

腫瘍性病変				
甲状腺濾胞上皮細胞腺腫	0/47	2/47	0/48	1/46
甲状腺濾胞上皮細胞腺がん	0/47	0/47	1/48	2/46
甲状腺濾胞上皮細胞腺腫/腺がん ¹	0/47	2/47	1/48	3/46
肝細胞腺腫 ²	2/48	2/47	3/48	2/47
両側性精巣間質性細胞腺腫 ³	22/48	30/47	38/48	39/47
単核球性白血病 ⁴	29/48	16/47	19/48	7/47
下垂体腺腫	30/45	19/46	21/48	13/45

*太字は対照群と比較して統計学的有意差あり

- 1 背景対照群 2/511(0.4%)、範囲0-2%
- 2 背景対照群 4/548(0.7%)、範囲0-2%
- 3 背景対照群 469/547(85.7%)、範囲69-90%
- 4 背景対照群 240/550(43.6%)、範囲31-58%

雌

	0ppm	91ppm	272ppm	543ppm
非腫瘍性病変				
甲状腺濾胞上皮嚢胞	0/46	1/46	0/47	2/48
甲状腺濾胞上皮過形成	1/46	0/46	0/47	3/48
肝臓好酸性細胞巣	3/48	12/48	20/48	16/48
肝臓嚢胞性変性	3/48	2/48	5/48	3/48
肝臓空胞化	5/48	5/48	17/48	22/48
腫瘍性病変				
甲状腺濾胞上皮細胞腺腫	0/46	0/46	0/47	1/48
甲状腺濾胞上皮細胞腺がん	0/46	1/46	2/47	0/48
甲状腺濾胞上皮細胞腺腫/腺がん ¹	0/46	1/46	2/47	1/48
肝細胞腺腫 ²	1/48	3/48	0/48	3/48
乳腺腺腫	0/48	1/48	1/48	2/48
乳腺腺がん	0/48	1/48	2/48	2/48
乳腺腺腫/腺がん ³	0/48	2/48	3/48	4/48
単核球性白血病 ⁴	17/48	8/48	5/48	8/48
下垂体腺腫	26/47	23/47	17/45	20/46

*太字は対照群と比較して統計学的有意差あり

- 1 背景対照群 7/517(1.4%)、範囲0-3%
- 2 背景対照群 1/541(0.2%)、範囲0-1%
- 3 背景対照群 9/534(1.7%)、範囲0-6%
- 4 背景対照群 188/543(34.6%)、範囲13-45%

【遺伝毒性試験】

in vitro、*in vivo* における試験の結果は以下のとおりであった。

<マラカイトグリーン>

in vitro

試験系	試験対象	用量	結果	参照文献
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA98,TA100,TA1535, TA1537	0.05、0.26、1.28、6.4、32、 160µg/plate (-S9)	陰性 ¹	(6)
		0.05、0.26、1.28、6.4、32、 160µg/plate (+S9)	陽性 ² (TA98 の 6.4µg/plate 以上)	(6)

	<i>S. typhimurium</i> TA98	10~150µg/plate (+S9)	陽性 ³ (30µg/mL 以上)	(6)
	<i>S. typhimurium</i> TA98,TA100, TA1537	用量不明(-S9)	陰性	(7)
	<i>S. typhimurium</i> TA97,TA98,TA100,TA102,TA104,TA1535	0.1~10µg/plate (±S9) ⁴	陰性	(4), (5)
	<i>S. typhimurium</i> TA97,TA98,TA100,TA102	0.01~10µg/plate (±S9)	陰性 ⁵	(8)
前進突然変異試験	CHO/HPRT	0.001~0.05µg/mL(-S9) 5h+7 日	陰性 ¹	(8)
		0.01~1µg/mL(+S9) 5h+7 日	陰性	(8)
Comet assay	CHO	1, 2, 3, 4, 5, 10µg/mL(-S9)	陽性 ⁷ (3µg/mL 以上)	(8)
		1~20µg/mL(+S9)	陽性 ⁸ (15µg/mL 以上)	(8)

1 1.28µg/plate で菌の生育阻害

2 菌の生育阻害濃度の記載なし

3 100µg/plate 以上で菌の生育阻害。20~70µg/plate にかけて用量依存的に復帰変異頻度が増加

4 S9mix はハムスター、ラット由来の2種を使用

5 -S9 の10µg/plate で TA98 を除き菌の生育阻害が認められた。+S9 では細胞毒性を確認した予備実験の結果に基づき 10µg/plate までテストした。

6 0.1µg/mL 以上で著しい細胞毒性が認められた。0.01µg/mL の1試行(1/2)でのみで陽性。

7 細胞生存率が3µg/mL で約80%、4及び5µg/mL で約70%、10µg/mL で約30%に低下。

8 15µg/mL 以上で細胞生存率がやや低下(約80-90%)

in vivo

試験	対象	投与量	結果	参考文献
小核試験	マウス骨髄	37.5 mg/kg 単回経口投与後 24, 42, 66 時間	陰性	(6)
	ラット骨髄	1.094~8.750 mg/kg 1 回/日、3 日間腹腔内注射	陰性 ¹	(4)
	マウス末梢血	25~1200 ppm 28 日間 混餌投与	陰性	(4)
	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス末梢血	450 ppm 4 週間混餌投与 ² 450 ppm 16 週間混餌投与 ²	陰性 陰性	(5)、(9) (5)、(9)
前進突然変異試験 (HPRT)	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス脾臓リンパ球	450 ppm 4 週間混餌投与	陰性	(5)、(9)
		450 ppm 16 週間混餌投与	陰性	(5)、(9)
突然変異試験 (マウス肝臓cII遺伝子突然変異試験)	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス肝臓cII遺伝子	450 ppm 16 週間混餌投与	陰性	(5)、(9)
³² Pポストラベル試験	雌B6C3F ₁ マウス肝臓DNA	0, 100, 600 ppm 28 日間 混餌投与	600 ppm 投与群で付加体が有意に増加	(10)
	雄F344 ラット肝臓DNA	0, 100, 600 ppm 28 日間 混餌投与	全投与群において付加体が有意に増加	(10)
	雌B6C3F ₁ マウス肝臓DNA	450 ppm 28 日間 混餌投与	付加体が有意に増加	(5)

1 4.375mg/kg 体重で有意に増加したが他の用量では増加は認められなかった。

2 純度88%(12%の大部分はロイコマラカイトグリーンで他はMGまたはLMGの脱メチル体)

<ロイコマラカイトグリーン>

in vitro

試験	対象	投与量	結果	参考文献
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA97, TA98,TA100,TA102	10~2000 µg/plate(±S9)	陰性 ¹	(8)

前進突然変異試験	CHO/HPRT	5~100µg/mL(-S9) 5h+7日	陰性 ²	(8)
		5~100µg/mL(+S9) 5h+7日	陰性 ³	(8)
Comet assay	CHO	5~500µg/mL(-S9)	陰性	(8)
		25~300µg/mL(+S9)	陰性	(8)

- 1 1000µg/plate以上の生存率は対照と比較して35-45%に低下。また500µg/plate以上では被験物質の沈殿が認められた。
 2 予備試験で500µg/mL以上で著しい細胞毒性が認められたため100µg/mL以下で実施。
 3 予備試験で500µg/mL以上で著しい細胞毒性が認められたため100µg/mL以下で実施。

in vivo

試験	対象	投与量	結果	参考文献
小核試験	雌 Big Blue ラット骨髄	0, 9, 27, 91, 272, 543 ppm 4, 16, 32 週間混餌投与	陰性	(11)
	雌B6C3F ₁ /NctBRマウス末梢血	0, 290, 580, 1160 ppm 28日間 混餌投与	陽性 ¹ (290,580 ppm)	(4)
	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス末梢血	204,408 ppm 4週間混餌投与	陰性	(5), (9)
		204,408 ppm 16週間混餌投与	陰性	(5), (9)
前進突然変異試験 (HPRT)	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス 脾臓リンパ球	204 ppm 4週間混餌投与	陰性	(5), (9)
		408 ppm 16週間混餌投与	陰性	(5), (9)
³² Pポストラベル試験	雌B6C3F ₁ マウス 肝臓DNA	0, 204, 408 ppm 28日間 混餌投与	陰性	(5)
	雌B6C3F ₁ マウス肝臓DNA	0, 96, 580 ppm 28日間 混餌投与	陰性	(10)
	雄 F344 ラット肝臓 DNA	0, 96, 580 ppm 28日間 混餌投与	580ppm 投与群で付加体が有意に増加	(10)
	雌 Big Blue ラット 肝臓 DNA	0, 9, 27, 91, 272, 543 ppm 4週間混餌投与	91ppm 以上で DNA 付加体が用量相関的に有意に増加	(12)
突然変異試験 (肝臓lacI遺伝子突然変異試験)	雌 Big Blue ラット 肝臓 DNA	0, 91, 272, 543 ppm 4, 16, 32 週間混餌投与	陰性 ²	(12)
突然変異試験 (肝臓c II 遺伝子突然変異試験)	雌Big Blue B6C3F ₁ マウス 肝臓c II 遺伝子	408 ppm 16週間混餌投与	陽性	(5), (9)
	雌 Big Blue F344 ラット 肝臓 c II 遺伝子	543 ppm 16週間混餌投与	陰性	(5), (9)

- 1 1160ppm ではやや増加したが統計学的有意差はなし
 2 543ppm 投与群の16週時点では増加

in vitro については、Ames 試験、前進突然変異試験、Comet 試験が実施されている。

Ames試験は*Salmonella typhimurium*のTA97、TA98、TA100、TA102、TA104、TA1535、TA1537用いて実施されているが、MGについては抗菌活性を示したため一部を除いて高用量の試験は行われていない。LMGについては最大 2000µg/plateまでの試験が行われている。MGについては、AmesでTA98 (10-150µg/plate) の+S9で陽性の結果が報告されている⁽⁶⁾が、後に報告された試験⁽⁸⁾では予備試験で抗菌作用が認められたため10µg/plateまでの用量で実施したと記載されている。この報告では再現性が得られなかった理由についても考察されているが、MGのTA98(+S9)についてはさらなる再現性の確認が必要であると考えられる。LMGでは2000µg/plateまで陰性の結果が得られている。前進突然変異試験はCHOのHprt遺伝子座を用いて実施されているが、細胞毒性が認められたためMGでは-S9で0.05µg/mL、+S9で

1 μ g/mL、LMGで 100 μ g/mLまでの用量で試験が行われ、いずれも陰性と報告されているが、MGの+S9では細胞毒性が减弱し、最高用量においても細胞毒性が認められておらず、用量不足の可能性が残っている。Comet 試験はCHOを用いて、MGでは-S9で 10 μ g/mL、+S9で 20 μ g/mL、LMGでは-S9で 500 μ g/mL、+S9で 300 μ g/mLまでの用量で試験が実施されている。MGについて代謝活性化系の有無にかかわらず陽性と報告されている。陽性所見が認められた用量における細胞毒性は、-S9で細胞生存率が20-70%低下したが、+S9では10-20%の低下であった。LMGについてはいずれも陰性とされている。染色体異常誘発性を指標とした試験結果についての公表論文は報告されていない。

*in vivo*については、小核試験、前進突然変異試験、³²P-post label法によるDNA付加体形成試験、Big Blueマウスあるいはラットを用いて肝臓における導入*lac I*あるいは*c II*遺伝子の突然変異試験が実施されている。小核試験はMG、LMGともマウス骨髄、ラット骨髄、マウス末梢血について試験が実施されているが、NTPの2004年の報告ではLMGを28日間混餌投与したマウス末梢血の1試験(B6C3F₁/NctrBR)において陽性の報告があるが、2005年のNTP報告では4あるいは16週間混餌投与した別のマウスの末梢血の試験(Big Blue B6C3F₁)では陰性であったと報告している。他の試験では全て陰性と報告されている。前進突然変異試験はMGではマウス、LMGではマウス及びラットの脾臓リンパ球におけるHPRT変異について実施されているが、いずれも陰性と報告されている。³²P-post label法によるDNA付加体形成試験は、MGでは雌B6C3F₁マウス及び雄F344ラットの肝臓DNAについて実施され、いずれも付加体の形成が認められたと報告されている。LMGについては雌B6C3F₁マウス、雄F344ラット、雌Big Blueラットの肝臓DNAについて実施され、ラットでは付加体の形成が認められたが、マウスでは認められなかったと報告されている。Big Blueマウスあるいはラットの肝臓における導入*lac I*あるいは*c II*遺伝子の突然変異試験の結果は、MGについてはマウスの*c II*遺伝子で陰性であった。一方、LMGについてはマウスの*c II*遺伝子で陽性、ラットの*c II*遺伝子で陰性で、ラットの*lac I*遺伝子では最高投与量において16週の時点では変異発生率が有意に増加したが、32週では増加が見られず、また、clonalityを考慮した解析では16週の場合も変異の発生率に有意差がなかった⁽¹⁾と報告されている。

MGについては、マウスとラットの肝臓において³²P-post label法でDNA付加体の形成が認められている。ただし、マウスを用いた小核や前進突然変異試験の結果は陰性で、DNA付加体形成が染色体異常や遺伝子突然変異として固定される可能性は低いものと考えられる。ただし、小核や前進突然変異試験の多くは混餌投与による試験で、がん原性試験の用量を参考に設定されているため、遺伝毒性試験としては用量不足の可能性はある。ラットについてはこれらに関する知見は得られていない。

LMGについては³²P-post label法でラットの肝臓でDNA付加体形成が認められているが、マウスの肝臓では認められなかった。小核試験、HPRT突然変異試験については、小核の1試験を除きいずれも陰性であるが、混餌投与による試験で、がん原性試験の用量を参考に設定されているため、遺伝毒性試験としては用量不足の可能性はある。トランスジェニック動物(Big Blue)を用いた試験では、マウス肝臓で*c II* 遺伝子に弱い突然変異誘発が認められたが、ラットにおいては*c II*および*lac I*ともに陰性の結果であった。一方、DNA付加体試験の結果は、マウスで陰性、ラットで陽性であり突然変異試験と矛盾した結果となっている。

4. 食品健康影響評価について

【発がん性について】

発がん性については、NTPにおいてMGについて雌B6C3F₁マウス、雌F344 ラット、LMGについて雌B6C3F₁マウス、雌雄F344 ラットについて2年間の混餌投与試験が実施されている。一部について雌のみ実施されているのは、28日のパイロット試験において、雌でより強い毒性が認められたことに基づいている。

MG及びLMGの発がん性について2005年のNTPの報告書においては次のように結論している。また、英国のCOMとCOCは共同声明においてこの結論を支持するとした。

MGについては、雌B6C3F₁マウスの450ppmまでのMGの経口投与において発がん性は認められない。雌F344 ラットにおいては甲状腺濾胞上皮細胞腺腫及び腺がんを合計した場合の発生頻度、肝細胞腺腫、乳腺がんの発生頻度のわずかな上昇が認められたことから、恐らくMGの投与に起因して腫瘍性病変のわずかな増加が示されたとしている(equivocal evidence of carcinogenic activity)^e。

LMGについては、雌B6C3F₁マウスにおいて肝細胞腺腫、腺腫とがん腫の合計発生頻度の上昇が認められたことから、LMGの投与に起因して腫瘍性病変の発生頻度の増加が示されたとしている(some evidence of carcinogenic activity)^f。雄F344ラットにおいては甲状腺濾胞上皮細胞の腺腫及び腺がんを合計した場合の発生頻度、精巣の両側性の間質性細胞腺腫の発生頻度のわずかな上昇が認められたことから、恐らくLMGの投与に起因して腫瘍性病変のわずかな増加が示されたとしている(equivocal evidence of carcinogenic activity)。雌F344ラットにおいては甲状腺濾胞上皮細胞の腺腫及び腺がんを合計した場合の発生頻度、肝細胞腺腫の発生頻度のわずかな上昇が認められたことから、恐らくLMGの投与に起因して腫瘍性病変のわずかな増加が示されたとしている(equivocal evidence of carcinogenic activity)。

MGとLMGの発がん性について評価するためのデータは、現時点では上記NTPの試験のみであった。対照群との比較で明確な統計学的に有意な腫瘍性病変発生数の増加が認められた例はほとんどなかったが、MGの雌ラットの肝細胞腺腫(1/48, 1/48, 3/48, 4/48)、乳腺がん(2/48, 2/48, 1/48, 5/48)、LMGの雄ラットの甲状腺濾胞上皮細胞腺腫/がん腫(0/47, 2/47, 1/48, 3/46)、雌ラットの肝細胞腺腫(1/48, 3/48, 0/48, 3/48)、雌マウスの肝細胞腺腫/がん腫(3/47, 6/48, 6/47, 11/47)については用量と発生数からは無視し得ないと考えられた。また、MG、LMGともにラットでは投与により好酸性細胞巣が明らかに増加しており、肝細胞腺腫との関連が示唆された。なお、LMGの雄F344ラットの両側性の精巣間細胞腫は全ての投与群で認められ、最高用量では対照群との比較では統計学的に有意であったが、もともとF344系ラットにおいて発生率が高く、この結果から影響を判断することはできなかった。

これらのことから、現時点において得られている知見からは、LMGが雌マウスの肝臓に発がん性を有することが示唆された。また、ラット肝臓及び甲状腺に発がん性が弱いながらも示唆された。MGは雌ラット肝臓及び乳腺における発がん性が弱いながらも示唆された。

^eNTPは発がん性のレベルについてclear evidence, some evidence, equivocal evidence, no evidence の4種にクラス分けしている。

Equivocal evidence of carcinogenic activity についてNTPは次のように補足している。Studies that are interpreted as showing a marginal increase of neoplasms that may be chemical related.

^fSome evidence of carcinogenic activity についてNTPは次のように補足している。Studies that are interpreted as showing a chemical-related increased incidence of neoplasms (malignant, benign, or combined) in which the strength of the response is less than that required for clear evidence.

【遺伝毒性について】

遺伝毒性試験については、*in vitro*のAmes試験、前進突然変異試験、Comet試験、*in vivo*の小核試験、前進突然変異試験、³²P-post label法によるDNA付加体形成試験、Big Blueマウスあるいはラットを用いて肝臓における導入*lacI*あるいは*c II*遺伝子の突然変異試験が実施されており、ほとんどの試験において陰性の結果が得られている。

MGについては、*in vitro*のAmesの1試験でTA98について代謝活性化系存在下で陽性、Comet試験で代謝活性化系の有無にかかわらず陽性、*in vivo*の³²P-post label法によるDNA付加体形成試験で雌B6C3F₁マウス及び雄F344ラットの肝臓DNAについていずれも付加体の増加が認められている。LMGについては、*in vitro*は実施された範囲内の試験では全て陰性であったが、*in vivo*ではマウス末梢血を用いる小核試験において弱い陽性、Big Blueマウスの肝臓における導入*c II*遺伝子の突然変異試験で弱い陽性、³²P-post label法によるDNA付加体形成試験で、雄F344ラット、雌Big Blueラットの肝臓DNAについて付加体の形成が認められている。これらの結果について、2004年の英国のCOMとCOCは共同声明において、MGについてはラット、マウスともにDNA付加体が形成されることから、MGは*in vivo*変異原性物質であると見なすのが賢明である、としている。また、LMGについては、雌Big Blueマウス肝臓において*c II*遺伝子の突然変異発生率の増加が認められることからLMGは*in vivo*変異原性物質であると見なすべきであると結論している。

遺伝毒性に関するデータを整理すると、MGはComet試験で陽性であるが、*in vivo*の小核試験は陰性であった。ただし、小核試験については用量不足の可能性が残る。また、ラットおよびマウス肝でDNA付加体が明確に示されているが、マウスの肝で突然変異は検出されず、ラットの肝の突然変異については知見が得られていない。LMGについては、発がん性が示唆されているマウス肝で*c II*遺伝子の突然変異が弱いながらも陽性であるが、DNA付加体形成試験や*in vitro*での遺伝子突然変異試験は陰性であり、ラット肝ではDNA付加体形成試験は陽性であったが*c II*遺伝子の突然変異や*in vitro*での遺伝子突然変異試験は陰性であった。これらのことを考えあわせると、DNA付加体生成や*c II*遺伝子の突然変異等の*in vivo*における突然変異を一義的には説明できない。しかし、現時点で得られている結果から総合的に判断すると、MG、LMGが遺伝毒性を有する可能性は否定できないと判断するのが賢明であると判断された。なお、確実な結論を得るには、さらなる試験の追加が必要であろう。

【食品健康影響評価について】

MG及びLMGは、現時点において発がん性を評価するのに適当な唯一の資料と考えられたげっ歯類を用いた2年間発がん試験の結果から、LMGが雌マウスの肝臓に発がん性を有することが示唆され、LMGのラット肝臓及び甲状腺、MGの雌ラット肝臓及び乳腺の発がん性が弱いながらも示唆された。ただし、認められた腫瘍性病変の多くは腺腫であった。発がん標的臓器における遺伝毒性については、MGはラットおよびマウス肝でDNA付加体形成が示されているが、マウスの肝で遺伝子突然変異を誘発しなかった。LMGは、マウス肝で*c II*変異を誘発したが、DNA付加体形成試験は陰性であった。これら及び*in vitro*試験結果を含め、現時点で得られたデータを総合的に評価すると、*in vivo*で認められた遺伝子突然変異の誘発がDNA損傷性に起因するとの説明は難しいものの、MG、LMGが遺伝毒性を有する可能性は否定できないと考えられる。

以上のように、発がん性のメカニズムを明らかにすることはできず、ヒトにおける発がんリスクは明確ではないが、現時点で評価した試験結果からみれば、げっ歯類における発がん性が示唆され、遺伝毒性も否定できないことからMG及びLMGにADIを設定することは適当でない。

<参考文献>

- (1) Jones J. J., et al. 3rd (2003); Decolorization of malachite green and crystal violet by waterborne pathogenic mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother* : 2003, 47, 2323-2326
- (2) David J., et al. *Xenobiotics in Fish*
- (3) JOINT COM & COC STATEMENT ON MUTAGENICITY AND CARCINOGENICITY OF MALACHITE GREEN (MG) AND LEUCOMALACHITE GREEN (LMG)
COM/04/S4 & COC/04/S7 – December 2004
- (4) Culp S. J. (2004); NTP technical report on the toxicity studies of malachite green chloride and leucomalachite green (CAS Nos. 569-64-2 and 129-73-7) administered in feed to F344/N rats and B6C3F1 mice.
Toxic Rep Ser 71, MID-15208078
- (5) NTP (2005) - Toxicology and carcinogenesis studies of malachite green chloride and leucomalachite green. (CAS NOS. 569-64-2 and 129-73-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies).
Natl Toxicol Program Tech Rep Ser 527, 1-312
- (6) Clemmensen S., et al. (1984); Toxicological studies on malachite green: a triphenylmethane dye.
Arch Toxicol : 1984, 56, 43-45
- (7) Lynette R. Ferguson and Bruce C. Baguley (1988); Verapamil as a co-mutagen in the *Salmonella/mammalian* microsome mutagenicity test.
Mutation Research : 1988, 209, 57-62
- (8) Fessard V., et al. (1999); Mutagenicity of malachite green and leucomalachite green in in vitro tests.
J Appl Toxicol : 1999, 19, 421-430
- (9) Mittelstaedt R. A., et al. (2004); Genotoxicity of malachite green and leucomalachite green in female Big Blue B6C3F1 mice.
Mutat Res : 2004, 561, 127-138
- (10) Culp S. J., et al. (1999); Toxicity and metabolism of malachite green and leucomalachite green during short-term feeding to Fischer 344 rats and B6C3F1 mice.
Chem Biol Interact : 1999, 122, 153-170
- (11) Manjanatha M. G., et al. (2004); Analysis of mutations and bone marrow micronuclei in Big Blue rats fed leucomalachite green.
Mutat Res : 2004, 547, 5-18
- (12) Culp S. J., et al. (2002); Mutagenicity and carcinogenicity in relation to DNA adduct formation in rats fed leucomalachite green.
Mutat Res : 2002, 507, 55-63

平成17年11月25日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 吉倉 廣 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 井上 達

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成17年11月16日付け厚生労働省発食安第1116003号をもって諮問された食品衛生法(昭和22年法律第233号)第11条第1項の規定に基づくマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンに係る食品規格(畜水産食品等に係る動物用医薬品の残留基準)の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおりとりまとめたので、これを報告する。

(別 添)

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーン

1. 概要

- (1) 品目名： マラカイトグリーン (Malachite green; MG)
ロイコマラカイトグリーン (Leucomalachite green; LMG)

- (2) 用途：水産業における水カビ病の治療 (MG)

MG は緑色の合成色素で、抗菌活性を示し、水産業において水カビ病の治療薬として広く使用されていたが、構造的に核酸への親和性や他の遺伝毒性、発がん性が疑われる物質との類似性等が指摘され、特に近年食用動物への使用が制限されてきている。我が国においても、薬事法の一部改正及びそれに伴う動物用医薬品等取締規則の一部改正により、平成 17 年 7 月 31 日を以って全ての食用水産動物に対して使用が禁止されているが、毒性に関する詳細な評価は行われておらず、食品衛生法上の個別基準は設定されていない。

LMG は MG の主要な代謝物であり、MG が生体内で還元されて生じる。LMG の抗菌活性はほとんど無いが、MG が使用された魚類組織中においては、LMG が MG と比較して長期間残留する内容の報告があり、MG が使用された魚類組織中には LMG が残留する可能性がある。LMG についても、毒性に関する詳細な評価は行われておらず、食品衛生法上の個別基準は設定されていない。

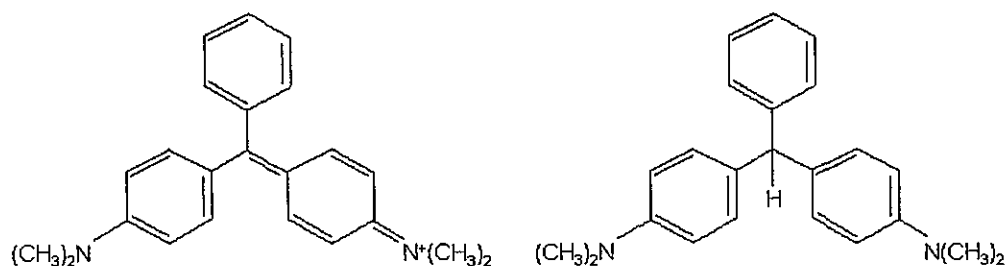
このため、今般、MG 及び LMG について、食品安全委員会の食品健康影響評価を踏まえ、食品衛生法上の個別基準を設定することとしたものである。

- (3) 化学名：

MG : 4-[(4-dimethylaminophenyl)-phenylmethyl]-N,N-dimethylaniline

LMG : 4,4'-Benzylidenebis(N,N-dimethylaniline)

- (4) 構造式及び物性



分子式 : $C_{23}H_{25}N_2$ (MG)、 $C_{23}H_{26}N_2$ (LMG)

分子量 : 329.47(MG)、330.48(LMG)

常温における性状 : MG は青緑色の結晶、LMG は白色の結晶

溶解度 : 水に可溶

2. 許容一日摂取量 (ADI) 評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成17年9月13日付け厚生労働省食安発第0913013号により、食品安全委員会委員長あて意見を求めたMG及びLMGに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

MG及びLMGは、現時点において発がん性を評価するのに適当な唯一の資料と考えられたげっ歯類を用いた2年間発がん試験の結果から、LMGが雌マウスの肝臓に発がん性を有することが示唆され、LMGのラット肝臓及び甲状腺、MGの雌ラット肝臓及び乳腺の発がん性が弱いながらも示唆された。なお、認められた腫瘍性病変の多くは腺腫であった。Comet試験を除き、*in vitro* 遺伝毒性試験については、ほとんど陰性であり、発がん標的臓器における遺伝毒性については、MGはラットおよびマウス肝でDNA付加体形成が示されているが、マウスの肝で遺伝子突然変異を誘発しなかった。LMGは、マウス肝で*cH*変異を誘発したが、DNA付加体形成試験は陰性であった。これら及び*in vitro*試験結果を含め、現時点で得られたデータを総合的に評価すると、*in vivo*で認められた遺伝子突然変異の誘発がDNA損傷性に起因するとの説明は難しいものの、MG、LMGが遺伝毒性を有する可能性は否定できないと考えられる。

以上のように、発がん性のメカニズムを明らかにすることはできず、ヒトにおける発がんリスクは明確ではないが、現時点で評価した試験結果からみる限り、げっ歯類における発がん性が示唆され、遺伝毒性も否定できないことからMG及びLMGにADIを設定することは適当でない。

3. 諸外国における規制状況

MG及びLMGについては、国際機関であるJECFAにおける毒性評価はなされておらず、国際基準も設定されていないが、欧州等の諸外国において養殖水産動物への使用は禁止されている。

EUにおいては、MG及びLMGの和として $2\mu\text{g}/\text{kg}$ とのMRPLs (Minimum Required Performance Limits)*が、養殖水産動物について設定されている。また、豪州、ニュージーランドにおいては「不検出」基準が設定されており、その検出限界として $2\mu\text{g}/\text{kg}$ が設定されている。なお、米国においてはMG及びLMGの使用が禁止されており、カナダにおいてもMGについては「食用魚類は含有してはならない」とされている。

*「ある検体における対象物質の最少量のことであり、その量は少なくとも検出及び確認されなければならない。これは、基準が設定できない物質に対する分析方法の精度等を調和させることを目的とするためのものである。」と解説されている。EU域内においてある物質の不検出の精度を調和させるために設定されている。

4. 残留基準の設定

食品安全委員会における評価結果を踏まえ、MG及びLMGの残留基準として「不検出」を設定することとする。