

4-メトキシンナムアルデヒド亜急性毒性試験の用量設定のための 4週間反復投与毒性試験

Four-week repeated dose study of 4-methoxycinnamaldehyde to find appropriate doses in the comprehensive toxicity study

高坂純寧^{1), 2)}

指導教員 梅村隆志^{1), 2)}, 研究協力者 石井雄二²⁾, 相馬明玲²⁾

1) ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部 動物看護学科 動物病理学研究室

2) 国立医薬品食品衛生研究所 病理部

キーワード：食品香料、安全性、毒性試験

「目的」

食品香料として用いられている 4-メトキシンナムアルデヒド (4-MA) は定量的構造活性相關 (QSAR) 解析により、その遺伝毒性が予想され、事実、エームス試験により陽性結果が報告されている。食品香料の安全性評価は 2016 年に食品安全委員会が策定した「香料に関する食品健康影響評価指針」に基づき実施されている。この中では、食品香料の化学構造的特性、その使用に関する特性等を考慮した一般食品化学物質とは異なる安全性評価方法が提唱されている。具体的には、遺伝毒性陰性であることを条件として、一日推定摂取量と毒性安全量を根拠とした判断樹を用いて行われる。従って、食品香料の安全性評価では、その遺伝毒性の有無と毒性安全量の算出が重要である。4-MA は先述のように遺伝毒性が疑われており、また、一般毒性に関する情報はこれまで報告されていない。そこで、我々が開発したレポーター遺伝子として *gpt* 遺伝子を導入した *gpt delta* ラットを用いた一般毒性、遺伝毒性ならびに発がん性を同時に検証する 13 週間の包括的毒性試験を用いて、4-MA の各種毒性試験の検討を計画している。本研究では、4-MA の 13 週間包括的毒性試験における適正投与量の探索を目的に、使用を予定している *gpt delta* ラットと同系統の F344 系ラットを用いた 4 週間の反復投与毒性試験を実施した。

「方法」

5 週齢の雌雄 F344 系ラットを各群 5 匹に配し、コーン油に溶解した 4-MA (25 mg/mL) を 1 回/日、50、150、500 mg/kg 体重の用量で 4 週間、強制経口投与した。また、投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重ならびに摂餌量の測定を週 1 回行った。剖検時には、イソフルラン麻酔下で腹部大動脈より採血し、血液学的検査ならびに血清生化学的検査を実施した。また、各臓器は肉眼的に観察後摘出し、肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓および副腎の重量を測定した。その後、10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定し、常法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリソエオジン染色を施し、病理組織学的検索を行った。

「結果」

体重変化では、雄の高用量群で統計学的有意差はないものの、約 10% の増加抑制が認められた。臓器重量では、雌雄の高用量群で肝臓、腎臓ならびに副腎の相対重量が統計学的有意な高値を示した。血液ならびに血清生化学的検査結果に投与に起因した変化は認められなかった。病理組織学的検査では、雄の中用量群および高用量群の数例において腎臓尿細管内に硝子滴の沈着の増加が認められた。肝臓を含めて、他の臓器に投与に起因する変化は認められなかった。

「考察」

本被験物質のコーン油への溶解度の限界濃度は 25 mg/L であったことから、強制経口投与の投与容量を通常の 2 倍である 20 mL/kg 体重として、最高用量を 500 mg/kg 体重とした。その結果、雄の体重増加抑制、雌雄の肝臓、腎臓ならびに副腎の重量増加が認められた。本試験として実施する包括的毒性試験の投与期間は 13 週間であることを考慮する

と、今後予定される本試験の最高用量は 500 mg/kg 体重が適正であると結論した。また、腎臓尿細管内に認められた硝子滴は雄ラットのみに認められたことから、本硝子滴は雄ラット特有尿中タンパク質の $\alpha 2u\text{-globulin}$ である可能性が考えられた。