

調査研究報告書

既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究

平成 2 7 年 3 月

主任研究者

西川 秋佳 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター長

研究協力者

礪山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
今井 俊夫 国立がん研究センター研究所実験動物管理室
小川 久美子 国立医薬品食品衛生研究所病理部長
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所毒性部長
關野 祐子 国立医薬品食品衛生研究所薬理部長
長尾 美奈子 元慶應義塾大学薬学部共同研究員
広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室長
本間 正充 国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部長

目次

A. 研究要旨	1 頁
B. 研究目的	1 頁
C. 研究方法	2 頁
D. 研究結果	2 頁
E. 考察	2 頁
F. 結論	3 頁
参考	4 頁

別添

ブドウ種子抽出物	5 頁
ラック色素	8 頁

A. 研究要旨

平成8年度厚生科学研究報告書「既存天然添加物の安全性評価に関する調査研究」(主任研究者 林裕造)(以下「林班報告書」という。)においては、国際的な評価結果、欧米での許認可状況、安全性試験成績結果等から、既存添加物の基本的な安全性について検討した結果、489品目のうち139品目について、今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であると報告されている。

本研究では、林班報告書において更に検討する必要があるとされた139品目のうち、以下に掲げるすでに安全性の見直しが行われたものや既存添加物名簿から削除されたものを除く7品目のうち、新たに安全性試験成績の収集できたブドウ種子抽出物及びラック色素の2品目について検討を行った。

検討した2品目の既存添加物については、90日間以上の反復投与試験及び変異原性試験等の成績を入手し、これらの試験成績より、基本的な安全性を評価することができた。その結果、結論としては評価した2品目については、添加物として現在使用されている範囲では、ヒトの健康に対して有害性影響を及ぼすような毒性はないと考えられた。

B. 研究目的：

平成7年5月の食品衛生法改正によって、食品添加物の指定範囲が、従来の化学的合成品から天然香料等を除くすべての添加物に拡大された。本改正に伴い、従来から販売・製造・使用等がなされてきた「化学的合成品以外の添加物(天然香料等を除く。以下「天然添加物」という。)」については、経過措置として、既存添加物名簿を作成し、引き続き、販売・製造・輸入等を認めることとされた。

しかしながら、既存添加物名簿に掲げられた天然添加物については、従来から指定されている添加物と異なり、品目毎に安全性のチェックがなされているのではなく、国会等において、その安全性の確認が求められているところである。

これを受けて、平成8年度に公表された林班報告書では、既存添加物489品目について、国際的な評価結果や欧米での許認可状況及び安全性試験成績結果等の情報を用いて、基本的な安全性について検討がなされ、「489品目のうち、159品目については既に国際的な評価がなされており基本的な安全性が確認されている。さらに41品目については入手した試験成績の評価により、また150品目についてはその基原、製法、本質からみて、いずれも現段階において安全性の検討を早急に行う必要はないものと考えられた。」と報告されており、残る139品目についてはさらに検討が必要であるとされている。平成11年度に公表された「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」(主任研究者 黒川雄二)では、「林班報告書により安全性の確認が必要とされた139品目の内、14品目の既存添加物に

については、現時点で直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果が認められず、新たな安全性試験を早急に実施する必要がないものと考えられた。」と報告されている。さらに、平成 15 年度に公表された「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」（主任研究者 井上達）（以下「井上班報告書」という。）では「安全性の見直しを行った 17 品目については、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。」（なお、この内の 1 品目については、念のため、追加試験を実施している。）と報告されている。また、平成 16 年度、平成 18 年度、平成 19 年度、平成 20 年度、平成 21 年度、平成 22 年度、平成 23 年度及び平成 25 年度に公表された井上班報告書又は「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」（主任研究者 西川秋佳）では、それぞれ 14 品目、7 品目、8 品目、7 品目、6 品目、5 品目、1 品目及び 3 品目について、添加物として現在使用されている範囲において直ちに人の健康に対して有害性影響を及ぼすような毒性はないと考えられる旨報告されている。

本研究は、平成 8 年度林班報告書で安全性について検討することが必要と指摘された天然添加物 139 品目から、これまでに安全性の見直しが終了した品目及び既に既存添加物名簿から削除品目を除く、7 品目のうち、国内外の試験成績が収集できた 2 品目について、その試験成績の評価を行うことにより、それらの基本的な安全性を検討することを目的とした。

C. 研究方法

本研究は、林班報告書において安全性の確認が必要とされた既存添加物 139 品目のうち、これまでに安全性の見直しが終了した品目及び既に既存添加物名簿から削除された品目を除く 7 品目の中で、90 日間以上の反復投与試験及び変異原性試験等の必要な成績を入手し得た 2 品目について、安全性試験成績の評価を行った。

D. 研究結果

本研究で安全性の見直しを行った 2 品目についてのそれぞれの試験成績の概要は別添のとおりである。

ブドウ種子抽出物及びラック色素については、現時点において、人への健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。

E. 考察

本研究では、林班報告書において安全性の確認を必要とされた既存添加物であり見直しの済んでいない 7 品目のうち、少なくとも 90 日間以上の反復投与試験成績及び変異原性試験成績の双方が入手できた 2 品目について、それらの試験成績

を評価したところ、いずれの品目についても、添加物として現在使用されている範囲において人の健康に対して有害性影響を及ぼすような毒性はないと考えられた。

なお、厚生労働省は、使用実態のない既存添加物について、平成 16 年 12 月及び平成 19 年 9 月に続いて、平成 23 年 5 月に 3 回目の既存添加物名簿からの削除を行った。

このように、既存添加物の見直し作業は現時点までに着実に進行しているが、今後ともさらに使用実態の調査等を行い、必要な品目から効率的に見直しを進めていく必要があると考える。

F. 結論

本研究は、新たに 2 品目の天然添加物について、基本的な安全性が確認されることを示した。これらについては、いずれも現段階においてさらなる安全性の検討を早急に行う必要がないものと考えられた。

(参考) 既存添加物の安全性評価の見直し状況

- 平成 11 年度「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」(主任研究者 黒川雄二) において報告された 13 品目
- 平成 15 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 16 品目
- 平成 16 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 14 品目
- 平成 18 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 7 品目
- 平成 19 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 8 品目
- 平成 20 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 7 品目
- 平成 21 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 井上達) において報告された 6 品目
- 平成 22 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 西川秋佳) において報告された 5 品目
- 平成 23 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 西川秋佳) において報告された 1 品目
- 平成 25 年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」(主任研究者 西川秋佳) において報告された 3 品目

ブドウ種子抽出物

1. 食品添加物名

ブドウ種子抽出物（アメリカブドウ又はブドウの種子から得られた、プロアントシアニジンを含むものをいう。）

2. 基原、製法、本質

ブドウ科アメリカブドウ（*Vitis labrusca* LINNE）又はブドウ科ブドウ（*Vitis vinifera* LINNE）の種子より、熱時水、温時エタノール若しくは室温時アセトンで抽出したものより得られたもの、又はこの抽出物を、酵母を用いて発酵処理したものより得られたもの、若しくはタンナーゼにより加水分解処理したものより得られたものである。主成分はプロアントシアニンである。

3. 主な用途

酸化防止剤、製造用剤

4. 安全性試験成績の概要

(1) 単回投与試験

F344 ラットに単回強制経口投与毒性試験を行った。LD₅₀ は雌雄ともに 4,000 mg/kg 以上であった。¹⁾

アルビノラット雌雄各 5 匹を用いて、5,000 mg/kg の用量で単回強制経口投与毒性試験を行った。その結果、雌 1 匹が投与初日に死亡した。剖検では前胃に茶色の物質の付着がみられた。経口の LD₅₀ は雌雄ともに 5,000 mg/kg 以上であった。²⁾

(2) 反復投与試験

① ラット 90 日間反復投与試験

F344 ラットを用いた混餌投与（0.02%、0.2%、2.0%、被験物質摂取量としてそれぞれ雄 13.3, 130, 1410 mg/kg 体重/日、雌 14.8, 154, 1500 mg/kg 体重/日）による 90 日間反復投与試験を行った。その結果、各検査項目において、特記すべき変化は何ら認めず、また、病理組織学的検査においても被験物質に起因する毒性変化は認められなかった。³⁾

F344 ラットを用いた混餌投与（0.05%、0.5%、5.0%、被験物質摂取量としてそれぞれ雄 28.4, 286, 3020 mg/kg 体重/日、雌 33.4, 335, 3530 mg/kg 体重/日）による 13 週間反復投与試験を行った。その結果、一般状態、体重、摂餌量、臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、投与による毒性学的変化は認められなかった。臓器重量では、雄の 5.0% 群では肝臓/脳重量比及び腎臓/脳重量比が有意な低下を示したが、病理組織学的検査において何ら変化は観察されず、また、これらの臓器の絶対重量は投与群と対照群の間で有意差がなかったことから、投与に起因する変化ではないと考えられた。⁴⁾

SD ラットを用いた混餌投与（0.63%、1.25%、2.5%、被験物質摂取量として

それぞれ雄 434, 860, 1790 mg/kg 体重/日、雌 540, 1050、2170 mg/kg 体重/日) による 3 ヶ月間反復投与試験を行った。最高用量は、タンニン類による栄養吸収阻害影響が出現しない用量を選択した。その結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査に特記すべき変化は認められなかった。病理組織学的検査においても被験物質に起因する毒性変化は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに 2.5% (雄 ; 1,790 mg/kg 体重/日、雌 ; 2,170 mg/kg 体重/日) と考えられた。⁵⁾

F344 ラットを用いた混餌投与 (0.02%, 0.2%, 2.0%、被験物質摂取量としてそれぞれ雄 13.3, 129, 1410 mg/kg 体重/日、雌 14.8, 154, 1500 mg/kg 体重/日) による 90 日間反復投与試験を行った。その結果、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査、血液生化学的検査に特記すべき変化は認められなかった。剖検、臓器重量及び病理組織学的検査においても被験物質に起因する毒性変化は認められなかった。無毒性量は雌雄ともに雄 ; 1,400 mg/kg 体重/日、雌 ; 1,500 mg/kg 体重/日 (2.0%) と考えられた。⁶⁾

② マウス 6 ヶ月間、12 ヶ月間反復投与試験

B6C3F1 マウス雄を用いた混餌投与 (100 mg/kg 体重/日) による 12 ヶ月間反復投与試験を行った。マウスは投与開始後 3、6、9 及び 12 ヶ月に継時的解剖を行った。その結果、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査に被験物質に起因する変化は認められなかった。次いで、B6C3F1 マウス雌を用いた混餌投与 (100、250、500 mg/kg 体重/日) による、6 ヶ月間反復投与試験を行った。その結果、各検査項目において、特記すべき変化は何ら認めず、また、病理組織学的検査においても被験物質に起因する毒性変化は認められなかった。本文献²⁾に無毒性量の記載はないが、無毒性量は 500 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 遺伝毒性試験

細菌 (TA98、TA100) を用いた復帰突然変異試験は、1,250 ug/プレートまで試験されており、S9mix の有無にかかわらず、全て陰性であった。⁷⁾

チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いた染色体異常試験においては、S9mix 存在下、非存在下での短時間処理 (6 時間)、および長時間処理 (24、48 時間 ; -S9mix) で、5.0 mg/mL の最高用量まで試験が実施された。50% 細胞増殖抑制を示す濃度までの染色体異常誘発性は全て陰性であった。⁸⁾

マウスの骨髄を用いた小核試験は、本剤を 500、1000、2000 mg/kg の用量で 24 時間間隔、2 回経口投与し、最終投与の 24 時間後に観察を行った。全ての用量において、小核の誘発、骨髄細胞の増殖抑制作用は観察されなかった。⁹⁾

以上の結果から、ブドウ種子抽出物には遺伝毒性はないものと考えられた。

5. 検討結果

これらの試験成績からは、人の健康影響に対する懸念は認められなかった。

(引用文献)

1. ラット単回強制経口投与毒性試験 (企業データ：非公表)
2. Ray S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, Preuss HG, Stohs SJ., Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 109 (3-4): 165-197, 2001
3. ラット 90 日間反復投与試験 (企業データ：非公表)
4. ラット 13 週間反復投与試験 (企業データ：非公表)
5. Bentivegna SS, Whitney KM., Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food Chem. Toxicol.*, 40 (12): 1731-1743, 2002
6. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M., Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem. Toxicol.*, 40 (5): 599-607, 2002
7. 復帰突然変異試験 (企業データ：非公表)
8. 染色体異常試験 (企業データ：非公表)
9. 小核試験 (企業データ：非公表)

ラック色素

1. 食品添加物名

ラック色素（ラックカイガラムシから得られた、ラッカイン酸類を主成分とするものをいう。）

2. 基原、製法、本質

カイガラムシ科ラックカイガラムシ（*Laccifer lacca* KERR）の分泌する樹脂状物質より、室温時～熱時水で抽出して得られたものである。主色素はラッカイン酸類である。

3. 主な用途

着色料

4. 安全性試験成績の概要

（1）反復投与試験

① 13週間反復投与試験

F344 ラットを用いた混餌投与（0.313、0.625、1.25、2.5、5%）による13週間反復投与試験を行った。その結果、組織学的に耳下腺の肥大及び腎における石灰沈着が認められた他は、特に、体重、摂餌・摂水量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量に顕著な変化は認められなかった。耳下腺の肥大については、雌雄ともに2.5%以上の投与群で認められた。また、腎における石灰沈着については、雄では1.25%以上の投与群で見られており、雌では対照群（1/10例）及びすべての投与群で認められた。¹⁾

② 78週間反復投与試験

F344 ラットを用いた混餌投与（0.313%、1.25%、5%被験物質摂取量としてそれぞれ雄136、562、2270 mg/kg体重/日、雌169、690、2820 mg/kg体重/日）による78週間反復投与試験を行った。その結果、投与と関連して耳下腺の肥大及び自然発生病変である腎の石灰沈着の程度が強く現れたが、壊死性、炎症性及び増殖性病変の発現は認められなかった。また、体重、摂餌・摂水量、血液学的検査及び血液生化学的検査に顕著な変化は認められなかった。耳下腺の肥大については、雌雄ともに5%投与群の全例で見られた。腎における石灰沈着について、その程度を、所見なし、軽微、軽度、中等度、強度に分類して発現個体数を調べたところ、雄において、対照群では軽微1/20例、0.313%投与群では軽微1/17例、軽度1/17例、1.25%投与群では軽微6/20例、軽度1/20例、5%投与群では軽微12/19例、軽度5/19例であった。雌において、対照群では軽微11/15例、軽度4/15例、0.313%投与群では軽微11/18例、軽度7/18例、1.25%投与群では軽微7/18例、軽度9/18例、中等度2/18例、5%投与群では軽度3/19例、中等度14/19、強度2/19例であった。雌雄ともに、用量依存的に発生個体数の増加及び石灰沈着の程度の増強が認められた。²⁾

78 週間の反復投与試験で認められた耳下腺の肥大について、毒性学的意義を確認するために雄の F344 ラットを用いた混餌投与（5%）による 2 週間及び 4 週間反復投与試験を行い耳下腺の微細構造を透過型電子顕微鏡で観察した。その結果、2 週間の投与では、核膜の変形と濃縮傾向、分泌顆粒の形状不整、膨化及び限界膜消失、ミトコンドリアの空胞化が見られた。4 週間の投与では、核小体の凝集を伴う著しい核濃縮、分泌顆粒の限界膜消失、粗面小胞体の内腔拡張、ミトコンドリアの崩壊が見られた。ラック色素は腺房細胞の機能に影響を与えられた。³⁾

既存添加物の安全性見直しに関する調査研究班では、78 週間反復投与試験における腎の石灰沈着の用量相関性に関して、石灰沈着の発現個体数と用量に線形傾向があるか否か検定するため傾向検定（Cochran-Armitage test）、石灰沈着の程度が対照群と投与群との間に差があるか否かを検定するため Mann-Whitney U test を実施した。両検定とも有意水準は 5%とした。傾向検定の結果、雌雄ともに、腎の石灰沈着の発現個体数は用量と有意に線形傾向があると考えられた（ $P < 0.001$ ）。Mann-Whitney U test の結果は、雌雄ともに 0.313%投与群では有意差が認められなかったが、1.25%投与群及び 5%投与群において石灰沈着の程度が有意に高度であることを示した。

以上の結果から、腎の石灰沈着の発現個体数は用量依存的に増加し、かつ、その程度が強くなると結論し、本試験におけるラック色素の無毒性量は雄で 136 mg/kg 体重/日（0.313%）、雌で 169 mg/kg 体重/日（0.313%）と考えられた

（3）遺伝毒性試験

ラック色素の細菌（TA97, TA98, TA100, TA102）を用いた復帰突然変異試験は、5,000 ug/プレートまで試験されており、S9mix の有無にかかわらず、全て陰性であった。⁴⁾ ラック色素及びラッカイン酸のチャイニーズハムスター肺由来細胞（CHL/IU）を用いた染色体異常試験においては、S9mix 非存在下での長時間処理（24, 48 時間）で 2.0 mg/mL まで試験が行われたが、何れも染色体の構造異常の誘発が観察された。⁵⁾ ラッカイン酸のマウスの骨髄を用いた小核試験では、10、20 mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与し、投与 24 時間後に観察を行ったが、小核の誘発は観察されなかった。⁶⁾ ラック色素のチャイニーズハムスターを用いた骨髄での染色体異常試験では、500、1000、2000 mg/kg の用量で 1 回経口投与し、投与 24、48 時間後に観察を行ったが染色体異常の誘発は観察されなかった。⁷⁾

以上の結果から、ラック色素は *in vitro* において染色体異常誘発作用が認められたが、*in vivo* 小核試験、*in vivo* 染色体異常試験では何れも陰性であったことから、生体にとって特段問題となる遺伝毒性は無いと考えられた。

5. 検討結果

これらの試験成績からは人の健康影響が懸念されるような試験結果は認められなかった。

(引用文献)

1. 坂本義光等：ラック色素の F344 ラットによる 13 週間毒性試験、東京都立衛生研究所年報、49：255-266, 1998
2. 坂本義光等：ラック色素の F344 ラットによる長期毒性試験、東京都立衛生研究所年報、51：311-316, 2000
3. 福森信隆等：ラック色素投与時のラット耳下腺組織における微細構造の観察、東京都立衛生研究所年報、48：342-344, 1997
4. 藤田博等：天然食品添加物の Ames 試験における変異原性、東京都立衛生研究所年報、47：309-313, 1996
5. 石館基等：食品添加物（天然を含む）の変異原性、サイエンスフォーラム刊「変異原と毒性」4（No.5）：10-19, 1981
6. 林真等：厚生省等による食品添加物の変異原性評価データシート（昭和 54 年～平成 10 年度分） *Environ. Mutagen. Res.*、22：22-44, 2000
7. 吉田誠二等：天然食品添加物のチャイニーズハムスターにおける染色体異常誘発性の検討、東京都立衛生研究所年報、48：342-344, 1997