報 文

F344 ラットによるペカンナッツ色素の
90 日間反復混餌投与毒性試験

(平成 10 年 8 月 6 日受理)

関田 清司*	斉 藤 実*	内田 雄幸*
小 野 敦 *	小川 幸男*	金子 豊蔵*
降 矢 強*	黒川 雄二*	井 上 達*

Pecan Nut Color: 90-Days Dietary Toxicity Study in F344 Rats

Kiyoshi SEKITA, Minoru SAITO, Osayuki UCHIDA, Atsushi ONO, Yukio OGAWA,
Toyozo KANEKO, Tsuyoshi FURUYA, Yuji KUROKAWA and Tohru INOUE(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan)

A subchronic toxicity study of pecan nut color was performed using F344 rats of both genders. Pecan nut color, a flavonoid extracted from the coat of pecan nuts (*Carya pecan* ENGL. et GRAEBN.), is permitted for use as a food color by the Ministry of Health and Welfare, Japan. The product containing 60% dextrin (added in the process of manufacture) was used in the experiment. Rats were administered pecan nut color at concentrations of 0% (basal diet, control group), 0.5%, 3.0% and 5.0% in the basal powder diet for 90 days. Rats in the vehicle control group were given dextrin at the concentration of 3.0% in the same manner as used for the experimental groups. No significant changes related to pecan nut color or dextrin were found in body weight or food consumption throughout the observation period, or in hematology, serum chemistry or organ weights at autopsy. Furthermore, neither gross nor histological examination revealed any adverse effect or significant difference from the control. It is concluded that feeding of diet containing pecan nut color at a concentration of 5.0% (1,287 mg/kg/day for males and 1,344 mg/kg/day for females as mean intake of pecan nut color without dextrin) for 90 days has no adverse effect in rats.

(Received August 6, 1998)

Key words: ペカンナッツ色素 pecan nut color; 90 日間反復投与毒性試験 90-days toxicity study; F344 ラット F344 rat; フラボノイド flavonoid

緒 言

食品添加物について、我が国では合成添加物だけを厚生大臣の「指定制」としてきたが、平成 7 年 5 月の食品衛生法及び栄養改善法の一部改正に関する法律（平成 7 年法律第百一号）により¹⁾、厚生大臣の指定制の範囲が従来の合成添加物品から天然添加物品の範囲まで拡大され、今後新たに開発される天然由来の添加物は指定制

度の対象にすることにされた。しかし、既に販売・製造・使用などが行われてきた天然由来の添加物については経過措置として、既存添加物名簿¹⁾に収載し、引き続き、販売・製造・輸入を認めることとした。ペカンナッツ色素 (pecan nut color) は既存添加物名簿収載品の一つで、クルミ科ペカン (*Carya pecan* ENGL. et GRAEBN.) の果皮又は渋皮より、熱時水もしくは含水エタノールで抽出して得られたもの、または熱時酸性水溶液で抽出し、中和して得られたもので、主色素はフラボノイドとされている¹⁾。本色素は褐色を呈し、スモーク色やロー

* 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野賀 1-18-1

Fig. 1. Body weight and food consumption curves of male F344 rats fed diet containing pecan nut color for 90 days

Fig. 2. Body weight and food consumption curves in female F344 rats fed diet containing pecan nut color for 90 days

Table 1. Mean Body Weight, Mean Food Intake and Mean Pecan Nut Color Intake in F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
Male					
Mean body weight	245.6±50.6	249.8±52.6	250.0±52.9	249.6±53.1	246.5±51.7
Mean food intake (g/rat/day)	14.2±0.7	14.2±0.4	14.9±0.5***	14.4±0.7	15.1±0.6***
Mean pecan nut color intake (mg/kg b.w./day)	0	0	125±34	365±104	1,287±344
Mean pecan nut color intake containing vehicle (mg/kg b.w./day)	0	1,799±517 (Dextrin)	313±85	912±261	3,217±860
Female					
Mean body weight	148.4±20.0	150.3±21.5	149.6±20.6	146.0±19.3	147.9±19.4
Mean food intake (g/rat/day)	9.5±0.4	9.4±0.4	9.4±0.4	9.5±0.5	9.7±0.5
Mean pecan nut color intake (mg/kg b.w./day)	0	0	128±27	398±86	1,344±286
Mean pecan nut color intake containing vehicle (mg/kg b.w./day)	0	1,926±427 (Dextrin)	320±68	996±215	3,361±715

Values are mean±SD.

Significantly different from control: ** $p < 0.01$. Significantly different from vehicle control: * $p < 0.05$,

** $p < 0.01$.

スト色として開発された着色料であるが、市場での流通実績はほとんどない。既存添加物名簿に記載されている天然物由来の添加物の安全性に関しては、動物実験などに基づいた安全性の確認はほとんど行われておらず、長年食品として使用されてきた経緯に基づき届出・許可されてきた。本色素に関しても、ペカンナッツ自体は生食あるいは炒めて食べるほか、キャラメル、パン、洋菓子原料、アイスクリームなどに利用され、栽培もなされて

いるものの²⁾安全性試験に関する報告は見あたらない。また、既存天然添加物の安全性評価に関する調査報告³⁾によれば、ペカンナッツ色素はJECFA (FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会) での安全性評価がなされていない、欧米での添加物としての流通が確認できない、また基原、製法、本質などから見て類似している添加物の安全性の成績がないなどの理由から、動物を用いた安全性試験の実施を含む安全性についての検討が必要な品

Table 2. Hematological Findings in Male F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	9.66 $\pm$ 0.30	9.73 $\pm$ 0.20	9.59 $\pm$ 0.23	9.54 $\pm$ 0.18	9.47 $\pm$ 0.16*
Hb (g/dL)	16.0 $\pm$ 0.3	16.0 $\pm$ 0.2	16.0 $\pm$ 0.3	15.9 $\pm$ 0.3	15.7 $\pm$ 0.3
Ht (%)	45.7 $\pm$ 0.9	45.9 $\pm$ 1.2	45.4 $\pm$ 1.2	45.0 $\pm$ 1.0	44.9 $\pm$ 1.0
MCV (fL)	47.3 $\pm$ 0.6	47.2 $\pm$ 0.4	47.4 $\pm$ 0.5	47.2 $\pm$ 0.4	47.5 $\pm$ 0.5
MCH (pg)	16.6 $\pm$ 0.2	16.5 $\pm$ 0.2	16.6 $\pm$ 0.2	16.6 $\pm$ 0.2	16.6 $\pm$ 0.1
MCHC (g/dL)	35.1 $\pm$ 0.3	34.9 $\pm$ 0.6	35.1 $\pm$ 0.4	35.2 $\pm$ 0.5	35.1 $\pm$ 0.4
Plt ($10^6/\mu\text{L}$)	0.50 $\pm$ 0.06	0.49 $\pm$ 0.10	0.52 $\pm$ 0.07	0.51 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.06
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	5.65 $\pm$ 1.05	6.30 $\pm$ 1.40	5.55 $\pm$ 0.89	6.09 $\pm$ 1.18	5.64 $\pm$ 0.66
Differential counts (%)					
Baso	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Eosino	0.9 $\pm$ 0.9	1.0 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.6
Neut-B	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Neut-S	24.2 $\pm$ 4.2	21.5 $\pm$ 7.2	21.5 $\pm$ 7.2	19.6 $\pm$ 2.3	21.8 $\pm$ 4.9
Lympho	73.7 $\pm$ 4.2	76.0 $\pm$ 7.1	76.0 $\pm$ 7.1	78.0 $\pm$ 2.2	75.7 $\pm$ 5.4
Mono	1.3 $\pm$ 0.5	1.5 $\pm$ 0.9	1.5 $\pm$ 0.9	1.5 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.8

Values are mean $\pm$ SD.

Significantly different from vehicle control: * $p < 0.05$.

RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, Plt: platelet count, WBC: white blood cell count, Baso: basophil, Eosino: eosinophil, Neut-B: band neutrophil, Neut-S: segmented neutrophil, Lympho: lymphocyte, Mono: monocyte

Table 3. Hematological Findings in Female F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	8.94 $\pm$ 0.30	8.96 $\pm$ 0.35	8.81 $\pm$ 0.27	8.86 $\pm$ 0.29	8.71 $\pm$ 0.44
Hb (g/dL)	15.9 $\pm$ 0.5	15.9 $\pm$ 0.5	15.7 $\pm$ 0.4	15.7 $\pm$ 0.4	15.4 $\pm$ 0.8
Ht (%)	44.4 $\pm$ 1.4	44.6 $\pm$ 1.8	43.7 $\pm$ 1.2	43.9 $\pm$ 1.4	43.3 $\pm$ 2.1
MCV (fL)	49.7 $\pm$ 0.2	49.8 $\pm$ 0.3	49.7 $\pm$ 0.2	49.6 $\pm$ 0.3	49.7 $\pm$ 0.3
MCH (pg)	17.8 $\pm$ 0.1	17.8 $\pm$ 0.2	17.8 $\pm$ 0.2	17.7 $\pm$ 0.2	17.7 $\pm$ 0.1
MCHC (g/dL)	35.7 $\pm$ 0.3	35.7 $\pm$ 0.4	35.8 $\pm$ 0.3	35.7 $\pm$ 0.3	35.7 $\pm$ 0.3
Plt ($10^6/\mu\text{L}$)	0.47 $\pm$ 0.15	0.49 $\pm$ 0.08	0.53 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.07	0.45 $\pm$ 0.12
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	5.25 $\pm$ 0.72	5.46 $\pm$ 0.85	4.74 $\pm$ 0.64	4.86 $\pm$ 0.33	5.08 $\pm$ 1.43
Differential counts (%)					
Baso	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Eosino	1.5 $\pm$ 1.0	1.3 $\pm$ 1.3	0.7 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.7
Neut-B	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Neut-S	17.2 $\pm$ 3.7	20.2 $\pm$ 4.4	20.8 $\pm$ 5.3	16.3 $\pm$ 4.1	23.6 $\pm$ 6.3
Lympho	80.4 $\pm$ 4.0	77.1 $\pm$ 4.3	77.4 $\pm$ 5.3	81.4 $\pm$ 3.9	74.4 $\pm$ 5.9
Mono	1.0 $\pm$ 0.5	1.3 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.7

Values are mean $\pm$ SD.

RBC: red blood cell count, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, Plt: platelet count, WBC: white blood cell count, Baso: basophil, Eosino: eosinophil, Neut-B: band neutrophil, Neut-S: segmented neutrophil, Lympho: lymphocyte, Mono: monocyte

Table 4. Serum Biochemical Findings in Male F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
TP (g/dL)	6.17±0.13	6.26±0.16	6.13±0.14	6.08±0.15	6.16±0.12
Alb (g/dL)	3.86±0.08	3.91±0.10	3.81±0.08	3.81±0.12	3.87±0.08
A/G	1.68±0.05	1.67±0.08	1.64±0.04	1.68±0.08	1.69±0.07
BUN (mg/dL)	19.7±2.3	18.1±2.1	18.9±2.4	18.0±2.4	19.3±2.3
CRN (mg/dL)	0.34±0.02	0.33±0.02	0.34±0.03	0.34±0.02	0.35±0.03
Glc (mg/dL)	111±5	113±8	113±8	111±6	106±4
TG (mg/dL)	94±22	97±22	94±13	99±18	81±10
T-Chol (mg/dL)	64±4	62±5	64±6	65±2	61±5
T-Bil (mg/dL)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01
ALP (mu/mL)	199±17	204±22	207±24	195±18	201±18
ALT (mu/mL)	62±11	57±7	51±5 ^{##}	55±8	52±4 [#]
AsT (mu/mL)	90±17	95±21	83±9	86±18	97±16
γ-GT (mu/mL)	0.88±0.47	0.55±0.33	1.04±0.54 [*]	0.69±0.31	0.50±0.28
Ca (mg/dL)	10.3±0.1	10.2±0.2	10.4±0.2	10.4±0.2	10.4±0.2
P (mg/dL)	5.2±0.3	5.8±0.4 ^{##}	5.5±0.5	5.5±0.3	5.9±0.2 ^{##}
Na (mEq/L)	137±2	138±1	137±1	138±1	137±2
K (mEq/L)	4.6±0.3	4.7±0.5	4.5±0.3	4.7±0.3	4.9±0.3
Cl (mEq/L)	102±2	100±1	100±2	101±2	101±2

Values are mean±SD.

Significantly different from control: [#] $p < 0.05$, ^{##} $p < 0.01$. Significantly different from vehicle control:

^{*} $p < 0.05$.

TP: total protein, Alb: albumin, A/G: albumin-globulin ratio, BUN: blood urea nitrogen, CRN: creatinine, Glc: glucose, TG: triglycerides, T-Chol: total cholesterol, T-Bil: total bilirubin, ALP: alkaline phosphatase, ALT: alanine aminotransferase, AsT: aspartate aminotransferase, γ-GT: γ-glutamyl transpeptidase, Ca: calcium, P: inorganic phosphorus, Na: sodium, K: potassium, Cl: chloride

目の一つとして挙げられている。

そこで、ペカンナッツ色素の反復摂取による毒性変化と無毒性量を明らかにする目的で、ラットによる90日間反復投与毒性試験を実施した。

試験材料及び方法

1. 被験物質

ペカンナッツ色素原体の入手が困難なことから、デキストリン 60% を含むペカンナッツ色素（大阪化学合金（株））を用いた。本色素はこのような配合で生産、販売、使用されている。検体は褐色微粉末であった。

2. 動物及び飼育条件

5週齢のF344/DuCrjラット（SPF）、雄雌各55匹を日本チャールス・リバー（株）より購入し、基礎飼料（CRF-1粉末飼料、オリエンタル酵母工業（株））と水道水で1週間馴化飼育後、健康な雄雌50匹を実験に供した。飼育は室温24±1℃、湿度55±5%、換気回数18/時（オールフレッシュ）、照明サイクル12時間（照明5:00～17:00）の動物室で、ポリカーボネート製ケージ（W26 cm×L42 cm×H17 cm、床敷使用）に5匹ずつ収容し行った。

3. 投与方法及び群構成

被験物質の投与は粉末飼料（CRF-1粉末飼料）による混餌投与により行った。群構成としては、体重と摂餌量を指標にした12日間の反復投与予備試験の結果を参考に被験物質投与群として、ペカンナッツ色素を混餌投与試験の上限とされる5.0%⁴⁾を含む飼料を摂取させた群（5.0%群）、その10分の1の0.5%添加飼料を摂取させた群（0.5%群）及びこれらの中間用量として1.5%添加飼料を摂取させた群（1.5%群）の3群を設けた。また、媒体対照群（Vehicle群）として5.0%群と同じ用量のデキストリンを含むデキストリン3.0%添加飼料を摂取させた群及び無処置対照群（Cont群）として基礎飼料を摂取させた群を設けた。各群の動物数は雄雌各10匹とし、群分けは投与開始前日にノルム値を用いた山崎らの方法⁵⁾により行った。試験開始後は90日間それぞれの飼料を自由に摂取させた。

4. 検査項目及び方法

1) 一般状態、体重、摂餌量及び被験物質摂取量

全動物について、一般状態の観察を毎日、体重及び摂餌量の測定を週1回行った。摂餌量については、ケージごとの7日間の摂餌量を基に、その週の1匹の1日

Table 5. Serum Biochemical Findings in Female F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
TP (g/dL)	6.10±0.29	6.05±0.11	6.17±0.16	6.08±0.27	6.05±0.29
Alb (g/dL)	4.05±0.19	4.04±0.12	4.08±0.11	4.09±0.17	4.03±0.23
A/G	1.98±0.07	2.02±0.11	1.95±0.07	2.05±0.06	2.00±0.11
BUN (mg/dL)	18.4±1.4	17.9±1.6	17.3±1.8	17.8±1.9	17.7±2.0
CRN (mg/dL)	0.36±0.01	0.35±0.03	0.36±0.03	0.35±0.02	0.35±0.03
Glc (mg/dL)	100±7	105±12	103±8	100±4	100±9
TG (mg/dL)	79±30	68±17	63±21	57±26	58±20
T-Chol (mg/dL)	90±8	84±6	89±9	90±8	84±8
T-Bil (mg/dL)	0.07±0.01	0.05±0.01**	0.06±0.02	0.06±0.01	0.05±0.01**
ALP (mu/mL)	139±11	139±16	151±18	140±16	141±7
ALT (mu/mL)	42±6	40±3	39±3	38±3	42±5
AsT (mu/mL)	88±15	86±6	80±8	89±15	92±12
γ-GT (mu/mL)	0.06±0.10	0.10±0.20	0.07±0.16	0.07±0.12	0.14±0.18
Ca (mg/dL)	10.2±0.3	10.1±0.2	10.2±0.2	10.1±0.2	10.0±0.2
P (mg/dL)	4.5±0.6	4.5±0.5	4.9±1.0	4.6±0.5	4.5±0.5
Na (mEq/L)	140±1	141±3	139±1	140±2	139±2
K (mEq/L)	4.6±0.3	4.7±0.3	4.4±0.3	4.5±0.2	4.8±0.4
Cl (mEq/L)	102±2	100±3	102±1	103±2*	103±1**

Values are mean±SD.

Significantly different from control: ** $p < 0.01$. Significantly different from vehicle control: * $p < 0.05$,

** $p < 0.01$.

TP: total protein, Alb: albumin, A/G: albumin-globulin ratio, BUN: blood urea nitrogen, CRN: creatinine, Glc: glucose, TG: triglycerides, T-Chol: total cholesterol, T-Bil: total bilirubin, ALP: alkaline phosphatase, ALT: alanine aminotransferase, AsT: aspartate aminotransferase, γ-GT: γ-gultamyl transpeptidase, Ca: calcium, P: inorganic phosphorus, Na: sodium, K: potassium, Cl: chloride

当たりの平均摂餌量を計算により求めた。また、この摂餌量と体重を基に 7 日間ごとに 1 匹の 1 日当たりの平均被験物質摂取量を求めた。

2) 血液学的検査

実験終了日に一晩 (16 時間) 除餌した全例について、エーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血した試料について赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、血小板数 (PLT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC) を Sysmex M-2000 (東亜医用電子(株)) を用いて測定した。またライト染色血液塗抹標本作製し、白血球百分比を MICROX HEG120A (立石電気(株)) で観察した。

3) 血清生化学的検査

血液学的検査と同じ血液より得られた血清を用いて総タンパク (TP)、アルブミン (Alb)、A/G 比、グルコース (Glc)、総コレステロール (T-Chol)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T-Bil)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRN)、トランスアミナーゼ (AsT, ALT)、γ-GTP (γ-GT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、電解質

(Na, K, Cl, Ca, P) について自動分析装置日立 7150 形 ((株)日立製作所) を用いて測定した。

4) 剖検、臓器重量及び病理組織学的検査

血液試料を採取後、再びエーテル麻酔を施し、頸動脈血放血により致死させた後、剖検を実施した。摘出臓器のうち、脳、心臓、肺、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣 (卵巣) 及び副腎については重量測定を行った。また、重量測定臓器に加え、下垂体、舌、眼球、唾液腺、甲状腺、骨髄、気管、大動脈、膵臓、食道、胃、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、リンパ節 (腸間膜)、膀胱、大腿骨、骨格筋、脊髄、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣及び子宮を病理組織学的検査標本作製のために 10% 中性緩衝ホルマリン固定した。その後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン (H. E.) 染色標本作製し、食品添加物の 90 日間反復投与毒性試験ガイドライン⁴⁾に従い Cont 群と最高用量の 5.0% 群について病理組織学的検査を行った。

5. 統計処理

一般毒性試験における多重比較のためのアルゴリズム (ASSIT: algorithm for simultaneous statistical in tox-

Table 6. Organ Weights in Male F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
Body weight (g)	302.5±9.9	310.9±12.6	311.5±6.9	310.0±13.8	303.7±13.9
Absolute organ weight					
Brain (g)	1.92±0.06	1.93±0.07	1.95±0.03	1.94±0.04	1.94±0.03
Heart (g)	0.87±0.04	0.91±0.04	0.93±0.05	0.88±0.06	0.90±0.06
Lung (g)	0.94±0.05	1.01±0.07 [#]	1.00±0.05 [#]	0.97±0.04	0.94±0.04 [*]
Liver (g)	7.03±0.37	7.12±0.37	7.30±0.30	7.01±0.44	6.92±0.37
Kidney (g)	1.72±0.05	1.73±0.08	1.80±0.07	1.72±0.09	1.72±0.07
Spleen (g)	0.58±0.02	0.60±0.07	0.60±0.03	0.60±0.04	0.58±0.03
Testis (g)	2.89±0.26	2.94±0.10	2.85±0.38	2.89±0.20	2.94±0.13
Adrenal (mg)	36.4±3.4	37.1±3.5	38.7±4.8	34.7±2.6	36.7±3.4
Thymus (mg)	213.4±33.2	241.7±51.1	244.3±35.6	243.3±30.0	190.9±38.10 [*]
Relative organ weight (100 g body weight)					
Brain (g)	0.64±0.01	0.62±0.02	0.63±0.02	0.63±0.03	0.64±0.03
Heart (g)	0.29±0.01	0.29±0.01	0.30±0.02	0.28±0.01	0.30±0.01
Lung (g)	0.31±0.02	0.33±0.02	0.32±0.02	0.31±0.01	0.31±0.02
Liver (g)	2.32±0.07	2.29±0.09	2.34±0.07	2.26±0.06	2.28±0.10
Kidney (g)	0.57±0.02	0.56±0.01	0.58±0.03	0.55±0.01 [#]	0.57±0.03
Spleen (g)	0.19±0.01	0.19±0.02	0.19±0.01	0.19±0.01	0.19±0.01
Testis (g)	0.96±0.09	0.95±0.03	0.91±0.12	0.93±0.06	0.97±0.06
Adrenal (mg)	12.0±1.1	11.9±0.9	12.4±1.6	11.2±0.9	12.1±1.0
Thymus (mg)	70.6±11.2	77.4±14.2	78.5±12.2	78.6±10.3	62.9±12.9 [*]

Values are mean±SD.

Significantly different from control: [#] $p < 0.05$, Significantly different from vehicle control: ^{*} $p < 0.05$

icology) 法⁵⁾により統計解析を行った。すなわち、Bartlett の方法により分散の一様性を検定し、分散が一様な場合は一元配置の分散分析を、分散が一様でない場合は Kruskal-Wallis の方法によって順位和検定を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法に基づき Cont 群と各群間及び Vehicle 群とペカンナッツ色素投与各群間との一対比較検定を行った。有意差水準は 5% とした。

結 果

1. 一般状態

試験期間を通して、いずれの群でも死亡例は認められず、一般状態にも変化は認められなかった。

2. 体重及び摂餌量

雄の体重と摂餌量の推移を Fig. 1 に、雌の体重と摂餌量の推移を Fig. 2 に示した。雄の体重推移では、Cont 群、Vehicle 群及び各被験物質投与群の間に差は認められなかった。雄の摂餌量では、Cont 群及び Vehicle 群に比べ、0.5% 群及び 5.0% 群で高い値での推移が認められ、実験期間中の平均摂餌量では有意な増加が認められた (Table 1)。雌の体重推移では、70 日以降で、Vehicle 群が最も高い値で、また 1.5% 群が最も低い値で推移したがその差は小さかった。雌の摂餌量には一定の傾向は認められなかった。

3. 被験物質摂取量

1 日平均の被験物質摂取量を Table 1 に示した。被験物質摂取量 (mg/kg/day) は雄の 0.5% 群で 125 mg, 1.5% 群で 365 mg 及び 5.0% 群で 1,287 mg, また雌の 0.5% 群で 128 mg, 1.5% 群で 398 mg 及び 5.0% 群で 1,344 mg と用量設定に対応した被験物質の摂取が認められた。

4. 血液形態学的検査

雄の結果を Table 2 に、雌の結果を Table 3 に示した。雄では、5.0% 群の RBC が Vehicle 群に対し有意な減少を示した。しかし、Cont 群との比較では有意差が認められなかった。雌では、いずれの検査項目でも有意差は認められなかった。

5. 血液生化学的検査

雄の結果を Table 4 に、雌の結果を Table 5 に示した。雄では、Cont 群に比較して、ALT の有意な減少が 0.5% 群及び 5.0% 群で、P の有意な増加が Vehicle 群及び 5.0% 群で、また Vehicle 群に比較して、 γ -GT の有意な増加が 0.5% 群で認められた。雌では、Cont 群に比較して、T-Bil の有意な減少が Vehicle 群及び 5.0% 群で、また、Vehicle 群に比較して、Cl の有意な増加が 1.5% 群及び 5.0% 群で認められた。しかし、雄雌とも Cont 群と Vehicle 群の両者に有意差を示すよ

Table 7. Organ Weights in Female F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Cont	Vehicle	0.5%	1.5%	5.0%
No. of animals	10	10	10	10	10
Body weight (g)	169.9±9.4	173.7±5.6	170.1±6.4	164.1±8.84**	166.9±7.3
Absolute organ weight					
Brain (g)	1.78±0.04	1.77±0.03	1.78±0.03	1.79±0.03	1.78±0.04
Heart (g)	0.54±0.02	0.57±0.02	0.54±0.03	0.55±0.02	0.55±0.02
Lung (g)	0.67±0.05	0.71±0.06	0.70±0.04	0.66±0.05	0.68±0.03
Liver (g)	3.57±0.19	3.63±0.14	3.74±0.38	3.59±0.24	3.47±0.25
Kidney (g)	1.05±0.06	1.03±0.07	1.04±0.05	1.02±0.06	1.01±0.05
Spleen (g)	0.35±0.03	0.37±0.03	0.37±0.01	0.35±0.01	0.37±0.03
Ovary (mg)	52.0±6.8	55.6±9.0	56.5±6.7	54.5±7.1	55.4±9.6
Adrenal (mg)	41.0±6.1	41.1±2.9	40.7±3.7	40.0±5.5	39.6±4.9
Thymus (mg)	169.6±24.7	171.2±23.0	158.5±19.7	162.8±34.9	167.1±25.7
Relative organ weight (100 g body weight)					
Brain (g)	1.05±0.05	1.02±0.03	1.04±0.04	1.09±0.06**	1.07±0.05*
Heart (g)	0.32±0.02	0.33±0.02	0.32±0.02	0.33±0.02	0.33±0.01
Lung (g)	0.39±0.04	0.41±0.04	0.41±0.02	0.40±0.03	0.41±0.03
Liver (g)	2.10±0.11	2.09±0.10	2.20±0.24	2.19±0.16	2.08±0.11
Kidney (g)	0.62±0.03	0.59±0.04	0.61±0.02	0.62±0.03	0.61±0.03
Spleen (g)	0.21±0.02	0.21±0.02	0.22±0.01	0.22±0.01	0.22±0.01
Ovary (mg)	30.7±3.9	32.0±4.8	33.2±3.6	33.3±4.5	33.3±5.9
Adrenal (mg)	24.1±3.0	23.7±2.0	23.9±2.2	24.3±2.1	23.7±2.4
Thymus (mg)	100.2±16.6	98.7±13.8	93.3±12.1	98.7±17.7	100.1±14.6

Values are mean±SD.

Significantly different from vehicle control: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

うな項目は認められなかった。

6. 剖検所見

精巣の萎縮 (片方) が Cont 群, 0.5% 群及び 1.5% 群の各一例に認められた。このほかの臓器では, 変化は認められなかった。

7. 臓器重量

雄の結果を Table 6 に, 雌の結果を Table 7 に示した。雄では, Cont 群と比較して, 肺の実重量の有意な増加が Vehicle 群及び 0.5% 群で, 腎臓の相対重量の有意な減少が 1.5% 群でそれぞれ認められた。また, Vehicle 群と比較して, 肺の実重量及び胸腺の実重量と相対重量の有意な減少が 5.0% 群で認められた。胸腺では Cont 群に比較しても軽度な減少傾向が認められた。雌では, Vehicle 群に比較して, 脳の相対重量の有意な増加が 1.5% 群及び 5.0% 群で認められた。この他の臓器では有意差が認められなかった。このように, 雄雌とも, Cont 群及び Vehicle 群の両者に有意差を認めるような変化は認められなかった。

8. 病理組織学的検査

Cont 群と 5.0% 群の動物について実施した。Table 8 に示したような変化が認められたが, 雄雌とも Cont 群と 5% 群との間に差は認められなかった。

Table 8. Histopathological Findings in F344 Rats Fed Diet Containing Pecan Nut Color for 90 Days

Group	Male		Female	
	Cont	5.0%	Cont	5.0%
No. of animals	10	10	10	10
Organs/Findings				
Heart	3 ^{a)}	4	1	1
cell infiltration				
Liver	3	2	3	4
microgranuloma				
Kidney	10	10		
eosinophilic body				
Testis	1			
reproductive cell de-generator				

a) Number of animals with lesion

考 察

ペカンナッツ色素の原体の入手が困難なことから, 60% のデキストリンを含むペカンナッツ色素製剤を実験に用いたため, 市販の基礎飼料を摂取させた無処置対照群 (Cont 群) のほかにデキストリン 3.0% 添加した

飼料を摂取させた Vehicle 対照群を設け、ペカンナッツ色素（デキストリン 60% 含有）の 0.5, 1.5 及び 5.0% 添加飼料をラットに摂取させる 90 日間反復混餌投与毒性試験を行った。その結果、体重増加にはほとんど差を認めないものの、雄の 0.5% 及び 5.0% 群の摂餌量で Cont 群と Vehicle 群の両群に対し増加傾向が認められた。このことはペカンナッツ色素添加による食餌効率の低下⁶⁾が考えられたが、用量反応関係が認められないこと、また体重減少が認められないことより、毒性学的意味を持つ変化とは考えられなかった。血液形態学的検査及び血清生化学的検査では、雄の無機リンの上昇と雌のビリルビンの低下が Cont 群に対して Vehicle 群と 5.0% 群の両群で有意差を伴う変化として認められた。しかし、変化の程度は小さく、またこれ以外の検査項目では、このような変化が認められないことなどからデキストリン添加の影響とは考えられなかった。また Vehicle 群に対し、雄 5.0% 群の赤血球数及び雌 1.5% 及び 5.0% 群のクロール値で有意差が認められたが、変化の程度は軽微であり、また Cont 群とは有意差が認められなかったことなどから、ペカンナッツ色素摂取に関係する変化ではなく、毒性学的に意味のない非特異的な変化と考えられた⁷⁾。また、臓器重量測定では、Vehicle 群に対して、雄 5.0% 群の胸腺重量の有意な減少が実重量と比重量で認められ、免疫機能への影響が示唆されたが、WBC、脾臓重量及び対応する臓器での病理組織学的検査において変化が認められなかったこと⁸⁾また Cont 群に対しては有意差が認められないことなどから、正常範囲の変化と考えられた。

ペカンナッツ色素の主成分はフラボノイドの一つとされている¹⁾。フラボノイドは植物の花や果実の色素成分として広く分布し、ペカンナッツ色素の他にも植物由来のフラボノイド色素が着色料として既存添加物名簿に多数収載されている¹⁾。収載品目の内のベニバナ黄色素⁹⁾、コウリャン色素⁹⁾、タマネギ色素^{9), 10)}、カカオ色素⁹⁾、シタン色素⁹⁾及びカロブ色素¹¹⁾などのフラボノイド色素について、ラットあるいはマウスを用いた高濃度の被験物質添加飼料による反復投与毒性試験の報告がなされている。いずれの報告を見ても、色素による一般毒性学的な変化は認められない。今回のペカンナッツ色素の実験でも、混餌投与の最大投与用量とされる 5.0% 添加⁴⁾飼料摂取群においても、一般状態、血液形態学的及び血清生化学検査、臓器重量測定を含む病理組織学的検査の結果に被験物質摂取によると考えられる毒性変化は認められなかった。

以上のことから、ペカンナッツ色素の 5.0% 添加飼料摂取（デキストリンを除いた平均ペカンナッツ色素摂

取量：雄で 1,287 mg/kg/day, 雌で 1,344 mg/kg/day）は毒性変化が認められない用量であり、また、高濃度の添加飼料摂取で毒性が認められなかったことから、ペカンナッツ色素の一般毒性は低いものと考えられた。

ま と め

ペカンナッツ色素の反復摂取による毒性変化と無毒性量を明らかにする目的で、ペカンナッツ色素（デキストリン 60% 含有）の 0.5, 1.5 及び 5.0% 添加飼料を雄雌のラットに摂取させる 90 日間反復混餌投与毒性試験を行った。ペカンナッツ色素によると考えられる毒性変化はいずれの用量でも認められなかった。ペカンナッツ色素の 5.0% 添加飼料摂取（デキストリンを除いた平均ペカンナッツ色素摂取量：雄で 1,287 mg/kg/day, 雌で 1,344 mg/kg/day）は毒性変化が認められない用量であると結論した。また高濃度の添加飼料摂取で毒性変化が認められなかったことにより、ペカンナッツ色素の一般毒性は弱いものと考えられた。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品化学課編：“食品衛生法改正に伴う既存添加物名簿関係法令通知集” p. 5～25, p. 83～169 (1996) 社会保険出版社。
- 2) 塚本洋太郎総監修：“園芸植物大事典 3” p. 445～451 (1989) 小学館。
- 3) 厚生省生活衛生局食品化学課監修：“既存天然添加物の安全性評価に関する調査研究—平成 8 年度厚生科学研究報告—” p. 1～4 (1998) 日本食品添加物協会。
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課監修：“食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針” p. 19～22 (1986) 日本食品添加物協会。
- 5) 山崎 実, 野口雄次, 丹田 勝, 新谷 茂：武田研究所報 40(3/4), 163～167 (1981)。
- 6) 津田恭介, 上野 寿編：“薬効の評価 (2) 前臨床試験及び臨床薬理試験” p. 81～93 (1973) 地人書館。
- 7) Hayes, A. W. ed.: “Principles and Methods of Toxicology” Student Ed., p. 8～10 (1986) Raven Press, New York.
- 8) 松本清司, 関田清司, 落合敏秋, 高木篤也, 高田幸一, 降矢 強, 黒川雄二, 斎藤嘉郎, 手島玲子, 鈴木和博, 沢田純一, 寺尾允男, 戸部満寿夫：衛生試験 108, 34～39 (1990)。
- 9) 藤井正美監修：“食用天然色素” p. 71～122 (1993) 光琳。
- 10) Kojima, T., Tanaka, T., Mori, H., Kato, Y., Nakamura, M.: J. Toxicol. Environ. Health 38, 89～101 (1993)。
- 11) 高田幸一, 豊田和弘, 正田俊之, 畠山智香子, 田村 啓, 高橋道人：国立衛研報告 115, 93～97 (1997)。