contribution of nitric oxide-associated oxidative DNA damage. *Cancer Sci*. 2006; 97(3): 175-182.
- 58 Kuroiwa Y, Okamura T, Ishii Y, Umemura T, Tasaki M, Kanki K, Mitsumori K, Hirose M, Nishikawa A. Enhancement of esophageal carcinogenesis in acid reflux model rats treated with ascorbic acid and sodium nitrite in combination with or without initiation. *Cancer Sci*. 2008a; 99(1): 7-13.
- 59 Kitamura Y, Umemura T, Okazaki K, Kanki K, Imazawa T, Masegi T, Nishikawa A, Hirose M. Enhancing effects of simultaneous treatment with sodium nitrite on 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced rat liver, colon and Zymbal's gland carcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine and 1,2-dimethylhydrazine. *Int J Cancer*. 2006a; 118(10): 2399-2404.
- 60 Kitamura Y, Yamagishi M, Okazaki K, Furukawa F, Imazawa T, Nishikawa A, Hirose M. Lack of enhancing effects of sodium nitrite on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Lett*. 2006b; 235(1): 69-74.
- 61 Kuroiwa Y, Yamada M, Matsui K, Okamura T, Ishii Y, Masumura K, Tasaki M, Umemura T, Mitsumori K, Nohmi T, Hirose M, Nishikawa A. Combined ascorbic acid and sodium nitrite treatment induces oxidative DNA damage-associated mutagenicity in vitro, but lacks initiation activity in rat forestomach epithelium. *Toxicol Sci*. 2008b; 104(2): 274-282.
- 62 Ishii Y, Umemura T, Kanki K, Kuroiwa Y, Nishikawa A, Ito R, Saito K, Nakazawa H, Hirose M. Possible involvement of NO-mediated oxidative stress in induction of rat forestomach damage and cell proliferation by combined treatment with catechol and sodium nitrite. *Arch Biochem Biophys*. 2006; 447(2): 127-135.

- 63 Hansen PR, Taxvig C, Christiansen S, Axelstad M, Boberg J, Kiersgaard MK, Nellemann C, Hass U. Evaluation of endocrine disrupting effects of nitrate after in utero exposure in rats and of nitrate and nitrite in the H295R and T-screen assay. *Toxicol Sci.* 2009; 108(2): 437-444.
- 64 Sleight SD, Atallah OA. Reproduction in the guinea-pig as affected by chronic administration of potassium nitrate and potassium nitrite. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 1968; 12: 179-185.
- 65 Kammerer M. Influence des nitrates sur la reproduction chez les mammifères domestiques. *Contraception, fertilité, sexualité.* 1993; 21: 642-647. (参照 7 より引用)
- 66 Davison KL, McEntee K, Wright MJ. Responses in pregnant ewes fed forages containing various levels of nitrate. *Journal of Dairy Science.* 1965 ; 48: 968-977.
- 67 Chapin R, Gulati D, Barnes LH. Reproductive toxicology; sodium nitrite. *Environmental Health Perspectives,* 1997; 105 (Suppl. 1): 1-3.
- 68 Ishidate M Jr, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food and Chemical Toxicology.* 1984; 22: 623-636.
- 69 Prival MJ, Simmon VF, Mortelmans KE. Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. *Mutation Research.* 1991; 260: 321-329.
- 70 Luca D, Răileanu L, Luca V, Duda R. Chromosomal aberrations and micronuclei induced in rat and mouse bone marrow cells by sodium nitrate. *Mutation Research.* 1985; 155: 121-125.
- 71 Balimandawa M, de Meester C, Léonard A. The mutagenicity of nitrite in the Salmonella/microsome test system. *Mutation Research.* 1994; 321: 7-11.
- 72 Wangenheim J, Bolcsfoldi G. Mouse lymphoma L5178Y thymidine kinase locus assay of 50 compounds. *Mutagenesis.* 1988; 3: 193-205.
- 73 Luca D, Luca V, Cotor FL, Raileanu L. In vivo and in vitro cytogenetic damage induced by sodium nitrite. *Mutation Research.* 1987; 189: 333-339.
- 74 Hayashi M, Kishi M, Sofuni T, Ishidate M Jr. Micronucleus tests in mice on 39 food additives and eight miscellaneous chemicals. *Food and Chemical Toxicology.* 1988; 26: 487-500.
- 75 Corré WJ, Breimer T. Nitrate and nitrite in vegetables. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing Documentation (Literature Survey No. 39). 1979
- 76 Fassett DW. Nitrates and nitrites. Toxicants occurring naturally in foods. *Natl.Acad. Sci.* 1973; 7-25. (参照 7 より引用)
- 77 Walton G. Survey of literature relating to infant methaemoglobinaemia due to nitrate-contaminated water. *American journal of public health.* 1951; 41: 986-996.

- 78 Abu Naser AA, Ghbn N, Khoudary R. Relation of nitrate contamination of groundwater with methaemoglobin level among infants in Gaza. *East Mediterr Health J.* 2007; 13(5): 994-1004.
- 79 Craun GF, Greathouse DG, Gunderson DH. Methaemoglobin levels in young children consuming high nitrate well water in the United States. *International journal of epidemiology.* 1981; 10: 309-317.
- 80 Sadeq M, Moe CL, Attarassi B, Cherkaoui I, Elaouad R, Idrissi L. Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. *Int J Hyg Environ Health.* 2008; 211(5-6): 546-554.
- 81 Hunault CC, Lambers AC, Mensinga TT, van Isselt JW, Koppeschaar HP, Meulenbelt J. Effects of sub-chronic nitrate exposure on the thyroidal function in humans. *Toxicol Lett.* 2007; 175(1-3): 64-70.
- 82 Ward MH, deKok TM, Levallois P, Brender J, Gulis G, Nolan BT, vanDerslice J. Workgroup Report: Drinking-water nitrate and health — Recent findings and research needs. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(11): 1607-1614.
- 83 Zaldivar R, Wetterstrand WH. Nitrate-nitrogen levels in drinking water of urban areas with high- and low-risk populations for stomach cancer: an environmental epidemiology study. *Zeitschrift für Krebsforschung.* 1978; 92: 227-234. (参照 7 より引用)
- 84 Jensen OM. Nitrate in drinking water and cancer in northern Jutland Denmark, with special reference to stomach cancer. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 1982; 6: 258-267.
- 85 Hill MJ, Hawksworth G, Tattersall G. Bacteria, nitrosamines and cancer of the stomach. *British Journal of Cancer.* 1973; 28: 562-567.
- 86 Davies JM. Stomach cancer mortality in Worksop and other Nottinghamshire mining towns. *British Journal of Cancer.* 1980; 41: 438-445.
- 87 Vincent P, Dubois G, Leclerc H. Nitrates in drinking water and cancer mortality. *Revue d'épidémiologie et de Santé Publique.* 1983; 31: 199-207. (参照 25 より引用)
- 88 Juhasz L, Hill MJ, Nagy G. Possible relationship between nitrate in drinking water and incidence of stomach cancer. *IARC Scientific Publications.* 1980; 31: 619-623.
- 89 Xu GW. Gastric cancer in China: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 1981; 74: 210-211.
- 90 Morales Suarez Varela MM., Llopis-Gonzalez A, Tejerizo-Perez ML. Impact of nitrates in drinking water on cancer mortality in Valencia, Spain. *European Journal of Epidemiology.* 1995; 11: 15-21.
- 91 Sandor J, Kiss I, Ember I. Threshold for gastric cancer causing effect of nitrate in drinking water. *Anticancer Research.* 1998; 18: 4940. (参照 9 より引用)

- 92 Yang CY, Chiu HF, Chiu JF, Cheng MF, Kao WY. Gastric cancer mortality and drinking water qualities in Taiwan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 1997; 33: 336–340.
- 93 Yang CY, Wu DC, Chang CC. Nitrate in drinking water and risk of death from colon cancer in Taiwan. *Environ Int*. 2007; 33(5): 649-653.
- 94 Yang CY, Tsai SS, Chiu HF. Nitrate in drinking water and risk of death from pancreatic cancer in Taiwan. *J Toxicol Environ Health A*. 2009;72(6):397-401.
- 95 Joossens JV, Hill MJ, Elliott P, Stamler R, Lesaffre E, Dyer A, Nichols R, Kesteloot H. Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. *International Journal of Epidemiology*. 1996; 25: 494–504.
- 96 Barrett JH, Parslow RC, McKinney PA, Law GR, Forman D. Nitrate in drinking water and the incidence of gastric, esophageal, and brain cancer in Yorkshire, England. *Cancer Causes and Control*. 1998; 9: 153–159.
- 97 Badawi AF, Hosny G, el-Hadary M, Mostafa MH. Salivary nitrate, nitrite and nitrate reductase activity in relation to risk of oral cancer in Egypt. *Disease markers*. 1998; 14: 91–97.
- 98 Pobel D, Riboli E, Cornée J, Hémon B, Guyader M. Nitrosamine, nitrate and nitrite in relation to gastric cancer: A case–control study in Marseille, France. *European Journal of Epidemiology*. 1995; 11: 67–73.
- 99 La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Decarli A. Case–control study of methionine, nitrite, and salt on gastric carcinogenesis in northern Italy. *Nutrition and Cancer*. 1997; 27: 65–68.
- 100 Hernández-Ramírez RU, Galván-Portillo MV, Ward MH, Agudo A, González CA, Oñate-Ocaña LF, Herrera-Goepfert R, Palma-Coca O, López-Carrillo L. Dietary intake of polyphenols, nitrate and nitrite and gastric cancer risk in Mexico City. *Int J Cancer*. 2009; 125(6): 1424-1430.
- 101 Kim HJ, Lee SS, Choi BY, Kim MK. Nitrate intake relative to antioxidant vitamin intake affects gastric cancer risk: a case-control study in Korea. *Nutr Cancer*. 2007; 59(2): 185-191.
- 102 Rogers MA, Vaughan TL, Davis S, Thomas DB. Consumption of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine and the risk of upper aerodigestive tract cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 1995; 4: 29–36.
- 103 Mayne ST, Risch HA, Dubrow R, Chow WH, Gammon MD, Vaughan TL, Farrow DC et al. Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2001; 10: 1055–1062
- 104 McElroy JA, Trentham-Dietz A, Gangnon RE, Hampton JM, Bersch AJ, Kanarek MS, Newcomb PA. Nitrogen-nitrate exposure from drinking water and colorectal cancer risk for rural women in Wisconsin, USA. *J Water Health*. 2008; 6(3): 399-409.

- 105 Ward MH, Cross AJ, Divan H, Kulldorff M, Nowell-Kadlubar S, Kadlubar FF, Sinha R. Processed meat intake, CYP2A6 activity and risk of colorectal adenoma. *Carcinogenesis*. 2007a; 28(6): 1210-1216.
- 106 Ward MH, Heineman EF, Markin RS, Weisenburger DD. Adenocarcinoma of the stomach and esophagus and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. *Int J Occup Environ Health*. 2008; 14(3): 193-197.
- 107 van Loon AJ, Botterweck AA, Goldbohm RA, Brants HA, van Klaveren JD, van den Brandt PA. Intake of nitrate and nitrite and the risk of gastric cancer: A prospective cohort study. *British Journal of Cancer*. 1998; 78: 129–135.
- 108 Knekt P, Järvinen R, Dich J, Hakulinen T. Risk of colorectal and other gastro-intestinal cancers after exposure to nitrate, nitrite and N-nitroso compounds: A follow up study. *International Journal of Cancer*. 1999; 80: 852–856.
- 109 Winter JW, Paterson S, Scobie G, Wirz A, Preston T, McColl KE. N-nitrosamine generation from ingested nitrate via nitric oxide in subjects with and without gastroesophageal reflux. *Gastroenterology*. 2007; 133(1): 164-174.
- 110 Tari A, Kitadai Y, Sumii M, Sasaki A, Tani H, Tanaka S, Chayama K. Basis of decreased risk of gastric cancer in severe atrophic gastritis with eradication of *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci*. 2007; 52(1): 232-239.
- 111 Ward MH, Mark SD, Cantor KP, Weisenburger DD, Correa-Villaseñor A, Zahm SH. Drinking water and the risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Epidemiology*. 1996; 465-471.
- 112 Ward MH, Cerhan JR, Colt JS, Hartge P. Risk of non-Hodgkin lymphoma and nitrate and nitrite from drinking water and diet. *Epidemiology*. 2006; 17(4): 375-382.
- 113 Freedman DM, Cantor KP, Ward MH, Helzlsouer KJ. A case-control study of nitrate in drinking water and non-Hodgkin's lymphoma in Minnesota. *Archives of Environmental Health*. 2000; 55: 326–329.
- 114 Richardson DB, Terschüren C, Hoffmann W. Occupational risk factors for non-Hodgkin's lymphoma: a population-based case-control study in Northern Germany. *Am J Ind Med*. 2008; 51(4): 258-268.
- 115 Mueller BA, Newton K, Holly EA, Preston-Martin S. Residential water source and the risk of childhood brain tumors. *Environmental Health Perspectives*. 2001; 109: 551–556.
- 116 Lubin F, Farbstein H, Chetrit A, Farbstein M, Freedman L, Alfandary E, Modan B. The role of nutritional habits during gestation and child life in pediatric brain tumor etiology. *International Journal of Cancer*. 2000; 86: 139–143
- 117 Preston-Martin S, Pogoda JM, Mueller BA, Holly EA, Lijinsky W, Davis RL. Maternal consumption of cured meats and vitamins in relation to pediatric brain tumors. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 1996; 5: 599–605.

- 118 Ward MH, Heineman EF, McComb RD, Weisenburger DD. Drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite and risk of glioma. *J Occup Environ Med.* 2005b; 47(12): 1260-1267.
- 119 Zeegers MP, Selen RF, Kleinjans JC, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Nitrate intake does not influence bladder cancer risk: the Netherlands cohort study. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(10): 1527-1531.
- 120 Chiu HF, Tsai SS, Yang CY. Nitrate in drinking water and risk of death from bladder cancer: an ecological case-control study in Taiwan. *J Toxicol Environ Health A.* 2007; 70(12): 1000-1004.
- 121 Ward MH, Rusiecki JA, Lynch CF, Cantor KP. Nitrate in public water supplies and the risk of renal cell carcinoma. *Cancer Causes Control.* 2007b; 18(10): 1141-1151.
- 122 Dellavalle CT, Daniel CR, Aschebrook-Kilfoy B, Hollenbeck AR, Cross AJ, Sinha R, Ward MH. Dietary intake of nitrate and nitrite and risk of renal cell carcinoma in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Br J Cancer.* 2013; 108(1):205-212.
- 123 Wilkens LR, Kadir MM, Kolonel LN, Nomura AM, Hankin JH. Risk factors for lower urinary tract cancer: The role of total fluid consumption, nitrites and nitrosamines, and selected foods. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention.* 1996; 5: 161-166.
- 124 Mitacek EJ, Brunnemann KD, Suttajit M, Caplan LS, Gagna CE, Bhothisuwan K, Siriamornpun S, Hummel CF, Ohshima H, Roy R, Martin N. Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutr Cancer.* 2008; 60(2): 196-203.
- 125 Weyer PJ, Cerhan JR, Kross BC, Hallberg GR, Kantamneni J, Breuer G, Jones MP et al. Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: The Iowa women's health study. *Epidemiology.* 2001; 11: 327-338.
- 126 Huang YG, Ji JD, Hou QN. A study on carcinogenesis of endogenous nitrite and nitrosamine, and preventive of cancer. *Mutation Research.* 1996; 358: 7-14.
- 127 Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weitzberg E. Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. *N Engl J Med.* 2006; 355(26): 2792-2793.
- 128 Violante A, Cianetti A, Ordine A. Studio della funzionella cortico surrenalica in corso di intossicazione con sodia nitrio. [Adrenal cortex function during subacute poisoning with sodium nitrite.] *Quaderni Sclavo di Diagnostica Clinica e di Laboratorio.* 1973; 9: 907-920.
- 129 Höring H, Nagel M, Haerting J. Das nitratbedingte Strumarisiko in einem Endemiegebiet. [The nitrate-dependent endemic thyroid areas.] In: Überla K, Rienhoff O, Victor N, eds. *Quantitative Methoden in der Epidemiologie.* Berlin, I. Guugenmoos-Holzmann, pp. 147-153 (Medizinische Informatik und Statistik, 72). 1991

- 130 Höring H Der Einfluss von Umweltchemicalien auf die Schilddrüse. [The influence of environmental chemicals on the thyroid.] Bundesgesundheitsblatt. 1992; 35: 194-197.
- 131 van Maanen JM, van Dijk A, Mulder K, de Baets MH, Menheere PC, van der Heide D, Mertens PLJM et al. Consumption of drinking water with high nitrate levels causes hypertrophy of the thyroid. Toxicology letters. 1994; 72: 365-374.
- 132 Tajtáková M, Semanová Z, Tomková Z, Szökeová E, Majoros J, Rádiková Z, Seböková E, Klimes I, Langer P. Increased thyroid volume and frequency of thyroid disorders signs in schoolchildren from nitrate polluted area. Chemosphere. 2006; 62(4): 559-564.
- 133 Gatseva PD, Argirova MD. Iodine status and goitre prevalence in nitrate-exposed schoolchildren living in rural Bulgaria. Public Health. 2008a; 122(5): 458-461.
- 134 Gatseva PD, Argirova MD. High-nitrate levels in drinking water may be a risk factor for thyroid dysfunction in children and pregnant women living in rural Bulgarian areas. Int J Hyg Environ Health. 2008b; 211(5-6): 555-559.
- 135 Below H, Zöllner H, Völzke H, Kramer A. Evaluation of nitrate influence on thyroid volume of adults in a previously iodine-deficient area. Int J Hyg Environ Health. 2008; 211(1-2): 186-191.
- 136 Muntoni S, Cocco P, Muntoni S, Aru G. Nitrate in community water supplies and risk of childhood type 1 diabetes in Sardinia, Italy. Eur J Epidemiol. 2006; 21(3): 245-247.
- 137 Nunes SF, Figueiredo IV, Soares PJ, Costa NE, Lopes MC, Caramona MM. Semicarbazide-sensitive amine oxidase activity and total nitrite and nitrate concentrations in serum: novel biochemical markers for type 2 diabetes? Acta Diabetol. 2009; 46(2): 135-140.
- 138 Croen LA, Todoroff K, Shaw GM. Maternal exposure to nitrate from drinking water and diet and risk for neural tube defects. American Journal of Epidemiology. 2001; 153: 325-331.
- 139 Huber JC Jr, Brender JD, Zheng Q, Sharkey JR, Vuong AM, Shinde MU et al. Maternal dietary intake of nitrates, nitrites and nitrosamines and selected birth defects in offspring: a case-control study. Nutr J. 2013; 12:34.
- 140 Joyce SJ, Cook A, Newnham J, Brenters M, Ferguson C, Weinstein P. Water disinfection by-products and pre-labor rupture of membranes. Am J Epidemiol. 2008; 168(5): 514-521.
- 141 George M, Wiklund L, Aastrup M, Pousette J, Thunholm B, Saldeen T, Wernroth L et al. Incidence and geographical distribution of sudden infant death syndrome in relation to content of nitrate in drinking water and groundwater levels. European Journal of Clinical Investigation. 2001; 31: 1083-1094

- 142 Bosch HM, Rosefield AB, Huston R, Shipman HR, Woodward FL. Methemoglobinemia and Minnesota well supplies. *Journal of American Water Works Association*. 1950; 42 161-170.
- 143 日本水道協会: 水道統計 平成 22 年度版 2010