

成分名	食用赤色 2 号
英 名	Food Red No. 2
CAS No.	915-67-3
収載公定書	食添
A TOXNET DATABASE への リンク	<a href="https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/915-67-3">https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/915-67-3</a>

投与経路	用途
経口投与	着色剤
一般外用剤	

### JECFA の評価(FAS 19, (1984))

毒性作用を示さない用量

ラット: 50 mg/kg 体重(混餌)<sup>1)</sup>

ヒトの 1 日摂取許容量(ADI)の推定値

0~0.5 mg/kg 体重<sup>1)</sup>

毒性影響を生じない量として、ラットで混餌投与時に 50 mg/kg 体重と評価し、ヒトの 1 日許容摂取量(ADI)を 0 - 0.5 mg/kg 体重と設定した<sup>2)</sup> (FDA, 1984)。

### 1. 単回投与毒性<sup>1)</sup>

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub>	文献
マウス	経口	>10 g/kg	Anonymous, 1959 <sup>3)</sup>
マウス	腹腔内	1 g/kg	Anonymous, 1957 <sup>3)</sup>
ラット	静脈内	>1 g/kg	Anonymous, 1957 <sup>3)</sup>

### 2. 反復投与毒性

#### 2-1 マウス

マウス 477 日間反復投与毒性試験

マウス 20 匹に本色素 15~20 mg を 1 週間のうち 5 日間、最高 477 日間投与した。剖検をマウス 18 匹に対して行ったが、肝臓に病変は認められなかった<sup>2,3)</sup> (Cook et al., 1940)。

#### 2-2 ラット

##### ① ラット 3 日間反復投与毒性試験

若齢ラット 5 匹から成る群に本色素を 1 日 2 回、3 日間皮下投与した。4 日目にラットを屠殺した。各注射時に、本色素 250 mg/kg 体重を水溶液として投与した。対照群と比較してエストロゲン活性(正常な子宮重量)は認められなかった。その他も異常はみられなかった<sup>2,3)</sup> (Graham & Allmark, 1959)。

##### ② ラット 10 日間反復投与毒性試験

離乳ラットの群に、本色素を 0、1200、3000、10000、20000 ppm で 10 日間混餌投与した。試験群は 9 匹／群、対照群は 12 匹／群とした。すべてのラットにビタミン A 30  $\mu$ g を連日投与した。体重、摂餌量、肝重量および肝臓のビタミン A 量に有意な変化は認められなかった<sup>4)</sup> (Truhaut and Ferrando, 1975)。

### ③ ラット 21 日間反復投与毒性試験

雌雄各 6 匹から成る 6 群に基礎粗飼料、高度精製基礎飼料、2.5 または 5% 本色素含有粗飼料、2.5 または 5% 本色素含有精製基礎飼料を 21 日間投与した。5% 本色素は体重増加または一般状態に対して事実上全く有害作用を示さなかった。しかし、本色素含有精製基礎飼料の場合、成長が止まり 2 週間以内にラットは死亡した。ビタミン補充はこの食餌の影響に予防効果を示さなかったが、10% セルロース、10% アルファルファ飼料またはクレソンパウダーは予防効果を示した<sup>3)</sup> (Ershoff & Thurston, 1974)。

### ④ ラット 90 日間反復投与毒性試験

ラットに本色素を飼料に混ぜ、20、40、80 及び 1,250mg/kg/day で 90 日間投与したところ、雄の 1,250mg/kg 投与群で腎臓にカルシウム沈着が観察された<sup>2)</sup> (Clode et al., 1987)。

### ⑤ ラット 365 日間反復投与毒性試験

ラット 11 匹に 1% 溶液 0.5 mL を週 2 回 365 日間皮下投与したところ、腫瘍は認められなかった。観察期間は 879 日間であり、総投与量は 1 匹あたり 0.5 g であった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1957)。

### ⑥ ラット 12 ヶ月間反復投与毒性試験

交配していない雌雄ラットに本色素 1.5 または 15 mg/kg を 12 ヶ月間強制経口投与した。雌では発情周期が抑制され、胎児死亡数の増加、授乳障害が認められた。雄では、精子生存期間が短くなり、死亡および抵抗の減少が認められた<sup>3)</sup> (Shtenberg & Gavrilenko, 1972)。

### ⑦ ラット 417 日間反復投与毒性試験

ラット 10 匹に、本色素を含量 0.2% で混餌投与した。各動物は平均 0.1 g/kg 体重/日を 417 日間摂取した。色素の総摂取量は 1 匹あたり 11 g となった。観察期間は、830 日間であった。小腸がん 1 個が認められた<sup>3)</sup> (Anonymous, 1957)。

### ⑧ ラット 64 週間反復投与毒性試験

雌雄各 15 匹から成る 3 群に対して、本色素を含量 0.03、0.3、1.5% で 64 週間混餌投与した。ラットの死亡率は、対照群と同様であった。1.5% 群では雌ラットの成長率に有意な低下が認められたが、雄ラットでは認められなかった。この結果は、摂餌量ではなく食餌効率への影響が原因であると考えられた。雌ラットに本色素を含量 0.3% および 1.5% で混餌投与したところ、肝重量が増加した。さらに高用量にすると、腎重量も増加した。摂餌量、病理組織・血液像への影響も、腫瘍発生率における有意差も認められなかった<sup>2,3)</sup> (Mannel et al., 1958)。

### ⑨ ラット 78 週間反復投与毒性試験

ラットに本色素 20 mg/日を 78 週間投与したところ、死亡率が 68% となった。それに対して対照の死亡率は 13% であった。肝臓のビタミン A 含量低下および肝細胞の脂肪変性を伴う空胞状の形成異常が認められた<sup>3)</sup> (Galea et al., 1972)。

#### ⑩ ラット 18ヶ月間反復投与毒性試験

雌雄各5匹のラットに、本色素を含量4%で最高18ヶ月間混餌投与した。腺胃 (glandular stomach) および小腸の着色が肉眼で認められた。粒状の沈着物が胃、小腸、および一部の結腸に認められた。1ヶ月のリンパ肉腫がみられた。20ヶ月以上生存した対照50匹に腫瘍は発現しなかった<sup>3)</sup> (Willheim & Ivy, 1953)。

#### ⑪ ラット 18ヶ月間反復投与毒性試験

ラットに本色素を含量0.12% (1200 ppm) で最高18ヶ月間混餌投与したところ、著しい成長抑制がみられ、死亡率が増加し、肝障害が認められた。数日以内にビタミンA値は約50%低下し、投与期間中徐々に低下を続けた。血清アルブミンおよび $\alpha$ -グロブリンの上昇が認められたが、血清あるいは肝のグルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) またはグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) の顕著な増加は認められなかった<sup>3)</sup> (Galea et al., 1962)。本色素を1200、3000、10000 および 20000 ppm で混餌投与した別の試験では、ラット肝における貯蔵ビタミンA量の低下は確認されなかった<sup>3)</sup> (Truhaut & Ferrando, 1975)。

#### ⑫ ラット 99週間反復投与毒性試験

本色素をラット雌雄各18匹に94~99週間皮下注射した。概して、2~3%溶液1mLを毎週693日にわたって注射した。腫瘍は認められなかった<sup>3)</sup> (Nelson & Hagan, 1953)。

#### ⑬ ラット 2年半反復投与毒性試験

雌雄各50匹の離乳ラットから成る群に、本色素を0、0.003、0.03、0.3または3% (0、1.5、15、150、1500 mg/kg体重) で約2年半にわたって混餌投与した。本試験で使用したラットは、親動物に本色素を投与したF2a同腹児から無作為に選択した。試験期間中、一部の動物を不注意に誤ったケージに入れてしまったため、動物数が対照群と投与群とで変わってしまった。様々な良性および悪性腫瘍が認められたが、投与群と対照群間に明らかな差は認められなかった。しかし、病理学的データを生物統計学的解析に供したところ、1500 mg/kg体重の混餌投与を続けた雌ラットにおいて悪性腫瘍数の有意な増加が認められた。高用量群と対照群間において、良性および悪性の腫瘍総数に有意差は認められなかった。一般状態、生存、体重増加、血液検査、臨床化学検査、あるいは相対臓器重量に関して、本色素に関連する影響は認められなかった<sup>4)</sup> (Gordon and Taylor, 1975)。

### 3. 遺伝毒性

#### 3-1 復帰突然変異試験

##### ① 復帰突然変異試験

本色素0.5g/100mLを含むEscherichia coliの培地中で、変異原性の有無について試験したところ、変異原性を認めなかった<sup>3)</sup> (Luck & Rickerl, 1960)。

##### ② 復帰突然変異試験

本色素は、Salmonella typhimurium G-46 および TA-1530 の2菌株による宿主経路試験において変異原性を示すことが明らかとなった。特に、本化合物を5日間にわたって反復投与したときに変異原性が認められた。In vitro では本微生物に曝露しても突然変異を引き起こさなかったことから、

明らかに、この変異原性は本化合物そのものではなく、何らかの代謝物質によって引き起こされている。同様の結果が酵母による体細胞組換え試験でも得られた<sup>3)</sup>(Legator, 1972、Newell & Maxwell, 1972a)。

### 3-2 優性致死試験

#### ① マウス優性致死試験

雄マウス 12 匹から成る群に対して、0、250、500 mg/kg 体重の 5%アマランス水溶液を腹腔内注射した。その後 6 週間にわたって、各雄を投与していない雌 3 匹と毎週交配させた。雌を生殖用ケージから取り出してから 1 週間後に屠殺し、妊娠徴候の有無を調べた。交配率および変異原性発生率から、優性致死は認められないことが明らかになった<sup>4)</sup>(Arnold et al., 1976)。

#### ② ラット優性致死試験

優性致死試験の結果として、本色素のラットに対する変異原性を示唆する一貫した反応は認められなかった。陽性対照である TEM は、既知の変異原物質であるということから予想されるとおり、試験第 2 週～第 5 週に変異原性を示した<sup>1)</sup> (Newell & Maxwell, 1972b)。

## 4. 癌原性

### 4-1 マウス

#### ① マウス 癌原性試験

C3Hf および C57B1 マウスを用いて、混餌投与試験を実施した。各系統のマウス 100 匹に本物質を 1.0 あるいは 2.0%で混餌投与し、各系統のマウス 200 匹を対照とした。いずれの系統のマウスにも腫瘍は認められなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1964a)。

#### ② マウス 癌原性試験

マウス 100 匹から成る 2 群に対して、1 群には本色素ペーストを与えず、もう 1 群には本色素ペースト 0.01 g (=アマランス 0.004 g)を連日強制経口投与した。9,10-dimethyl-2-benzanthracene または 3,4-benzopyrene のいずれか 1 滴を週 1 回肩甲骨間の皮膚に塗布した。試験群では乳頭腫が 3.5 週間早く発現し、発現動物数も多かった。試験群の方が悪性化する割合が高かった<sup>3)</sup> (Baigusheva, 1968)。

#### ③ マウス 18ヶ月間癌原性試験

Swiss-Webster アルビノマウス雌雄各 50 匹に本色素の 1%水懸濁液 0.1 mL を 18ヶ月間毎週投与した。雌雄各 100 匹を対照とした。皮膚に対する発がん性は認められなかった<sup>3)</sup>(Carson, 1963, 1966)。

#### ④ マウス 2年間癌原性試験

C3Hf 及び C57BL 系マウスのそれぞれ 100 匹を 1 群として本色素の 1%及び 2%を混餌投与し、対照群にはそれぞれ 200 匹の動物を用いて 2 年間の実験を行ったが、両系統のマウスで本色素の催腫瘍効果は認められなかった<sup>2)</sup> (Hecht, 1957)。

### 4-2 ラット

#### ① ラット 癌原性試験

離乳ラット 24 匹の群に対して、本色素を含量 0.5%、1.0%、2.0%、5.0%で混餌投与した。同様の

群を対照とした。5.0%群では、わずかな成長阻害が認められた。肉眼および病理組織学的検査では、疑わしい乳腫瘍増加が認められた。2 個の腫瘍が対照群で認められ、0.5%群では 3 個、1.0%群では 3 個、2.0%群では 6 個、5.0%群では 4 個認められた。この結果の再現性を確認するため、さらに別の 2 年間の混餌投与試験が行われ、Osborne-Mendel および Sprague-Dawley ラット(いずれの系統も雌雄各 50 匹)に対して 0.0、1.0、2.0%の混餌投与が行われた。腫瘍形成への影響に統計学的有意差は認められなかった。雌雄各 100 匹を対照とした<sup>3)</sup> (Anonymous, 1964b)。

#### ② ラット 365 日間癌原性試験

11 匹のラットに 1%液の 0.5ml を週 2 回、365 日間皮下注射し、その後 879 日まで観察したが局所に腫瘍発生は認められなかった<sup>2)</sup> (Hecht, 1957)。

#### ③ ラット 99 週間癌原性試験

18 匹のラットに本色素の 2%又は 3%液の 1ml を週 1 回、94~99 週皮下注射したが、局所の腫瘍発生を認められなかった<sup>2)</sup> (Nelson et al., 1953)。

#### ④ ラット 2 年間癌原性試験

離乳したばかりのラット 24 匹を 1 群とする動物に本色素の 0.5、1、2、5%飼料を 2 年間投与したところ、5%で軽度の成長抑制が見られ、また肉眼的並びに顕微鏡観察から乳腺腫瘍増加の疑いが持たれた<sup>2)</sup> (Hansen, 1957)。この所見を確かめるために Osborne-Mendel 及び Sprague-Dawley 系ラットに本色素の 1%及び 2%飼料を与え、対照群には両系統それぞれの 100 匹を用いて 2 年間の実験を行ったが、本色素投与による腫瘍発生の有意的増加はなかった<sup>2)</sup> (Mannel et al., 1958)。

#### ⑤ ラット 25 ヶ月間癌原性試験

近交系ラット 50 匹から成る群に、本色素ペースト(アマランス 40%)含有飼料を 25 ヶ月間投与した。ラット 35 匹から成る対照群を設けた。飼料の本色素含量は 0.8~1.6%であった。腹膜および腸の腫瘍が生存動物 18 匹に 19 ヶ月目から発現し始めた。25 ヶ月までに、合計 11 個の腫瘍が確認された。対照群に腫瘍は認められなかった。病理組織学的検査ではすべての腫瘍が悪性であった<sup>3)</sup> (Baigusheva, 1968)。

#### ⑥ ラット 33 ヶ月間癌原性試験

近交系雄ラット 50 匹から成る 2 群に、本色素を含量 0%または 2%で 33 ヶ月間混餌投与した。33 ヶ月までに全動物が死亡した。対照群に比して、体重のわずかな減少が認められたが、これは統計学的に有意ではなかった。確認された 15 個の腫瘍(生存動物 48 匹中 13 匹)には、リンパ肉腫 3 個、肉腫 4 個、腺線維腫 1 個、腸がん 3 個、肝臓がん 1 個、皮膚がん 3 個が含まれる。最初の腫瘍は 6 ヶ月後に生じ、その他の大半は 21~23 ヶ月後に認められた。試験の全期間中、対照ラット 50 匹では腫瘍は全く認めなかった<sup>3)</sup> (Andrianova, 1970)。

### 4-3 イヌ

#### イヌ 7 年間癌原性試験

7 年間の毒性試験を雌ビーグルに対して行った。5 匹に本色素を 2%で混餌投与し、3 匹を対照とした。病理組織学的異常またはその他の異常は認められなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1974b)。

## 5. 生殖発生毒性

### 5-1 マウス

#### ① マウス 催奇形性試験

妊娠した CD-1 近交系マウスに本色素 27、90、300 あるいは 1000 mg/kg 体重を妊娠 6 日から 10 日間連日強制経口投与したところ、着床、母動物あるいは胎児の生存に明らかな影響は認められなかった。対照と比較したところ、骨格組織および軟組織における異常に差はみられなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1972a)。

#### ② マウス 催奇形性試験

妊娠マウス 8~10 匹の群に対して、妊娠 0~7 日あるいは妊娠 6~18 日のいずれかの期間に 0、7.5、30 あるいは 100 mg/kg 体重相当の本色素を 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 18 日に母動物を屠殺し、同腹児のパラメータ、胚吸収、催奇形性を調べた。胚吸収率、胎児死亡および胎児発生に関して重大な影響は認められなかった。本色素投与に関連する催奇形性はみられなかった<sup>3)</sup> (Larsson, 1974)。

### 5-2 ラット

#### ① ラット 催奇形性試験

雄 1 匹および雌 4 匹の群に本色素 1.5 および 15 mg/kg 体重/日を混餌投与した。同じ動物数の対照群を 2 群設けた。試験開始後 4~5 ヶ月、7~8 ヶ月、10~12 ヶ月の 3 期間に、各群で交配を行った。受胎能、妊娠期間、出生児および死産児数、4 日間および 1 ヶ月間の生存数について調べた。児の異常を記録した。親動物と同じ食餌を投与した第 1 世代 (F1) および第 2 世代 (F2) も同様に観察した。この結果から、本色素は受胎能を低下させ、死産児数を増加させ、児の奇形を発生させ、児の生存を低下させると判断された<sup>2,3)</sup> (Shtenberg & Gavrilenko, 1970)。

#### ② ラット 生殖試験

Wistar 系の雌ラット (P) に本色素を飲料水に入れて 1.5 及び 15 mg/kg/day の割合で 12~14 月与え、この間投与開始後 4~5 ヶ月、7~8 ヶ月、10~12 ヶ月の 3 時期にそれぞれ 3~4 匹の動物を交尾させて妊娠率、胎仔の死亡を観察し、第 1 回目の妊娠によって出産した F1 動物の発育を観察すると共にその離乳後から前記と同量の色素を投与してその後 4~5 月及び 7~8 月に交尾させて P の場合と同様な観察を行い、F1 の第 1 回目の妊娠から出産した F2 については 1 ヶ月まで観察した。

この結果、1.5 及び 15 mg/kg のいずれにおいても妊娠率の低下、死産仔の増加が見られ、F1 動物の哺育率及び 1 ヶ月後における生存率は低下し、1.5 mg/kg 群では特に P の第 3 回目の妊娠に前記の変化は著明であって交尾させた 3 匹の動物 1 匹のみが妊娠し、この動物の胎仔 10 匹は全部死産で、そのうち顔面骨の構造異常及び短肢などの肢の発育不良を示すものが見られた。そしてまた、このような胎仔に及ぼす影響は P よりも F1 で減弱しているため、本色素に対してラットは代を重ねるにつれて生理学的適応を生じるものであろうとしている。以上の結果から、F/W が最大許容量として 1.5 mg/kg の値を定めている本色素の食用に対して疑問を提供するものとされた<sup>2)</sup> (Shtenberg et al., 1970)。

### ③ ラット 催奇形性試験

妊娠ラット 13～15 匹の群に、本色素 0、7.5、15、30、100 または 200 mg/kg/日を、妊娠 0～19 日にゾンデを用いて投与し、妊娠 20 日に屠殺した。着床への有害作用は認められなかった。胎児死亡率は用量に相関して上昇した。200 mg/kg/日で、胎児毒性作用が認められた。15 mg/kg/日以上では胚吸収が増加し、100 および 200 mg/kg/日では散発的に同腹児の全吸収も認められた。本色素に関連する催奇形性作用は認められなかった。胎児の性別に対しても明らかな影響はみられなかった<sup>2,3)</sup> (Collins et al., 1972)。

### ④ ラット 催奇形性試験

本色素 27、90、300、1000 mg/kg 体重を妊娠ラットに 10 日間(妊娠 6～15 日)連日投与したが、着床、あるいは母動物または胎児の生存に対して明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織および骨格組織で見られた異常発生率は、対照群と有意な差はなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1972)。

### ⑤ ラット 催奇形性試験

Wistar ラットを用いて、妊娠 0～19 日にわたり食用赤色 2 号を 1 日 1 回 7.5、15、30、100 及び 200 mg/kg を、強制あるいは混餌による経口投与を行っても、生存胎仔数、胎仔体重及びその他の検査結果に何ら影響を与えなかった<sup>2)</sup> (Khera et al., 1974)。

### ⑥ ラット 催奇形性試験

混餌投与と比較して、強制経口投与による奇形学的所見への影響を明らかにするため、同じ試験方法および試験材料による多数の比較試験を実施した。試験は、Osborne-Mendel および Charles River の CD-1 ラットを対象として、3ヶ所の試験施設で統一した方法を用いて行われた。それぞれ妊娠ラット 20 匹から成る 6 対照群および 4 試験群を用いた。全試験動物に本色素を強制経口投与した。3 試験群には、妊娠 0～19 日、6～15 日、7～9 日のいずれかの期間に 200 mg/kg/日を投与し、もう 1 試験群には、妊娠 0～20 日に、200 mg/kg の摂取量に相当するように本色素 0.2%を飲水投与した。

3 対照群には妊娠 0～19 日、6～15 日、7～9 日のいずれかの期間に溶液を強制経口投与し、第 1 対照群にはゾンデによって妊娠 0～19 日に溶液を強制経口投与し、第 2 対照群には妊娠 0～19 日に蒸留水を強制経口投与した。さらに投与や処置をまったく加えない第 3 対照群を設けた。Osborne-Mendel 系または CD-1 系において、胎児毒性に試験群と対照群間で有意差は見られなかった。着床、生存胎児、1 匹あたりの胚吸収率、雌雄胎児の体重については、全体として毒性学的意義のある所見は認められなかった。最初に行われた強制経口投与の所見は再現されなかった。また、その初期の試験では、胚吸収率が背景データと比べて異常に低かった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1974a)。

### ⑦ ラット 催奇形性試験

妊娠ラット 16～22 匹から成る 8 群に対して、妊娠 6～15 日に 0、15、50、150 mg/kg/日の本色素を、ゾンデを用いて与え、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。試験動物群の着床、胎児死亡率、胎児体重、あるいは生殖行動に関して、対照群と比較したところ、被験物質に関連する有害作用は

認められなかった。本色素による催奇形性は認められなかった<sup>3)</sup> (Keplinger et al., 1974)。

#### ⑧ ラット 催奇形性試験

Charles River の妊娠ラット 4 匹から成る 5 群に対して妊娠 6～15 日に本色素 0、15、150、450、および 1500 mg/kg 体重を強制経口投与し、妊娠 20 日に屠殺した。母動物の体重増加、同腹児数、胎児の平均重量、胚吸収数に関して、異常な影響は認められなかった。本色素に起因する肉眼的異常は確認されなかった<sup>3)</sup> (Burnett et al., 1974)。

#### ⑨ ラット 催奇形性試験

3つの製造業者から得た本色素をラットに強制経口投与するか、あるいは半合成飼料に混餌投与した。いずれの投与方法でも妊娠 1～19 日に 0、15、30、100、200 mg/kg 体重/日を投与した。黄体数、生存胎児、脱落膜腫、死亡胎児、胎児体重の出生前評価値からは、着床または胚生存に対する本色素に関連する有害作用は認められなかった<sup>3)</sup> (Khera et al., 1974)。

#### ⑩ ラット 催奇形性／生殖試験

ラット雄 10 匹および雌 20 匹 (F0) から成る 5 群に、0、1.5、15、45、または 150 mg の本色素を 2 週間混餌投与し、2 回交配して、F1 世代を得た。F1 世代は 3 回交配し、その F2b 同腹児を、F3 (原稿は F2) 世代を得るために使用した。F2 世代の親動物は 1 回交配し、F3a 世代を得た。親世代動物の発育または同腹児における発育、全 3 世代の離乳および奇形学的観察に関して有意な所見は認められなかった<sup>3)</sup> (Haley et al., 1972, Smith et al., 1974a and 1974b)。

#### ⑪ ラット 生殖試験

3 世代にわたる生殖および催奇形性試験では、Osborne-Mendel ラットの群に 0、30、300、3000、30000 ppm の色素を離乳後 3 ヶ月間与え、その後交配して F1、F2、F3 世代を得た。生存、体重増加、受胎能、同腹児数、児の生存率、離乳行動、児の生存など、親動物または児のパラメータに関して、有意な影響は認められなかった。最高用量群の F1d 世代雌、F2a×F2c 世代雌雄において、離乳時の体重が有意に低値になったこと以外、本色素は、認められた何らかの有害作用に対して特に影響していないと考えられた。また、蓄積作用は認められなかった<sup>3)</sup> (Collins et al., 1975a)。

#### ⑫ ラット 催奇形性試験

F0 世代において 0、30、300、3000、30000 ppm の本色素を投与した Osborne-Mendel ラットの F1a および F3b 世代の児を催奇形性試験に用いた。F1a 世代では、30000 ppm 群で黄体数が減少したが、母動物 1 匹当たりの着床前消失に対照群との差はなかった。F1a 児の胚吸収、胎児平均体重の減少は、用量と関連がなかった。F3b 世代における着床および生存のパラメータは、対照群と同様であった。色素の用量に相関すると考えられる特異的な骨格組織異常または軟組織異常は認められなかった<sup>3)</sup> (Collins et al., 1975b)。

#### ⑬ ラット 催奇形性試験

2つの代謝物質(ナフチオン酸ナトリウムおよびその R-アミノ塩)および本色素の合成中間体に関する試験では、妊娠ラットにゾンデで 15、30、100、200 mg/kg/日を妊娠 0～19 日に投与した。着床への有害作用は認められなかったが、ナフチオン酸と R-塩の最高用量群で複数胚の吸収率が

対照群の値に比して有意に高くなった。ナフチオン酸ナトリウム 100 mg/kg 投与により、胸骨分節異常を認める胎児の割合が有意に増加したが、同様の結果は、R-塩には認められなかった。本色素の合成中間体は 30 mg/kg で胸骨分節異常数を増加させ(異常所見と考えられる)、さらに高用量では骨格発達に有害作用を示した<sup>3)</sup> (Collins et al., 1973)。

#### ⑭ ラット催奇形性試験

本色素の催奇形性を評価するために、産官共同試験を開始した。試験には、米国食品医薬品局 (FDA)、Industrial Bio-Test Laboratories (IBT) および国立毒性研究センター (National Center for Toxicological Research: NCTR) の 3 試験機関が参加した。

妊娠雌 20~30 匹から成る群に対して、妊娠 0~19 日、6~15 日、または 7~9 日の期間に本色素 200 mg/kg 体重を強制経口投与した。もう 1 群には、妊娠 0~20 日の期間に同用量の本色素を飲水投与した。適切な対照を設けた。FDA は Osborne-Mendel 系ラットを使用したが、IBT は Charles River、NCTR は両系統のラットを使用した。IBT および NCTR 試験の Charles River 系では、妊娠 0~19 日に母動物へ 200 mg/kg を強制経口投与したところ、複数の胚吸収が認められる母動物数が有意に増加した。同様に、NCTR 試験では、この系統において、母動物 1 匹当たりの胚吸収の割合も有意に増加した。Osborne-Mendel 系では胚吸収数の有意な増加は認められなかった。本物質関連の骨格あるいは臓器への明らかな影響はみられなかった<sup>4)</sup> (Collins et al., 1976a, 1976b; Keplinger et al., 1976; Holsen et al., 1976a, 1976b)。

#### ⑮ ラット 生殖試験

ラットに 20、250、1250 mg/kg の用量で 2 世代試験を行ったが、腎のカルシウム沈着以外に特記すべき所見はなかった<sup>2)</sup> (Clode et al., 1987)。

#### ⑯ ラット 催奇形性試験

ラット胎仔の肢芽細胞<sup>2)</sup> (Renault et al., 1989)、ラット胎仔の脳の神経細胞<sup>2)</sup> (Khera et al., 1988)、あるいはラット胎仔の初期全胚葉の培養<sup>2)</sup> (Cicurel et al., 1988) による催奇形性のスクリーニング試験において、催奇形性は陰性とされている。しかし、ヒト胎児口蓋結合組織細胞による成長阻止試験では、陽性と判断された<sup>2)</sup> (Steele et al., 1988)。

### 5-3 イヌ

#### イヌ 催奇形性/生殖試験

成熟した雌ビーグル 12 匹から成る 4 群に対して、本色素 0、300、900、3000 ppm を混餌投与し、3000 ppm を投与した雄と交配させる、催奇形性および生殖試験を行った。妊娠前投与期間は最初の同腹児については 45 日~382 日であり、2 回目の同腹児については 132 日~572 日であった。妊娠約 60 日に帝王切開によって各群雌 6 匹を出産させ、残りの雌は 2 群の同腹児のいずれも自然分娩させた。出生児は 8 週齢までに離乳させた。連続して得た 2 群の同腹児を調べた。母動物の生殖、体重、摂餌量、あるいは同腹児の数、生存率、病理、骨格発達に関して、有意な影響は認められなかった<sup>3)</sup> (Mastalki et al., 1975)。

### 5-4 ハムスター

#### ハムスター 催奇形性試験

妊娠ハムスターに最高用量 1000 mg/kg 体重の本色素を妊娠 6～10 日に投与したところ、着床あるいは母動物または胎児生存に明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織または骨格組織の異常発生率には、対照群との有意差はみられなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1972c)。

#### 5-5 ウサギ

##### ① ウサギ 催奇形性試験

妊娠ウサギ 10～14 匹から成る 8 群に本色素 0、1.5、5.0、15.0 mg/kg/日をカプセルにして妊娠 6～16 日に与え、妊娠 29 日に帝王切開して屠殺した。本色素による催奇形性は認められず、着床、児の体重、生存児、吸収胚の総数にも有意な影響は認められなかった。母動物 1 匹当たりの平均早期胚吸収数に増加が認められ、その増加量は、1.5 および 15.0 mg/kg 群では統計学的有意性 ( $p=0.05$ ) 未満であったが、5.0 mg/kg 群では有意であった<sup>3)</sup> (Keplinger et al., 1974)。

##### ② ウサギ 催奇形性試験

妊娠ウサギに本色素 27、90、300、1000 mg/kg 体重を妊娠 6～18 日に投与したところ、着床あるいは母動物または胎児生存に明らかな影響は認められなかった。試験群の軟組織または骨格組織の異常発生率には、対照群との有意差はみられなかった<sup>3)</sup> (Anonymous, 1972b)。

#### 5-6 ネコ

##### ① ネコ 催奇形性／生殖試験

雌の成熟短毛種ネコ 12 匹から成る 4 群に対して、生殖および妊娠期間の前およびその期間中に本色素を 0、300、900、3000 ppm 混餌投与する、催奇形性および生殖試験を行った。すべての雌を、本色素 3000 ppm を混餌投与した雄と交配させた。妊娠約 60 日に帝王切開によって雌 6 匹を出産させ、残りの 6 匹は正常に同腹児を分娩させた。

自然な発情期の開始時点は不明であるため、妊娠前の投与期間を一定にすることは困難であった。同様の理由で、帝王切開で出産した仔ネコは様々な妊娠段階にあった。着床および胚吸収、黄体、死産児、生存児を帝王切開後 24 時間にわたって調べた。正常分娩の仔ネコを 8 週間後に離乳させ、検査した。胚吸収数は 3000 ppm 群で高値となり、帝王切開後の 24 時間生存率は 300 ppm 群で低値となった。正常分娩時の平均体重は 900 ppm 群でのみ低値となったが、出生後 8 週間目では影響は認められなかった。調べたいずれのパラメータも、明確には有害作用を示す所見とみなすことはできなかった<sup>3)</sup> (Korinke et al., 1974)。

##### ② ネコ 催奇形性試験

成熟した雌ネコに本色素 0、92、187、264 mg/kg 体重をゼラチンカプセルとして連日投与した。投与は、妊娠 22 日前から妊娠 61 日または 62 日まで実施した。10 日～38 日間の期間を置いて 7 つの試験を行った。6 試験ではネコ 20 匹を各試験で使用し、1 試験では 11 匹を使用した。各試験ではネコを無作為に 5 つの群に割り付けた。3 群には本色素を投与し、残りの 2 群は対照として用いた。自然またはゴナドトロピンの刺激により発情期の雌の交尾を管理し、妊娠時期を調節した。帝王切開を妊娠 61 日目または 62 日目に行った。総着床数、黄体／総着床数の比、死亡胎児、脱落膜腫、生存胎児、インキュベータ内での生存胎児の 24 時間生存率、生存胎児の平均体重、性別比、および胎児異常に関して、本色素摂取と関連すると考えられる有意な影響は認められな

かった<sup>4)</sup> (Khera et al., 1976)。

## 6. 局所刺激性

ウサギ

ウサギ 皮膚刺激性試験

ウサギ 9 匹から成る 6 群を使用し、本色素 0.1%および 1%を含む軟膏あるいは水溶媒を用いて皮膚刺激および経皮毒性試験を行った。投与に関連する皮膚毒性あるいは全身毒性は認められなかった<sup>4)</sup>(Carson, 1962)。

## 7. その他の毒性

7-1 ラット

### ① ラット 腎石灰化に関する試験

成熟(11 週齢)Wistar ラット雌雄 25 匹から成る群に対して、本色素摂取量が 0、20、40、80、1250 mg/kg 体重/日となるように調整して 28 日間または 90 日間混餌投与を行った。90 日間投与では、実際の摂取量は目標値に近かったが、28 日間投与では、実際の 1 日摂取量平均は雄で 0、15、30、63、1005 mg/kg 体重/日、雌で 0、17、33、69、1046 mg/kg 体重/日となった。陽性対照として、同様の群に 50%乳糖を 28 日間混餌投与した。

28 日間の乳糖投与後、体重増加が抑制され、病理組織学的検査では腎盂の石灰化および過形成発生率の増加が認められた。

28 日間および 90 日間のいずれの投与期間においても、対照群の体重と 80 mg/kg 体重/日までの本色素投与群の体重に、統計学的有意差は認められなかった。雄では、1250 mg/kg 体重/日群において体重増加抑制の傾向が認められ、28 日間投与後の体重には統計学的に有意な差( $P < 0.05$ )がみられたが、90 日間投与後ではみられなかった。最高用量群の雌雄の摂水量はいずれも、対照群に比して多量であった。

腎相対重量および腎のカルシウム、マグネシウムおよびリン濃度は、いずれの投与群およびいずれの投与期間でも、本色素投与による影響を受けなかった。腎での病理組織学的所見の全体的発生率は低かったが、90 日間投与後の高用量群雄では、腎盂過形成および石灰化を認めた動物数がわずかに増加した。しかし、28 日投与後ではそのような増加は認められなかった。

石灰化は、老年期ネフローゼ発現動物のみで発生すると結論付けられた。この 90 日間投与試験における本色素の無作用量は 80 mg/kg 体重/日であった<sup>1)</sup> (Ford, Butler & Gaunt, 1983)。

### ② ラット 子宮内(in utero)曝露を含む長期試験

Wistar 系起源の異系交配ラットから構成される対照群雌雄各 114 匹および投与群雌雄各 66 匹に、本色素の 1 日摂取量が 0(対照)、50、250、1250 mg/kg 体重となるように、交配前の 60 日間に本色素を混餌投与した(F0 世代)。その後、ラットは、同胞交配を避け、雌雄一対で交配し、試験期間中投与を継続しながら、雌には児を出産させ、育てさせた。各児はその母動物と同様の食餌を与えて離乳させた。最後の児が離乳した後、児を(1 群の同腹児から雌雄 1 匹ずつのみ)選択し、90 匹(対照群)あるいは 54 匹(各投与群)から成る長期試験用の群を設けた(F1 世代)。3~5 週齢で F1 世代を選択した後、雄では 3 週間、雌では 112 週間投与を続けた。

両世代において、一般状態を観察し、体重、摂餌量および摂水量を頻りに測定した。3、6、12、18ヶ月後にF1群の雌雄各20匹の尾静脈から採血した血液、および試験終了時に全生存ラットの大動脈から採取した血液について、血液学的検査を行った。検査項目には、赤血球容積(PCV)、ヘモグロビン、メトヘモグロビン、赤血球数、総白血球数、白血球分画数、および網状赤血球数が含まれていた。3、6、9、12、18、24ヶ月後にF1世代から選択した雌雄各20匹について腎機能検査を実施した。F1試験相終了時に血清化学的検査を実施した。尿素、ブドウ糖、アルブミンおよび総蛋白質、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼを測定した。

試験中に状態不良のため、死亡あるいは屠殺した動物について、詳細な剖検を実施した。また、F0世代の各群の雌雄からそれぞれ選んだ15匹、およびF1世代の全生存動物についても剖検を行った。剖検では、副腎、大動脈、膀胱、脳、盲腸、結腸、副睾丸、眼、生殖腺、ハーター腺、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、筋(骨格筋)、鼻骨、神経(坐骨)、食道、膵臓、前立腺、唾液腺、精嚢、皮膚、小腸、脊髄、脾臓、胃、胸腺、甲状腺、舌、気管、子宮、膣、静脈を採取した。大腿骨骨髓膜も採取した。F1世代の全動物から採取した鼻骨および脊髄を除いた全組織について、病理組織学的検査を実施した。鼻骨および脊髄の検査は、対照群と最高用量群の検体に限った。

観察期間中に投与と関連があると考えられた所見は、外観における赤色の混合、糞便の赤色着色、および最高用量群における糞便のペレット形状のくずれのみであった。F0世代雌の90%以上が投与と無関係に同腹児を出産し、児の数は投与群の方が多くなった。最高用量群の児の平均体重は対照群に比して低値となったが、児の数が多いため、同腹児の合計体重は減少しなかった。F1世代において、本色素 1250 mg/kg 体重を投与した雌雄は、摂餌量がわずかに増加したにもかかわらず、いずれも対照群に比してわずかに体重が低値となり、食餌利用率が低下したと結論付けられた。最高用量群の摂水量はわずかに増加(10~12%)したが、雄の腎機能検査において、尿は濃縮され、尿量は低下する傾向が見られた。糞便による水分消失増加を補うために摂水量が増加したと結論された。血液学的検査または血清化学的検査で投与に関連すると考えられる一貫した所見は認められなかった。最高用量群の雌雄ラットにおいて、剖検で得られた血液中のヘモグロビン濃度がわずかに高値であったが、この値は雌においてのみ統計学的に有意であった。18ヶ月後に、最高用量群の雌雄いずれにおいても、尿中細胞数が高値となった。最高用量群の雌では、12ヶ月後以降に尿中における蛋白排泄量が増加する傾向が認められた。このような所見は散発的であるが、腎障害が対照群に比して高用量群で早期に発現することを示している可能性がある。対照群と投与群の死亡率に有意差は認められず、F1世代の腫瘍発生率および群での分布は、試験した系統のラットで予測される結果であり、投与による影響はなかったと考えられた。最終臓器重量解析で認められた投与関連の唯一の所見は、両世代の2高用量群雄、両世代の最高用量群雌、F0世代の1250 mg/kg 体重群雌における盲腸重量の増加であった。

全用量群において、腎石灰化および腎盂上皮過形成がみられる雌ラットの数は増加したが、雄ラットでは、最高用量群でもそのような病変発生率に有意差は認められなかった。試験終了時の病理組織学的検査において、年齢に関連する様々な退行性変化が認められたが、最高用量群雌で

みられた腎障害による変化を除き、それらは投与と関連しないと考えられた。

1250 mg/kg 体重までの用量で本色素をラットに曝露し、さらに妊娠および授乳中にも曝露を行い、続いて出生児にも 2 年間以上曝露を行ったが、発がん性作用は認められなかった。しかし、使用した全用量群雌の腎に影響が認められたことから、本試験において無作用量 (no-untoward-effect) は設定できなかった<sup>1)</sup> (Clode, Hooson, Butler & Conning, 1982)。

上記試験における最初の組織評価は無作為化法で行わなかったが、このことが、変化の程度に関する評価に影響を与えた可能性が考えられた。そのため、投与群に関してすでに得られた情報とは無関係に、無作為化法によって腎および副腎組織を再評価した。再評価では、雌 F1 ラットの腎盂の石灰化および上皮過形成に用量に関連した増加傾向が確認された。

過形成は一般に、腎盂石灰化がみられる動物に認められた。統計学的解析 (片側 Fisher 直接法) では、低用量 (50 mg/kg) 群の腎盂石灰化および過形成の発生率は、対照群と比較して有意差はなかった。雄で用量に関連した腎盂石灰化の発生率増加傾向が唯一認められたが、いずれの投与群でも対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。雌雄ともに、F1 ラットの老年期糸球体腎症および副腎病理は投与による影響を受けていなかった。F0 ラットでは雌雄いずれにおいても、何らかの部位の石灰化あるいは腎盂過形成の有意な増加は認められず、糸球体腎症はこれらの若齢ラットではほとんど認められなかった<sup>1)</sup> (Butler & Conning, 1983)。

#### 7-2 モルモット

##### モルモット 感作性試験

モルモットによる試験では、本色素に感作性は認められないことが確認された<sup>4)</sup> (Bar & Griepentrog, 1960)。

#### 7-3 ニワトリ

##### ニワトリ 胚試験

様々な用量の本色素およびナフチオン酸ナトリウムを卵黄および気室に投与し、ニワトリ胚試験を実施した。本化合物は低用量および高用量よりも中用量で毒性が低く、明確な用量相関性は認められなかった<sup>4)</sup> (Winbush, 1972)。

#### 7-4 ネコ

##### ネコ ハイイツ小体試験

第 1 日目に 1g、第 9 日目と 18 日目に 0.1 g に相当する本色素の 5% 溶液をネコ 4 匹に注射して行ったハイイツ小体試験は、陰性であった<sup>4)</sup> (Anonymous, 1957)。

## 8. ヒトにおける知見

### ヒト 過敏性試験

本色素のようなアゾ色素に過敏性を示すことが疑われる再発性蕁麻疹患者または血管浮腫患者 7 人のうち、1 人が本色素の誘発に反応して蕁麻疹を発現した。さらにもう 1 人にも他感覚徴候 (objective sign) の反応が認められ、他の患者 3 人には、自覚症状が認められた<sup>3)</sup> (Michaelson & Juhlin, 1973)。

## 引用文献

- 1) WHO Food Additive Series No.19 Amaranth 1984 (accessed ; Nov. 2004, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je02.htm>)
- 2) 第7版食品添加物公定書解説書
- 3) WHO Food Additive Series No.8 Amaranth 1975 (accessed ; Nov. 2004, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v08je02.htm>)
- 4) WHO Food Additive Series No.13 Amaranth 1978 (accessed ; Nov. 2004, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v13je02.htm>)

PEC JAPAN SAFETY DATA