

でもわずかに変化がみられたが、投与に起因する影響か否かは明らかではない<sup>28)</sup>。

1群12匹の雄及び20匹の雌ラットにポリソルベート80を3世代にわたり混餌投与(5%、10%及び20%(約2.5、5及び10 g/kg体重/日))した。なお、F0世代においては雌雄のラットに各濃度の飼料を12週間混餌投与した後交配した。20%投与群ではラットの受胎能と出生後4日間の新生児生存率にわずかな減少が観察された。生存率の減少に関して観察者は母動物の衰弱によるものであろうと考察している。しかし、5%及び10%投与群では明らかな生殖機能への影響は認められていない<sup>28)</sup>。ラットにポリソルベート80を混餌投与した3世代試験(2%(約1 g/kg体重/日))では受胎能と成長に影響は認められなかった<sup>66)</sup>。雌ラットに妊娠前14日間、交配期間中、妊娠中及び授乳21日間並びに雄ラットに交配前5日間ポリソルベート80(1.35 g/L(約100 mg/kg体重/日))を飲水投与したBrubakerらの試験では、離乳前の雄児の運動量の増加が観察された<sup>67)</sup>。1群25匹の妊娠ラットにポリソルベート80を6~15日間強制経口投与(500及び5,000 mg/kg体重/日)したところ、投与群の体重増加は対照群との間に差を認めなかった。また、母動物あたりの黄体数、着床数及び着床前胚死亡率において対照群との間に差は認められなかった。さらに、胎児の形態学的発生、生存、成長についても対照群との間に明らかな差はみられなかった<sup>68)</sup>。30匹の雌マウスへのポリソルベート80の妊娠8~12日強制経口投与(2.5 g/kg体重/日)で、新生児数、新生児の平均体重に有意な影響は認められなかった。この投与量は予備試験で母動物にわずかに毒性を引き起こす用量であったと記載されている<sup>69)</sup>。

上述のBrubakerらの試験結果を検討するために、ラット(22匹)の妊娠0日から分娩後21日まで母動物にポリソルベート80を飲水投与(0、0.018、0.13、1.0及び7.5 vol%液(0、38、265、2,013、18,126 mg/kg体重/日))し、妊娠/授乳期の雌動物及び出生児に及ぼす影響を検索した。その結果、7.5 vol%投与群では、軟便、体重増加抑制及び摂餌量の減少などの母体毒性が認められ、一部の母動物に哺育不良が観察された。1.0 vol%以下の投与群では、母体毒性は認められなかった。また、次世代(F<sub>1</sub>)に及ぼす影響として、7.5 vol%投与群に低出産児数、体重増加抑制及び23~27日齢における条件回避反応試験の低回避率が認められた。次世代(F<sub>1</sub>)の生存、発育分化、反射反応、自発運動量、感覚機能、剖検、器官重量及び神経組織病理学的検査において、投与の影響は認められなかった。以上の結果から、ポリソルベート80の母動物及び次世代(F<sub>1</sub>)に対する無毒性量は、いずれも飲水中濃度1.0 vol%(2,013 mg/kg体重/日)と考えられる<sup>70)</sup>。

## ⑦局所刺激性

家兔にポリソルベート60の5%水溶液を30日間連日塗布した試験では中等度の刺激性がみられ、10%溶液の場合には皮膚の壊死がみられた<sup>71)</sup>。別の家兔の試験<sup>72)</sup>によると、15%水溶液を60日間連日適用しても影響はなく、原液の適用

により軽度の刺激性がみられた。マウス皮膚では、ポリソルベート 60 原液の長期間の塗布により局所に炎症性変化がみられている<sup>13)</sup>。

マウスの皮膚に 30%ポリソルベート 65 水溶液を週に 6 日間、30 日適用した試験で局所の炎症と表皮の過形成がみられている<sup>14)</sup>。

家兔の皮膚にポリソルベート 80 の 5%水溶液を 1 ヶ月間連日適用した試験で、中等度の刺激性がみられたが、5%水溶液の 10 日間連日適用でははっきりした刺激性はみられていない<sup>71)</sup>。

ヒトの皮膚に対する試験として、68 例の男性について、25%ポリソルベート 60 水溶液を 10 滴ずつ 1 日 2 回 16 週間にわたって頭皮に適用した臨床試験が実施され、1 例に軽度の発赤がみられたと報告されている<sup>73)</sup>。

ポリソルベート 65 原液を閉鎖系で 48 時間適用した試験で、ヒトの皮膚に刺激性はみられていない<sup>14)</sup>。また、60%の水性懸濁液を健常人 50 例に 72 時間適用を 7 日間隔で 2 回反復した試験で刺激性がみられなかったとの報告もある<sup>74)</sup>。

ポリソルベート 80 の 5%水溶液の 48 時間の閉鎖系適用でヒトの皮膚に軽度の刺激性がみられる例があったとの報告がある<sup>75)</sup>。一方、50 例の健常人に 48 時間閉鎖系適用をした試験では刺激性はみられていない<sup>11)</sup>。ヒトの眼粘膜に対する影響については、水溶液 (pH5~7) を適用する試験が実施されているが、20%までの濃度では刺激性がみられなかったと報告されている<sup>11)</sup>。

## ⑧感作性

ポリソルベート 60 を基剤としたクリームもしくはポリソルベート 60 単独を前額皮膚に塗布し、20 分後にその部位に蕁麻疹が生じたとの報告がある<sup>76)</sup>。なお、この報告によるとポリソルベート 60 及びクリームは背部及び腕の皮膚に対しては影響を示さなかった。

化粧品などによる接触皮膚炎が疑われる患者 737 例に 10%ポリソルベート 80 鉱物油溶液を閉鎖パッチにより 48 時間適用したところ、4 例に陽性反応がみられ、内 3 例はポリソルベート 40 にも陽性反応を示した<sup>77)</sup>。湿疹患者を対象としたパッチテストでは、ポリソルベート 80 原液により 330 例中 3 例<sup>78)</sup>、10%ポリソルベート 80 の鉱物油溶液により 590 例中 1 例<sup>75)</sup>、5%ポリソルベート 80+5%ポリソルベート 40 の鉱物油溶液により 1,206 例中 2 例<sup>79)</sup>に陽性反応がみられている。ポリソルベート 80 に対して過敏性の病歴をもつ慢性鼻炎、鼻粘膜ポリープ及び喘息の患者 21 例に 5 g のポリソルベート 80 を経口投与したところ、鼻の症状の悪化がみられたとの報告がある。この調査では、健常人 19 例について同様の処置がおこなわれているが、反応はみられていない<sup>80)</sup>。

モルモットを用いた試験は、総説に引用されているのみで、未発表の知見であるが、マクシミゼーション法により、ポリソルベート 20 について中等度ないし強度の陽性結果<sup>12)</sup>、ポリソルベート 65 について陰性の結果<sup>14)</sup>が示されている。

## 6 国際機関等における評価

### (1) JECFA における評価

JECFA は第 17 回会議 (1973) においてポリソルベート 20、同 40、同 60、同 65 及び同 80 を評価している<sup>9)</sup>。JECFA はポリソルベート類の混餌投与による慢性毒性試験で 5%投与群 (2,500 mg/kg 体重/日に相当) に有害影響がみられないとの判断に基づき、2,500 mg/kg 体重/日を無毒性量とし、安全係数 100 を適用してポリソルベートのグループ ADI を 0~25mg/kg 体重/日と設定している。

### (2) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価

SCF は 1978 年に JECFA が取り上げたポリソルベート 60 の慢性毒性試験を中心にポリソルベートの評価を実施している<sup>81)</sup>。SCF は JECFA と同様に下痢の発現を ADI の評価の根拠データとしているが、JECFA が有害影響としなかったラット 5% 投与群での軽度の下痢を考慮に入れ、0~25 mg/kg 体重/日の値をポリソルベートの暫定グループ ADI とし、最終評価に必要な資料として 1 種の動物についての 90 日間経口投与試験と代謝試験のデータを要求した。1983 年に SCF はポリソルベート 60 の 1%、2%及び 5% (500、1,000 及び 2,500 mg/kg 体重/日相当) 添加飼料によるラット 13 週間経口投与試験<sup>21)</sup>に基づき再評価を行い、5%投与群で下痢が認められていることから、ポリソルベート類のグループ ADI として 0~10 mg/kg 体重/日を設定している。その後 SCF は米国の NTP がポリソルベート 80 について実施したラットとマウスによる 2 年間の発がん性試験結果 (1992)<sup>29)</sup>に基づいて ADI を再評価し、ADI の変更の必要がないと結論している<sup>82)</sup>。

### (3) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価

FDA はポリソルベートのグループ ADI として 1,500 mg/ヒト/日 (0~25 mg/kg 体重/日) を設定している<sup>83)</sup>。FDA も反復投与毒性試験での下痢に関する無影響量を ADI 設定の根拠にしているが、評価に際しラットとイヌ (5%添加飼料で影響なし) に比べてハムスターの方が感受性が高い (5.0%添加飼料で著明な下痢の発現、1%添加飼料で影響なし) 点を強調している<sup>84)</sup>。ポリソルベート自身について、ヒトに対する発がんリスクはないと評価している。1999 年のポリソルベート 60 の再評価では、未反応の 1,4-ジオキサン及びエチレンオキシドの極微量の残留を認めているが、残留量から算定されるヒトでの暴露量が著しく低く (1,4-ジオキサン 19 ng/ヒト/日以下、エチレンオキシド 7.7 ng/ヒト/日以下)、この暴露量から算定されるヒトへの生涯リスク (それぞれ  $6.7 \times 10^{-10}$ 、 $1.5 \times 10^{-8}$ ) から、添加物として適切に使用される限り、ヒトに対する悪影響はないと結論づけている<sup>83)</sup>。なお、ポリソルベートの大量経口投与による下痢の原因として、難吸収性のポリオールの影響及び消化管粘膜に対するポリソルベートの局所刺激が考えられている。

### (4) 国際がん研究機関 (IARC) における評価

不純物である 1,4-ジオキサン及びエチレンオキシドの評価を行っている。

1994 年、1,4-ジオキサンは、ヒトに発がん性を示す証拠はないが、実験動物には十分な証拠があることから、「グループ 2B (ヒトに対して発がん性を示す可

能性がある)」と評価している<sup>85)</sup>。

1999年、エチレンオキシドは、ヒトに発がん性を示す証拠は限定的であるが、実験動物には十分な証拠があることから、「グループ1（ヒトに対して発がん性がある）」と評価している<sup>86)</sup>。

## 7 一日摂取量の推計等

欧米諸国において、食品への使用量から推定されるポリソルベート類の1人当たりの一日摂取量は、12~111 mg/ヒト/日と推定される。

わが国においては、添加物として指定された後に、マーケットバスケット調査等により摂取量を精密に把握するべきと思われるが、現時点で、欧米諸国の推定摂取量を超え、ヒトの健康に影響を与えるほど摂取されるとは考えられない。

表. ポリソルベート (Tween) の市場推定 (2002年)

|                       | EU (ton) ※1 | 米国 (ton) ※2 |
|-----------------------|-------------|-------------|
| ポリソルベート 20 (Tween 20) | 10-20       | 10-20       |
| ポリソルベート 65 (Tween 65) | 10-20       | 10-20       |
| ポリソルベート 60 (Tween 60) | 1500-2500   | 4000-7000   |
| ポリソルベート 80 (Tween 80) | 200-400     | 2500-5000   |

出典：Quest International（オランダのポリソルベートメーカー）情報

※1 人口377百万人として、1人一日当たり消費量 12-21 mg/ヒト/日

※2 人口298百万人として、1人一日当たり消費量 60-111 mg/ヒト/日

## 8 評価結果

今回評価を行った4物質（ポリソルベート20、同60、同65及び同80）間に、体内動態及び有害影響について本質的な相違はみられず、グループとして評価しADIを設定することが適切と考えた。

反復投与毒性試験では、主な症状として下痢が認められた。通常、難吸収性物質を大量投与した際に認められる下痢は、物理的な要因が推定されることから毒性影響と評価しない。しかしながら、ポリソルベート類については、難吸収性ポリオールによる物理的な要因に併せて消化管粘膜に対する局所刺激による吸収率への影響が疑われることから、安全サイドに立った考え方により、下痢を毒性影響と評価した。

ポリソルベート65及び80について、*in vitro* 染色体異常試験で一部陽性結果が報告されているが、発現頻度が低く、かつ、*in vivo* の骨髄小核試験では陰性の結果が得られていることから、ポリソルベート類の遺伝毒性は、生体にとって特段問題となるものではないと考えられる。

ラットを用いたポリソルベート80の2年間混餌試験において、主として雄に副腎

髄質の褐色細胞腫の発生率の増加傾向が報告されている<sup>29)</sup>が、カルシウム吸収の増加と共に、難吸収性の物質の大量投与に伴い雄ラットに発現する反応であり、類縁化合物といえるソルビトールやアルコール等の高用量暴露でも雄ラット副腎髄質に同様の影響が現れることが知られており、ヒトに対する発がんリスクを示唆する知見ではないと考えられる。

強力な発がん物質 MNNG（飲水中 50 ppm 及び 100 ppm）とポリソルベート 60 の同時投与で胃腺がんの発生増加と肉腫の発生及び発がんの増強と悪性度の亢進が報告されているが、試験の規模が小さいこと、*in vivo* 遺伝毒性試験成績が陰性であること等から、ADI の設定においてこれらの試験結果を考慮する必要はないと判断した。

Brubaker らの 1 投与量によるラット神経発生毒性試験において、児動物の行動変化が認められていることから、児の行動への影響を確認するための追加試験が行われ、7.5 vol% 投与群で母体毒性が認められ、児動物に体重増加抑制及び条件回避反応試験の低回避率等が認められた。1 % 以下の投与群では母動物及び次世代 (F1) に対する影響は認められなかった。

ポリソルベート類に含有される不純物については、米国での推定摂取量及びそれに基づき算出した生涯リスクから、わが国の推定摂取量に基づく生涯リスクを導いたところ、一般に遺伝毒性発がん物質の無視しうるレベルとされている 100 万分の 1 のレベルを下回っており、そのリスクは極めて低いと考えられる。但し、リスク管理機関としては、引き続き、技術的に可能なレベルで低減化を図るよう留意すべきである。

下痢を毒性影響と評価する場合、各試験の NOAEL の最小値は、ハムスターを用いたポリソルベート 60 の 12~13 ヶ月間混餌投与試験の 1 % (約 800 mg/kg 体重/日) となる。しかしながら、JECFA では、この試験成績は古いデータであり、試験手法の問題もあること、この他に信頼性のおける長期のデータがあることなどから、ADI 設定の根拠にしないと評価しており、食品安全委員会としても同様に評価した。従って、ポリソルベート類の NOAEL の最小値は、ラットを用いたポリソルベート 60 の 13 週間混餌投与試験でみられた下痢を根拠として 2% (1,000 mg/kg 体重/日相当) となる。13 週間反復投与試験のように投与期間の短い試験成績を根拠に一日摂取許容量 (ADI) を設定する際には、通常的安全係数 100 に追加の不確実係数を適応するのが一般的である。しかしながら、ポリソルベート類については 2 年間反復投与毒性試験など複数の長期試験の成績もあり、これらを全て評価した上で、13 週間反復投与試験の NOAEL が最も低いと判断したものであるから、安全係数は通常 100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ポリソルベート類（ポリソルベート 20、同 60、同 65 及び同 80）の ADI は、グループとして 10 mg/kg 体重/日と評価した。

|                |                          |
|----------------|--------------------------|
| グループ ADI       | 10 mg/kg 体重/日            |
| (ADI 設定根拠資料)   | ポリソルベート 60 の 13 週間混餌投与試験 |
| (動物種)          | ラット                      |
| (投与方法)         | 混餌投与                     |
| (NOAEL 設定根拠所見) | 下痢                       |
| (NOAEL)        | 1,000 mg/kg 体重/日         |
| (安全係数)         | 100                      |

#### 【引用文献】

- 1) 第 14 改正 日本薬局方解説書 廣川書店 D-1081 (2001)
- 2) 21CFR §172.515, §172.836, §172.838, §172.840.
- 3) European parliament and council directive No 95/2/EC 20th Feb.1995.
- 4) Summary of evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
- 5) Nelson MF, Poulas TA, Gongwer LE, Kirschman JC. Preparations of carbon-14labeled polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate and their metabolic fate in rats. *J. Food Sci.* (1966) 31: 253-258.
- 6) Treon JF, Gongwer LE, Nelson MF, Kirschman JC. Chemistry, physics, and application of surface active substances. *Gordon and Breach* (1967) III: 381. (Cited in Final report on the safety assessment of Polysorbates 20, 21, 40, 60, 61, 65, 80, 81, and 85. *Journal of the American College of Toxicology*, 3(5), 1984)
- 7) Oser BL, Oser M. Nutritional studies on rats on diets containing high level of partial ester emulsifiers. III. Clinical and metabolic observations. *J. Nutr.* (1957) 62: 149-166.
- 8) Wick AN, Joseph L. The fate of ingested polyoxyethylene (20) sorbitan monostearate in rats. *Food Res.* (1956) 21: 250-253.
- 9) JECFA Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. WHO Food Additives Series, (5), (1974).
- 10) Culvert PJ, Wilcox CS, Jones CM, Rose RS. Intermediary metabolism of certain polyoxyethylene derivatives in man. I. Recovery of the polyoxyethylene moiety from urine and feces following ingestion of polyoxyethylene(20) and sorbitan monooleate and of polyoxyethylene(40) monosteate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1951) 103: 377-381.
- 11) TOXICITY PROFILE polysorbate 80 TNO BIBRA International Ltd 1992.
- 12) TOXICITY PROFILE polysorbate 20 TNO BIBRA International Ltd 1989.
- 13) TOXICITY PROFILE polysorbate 60 TNO BIBRA International Ltd 1989.
- 14) TOXICITY PROFILE polysorbate 65 TNO BIBRA International Ltd 1990.
- 15) May CD, Lowe A. *J. Clin. Invest.* (1948). 27: 226. (Cited in 12)

- 16) Krantz JC, Carr CJ, Bird JG, Cook S. Sugar alcohols-XX Pharmacodynamic studies of polyoxyalkylene derivatives of hexitol anhydride partial fatty acid esters. *J. Pharmac. exp. Ther.* (1948) 93: 188-195.
- 17) Steigmann F, Goldberg EM, Schoolman HM. *Am. J. dig. Dis.* (1953) 20: 380. (Cited in 13)
- 18) Krantz JC Jr. et al. Unpublished Report WER-124-88 to the Atlas Chemical Co. (1943) (Cited in 9).
- 19) Eagle E, Poling CE. The oral toxicity and pathology of polyoxyethylene derivatives in rats and hamsters. *Food Res.* (1956) 21: 348-361.
- 20) Ewing KL, Tauber OE. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (1965) 7: 320. (Cited in 12)
- 21) BIBRA, 1983 A review of the status of the polysorbates prepared for the ad hoc Polysorbate Group, April 1983. (非公表)
- 22) Fitzhugh OG, Bourke AR, Nelson AA, Frawley JP. Chronic oral toxicities of four stearic acid emulsifiers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (1959) 1: 315-331.
- 23) Chow BF, Burnett JM, Ling CT, Barrows L. Effect of basal diets on the response of rats to certain dietary non-ionic surface-active agents. *J. Nutr.* (1953) 49: 563-577.
- 24) Kimura T, Yoshida A. *Nutr. Rep. Int.* (1982) 26: 271. (Cited in 13)
- 25) Brush MK, McCoy JR, Rosenthal HL, Stauber LA, Allison JB. The addition of non-ionic surface active agents of the polyoxyethylene type to the diet of the hamster, the mouse and the dog. *J. Nutr.* (1957) 62: 601-619.
- 26) Krantz JC Jr. Unpublished reports (1947). (Cited in 9)
- 27) Oser BL, Oser M. Nutritional studies on rats on diets containing high levels of partial ester emulsifiers I. General plan and procedures; Growth and food utilization. *J. Nutr.* (1956) 60: 367-390.
- 28) Oser BL, Oser M. Nutritional studies on rats on diets containing high levels of partial ester emulsifiers II. Reproduction and lactation. *J. Nutr.* (1956) 60: 489-505.
- 29) Toxicology and carcinogenesis studies of polysorbate 80 in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies) NTP 報告年 1992 年
- 30) King RFGJ. et al. *Clin. Sci.* (1979) 56: 273. (Cited in 12)
- 31) Johnson LA, Scott RB, Newman LH. Tween 20 and fecal fat in premature infants. *Am. J. Dis. Child.* (1950) 80: 545-550.
- 32) Waldstein SS. et al. *Am. J. Dig. Dis.* (1954) 21: 181. (Cited in 13)
- 33) Preston E. et al. *J. Nutr.* (1953) 1: 539. (Cited in 13)
- 34) Jeans PC, Stearns G. Unpublished data (1970&1971). (Cited in 13)
- 35) Janowitz HD. et al. *Gastroenterology* (1953) 24: 510. (Cited in 14)
- 36) Chusid E, Diamond J. Accidental massive overdose of monitan in an infant. *J. Pediat.* (1955) 46: 222.
- 37) Janowitz HD. et al. *Gastroenterology* (1953) 24: 510. (Cited in 11)

- 38) JECFA Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. WHO Food Additives Series (1974) No.5
- 39) Kada T, Hirano K, Shirasu Y. Screening of environmental chemical mutagens by the Rec-assay system with *Bacillus Subtilis*. 149-373, BIBRA
- 40) Kawachi T, Yahagi T, Kada T, Tazima Y, Ishidate M, Sasaki M, Sugiyama T. Cooperative programme on short-term assays for carcinogenicity in Japan. *IARC Sci. Pub.* (1981) 27: 323-330.
- 41) 森田和良, 石垣美津子, 安部隆. 化粧品関連物質の突然変異原性. *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan.* (1981) 15: 243-253.
- 42) Inoue K, Sunakawa T, Takayama S. Studies of in vitro cell transformation and mutagenicity by surfactants and other compounds. *Fd. Cosmet. Toxicol.* (1980) 18: 289-296.
- 43) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究：食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65 の細菌を用いる復帰突然変異試験
- 44) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究：食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65 のチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験
- 45) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究：食品薬品安全センター秦野研究所報告 Tween65 のマウスを用いる小核試験
- 46) Sugimura T. et al. Fundamentals in cancer prevention. Ed. Magee PN. et al. University of Tokyo (1976) p.191. (Cited in 11)
- 47) Ishidate M, Odashima S. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro-a screening for chemical carcinogens. *Mut. Res.* (1977) 48: 337-353.
- 48) Jenssen G, Ramel C. The micronucleus test as part of a short-term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested. *Mut. Res.* (1980) 75: 191-203
- 49) Scott K, Topham JC. Assay of 4CMB, 4HMB and BC by the micronucleus test-subcutaneous administration. *Mut. Res.* (1982) 100: 365-371.
- 50) Anderson D, McGregor DB, Purchase IFH, Hodge MCE, Cuthbert JA. Dominant-lethal test results with known mutagens in two laboratories. *Mut. Res.* (1977) 43: 231-246.
- 51) Poling CE, Eagle E, Rice EE. Effects of feeding polyoxyethylene preparations to rats and hamsters. *Food Res.* (1956) 21: 337-347.
- 52) Harris RS, Sherman H, Jetter WW. Nutritional and pathological effects of sorbitan monolaurate, polyoxyethylene sorbitan monolaurate, polyoxyethylene monolaurate, and polyoxyethylene monostearate when fed to rats. *Arch. Biochem. Biophys.* (1951) 34: 249-258.
- 53) Setala H, Setala K. Tumor promoting and co-carcinogenic effects of some non-ionic lipophilic-hydrophilic agents. *Acta. Path. Microbiol. Scand Suppl.* (1956) 115.

- 54) Oser BL, Oser M. Nutritional studies on rats on diets containing high levels of partial ester emulsifiers IV. Mortality and post-mortem pathology. *J. Nutr.* (1957) 61: 235-252.
- 55) Della Porta et al. *J. Natn. Cancer Inst.* (1960) 25: 607. (Cited in 13)
- 56) Setala. *Acta. Path. Microbiol. Scand.* (1956) 39 (supp.115): 1.  
Setala et al. *Acta. Path. Microbiol.* (1962) 155: 27. (Cited in 13)
- 57) Shubik et al. *Acta. Un. Int. Cancer.* (1959) 15: 232. (Cited in 13)
- 58) Wong TW, Danute MD, Juras S, Wissler W. Effect of concurrent feeding of Tween 80 on the carcinogenicity of orally administered 3-Mmthylcholanthrene. *J. Natl. Cancer Inst.* (1959) 22: 363-399.
- 59) Grasso P et al. *Fd Cosmet. Toxicol.* (1971) 9: 463.  
Farrell RL. The effects of Tween 80 on respiratory oncogenesis by benzo-(a)-pyrene: Instilled intratracheally in Syrian hamstars. *Vet. Pathol.* (1974) 11: 449.  
Bock FB, Tso TC. *Proc. Am. Ass. Cancer Res.* (1974) 15. 64. (Cited in 11)
- 60) Fukushima S, Tatematsu M, Takahashi M. Combined effect of various surfactants on gastric carcinogenesis in treated with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. *GANN* (1974) 65: 371-373.
- 61) Takahashi M, Fukushima S, Sato H. Carcinogenic effect of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine with various kinds of surfactant in the glandular stomach of rats. *GANN* (1973) 64: 211-218.
- 62) NTP Study: TER91010 Developmental toxicology of polyoxyethylene sorbitan monolaurate in Sprague-Dawley CD rats.
- 63) Ema M, Itami T, Kawasaki H, Kanoh S. Teratology study of TWEEN60 in rats. *Drug Chem. Toxicol.* (1988) 11: 249-260.
- 64) Merkle J, Schulz V, Gelbke HP. An embryotoxicity study of the fungicide tridemorph and its commercial formulation Calixin. *Teratology* (1984) 29: 259-269.
- 65) Hardin BD, Schuler RL, Burg JR, Booth GM, Hazelden KP, MacKenzie KM, Piccirillo VJ, Smith KN. Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* (1987) 7: 29-48.
- 66) Krantz JC Jr, Culver PJ, Carr CJ, Jones CM. Sugar alcohols-XXVIII. Toxicologic, pharmacodynamic and clinical observations on TWEEN 80. *Bull. Md. Univ. Sch. Med.* (1951) 36: 48-56.
- 67) Brubaker CM, Taylor DH, Bull RJ. Effect of TWEEN 80 on exploratory behavior and locomotor activity in rats. *Life Sci.* (1982) 30: 1965-1971.
- 68) NTP Study: TER91009 Developmental toxicology of polyoxyethylene sorbitan monooleate in Sprague-Dawley CD rats.
- 69) Kavlock RJ, Short RD Jr, Chernoff N. Further evaluation of an In vivo teratology screen. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* (1987) 7: 7-16.
- 70) 国立医薬品食品衛生研究所委託研究：株式会社イナリサーチ Polysorbate 80 の

ラットにおける混水経口投与による発生神経毒性試験（試験番号 EM04295）最終報告書 2007年

- 71) Mezei M et al. *J. Pharm. Sci.* (1966) 55: 584. (Cited in 11)
- 72) Guillot JP et al. *J. Soc. Cosmet. Chem.* (1977) 28: 377. (Cited in 13)
- 73) Groveman HD et al. *Arch. Intern. Med.* (1985) 145: 1454. (Cited in 13)
- 74) Schwartz L. Unpublished Studies (1970-71). (Cited in CIR, 1984 and Treon 1963) (Cited in 14)
- 75) Meneghini CL, Rantuccio F, Lomuto M. Additives, vehicles and active drugs of topical medicaments as cause of delayed-type allergic dermatitis. *Dermatologica* (1971) 143: 137-147.
- 76) Maibach H, Conant M. *Contact Dermatitis* (1977) 3: 350. (Cited in 13)
- 77) Tosti A, Guerra L, Morelli R, Bardazzi F. Prevalence and sources of sensitization to emulsifiers: a clinical study. *Contact Dermatitis* (1990) 23: 68-72.
- 78) Blondeel A., Oleffe J, Achten G. Contact allergy in 330 dermatological patients. *Contact Dermatitis* (1978) 4: 270-276.
- 79) Hannuksela M, Kousa M, Pirila V. Contact sensitivity to emulsifiers. *Contact Dermatitis* (1976) 2: 201-204.
- 80) Fisherman FW, Cohen GN, *Ann. Allergy* (1974) 32: 307. (Cited in 11)
- 81) Evaluation of polysorbate 20, 40, 60, 65, 80. Report of SCF 15th Series.
- 82) SCF Opinion on polyoxyethylene(20)sorbitan mono-oleate (polysorbate80). Reports of the SCF 34th Series (1993).
- 83) Food and Drug Administration, HHS. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption; polysorbate 60. Federal Register: October 28, 1999 Vol.64, No.208 [Rules and Regulations] pp.57974-57976.
- 84) Office Memorandum U.S. January, 28 1960, From Division of Pharmacology .To Mr Alan T. Spiher
- 85) Re-Evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. WHO IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 71 (1999).
- 86) Some Industrial Chemicals. WHO IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 60 (1994).
- 87) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. World Health Organization, International Program on Chemical Safety in Cooperation with the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, Environmental Health Criteria 70 (1987).

ポリソルベート20 安全性試験結果

| 試験種別 | 投与期間    | 投与方法      | 動物種・動物数/群   | 投与量又は濃度   | 試験結果   | 文献No |
|------|---------|-----------|-------------|---|--|------|
| 単回   | 単回      | 経口        | 小児2名        | 約4.4g   | 明確な有害影響はみられなかった。                               | 15   |
|      | 単回      | 皮内注       | ヒト6名        | 5%溶液  | 局所への影響は生理的食塩水と同等であった。                          | 16   |
| 反復投与 | 8週間     | 混餌        | 幼若ラット       | 3、5% (3,000、5,000 mg/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )        | 両投与群に軽度な下痢と成長抑制がみられた。                          | 18   |
|      | 28-39週間 | 混餌        | ハムスター       | 5% (約5,000 mg/kg 体重/日)                              | 著明な下痢と体重増加抑制がみられた。                             | 19   |
|      | 22ヶ月間   | 混餌        | マウス 雄10匹    | 5、10% (約7.5、15 g/kg 体重/日)                           | 10%群に軽度の下痢がみられた。                               | 20   |
|      | 17ヶ月間   | 経口        | サル4匹        | 1g/日 (約50 mg/kg 体重/日)                               | 有害影響はみられなかった。                                  | 16   |
|      | 20日間    | 筋注、静注、皮下注 | サル4匹        | 275 mg/kg 体重/日 (5%水溶液として)                           | 肝及び腎に病理組織学的な変化はみられなかった。                        | 16   |
|      | 1週間     | 経口        | 成人5名        | 2g/回、3回/日 (約100 mg/kg 体重/日)                         | 有害影響はみられなかった。                                  | 30   |
|      | 13-53日間 | 経口        | 未熟児13名、乳児2名 | 0.12~1.0g/回、4回/日 (未熟児: 250~2,000 mg/kg 体重/日)        | 有害影響はみられなかった。                                  | 31   |
| 発がん性 | 21週間    | 混餌        | ラット雄10匹     | 25% (12.5 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )                 | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 51   |
|      | 59日間    | 混餌        | ラット14匹      | 25% (12.5 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )                 | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 52   |
|      | 9週間     | 混餌        | ハムスター10匹    | 5、10、15% (4、8、12 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )          | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 51   |
|      | 68日間    | 混餌        | ハムスター36匹    | 5% (4 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )                     | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 52   |
|      | 30日間    | 経皮        | マウス         | 0.18 mol、1回/日、6日/週                                  | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 53   |
|      | 30日間    | 経皮        | マウス         | 0.18 mol、2回/日、6日/週                                  | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 53   |
|      | 24週間    | 経皮        | マウス         | 希釈溶液、1回/日、6回/週                                      | 腫瘍の発生は認められなかった。                                | 53   |
|      | 52週間    | 経皮        | マウス         | 100%溶液 (約3 mg/kg 体重/日)、1回/日、6日/週                    | 36週目に1個の良性皮膚腫瘍の発生が認められた。                       | 53   |
|      | 26週間    | 経口 (飲水中)  | ラット雄        | 0.4% (約100 mg/kg 体重/日) + 50 ppm MNNG <sup>*2</sup>  | MNNG 単独投与と比較してラットの腺胃の腺がんの発生頻度が高くなり、胃肉腫の発生を認めた。 | 60   |
|      |         | 皮膚塗布      | マウス         | 0.3 ~ 3% 0.2 ml (DMBA <sup>*3</sup> 0.125 mg 経皮投与後) | 弱い皮膚腫瘍発生増強作用が認められた。                            | 53   |
|      | 1年間     | 皮膚塗布      | マウス         | 原液(DMBA <sup>*3</sup> 経皮投与後)                        | 皮膚腫瘍を5匹に認めたが、DMBA 単独群では発生を認めなかった。              | 53   |
| 生殖発生 | 妊娠6-15日 | 経口        | ラット24-25匹   | 500、5,000 mg/kg 体重/日                                | 5,000 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制がみられた。               | 62   |
| 感作性  |         | マキシメーション法 | モルモット       |   | 中程度ないし強度の陽性結果が示された。                            | 12   |

\*1 JECFA “Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food”<sup>87)</sup>に基づく事務局換算。

\*2 N-methyl-N-nitrosoguanidine

\*3 7,12-dimethylbenz[a]anthracene

ポリソルベート 60 安全性試験結果

| 試験種類   | 投与期間      | 投与方法                 | 動物種・動物数/群                          | 投与量又は濃度   | 試験結果   | 文献No          |
|--------|-----------|----------------------|------------------------------------|---|--|---------------|
| 遺伝毒性   | Rec-assay | 硝酸                   | <i>Bacillus subtilis</i> (M45 Rec) | 100 µg/disk   | 陰性の結果が得られた。  | 39            |
|        | Rec-assay | 硝酸+NaNO <sub>2</sub> | <i>Bacillus subtilis</i> (M45 Rec) | 100 µg/disk   | 陽性の結果が得られた。  | 39            |
|        | Rec-assay |                      | <i>Bacillus subtilis</i>           |   | 陰性の結果が得られた (代謝活性化なし)。  | 40<br>41      |
|        | Ames試験    |                      | TA98, TA100                        |   | S9mixの有無に関わらず、陰性であった。  | 40, 41,<br>42 |
|        | 染色体異常     |                      | チャイニーズハムスター細胞                      |   | 陰性の結果が得られた (代謝活性化なし)。  | 40            |
|        | 姉妹染色分体    |                      |                                    |   | 陰性の結果が得られた (代謝活性化なし)。  | 40            |
| 急性     | 単回        | 経口                   | 患者6名                               | 20 g/ヒト   | 毒性症状はなく、胃酸の量の僅かな低下がみられた。   | 17            |
| 反復投与毒性 | 13週間      | 混餌                   | ラット                                | 1, 2, 5% (500, 1,000, 2,500 mg/kg 体重/日)                               | 5%投与群で下痢と盲腸の拡張、1%及び2%投与群に盲腸の拡張がみられた。   | 21            |
|        | 2年間       | 混餌                   | ラット雌雄各12匹                          | 2, 5, 10, 25% (1,000, 2,500, 5,000, 12,500 mg/kg 体重/日 <sup>*)</sup> ) | 10%及び25%群で著明な下痢、25%群でわずか (slight) ~中程度 (moderate)、10%群でより軽度の盲腸の拡張、25%群で肝臓に非常にわずかな疑わしい脂肪の変化がみられた。 | 22            |
|        | 3-12ヶ月間   | 混餌                   | マウス                                | 2.5, 5, 10% (3.75, 7.5, 15 g/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )                  | 有害影響はみられなかった。  | 25            |
|        | 12-13ヶ月間  | 混餌                   | ハムスター                              | 1%, 5% (0.8, 4 g/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )                              | 5%群で慢性の下痢と脱水によると思われる腎変化 (間質性腎炎) と死亡率の増加がみられた。  | 25            |
|        | 1年間       | 混餌                   | イヌ                                 | 5, 10% (1,250, 2,500 mg/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )                       | 下痢などの有害影響はみられなかった。   | 25            |
|        | 28日間      | 経口                   | 患者34名、健康人10名                       | 6 g/日   | 有害影響はみられなかった。  | 32            |
|        |           | 経口                   | 小児4名                               | 1 g/日、13-34回  | 有害影響はみられなかった。  | 33            |
|        | 5ヶ月間      | 経口                   | 幼児9名                               | 0.2 g/日   | 有害影響はみられなかった。  | 34            |
| 発がん性   | 2年間       | 混餌                   | ラット雌20匹、雄12匹                       | 5, 10, 20% (2.5, 5, 10 g/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )                      | がんの誘発は認められなかった。  | 54            |
|        | 2年間       | 混餌                   | ラット雌雄各24匹                          | 2, 5, 10, 25% (1, 2.5, 5, 12.5 g/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )              | がんの誘発は認められなかった。  | 22            |
|        | 13ヶ月間     | 混餌                   | ハムスター雄12匹                          | 1, 5% (0.8, 4 g/kg 体重/日 <sup>*)</sup> )                               | 発がん性は認められなかった。   | 25            |

| 試験種別     | 投与期間              | 投与方法    | 動物種・動物数/群   | 投与量又は濃度  | 試験結果   | 文献No       |
|----------|-------------------|---------|-------------|--|--|------------|
| 発がん性(続き) | 4ヶ月間              | 混餌      | マウス 10-12匹  | 2.5、5、10% (3.75、7.5、15 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> ) | 発がん性は認められなかった。   | 25         |
|          | 1年間               | 混餌      | イヌ          | 10% (2.5 g/kg 体重/日 <sup>*1</sup> )               | 発がん性は認められなかった。   | 25         |
|          | 30週以上             | 皮膚塗布    | マウス         | 原液、2 or 6 回/週                                    | 30週以上経過した動物の40~50%に良性の皮膚腫瘍の発生を認めているが、投与を継続すると腫瘍の大部分は退縮した。  | 55, 56, 57 |
|          | 36週間              | 経口(飲水中) | ラット雄        | 0.4% + 100 ppm MNNG <sup>*2</sup>                | MNNG 単独投与群に比べて腺胃の高分化腺がんの若干の発生増加と MNNG 単独群には認められなかった低分化腺がん及び腺がん肉腫を合併する例が認められ、発がんの増強と悪性度の亢進が認められた。 | 61         |
|          | 26週間              | 経口(飲水中) | ラット雄        | 0.4%+50 ppm MNNG <sup>*2</sup>                   | 腺胃に低分化腺がん 1/9 例を含む腺がんの発生増加と肉腫の発生を認めた。  | 60         |
| 生殖発生     | 妊娠 7-14 日         | 混餌      | ラット 10-12 匹 | 0.1、1、10% (99、960、7,693 mg/kg 体重/日)              | 1%投与群で胚/胎児死亡率に統計学的に有意な増加が認められた。  | 63         |
|          | 妊娠 1-19 又は 7-15 日 | 経口      | ラット 22-26 匹 | 1 滴 (約 150 mg/kg 体重/日)                           | 生存胎児数、胎児体重に影響は認められなかった。  | 64         |
|          | 妊娠 6-13 日         | 経口      | マウス         | 5.2 g/kg 体重/日                                    | 母出生後 3 日以降の新生児体重に増加抑制が認められた。   | 65         |
| 局所刺激性    | 30日間              | 皮膚塗布    | ウサギ         | 5、10%水溶液   | 5%溶液で中等度の刺激性がみられ、10%溶液で皮膚の壊死がみられた。   | 71         |
|          | 60日間              | 皮膚塗布    | ウサギ         | 15%水溶液、原液  | 15%水溶液を適用しても影響はなく、原液の適用により軽度の刺激性がみられた。   | 72         |
|          |                   | 皮膚塗布    | マウス         | 原液   | 局所に炎症性変化がみられた。   | 13         |
|          | 16週間              | 頭皮塗布    | 男性 68 名     | 25%水溶液 10 滴/回、2 回/日                              | 1 例に軽度の発赤がみられた。  | 73         |
| 感作性      |                   | 前額皮膚塗布  | ヒト          | ポリソルベート 60 を基剤としたクリーム又は単独                        | 20 分後に塗布部位に蕁麻疹が生じた。  | 76         |

\*1 JECFA “Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food”<sup>87)</sup>に基づく事務局換算。

\*2 N-methyl- N'-nitro-N-nitrosoguanidine