食品添加物の安全性

相 磯 和 嘉*

On the Safety of Food Additives

Kazuyoshi AISO

(Chiba University: Yayoicho, Chiba)

1. 食品添加物をその安全性の点で論議することは、有害性を吟味する方向で論ずることよりもはるかにむずかしい。国家指定の添加物はその前提として安全が保証されているので、新しく有害性の事実が出ない限り、再度安全性を検討することは、国が義務として実施するのでなければ、研究者の研究テーマには一般的になりがたい。しかし化学物質のヒトに対する有害性、安全性の問題を実験医学、社会医学の両面から追求する仕事は、今日の医学にとってきわめて大切な課題といえよう。実験医学におけるこの方面の専門分野は中毒医学であり、ふつう動物実験による毒性試験をその基盤におくものである。

筆者らは食品衛生の立場から、腐敗研究所において系統的にこの問題と取り組んできたが今日まで取り扱ってきた添加物および添加物として開発の途上で行なった毒

性実験を年代順にあげて、筆者らの経験としてまずのべておく。

1950年にニトロフラゾン¹⁾を家兎に2か月経口投与した実験が最初であるが、このころはまだ急性毒性実験に重点をおいてLD₅₀を測定することにあつた。1953年に斎藤はニトロフラン誘導体であるパナゾンを6か月ラットに投与した研究を報告したが、当時は6か月投与をもって慢性毒性試験の一応の目安としていた。ついでデヒドロ酢酸²⁾、メチルナフトキノ³⁾ン、ソルビン酸⁴⁾などについて6か月投与を行なった。この頃までは医学部薬理、病理教室との共同研究として、病理組織学的の判定を分担してもらった。その後、1960年に病理学の専門家を導入して中毒病理部門を新設し、慢性毒性試験を本格的に行なえる態勢となった。安全性試験のための研究チームの整備後に最初に行なったのがニトロフラン誘導体 AF₂⁵⁾。

第1表 防腐剤の慢性毒性実験

物 質 名	使 用 動 物	投与期間(月)	発 表 者	発表年月
Nitrofurazone	家 兎	2	相磯ら	1950
Panazone	ラット	6	斎藤 享	1953
DHA	ラット	6	柴田鉄郎	1953
	犬	3	"	"
Methyl naphthoquinone	ラット	6	北沢吉郎	1955
Sorbic acid	ラット	6	竹内端弥	1956
CTC	ラット	6	相磯ら	1957
Iso-CTC	ラット	3	相磯ら	1962
AF-2	ラット(ウィスター)	12	相磯・蟹沢	1962~64
Nitrofurazone	ラット(ウィスター)	12	相磯・蟹沢	1962~64
Furazolidone	ラット(ウィスター)	12	相磯・蟹沢	1965
AF-3	ラット(ウィスター)	12	相磯・蟹沢	1965
AF-2+Sorbic acid	ラット(ウィスター)	17	山岡 宏	1966
Tylosin	ラット(ウィスター)	20	相磯・蟹沢	1966
Salicylic acid	ラット(ウィスター)	12	小島 靖	1969(抄)

* 千葉大学：千葉市弥生町 1-33

第2表 タール系食用色素の慢性毒性実験

物質名	使用動物	投与期間(月)	発表者	発表年月
Ponceau 3R	ラット(ウィスター)	24	相磯・蟹沢	1965~66
Sunset Yellow FCF	ラット(ウィスター)	24	相磯・蟹沢	1966~67
Oil Red XO	ラット(ウィスター)	18	沖田正彦	1970
Oil Yellow OB	ラット(ウィスター)	19	大塚嘉則	1969
タール色素の併用	ラット(ドンリウ)	15	相磯ら	1968(抄)
Guinea Green	ラット(ドンリウ)	15	相磯ら	1968(抄)

の実験であるが、同時にニトロフラゾン⁴⁾についても再度12か月の毒性試験を行なった。AF₂とソルビン酸の併用投与17か月の試験は1967年山岡⁵⁾によって報告された。抗生物質についてはクロルテトラサイクリンの6か月投与、イソクロルテトラサイクリン⁶⁾の3か月投与の報告があるが、タイロシン⁷⁾についてはラット2か年の慢性毒性試験が正確に行なわれた。タイロシンはマイコプラズマによる肺感染を防止する作用があるので、実験動物の肺感染による死亡を予防する効果があらわれて、2か年飼育の終了まで多数のラットが生き残った。この実験からタイロシンは毒性そのものは非常に低い物質で、添加物としての適性は別として、動物実験における肺感染の防止剤としての利用が考えられる。食品保存料としてのサリチル酸の有害性については1969年から取りあげてきた。

食用色素については昭和40年添加物の指定基準として作られた毒性試験の新しい方式に則って行なわれた実験であって、第2表に示したようにポンソー 3R⁸⁾、サンセットイエロー⁹⁾、オイルレッド XO¹⁰⁾、オイルイエロー OB¹¹⁾¹²⁾、オイルイエロー AB などが取りあげられた。さらに2つのタール色素の併用実験の際、ギネアグリーンの検討も行なわれた。なおこの表にはあげてない未発表の実験データを多くもっている。

2. 添加物のいわゆる相乗毒性

筆者らが実施してきた一連の毒性試験の中から、2つの添加物の同時投与による、いわゆる相乗毒性の有無を検討した成績をのべる。これらの実験はいずれも報文、または学会発表してあるので詳細は原著に譲る。

(1) トリフェニルメタン系のタール色素ギネアグリーンの¹³⁾を1%に加えた飼料に第3表のようにさらに①脂溶性タール色素オイルレッド XO を0.02% 加えた群、②ポンソー 3R を0.02% 加えた群、③バターイエロー(DAB)を0.01%に加えた群、④ギネアグリーンの単独1%群、⑤オイルレッド XO、0.02% 単独群、⑥ポンソー 3R 0.02% 単独群、⑦DAB 0.01% 単独群、⑧無投与対照群の8群、ウィスターラット、1群16~20匹、投与期間は15か月である。オイルレッド、ポンソー 3R の0.02%添加という濃度は肝障害、肝腫瘍をもたす作用は極めて弱いと推定されるものである。このような組合

第3表 タール系食用色素の併用投与実験

動物: 市販 Wistar Rat

色素組合せと濃度
 ①(Guinea Green 1% + Oil Red XO 0.02%)
 ②(Guinea Green 1% + Ponceau 3R 0.02%)
 ③(Guinea Green 1% + DAB 0.01%)
 ④(Guinea Green 1%)
 ⑤(Oil Red XO 0.02%)
 ⑥(Ponceau 3R 0.02%)
 ⑦(DAB 0.01%)
 ⑧(無添加)

動物数: 1群 20~16, ♂♀128

投与期間: 15 か月

わせ実験の結果は、各群とも死亡率に差異はなく、と殺動物の臓器の重量では DAB+ギネアグリーンの群が肝ガン発生のため肝重量が増加していたほかは大差なく、併用投与による肥大、萎縮の所見はみられなかった。顕微鏡検査でも単独投与群と併用投与群との間に相違は認められなかった。すなわち本実験からは、2種のタール色素の併用は発癌性を増強したり、肝の退行性変性を強くするような現象は認められないといえよう。

(2) タール系色素のオイルレッドとポンソー 3R の併用実験を行なった¹⁴⁾。従来の経験からオイルレッド XO は肝に選択的に退行変性を起こさせ、0.25%以上では早期に動物を死亡させる作用をもつ。ポンソー 3R は高濃度で長期投与すると肝に増殖性の変性をもたらし、肝腫瘍の発生を促進する。したがって肝を標的臓器とすれば、質的に相違する作用をもつ両色素の相互作用が期待されるわけである。実験はオイルレッド XO の0.25%、ポンソー 3R の0.5%の併用、オイルレッド 0.25%単独、ウィスターラット、投与期間は6か月~12か月にわたった。投与15週以前と15週以後のものに分けて観察すると、15週以前の動物はオイルレッド単独群も併用群も肝細胞の壊死が進み肝組織の繊維化を来とし、肝硬変となって死亡する。これに反して15週以上生残った動物にあっては、ポンソー 3R の影響が出現して再生像が強く認められ、第4表にみられるように、併用群では再生像が顕著にみられる。しかし延命効果までには至らない。すなわち本組合せではそれぞれの持つ作

第4表 オイルレッドとボンソ-3R 併用投与
ラット肝の再生像

投与法 再生像 投与期間	オイルレッド XO		オイルレッド +ボンソ-3R	
	- ~ ±	+ ~ 卍	- ~ ±	+ ~ 卍
15 週以下	3/3	0/3	2/2	0/2
15 週以上	5/11	6/11	1/11	10/11

用が同時に、また相前後して出現するが、そのため相互の反応が修正されるほどまでには影響されていないことが観察された。

(3) デヒドロ酢酸とバターイエローの併用実験

デヒドロ酢酸 (DHA) とバターイエロー (DAB) の併用で DHA が DAB の肝ガン発生率に影響を及ぼすかどうかをみたもので、すでに宮木¹⁵⁾・赤尾らによって報告され DHA が DAB 肝ガンの発生を抑制するという結果が出ている。蟹沢¹⁶⁾らの記載によると、DAB (0.06%) 単独投与と DAB (0.06%) + DHA (0.2%) 群とでは肝ガン発生率は前者が 27.3%、後者は 0%、肝腺腫の発生率は前者が 22.7%、後者は 6.3%、肝細胞の異型増殖は前者が 91%、後者は 62.5% にみられた。すなわち DHA は著明に DAB 肝ガンの発生を抑制する。しかしこの抑制作用は完全なものではなく、悪性化を阻止するものであることを示している。赤尾らは DHA が DAB の代謝過程でタンパクと結合する色素の生成を阻害するものと推定している。

(4) AF₂ とソルビン酸の併用実験⁵⁾

A 群, AF₂ 0.01% + ソルビン酸 1.0%, B 群, AF₂ 0.001% + ソルビン酸 0.1%, C 群, AF₂ 0.01% 単独, D 群, AF₂ 0.001% 単独。ウィスターラット, 12~17 か月投与の 4 群とした。AF₂ 0.01% の添加はおおよそ本剤の最大無作用量より若干低い濃度と推定されるものである。この実験の結果はつぎの通りである。各群に成長障害はなく (第 1 図), 死亡率にも差異はない。各臓器の肥大, 萎縮の所見は認められない。筆者らの経験では AF₂ を 0.1% 以上投与すると肝の肥大がみられ, 0.2% 以上だと睪丸の萎縮がみられることがあるが, 本実験のような濃度ではこのような作用はみられていない。したがって, 現在実際に使用されている AF₂ とソルビン酸の併用添加はとくに相乗の毒性の出現の懸念はないものと見なされる。しかしより高い濃度での実験も必要なので, 現在 AF₂ 0.2% + ソルビン酸 5% の組み合わせ実験を実施中である。

(5) サリチル酸とアルコールの併用実験¹⁷⁾

日本酒にサリチル酸を添加してラットに胃ゾンデをもって投与して, 水サリチル酸けん濁液のそれと比較した。この実験ではサリチル酸またはサリチル酸ソーダを

第1図 AF₂ + Sorbic acid 併用投与ラットの成長曲線

水に添加した群と日本酒に添加した群との間に胃の出血, その他の所見に相違は認められなかった。

以上のように, 筆者らの行なった 5 系列の実験においては, 2 種の添加物の併用による毒性の増強, いわゆる相乗毒性と思われる作用はみることができなかった。しかし組合わせの如何によっては, 新しい意味での食べ合わせの現象がないとは限らないので, 今後注意して検討を進めることが望ましい。

3. 慢性毒性試験の判定基準の問題点

慢性毒性実験を標準的に行なって, 有害性もしくは安全性を判定する場合に技術的にも理論的にも若干の問題点が指摘される。添加物投与動物の肝, 腎, 内分泌臓器などの病理組織標本を検査する場合, 化学物質の影響が常に正確にかつ定量的にその標本に表現されていると断定してよいかどうかということである。このことは中毒量と無作用量の限界の判定のときとくに問題となる。一般に各実験で設定される無添加対照群の動物においても, 拘束された環境で 2 か年間飼育されるという条件下では健康な肝, 正常な腎ではなく, 肺感染, 脾臓のペモジリン沈着, 肝の軽度の脂肪沈着, 腎盂の感染像などは日常的に観察されるので, 実験群は常に対照群のそれとの対比で判定される。このさい低濃度投与群において, 物質の投与を中止すると形態上の病変も修復される程度の可逆性の変性像をどの程度に, どの段階で判定するかは専門家の間でも容易でないといわれている。この点については, 投与の初期の段階で, 機能検査では異常値が出るが, 投与中止すると修正されるという状態が繰返されているうちに, 1 年半以上の経過の中で, 不可逆性の変化として, 形態学的にとられるはずのものであるとする考えをよりどころとしている。そのゆえに 2 か年の長期投与の条件を重視するわけである。増殖性の変化にしても 1 年以上の飼育になると異型増殖, 腺腫様増殖, ときに肉腫, ガン腫などの自然発生の腫瘍が存在するので添加物の投与との関連を統計上で判定することが困難

の場合は少なくない。

つぎには実験動物の系、種の相違による毒性、発ガン性の現われ方のパターンの差違の問題がある。とくに腫瘍の発生率が顕著に相違することがある。ラット、マウスの系の選択は至難のことであり、万全を期する場合は動物毎に系の異なるものを総て使用しなければならない。

普通動物実験は健康動物を選定して使用することになっているが、それとは別に解毒作用や代謝機能が障害されているような状態を設定して、添加物を投与する実験を行なわないと、抵抗性の弱い個体に対する安全性が保証できないのではないかという疑問が提起されることがある。しかし軽度の障害をもつ動物を使用しての安全性試験を指定基準の中に組み込んでゆくことは技術的に困難であり、反って判定を誤るおそれもある。ただ研究課題としては今後検討の要があらう。筆者らの経験では例えばオイルレッド、オイルイエローのごとき脂溶性タール色素が肝に選択的にかつ正確に退行性変性をもたらすことを利用して、適当な濃度、0.03~0.05%に添加して肝に軽度の病変を記させておき、供試添加物の作用をみる実験など可能ではないかと思っている。

4. MLN (最大安全量) および ADI (1日摂取許容量) 設定の問題点

1つの添加物の濃度を3段階に分け、最大安全量(maximum no effect level), 最小中毒量, 確実中毒量として動物に投与するのであるが、実際にその濃度段階が適切に計算されるものではない。MNLが存在するかどうかはほとんど予測できない。ともかく慢性毒性試験を ax mg/kg, ax^2 mg/kg, ax^3 mg/kg, 0 mg/kgの4段階で実施して ax mg/kgの濃度群の動物の成長阻害がなく、死亡率も対照群と有意の差がなく、と殺時の剖検所見に異常所見がなく、主要臓器の重量、比体重値に異常が見出されず、主要臓器の病理組織学的検査で対照群のそれと差異が発見されなかった。すなわち諸検査の結果、薬剤投与の影響とみられる中毒性変化のいささかも認められないことが証明され ax^2 mg/kgでは中毒性病変が存在するとなれば ax mg/kgをMNLとする。MNLの数値が確定すれば、この数値を基準にして動物からヒトへの換算を行なう。この際100の安全係数を採用する。す

なわち $ax/100$ mg/kgをヒトの1日摂取許容量(acceptable daily intake, ADI)とする。ここに100の安全係数をとったことに対しては特別に計算される根拠はない。やや大まかなラットとヒトとの一般的な薬物に対する感受性の差異、ヒトにおける個人差、多数の添加物の同時摂取の場合の考慮などが総合的になされて100倍の数値が推測値として容認されている。しかしこのことは最も厳密なるべき安全性試験の評価を生物学の乗りこえられない限界のなかで判断しなければならないという弱点を持つものである。国際的な約束事であるとして回避するのではなく、中毒医学、安全医学の基本問題として総合的に解決する努力をしなければならない事柄と思われる。しかしまた別の観点に立つと、現在行なわれている安全性のための慢性毒性試験は、ヒトでの実際使用量とは著しくはずれた大量を摂取させており、この量に動物が2年間耐えて異常がなかったのは、もともと安全性の高いものが選択されていることになるという見方も成立するかも知れない。

ところで添加物のうちもっとも問題になりそうな防腐剤¹⁰⁾についてMNLとADIとの関係を見ると第5表のようになる。まずMNL値は、安息香酸では500 mg/kg, ソルビン酸では2,500 mg/kg, パラオキシ安息香酸エステル類では1,000 mg/kg, プロピオン酸塩では2,000 mg/kgをいうように国際的な評価が定められている。サリチル酸では250 mg/kg (推定), デヒドロ酢酸では50~100 mg/kg (推定), フリルフラマイド(AF₂)では8.5 mg/kg (推定)である。これに対しADIについてみると、WHO/FAO専門家委員会で定められた数値は、安息香酸とその塩類では5 mg/kgで安全係数は100, ソルビン酸とその塩類では12.5 mg/kgで安全係数は200, パラオキシ安息香酸エステル類では2 mg/kgで係数は500, プロピオン酸塩では10 mg/kgで係数は200となっていて安全係数は単にMNLの数値が大きく低毒性であるということよりも利用度なども考慮した上きめられているようである。サリチル酸, デヒドロ酢酸, フリルフラマイドは国際的なADIの評価がなされていないので仮に100の安全係数をとってみると、ADIはそれぞれ2.5, 0.5~1.0, 0.085 mg/kgとなる。

第5表 防腐剤の最大安全量(MNL), 1日摂取許容量(ADI), 1日平均推定摂取量

防 腐 剤	MNL	ADI	推定平均摂取量
安 息 香 酸 と そ の 塩 類	500	5 (100)	0.2 [1]
サ リ チ ル 酸	250	2.5 (100)	0.18 [4]
ソ ル ビ ン 酸 と そ の 塩 類	2500	12.5 (200)	9 [37]
パ ラ オ キ シ 安 息 香 酸 エ ス テ ル 類	1000	2 (500)	0.1 [0.5]
プ ロ ピ オ ン 酸 塩 類	2000	10 (200)	13.4 [79]
デ ヒ ド ロ 酢 酸 と そ の 塩 類	50~100	0.5~1 (100)	0.8 [6.8]
フ リ ル フ ラ マ イ ド (AF-2)	8.5	0.085 (100)	0.02 [0.1]

数値は mg/kg, () 内は安全係数, 推定平均摂取量は昭和40~41年調査, [] 内は最高摂取量

5. 防腐剤の摂取量と安全評価

わが国においてどのくらい保存料と殺菌料が摂取されているかの調査は従来は例年行なわれる国民栄養調査の資料を利用したものであるが、この資料が不適当なものであることはよく知られていた。昭和40~41年に亘って科学技術庁¹⁰⁾は食品添加物の1人、1日摂取量を算定するために食品添加物使用食品の1人1日当りの摂取量の調査を行ない、食品73品目、食品添加物26品目について調査を実施した資料にもとづいて、これら添加物の摂取量の実状を報告した。防腐剤について、この調査を借用して第5表にその数値を示してある。調査人員について推定平均摂取量をみると、安息香酸は0.2 mg/kg、サリチル酸は0.18 mg/kg、ソルビン酸は9 mg/kg、プロピオン酸塩は13.4、デヒドロ酢酸は0.8 mg/kg、フリルフラマイドは0.02 mg/kgであってプロピオン酸塩はADIを上回っているが他のものはいずれもADIの範囲内にあって、この数値の限りにおいては防腐剤の現状は安全圏内にあるとみてよい。ただ添加物の摂取量の計算に当っては平均値は適当ではなく食品別に摂取係数を考慮しなければならない。第5表の[]内の数字は総ての添加食品の最高摂取量から計算した添加物の摂取推定量であるが、これだと安息香酸とパラオキシ安息香酸エステル類以外はADIを上回っており、防腐剤の使いすぎの感じを与えるものとなる。平均値と最高値の間に実際の摂取量があるわけなので、防腐剤の使用量は今後警戒を要するという程度である。昭和46年2月サリチル酸、デヒドロ酢酸、プロピオン酸塩の使用基準が改正され添加濃度が低くなったので、改善の方途がとられつつあるものとみてよい。

6. 食品産業と添加物の安全性

食品工業に従事している人々の添加物使用に当っての安全性確保についての心構えには十分信頼をおくことができようが、食品工業という企業そのものには、遵法精神はあっても、倫理性に欠けているので、行政の指導、監視が不十分だと、自動制御とか自主規制で許容範囲内にコントロールされることを期待することは無理となろう。安全性の問題はこれから先は実験医学の域を越えて社会医学の立場で論じなければならなくなる。社会医学の面で論議すると、安全性という概念そのものに疑問点が出されるであろう。しかしここではそのことには触れないで、実験医学の上での論及に止めた。

文 献

- 1) 柴田鉄郎：千葉大腐敗研報告. 6, 1 (1953).
- 2) 竹内端弥：千葉医会誌. 32, 665 (1955).
- 3) 相磯和嘉、蟹沢成好ら：食衛誌. 3, 365 (1962).
- 4) 蟹沢成好ら：同上. 6, 163 (1965).
- 5) 山岡宏ら：千葉医会誌. 42, 362 (1966).
- 6) 相磯和嘉ら：千葉大腐敗研報告. 10, 18 (1957).
- 7) 相磯和嘉ら：日本衛生会誌. 20, 383 (1966).
- 8) 相磯和嘉、蟹沢成好ら：食衛誌. 7, 211 (1966).
- 9) 相磯和嘉：千葉大腐敗研報告. 20, 101 (1967).
- 10) 沖田正彦：千葉医会誌. 45, 392 (1969).
- 11) 大塚嘉則：日本衛生会誌. 23, 501 (1969).
- 12) 相磯和嘉：肝臓. 11, 73 (1970).
- 13) 大塚嘉則ら：日本衛生会誌(抄). 23, 94 (1968).
- 14) 蟹沢成好：日本病理会誌(抄) (1969).
- 15) 宮木高明：千葉大腐敗研報告. 19, 121 (1966).
- 16) 蟹沢成好ら：日本ガン学会総会記事 (1965) p. 158.
- 17) 相磯和嘉：臨床と研究. 48, 416 (1971).
- 18) WHO Technical Report Series No. 228.
- 19) 科学技術庁資源調査会：食品添加物の現状と問題点 (1969).

質 疑 応 答

問 食品添加物の遺伝子に及ぼす影響についていろいろいわれているが、これは食品添加物による中毒あるいは致死と同等、あるいはそれ以上に重要な問題であると思う。現在、政府が認めている食品添加物が遺伝子にどのような影響を及ぼすかについてどのようにお考えであるか？

答 *in vitro* でいろいろ実験をやって、染色体に及ぼす影響を調べることは、それ自身大変興味あるまた重要な研究であることに違いない。しかし、このことが添加物の有害性につながるかどうかということは、まだそれまでにやらなければならないことがたくさんあって、そのような実験を安全性を評価する方法の中に義務として入れるかどうかについては、私はそこまで積極的に採用すべきであるとは考えない。しかし、そのような実験を予めやっておいて、そこで問題があれば、当然動物実験の際、三代にわたる子孫に対する影響をみるのであるから、そこで捕捉されるであろうと思われる。