

は複屈折性封入体は認められなかった。複屈折性封入体は 1 年目に行った 49mg/kg 体重/日投与群のサルでも認められた。

16 mg/kg 体重/日以上投与群では、封入体が網膜の遠位周辺部で密度が高く、また拡散していた。封入体は神経線維、神経節細胞層、網状内層及び内顆粒層に多く、網状外層には少なかった。網状内層では複屈折性封入体は分離した神経節細胞とおそらく無軸索細胞と結びついており、核周囲部の内側または内部細胞突起に局在していた。内顆粒層外、桿状/円錐状分節または色素沈着した上皮には封入体は認められなかった。

高投与量群のサルの肝臓と網膜において顕微鏡で確認した結晶性封入体は、化学的分析によって供試化合物であるカンタキサンチンと関連していることが認められた。しかし、このような沈着物が肝臓及び眼の生理学的機能や形態におよぼす有害な影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は 0.2mg/kg 体重/日であった。【参照文献 3、8】

#### 4) 世代繁殖試験

雌雄各 20 匹の Wistar 系ラットを用いて、経口投与（飼料中カンタキサンチン含量 0 及び 1,000mg/kg）し、試験開始後 16 週目に交尾させ F<sub>1</sub>（母動物数 15）を得た。F<sub>1</sub>は 39 週目または 43 週目に交尾させ F<sub>2</sub>（母動物数 13）を得た。F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>はそれぞれ 2 年、1 年半、1 年を試験期間として、検体を連続投与した。3 世代を通じて、死亡率、体重、飼料摂取量、一般症状、血液学的検査及び病理学的検査において検体投与の悪影響は認められなかった。検体添加群の肝臓には色素の顆粒が観察された。また、F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>の生殖能にも検体投与の影響はなかった。【参照文献 5】

#### 5) 変異原性試験

##### ① 修復試験

枯草菌 H17 (rec<sup>+</sup>) と M45 (rec<sup>-</sup>)、大腸菌 WP2B/ r hcr<sup>+</sup> と hcr<sup>-</sup>、及び大腸菌 W3110 (thy<sup>+</sup>、pol<sup>+</sup>) と P3478 (thy<sup>-</sup>、pol<sup>-</sup>) を用いて、検体濃度 2,000 μg/disc より 2 倍希釈 10 段階で修復試験を行った結果、いずれの濃度でも増殖の阻止を示さず陰性であった。【参照文献 9】

##### ② 復帰変異試験

サルモネラ TA98 及び TA100 による復帰変異試験を行った。検体濃度は 4、40、400、4,000 μg/plate とし、陽性対照にジメチルニトロサミンと 2-アセチルアミノフルオレンを用いて試験した結果、何れの濃度でも自然復帰変異頻度と差はなく、ラット S-9Mix 添加 preincubation 法による代謝活性化処理による突然変異頻度にも差は認められなかった。

【参照文献 9】

#### 6) 眼毒性に関する特殊試験

##### ① *In vitro* (試験管内) での実験

ニワトリの胚の網膜神経を再凝集細胞培養した際にみられるカンタキサンチン結晶の形成を観察した。また、ヒナの網膜神経、網膜色素上皮、脳及び髄膜の定置沈降分離細胞中におけるリソソーム及びミトコンドリアの活動、タンパク合成及び分化等に関してカンタキサンチンの影響を調査した。カンタキサンチンは、カンタキサンチン添加飼料もしくはプラセボで飼育したヒナから得た高密度のリボタンパクと共に定置沈降分離細胞に加えた。網膜神経の再凝集培養基中では、高濃度のカンタキサンチンの存在下で培養されたため、赤又は茶色の複屈折を示す生成物が観察された。細胞培養基中にこの生成物が現れる頻度は、培養基

中のカンタキサンチンの濃度に比例し、カンタキサンチン濃度が、培養基中 1.2mg/L もしくはそれ以上の場合に観察された。カンタキサンチンを加えて培養しても、細胞の生存率及び分化に影響はなかった。【参照文献 3】

② ニワトリ

ブロイラーのヒナを用いて、カンタキサンチンを 14.2g/kg 含む飼料を 12 週間連続投与した (28g/kg 体重/日相当量を摂取)。投与されたヒナの眼を組織学的に検査したところ、網膜及びその周辺部の末梢部分に複屈折を示す赤茶色を帯びた結晶状構造が存在した。走査顕微鏡画像解析による網膜上の結晶状構造のスペクトルは、カンタキサンチン結晶のスペクトルと類似していた。【参照文献 3】

③ ニワトリ

雌のブロイラーのヒナ (1 群 4 羽) を用いて、カンタキサンチンを 0.2、0.5、1.3、8、20 及び 50mg/kg 含む飼料を 42 日間連続投与した。

網膜中、血漿中及び肝臓中のカンタキサンチンの濃度が投与量に相関して増加していることが、高速液体クロマトグラフィーにより確認された。8 mg/kg 投与群 (0.5mg/kg 体重/日に相当) の網膜のフラットマウント切片を観察したところ、偏光顕微鏡では典型的なカンタキサンチン粒子を確認できた。粒子数は、血漿中のカンタキサンチン濃度に高い相関を示したが、網膜中の濃度に対しては相関が低かった。粒子は、20 又は 50mg/kg 投与群において増加した。対照群及び 0.2、0.5 又は 1.3mg/kg 投与群では、網膜中に粒子は観察されなかった。【参照文献 3】

④ フェレット

18 匹のフェレットを用いて、カンタキサンチンとして 50mg/kg 体重/日相当量を含む水溶液 (水溶性のカンタキサンチン顆粒を溶解したもの) を 1 週間に 5 日、12 ヶ月間にわたり強制経口投与した。対照群にはカンタキサンチンを含まない顆粒を水に溶解して投与した。

カンタキサンチンを 12 ヶ月連続投与した後、網膜電図を観察したところ、群内に大きなばらつきがあったが、投与群と対照群には差が見られなかった。【参照文献 3】

⑤ サル

4 頭のカニクイザルを用いてカンタキサンチン 11mg/kg 体重/日を 40 ヶ月間の連続投与 (全投与量 34.5 g) した。対照群に 1 頭のサルを用いた。

血清中のカロテノイドは、カンタキサンチンを投与した全てのサルにおいて上昇した。緑内障、静脈血栓症又は汎光凝固などの網膜上の結晶の誘発をする疾病素因と考えられるものが、投与群 3 頭の動物の片方の眼に観察された。検眼鏡による検査、眼底撮影、蛍光眼底造影では、網膜上にいくつかの結晶が、実験的に誘発された緑内障とともに観察されたが、標準的なカンタキサンチンによる網膜症は観察できなかった。しかし、組織学的検査では、全てのサルにおいて後極から周辺部にかけて網膜全体に複屈折を示す粒子が観察された。粒子の網膜上の蓄積は、光受容細胞の外辺部分を除く網膜層の全体に広がって存在したが、この蓄積が細胞内にも及んでいるかどうかは、不明だった。また、細胞毒性につながるものは、見出されなかった。【参照文献 3】

⑥ ヒトとサルにおけるカンタキサンチンの集積

サルの網膜のカンタキサンチン濃度と、日焼け用錠剤を摂取し (総摂取量 16 g)、網膜上にカンタキサンチン結晶の蓄積を示している (網膜中に 20-30 µg/g) ヒトの網膜のカンタ

キササンチン濃度を比較した。

カンタキササンチンとして 49mg/kg 体重/日を 36~83 週間連続投与された (総摂取量: 54 g/頭) 7 匹のサルの網膜神経におけるカンタキササンチンの平均蓄積濃度は、154ng/g であったことから、比較対象としたヒトの網膜中のカンタキササンチン濃度は、サルの網膜中に観察された濃度の 100 倍以上であった。【参照文献 3】

## 7) ヒトにおける所見

### ① ヒトの網膜上における結晶の蓄積

ヒトに対するカンタキササンチンの使用と網膜上の結晶の蓄積に関し、医療上もしくは美容上の理由でカンタキササンチンを服用していたヒトを対象に、レトロスペクティブ生物統計研究<sup>注</sup>により、用量と作用の関係を調査した。

32 レポート (このうち公表されたものは 25、未公表のものは 7) から集めたデータ 411 例を解析した結果、95 例(23. 1%)には、網膜における結晶の蓄積が見られた。各被験者の摂取量は、15~240mg/日 (平均値 58.1 mg/日、中央値 45mg/日) で 1~14 年間 (平均値 3.1 年、中央値 2 年) に合計 0.6~201g (平均値 30.3g、中央値 13.9g) に及んだ。用量と強い相関関係が認められ ( $p < 0.0001$ )、一人当たり一日 30mg、合計 3,000mg 以下の摂取量であれば、網膜にカンタキササンチンの結晶が蓄積しないことが示された。【参照文献 3、10】

### ② 網膜電図における b 波の振幅の変化

27 人のポルフィリン症患者を被験者として、カンタキササンチンを治療目的で投与した。最初の 5 週間は 15mg/日、次の 5 週間は 60mg/日投与し、さらに引き続き夏期は 90~120mg のカンタキササンチンを与え、冬期は治療を行わなかった。被験者の中には、初めてカンタキササンチンを服用した患者もいたが、10 年にわたって服用していた患者(合計 170g)もいた。

5 週間 15mg/日のカンタキササンチンを与えても、網膜電図記録検査法において b 波の振幅に系統だった変化は見られなかった。しかし、さらに 5 週間 60mg/日投与したところ、b 波の振幅に減少が見られた。さらに 5 週間 90mg/日投与した後は、b 波の振幅のより明白な減少が観察された。網膜上にカンタキササンチンの結晶が現れた被験者については、b 波の振幅が顕著に減少したが、b 波の振幅の減少と血液中におけるカンタキササンチンの濃度に相関関係はなかった。b 波振幅の影響は、治療を中断すると回復した。

b 波振幅の減少は、b 波を発生させるミュラー細胞へのカンタキササンチンの濃縮が原因であることが示唆された。

本試験における無毒性量は、15mg/日すなわち 0.25mg/kg 体重/日であった。【参照文献 3、11、12】

### ③ 視覚機能

カンタキササンチンを摂取した 19 人の患者 (摂取量は不明。(11 人は黄斑障害にかかり、8 人には異常が見られなかった。)) に閾値静的視覚検査によって、視覚機能を評価した。カンタキササンチンを摂取したことの無い患者を対照とした。全ての患者の視力は、6/9 もしくは、それより良かった。

カンタキササンチンの摂取を中断して 2~3 年経過後に閾値静的視野検査を実施した。網膜

<sup>注</sup> 「後ろ向き生物統計研究」のこと。研究者が事後的にその状況を調べて、追跡調査すること。

上にカンタキサンチンの蓄積が認められる患者は、対照よりも網膜の反応度は低かったが、網膜障害の無い患者は、対照に比べて著しい相違は無かった。【参照文献 3、13】

④ 網膜上のカンタキサンチンの蓄積と減少

最大で 12 年間、178g までのカンタキサンチンを投与された 14 人の患者を対象に、網膜上のカンタキサンチンの結晶とその減少を観察した。投与終了 5 年後に網膜上の結晶が最大で 70%減少した。またヒトや霊長類の網膜の黄斑に現れたカンタキサンチンに関係していると考えられるカロテノイドは、ルテインとゼアキサンチンであることが同定された。ヒトの場合は、黄斑上に主に見られたカロテノイドはゼアキサンチンであり、ルテインは網膜全体に分散していた。【参照文献 3】

⑤ 肝毒性

骨髄性プロトポルフィリン症を治療する目的で、1~12 年間に 3~150g のカンタキサンチンを投与された 10 才から 61 才までの 11 人の患者について、試験方法は不明であったが、肝毒性の兆候は見られないという報告があった。【参照文献 3】

8) ヒトの網膜内におけるカンタキサンチン結晶の発達及び沈着メカニズム

当専門調査会は、ヒトの網膜内におけるカンタキサンチン結晶の発達及び沈着のメカニズムに関する所見及び補足資料を求め、その提出された資料を検討した結果、下記の回答を了承した。【参照文献 10~13】

○ 所見及び補足資料要旨

ヒトあるいは霊長類において、血漿中のカンタキサンチンは、低密度リポ蛋白質(LDL)によって運搬されるため、LDL レセプターを介したエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれることが想定される。細胞膜内に取り込まれて過剰に蓄積することにより、脂肪親和性の状態ではカンタキサンチンの溶解性が低下し、結晶化すると考えられる。慢性的に高用量を摂取し、血漿中に高濃度を維持することにより、網膜への沈着を引き起こすと考えられる。

(3) 各試験における無毒性量

各試験における無毒性量は次表のとおりである。

表 各試験における無毒性量

動物種	試験	無毒性量	備考
イヌ	短期毒性(15週間)試験	4g/匹/日以上	
ラット	慢性毒性(93~98週間)/催奇形性/催腫瘍性併合試験	飼料中の濃度：5%以上 (2500 mg/kg 体重/日に相当)	催奇形性及び催腫瘍性は認められない。
ラット	慢性毒性(104週間)/催腫瘍性併合試験	5mg/kg 体重/日	催腫瘍性は認められない。
サル	慢性毒性(36ヶ月間)試験	0.2mg/kg 体重/日	
ラット	繁殖試験	F <sub>0</sub> 雄：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>0</sub> 雌：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>1</sub> 雄：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>1</sub> 雌：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 (50 mg/kg 体重/日に相当)	繁殖毒性は認められない。
ヒト	網膜上の結晶形成調査(1-14年間摂取)	30mg/人/日 (60kgのヒト体重で換算すると0.5mg/kg 体重/日に相当)	
ヒト	網膜電図におけるb波の振幅検査(5週間摂取)	0.25mg/kg 体重/日	

5 食品健康影響評価について

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、飼料添加物カンタキサンチンに関する飼料一般の成分規格の改正及び当該飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価について、審議を行った。

その結果、カンタキサンチンは自然界にも存在し、諸外国では食品添加物及び飼料添加物として、国内では飼料添加物としての使用実績を有しているが、JECFA において ADI (0-0.03mg/kg 体重/日) を定めたことも考慮して、以下のとおり ADI を設定した。

対象物質 カンタキサンチン

ADI 0.025mg/kg 体重/日

(ADI 設定根拠資料) 視覚検査(網膜電図)

(動物種) ヒト

(期間) 5週間

(投与方法) 経口

(無毒性量) 0.25mg/kg 体重/日

(安全係数) 10

【参照文献】

- 1 カンタキサンチンの起源又は発見の経緯並びに外国における許可状況及び使用状況 (未公表)
- 2 カンタキサンチンの規格及び試験方法とその設定理由 (未公表)
- 3 JECFA Monograph 839. Canthaxanthin (WHO Food Additives Series 35)
- 4 カンタキサンチンのマウス及びラットに対する急性毒性試験 (未公表)
- 5 カンタキサンチンの生理学的、病理学的作用に関する試験の概要 (未公表)
- 6 Buser, S., "Canthaxanthin in a long-term study with male rats (feed mixture)", (1992). (未公表)
- 7 Buser, S., "Canthaxanthin in a long-term study with female rats (feed mixture)", (1992). (未公表)
- 8 Buser, S., Bausch, J., Goralczyk, R., Lenz, B., Schuep, W., Bee, W., and Zuhlke, U., "Canthaxanthin in a long-term study with Cynomolgus Monkeys", (1994). (未公表)
- 9 微生物を利用したアポカロチナール,  $\beta$ -アポ-8'-カロチン酸エチルエステル及びカンタキサンチンの変異原性試験 (未公表)
- 10 Kopcke, W, B. F., Schalch W, "Canthaxanthin deposition in the retina : a biostatistical evaluation of 411 patients", J. Toxicol.-Cut & Ocular Toxicol, 14(2) : 89-104(1995).
- 11 Arden GB, B. F., "Canthaxanthin and the eye : A critical ocular toxicological assessment.", J. Toxicol.-Cut & Ocular Toxicol, 10 : 115-155(1991).
- 12 Arden GB, Oluwole JOA, Polkinghorne P. *et al*" Monitoring of Patients taking Canthaxanthin and Carotene : An Electroretinographic and Ophthalmological Survey.", Human Toxicol. 8 : 439-450(1989).
- 13 Leyon, H., Ros, A.M., Nyberg, S., and Algreve, P., "Reversibility of Canthaxanthin deposits within the retina.", Acta Ophthalmologica, 68:607-611(1990).