

ラック色素のF344ラットによる13週間毒性試験

坂本 義光*, 多田 幸恵*, 田山 邦昭*, 長澤 明道*, 福森 信隆*, 三栗谷 久敏*
矢野 範男*, 湯澤 勝廣*, 池田 虎雄*, 高橋 博*, 青木 直人*, 佐々木 美枝子*

13-Week Feed Studies of Lac Colour in F344 Rats

YOSHIMITSU SAKAMOTO*, YUKIE TADA*, KUNIAKI TAYAMA*, AKEMICHI NAGASAWA*
NOBUTAKA FUKUMORI*, HISATOSHI MIKURIYA*, NORIO YANO*, KATSUHIRO YUZAWA*
HIROSHI TAKAHASHI*, TORAO IKEDA*, NAOTO AOKI*, MIEKO SASAKI*

Keywords : Lac Colour, F344 rats, 13-week feeding test

緒 言

ラック色素 (Lac Colour) はカイガラムシ科ラックカイガラムシ (*Laccifer lacca* または *Kerria lacca*) の分泌する樹脂状物質から得られる赤色色素で小豆餡、練り製品等の着色料として用いられている。主成分はアントラキノン系のラッカイン酸であり、水に微溶、エタノールに可溶性で、水溶液は酸性で赤橙色、中性で赤色、アルカリ性で赤紫色を呈する^{1,2)}。ラック色素のLD50値はマウスで3-4 g/Kg、ラットでは5 g/kg以上であり、変異原性や催奇形性は陰性である²⁻⁵⁾。ラットによる反復投与試験例の報告は少なく、安全性評価のための十分な知見が得られていない。そこでラットを用いラック色素の短期間大量投与での作用を観察する目的で最高用量を混餌投与での上限とされる5%とした13週間投与試験を実施したのでその結果を報告する。

実験材料および方法

被験物質及び動物: ラック色素は(株)アイゼン製の抽出物として純度100%(Lot No.950718)のものを使用した。

動物はF344/DuCrj (日本チャールスリバー社)、雌雄、4週齢を購入し、1週間予備飼育後実験に用いた。

飼育方法: 動物はバリエー飼育施設内で飼育し、ベルト式飼育架台の懸下式ステンレス製ケージに個別に収容した。水(ろ過滅菌器経由水道水)および固形飼料を自由に摂取させた。

試験方法: ラック色素は粉末飼料(日本農産製; ラボMRストック)に添加し固型化したものを摂取させた。添加飼料の作製は日本農産(株)に依頼して作成した。なお

当所食品添加物研究科における分析によればラック色素中のラッカイン酸の含量は約90%、また試験飼料中には設定した濃度の色素が含まれていた。実験は1群10匹とし、被験物質の0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0%添加飼料摂取群とラボMRストックのみの対照群の6群を設定し、ラットの5週令時より13週間摂取させた。試験期間中全動物について状態観察を毎日行い、また体重及び摂餌・摂水量の測定を投与開始週より週1回行った。投与終了後動物はエーテル麻酔下で大腿動静脈より採血後、放血屠殺し以下の検査に供した。

血液・血清生化学的検査: 実験終了時に生存したすべてのラットから得られた血液、血清についてつぎの検査を行った。赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘモグロビン量(Hgb)、ヘマトクリット値(Hct)、平均血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、血小板数をCoulter Model S-Plus IV(Coulter Electric INC)を用いて測定した。また屠殺時採取した血液から調製した血清についてAutomatic Analyzer 705を用いアルブミン(ALB)、ビリルビン(BIL)、カルシウム(CA)、コレステロール(CHO)、クレアチン(CRE)、グルコース(GLU)、リン脂質(PL)、総グリセリド(TG)、総タンパク(TP)、尿素(UA)、尿素窒素(UN)、アルカリホスファターゼ(ALP)、アミラーゼ(AMY)、コリンエステラーゼ(CHE)、クレアチンホスフォキナーゼ(CPK)、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ(GGT)、グルタミン酸-オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、ロイシニアミノペプチダーゼ(LAP)、乳酸デヒドロゲナー

* 東京都立衛生研究所毒性部病理研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

3-24-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

Table 1. Mean Body Weights Changes in Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

		Dose level(%)					
		0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male							
Weeks		(10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
0 ^{b)}		101± 4 ^{c)}	100± 9	102± 4	103± 4	101± 4	100± 6
1		127± 5	126± 5	128± 7	128± 5	124± 5	126± 7
2		152± 7	151± 7	153± 9	151± 7	145± 6	150± 9
3		176± 9	175± 8	176±11	172±10	166± 8	172±12
4		196±10	192± 9	195±12	190±10	182±10	192±12
5		211±11	207±10	211±12	203±13	195±12*	208±11
6		223±12	219±11	223±13	215±13	206±12*	220±12
7		232±13	228±12	234±14	225±14	216±13*	230±13
8		241±15	237±12	243±15	234±15	223±14*	240±14
9		250±15	246±12	252±17	243±15	232±14	249±13
10		255±18	253±14	261±17	249±16	239±15	254±15
11		261±17	260±16	268±19	254±16	244±15	260±14
12		268±16	265±16	274±20	260±17	250±15	266±14
Final ^{d)}		268±17	264±15	274±19	260±16	251±15	267±14
Female							
Weeks		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
0		81± 4	81± 4	81± 4	82± 4	80± 3	80± 3
1		96± 6	96± 5	96± 5	95± 5	95± 3	95± 5
2		111± 6	108± 6	109± 5	107± 4	108± 3	108± 6
3		121± 6	118± 6	118± 5	116± 5	118± 3	118± 7
4		128± 7	125± 6	124± 5	122± 5	125± 3	123± 6
5		134± 8	130± 8	129± 6	126± 6	130± 3	128± 7
6		138± 9	135± 7	134± 5	131± 6	135± 3	133± 8
7		142±10	139± 7	136± 6	133± 8	137± 3	136± 8
8		145±10	142± 7	140± 8	137± 7	140± 3	139± 7
9		148±12	144± 7	142± 8	139± 8	143± 3	143± 7
10		149±12	147± 7	145± 9	141± 7	145± 3	143± 7
11		151±13	150± 7	148±11	144± 8	148± 4	146± 6
12		153±14	153± 8	150±10	146± 9	151± 4	149± 6
Final		154±13	153± 8	149±10	146± 9	151± 4	148± 7

a) Number of rats. b) Weight at the start of the experiments. c) Mean±SD (g). d) Weights at the day of the autopsy.

*: Significantly different from control. $p<0.05$

ゼ(LDH)を測定した。

解剖, 病理学的検査: 諸臓器は肉眼的に観察した後, 脳, 心, 肝, 腎, 肺, 脾, 副腎, 精巣, 前立腺, 子宮, 卵巣については重量および体重比重量を測定し, 以上の秤量臓器に加えて下垂体, 耳垢腺, 眼球, ハーダ腺, 唾液腺, 甲・副甲状腺, 気管, 縦隔, 食道, 胃, 小・大腸, 膵臓, 精巣上体, 精囊, 膀胱, 大腿骨, 骨格筋について10%緩衝ホルマリン固定後, パラフィン包埋切片を作製しHE染色を行なった。また必要に応じてPAS染色を行なった。

統計学的処理: 体重, 摂餌・摂水量, 血液・血清学的

検査および臓器重量等の測定値の検定は, Bartlett検定を用い, 分散の均一性について検定し, 分散が一樣であれば一元分散分析およびSheffeの多重比較検定を行った。また分散が非一樣であればKruskal-Wallis検定及びSheffe型の順位和検定を行った。危険率は全て5%においた。

結 果

一般状態および死亡動物: 実験期間中に雌雄各群で死亡例は認められず, また一般状態においても被験物質に起因すると思われる異常は認められなかった。

体重: Table 1に投与開始時より1週間毎の体重を示

Table 2. Food Intake in Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

		Dose level(%)					
		0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male							
Weeks		10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1		12.7±0.8 ^{b)}	12.0±0.7	11.7±1.6	12.2±0.8	11.6±4.0	13.6±1.1
2		13.4±0.6	12.6±0.8	13.3±0.9	13.0±0.7	13.5±0.7	13.9±1.1
3		14.6±1.3	14.1±1.0	13.9±1.0	13.9±1.4	14.0±1.1	15.1±1.4
4		14.4±1.2	14.2±0.9	14.3±1.1	13.8±1.0	13.9±1.2	15.0±1.1
5		14.6±0.9	13.8±1.0	14.3±1.1	13.7±1.2	14.1±1.1	15.2±1.1
6		14.5±1.3	14.0±1.2	14.6±0.7	13.9±1.3	14.7±1.1	15.6±1.0
7		13.9±1.0	13.7±1.2	14.1±0.5	13.6±1.2	14.0±1.0	15.5±1.4
8		13.8±1.2	13.3±0.9	13.6±0.8	13.3±0.9	13.3±0.5	14.8±1.0
9		13.6±0.9	13.4±1.3	13.6±1.4	13.2±1.1	13.5±1.1	14.6±0.9
10		13.7±1.0	13.7±6.5	13.9±5.9	14.7±6.0	13.6±0.9	14.4±1.8
11		12.8±1.9	13.4±1.0	13.7±1.0	12.8±1.2	13.1±1.1	14.2±1.0
12		13.4±1.0	13.7±1.1	13.7±1.2	13.3±1.1	13.7±1.2	14.0±0.7
13		13.8±1.2	13.5±1.2	13.6±1.4	13.1±0.9	13.3±0.9	14.2±0.7
Female							
Weeks		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1		10.2±0.5 ^{b)}	9.3±0.5	9.5±0.7	9.0±1.8	10.7±0.8	10.9±0.8
2		10.4±0.5	9.7±1.2	10.0±0.5	9.9±0.7	10.9±0.7	10.8±0.8
3		0.3±1.5	10.2±0.9	10.5±0.7	10.3±0.7	10.4±1.2	11.2±0.7
4		10.5±0.4	10.0±0.9	10.0±0.4	9.7±0.7*	10.8±0.6	10.3±0.7
5		10.3±0.6	9.6±0.8	10.2±0.7	9.7±0.8	10.7±0.8	10.5±0.7
6		10.4±0.7	10.0±0.9	10.1±0.4	9.5±1.0	10.7±0.5	10.6±0.9
7		9.8±0.8	10.0±1.8	9.4±0.6	9.1±1.0	10.1±0.8	10.3±0.7
8		9.6±0.7	9.3±0.7	9.1±0.8	9.0±0.9	9.5±0.7	10.0±0.6
9		9.1±1.3	9.1±1.2	8.9±0.7	9.0±0.5	9.9±0.9	9.7±0.8
10		9.9±1.3	9.0±0.6	9.2±0.9	9.0±0.5	9.7±0.8	9.6±0.7
11		9.3±0.9	9.2±0.8	9.1±0.8	8.7±1.0	9.9±1.0	9.7±1.1
12		9.5±1.1	9.6±0.6	9.3±0.9	9.1±0.8	9.8±0.6	9.8±0.5
13		9.6±0.6	9.3±0.8	8.9±0.7	9.1±0.9	9.6±0.6	10.0±0.8

a) Number of rats. b) Mean ±SD (g/ rat /day)

した。雄の投与群のうち2.5%群で投与6～9週目で対照群に比べ増加抑制が認められたが、その後差はなくなった。雌の各投与群では実験期間を通して対照群と差がなかった。

摂餌・摂水量：Table 2,3に示すように摂餌、摂水量とも雌雄で実験期間を通して対照群と比べ差は認められなかった。また高濃度群での飼料に対する忌避によるこぼし量の増加もなく、被験物資であるラック色素の摂取量も設定濃度に比例していた。

血液学的検査：Table 4に示すように雌雄の各投与群で対照群に比べ変動のある項目は認められなかった。

血清生化学検査：雌雄の各値をTable 5,6に示した。雄ではCHEが2.5, 5.0%群で、Kが0.625%群で増加、また

GLUが0.625%群、TPが0.625, 2.5%群、Caが2.5%群で減少が認められた。これらの変動にはいずれも色素濃度との関連はなかった。雌ではAMYが2.5, 5.0%群で、GGT、CHO及びKが2.5%群で増加した。このうちAMYは用量に相関する傾向が認められた。その他の変動を示した項目には用量との関連は認められなかった。

臓器重量：雌雄の各実重量及び相対重量をTable 7,8に示した。雄では1.25%群で腎実重量及び相対重量が、2.5%群で腎実重量の減少が認められた。また雌2.5%群で脾相対重量の減少が認められた。

解剖所見：雌雄の投与群で耳下腺の肥大及び舌根部表面の暗紫色の着色が認められた。いずれも2.5%群から肉眼的に明らかな変化を示す例が散見され、5.0%群で

Table 3. Water Consumption in Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

		Dose level (%)					
		0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male							
Weeks		(10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1		15.4±1.2 ^{b)}	15.6±0.7	15.1±2.1	15.9±1.1	15.7±1.0	16.2±1.3
2		15.8±1.2	16.2±0.8	16.5±1.1	16.2±1.2	16.3±1.0	17.2±1.4
3		17.1±1.9	17.6±1.0	18.1±3.3	17.1±1.6	17.1±1.6	17.9±1.4
4		17.4±2.2	18.5±0.9	18.7±3.4	17.4±1.7	17.2±1.8	18.6±1.5
5		17.7±1.5	18.4±2.1	18.9±1.4	17.7±1.6	17.2±2.2	18.4±1.8
6		17.3±2.3	18.9±2.2	19.4±3.9	17.7±1.3	17.7±2.0	18.4±1.3
7		16.8±2.1	17.2±2.1	18.9±4.1	16.9±1.3	17.0±2.0	18.0±1.5
8		16.8±2.0	16.7±1.6	17.2±1.9	16.7±1.4	15.3±1.4	16.8±1.2
9		16.1±1.7	17.0±1.2	18.0±3.7	16.9±1.9	15.8±1.8	16.9±1.4
10		15.5±1.6	16.3±1.2	17.1±1.6	16.5±1.9	14.8±1.0	15.7±1.8
11		15.8±1.9	17.4±2.4	17.5±2.1	15.7±1.6	15.7±2.1	15.8±1.2
12		16.2±2.0	16.9±2.0	17.5±3.1	16.3±1.7	15.7±1.6	16.0±1.0
13		16.2±3.0	17.0±2.2	17.7±3.0	15.8±1.7	15.1±1.4	15.4±1.1
Female							
Weeks		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1		13.5±1.2	12.7±0.7	13.1±0.7	12.3±2.6	13.3±1.2	13.2±2.3
2		14.2±1.3	13.6±2.4	13.4±0.9	14.4±0.8	14.5±1.2	14.9±1.6
3		13.3±4.6	14.6±1.1	14.4±0.8	14.5±1.0	14.5±1.7	15.1±1.3
4		14.4±1.5	14.9±2.0	14.2±1.3	14.4±1.3	14.8±1.3	14.6±1.2
5		14.2±1.2	14.6±1.4	14.3±1.1	14.0±1.9	14.8±1.5	14.4±2.1
6		13.9±1.0	14.2±1.4	14.2±0.8	13.8±2.0	14.0±1.3	14.2±1.5
7		13.9±1.5	15.2±4.0	13.7±1.1	13.5±3.2	13.8±1.1	14.0±1.8
8		13.1±1.3	13.5±1.5	13.5±1.7	13.6±2.6	14.0±2.0	13.3±1.4
9		12.6±1.7	12.8±1.6	13.9±3.0	13.7±2.2	13.4±0.8	13.4±1.8
10		12.5±2.0	13.5±1.8	12.9±1.8	12.4±1.7	13.6±1.8	13.0±2.1
11		12.9±1.3	13.4±2.0	12.6±1.3	12.6±2.0	12.9±1.4	13.3±1.8
12		13.4±1.3	14.1±2.6	13.8±1.5	13.0±2.7	13.5±1.8	12.9±1.6
13		13.1±1.3	12.6±1.4	12.2±1.5	12.6±2.6	12.9±1.7	12.9±1.4

a) Number of rats. b) Mean±SD (g/rat/day)

は雌雄の全例で観察された。

組織所見：ラック投与群で肉眼所見に一致して耳下腺腺房細胞の腫大が認められた。変化を示す腺房では正常組織に比べ細胞質はエオジン染色性が低下し、好塩基性の微細泡沫状または顆粒状で、PAS染色では正常細胞で見られる陽性顆粒が腫大の程度に伴い減少していた。雌雄の5.0%群では全例でPAS陽性顆粒は消失していた。核は対照群とほぼ同様の大きさで、核小体大きいものがあった。また腫大の程度が顕著な細胞ではやや小形で核質が濃縮傾向にあるものも見られた。この様な変化を示す腺房は雌雄ともに1.25%群から認められ、腫大の程度は用量に伴って増加し、より高濃度群では組織全体に亘ってびまん性に認められた (Fig.1-A,B)。いずれも炎

症性の変化は認められなかった。各群における肥大の程度を一定面積当たりの腺房細胞の核数で示した。核数の測定は倍率400倍で、1例、1切片当たり5ヵ所の100×100 μ m²の面積について行い、その平均値を個々の動物の核数とした。各群10例について以上の測定を行い、その平均値を求めた。Table 9に示すように、雌雄ともに対照群に比べ1.25%群より用量に相関して有意に核数が減少した。耳下腺では以上の変化の他に好塩基性、局所性肥大 (Basophilic hypertrophic focus)⁶⁾が雄の対照群、0.313, 0.625, 1.25%群に1または2例、雌0.625, 1.25%群に各1例認められた。この変化は前者に比べ細胞質や核がより大きく、また細胞基底部及び核周囲の好塩基性領域も多く、また変化を示す腺房が数個に限られ組織の

Table 4. Hematological Examination in the Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

		Dose level (%)					
Item		0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male		(10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
WBC	x10 ³	4.9±0.4 ^{b)}	4.8±0.7	4.8±0.5	5.0±0.7	4.5±0.5	4.7±0.5
RBC	x10 ⁶	9.55±0.16	9.43±0.18	9.42±0.18	9.43±0.21	9.40±0.19	9.56±0.14
Hgb	gm	16.3±0.2	16.3±0.3	16.4±0.3	16.3±0.3	16.3±0.51	6.3±0.3
Hct	%	47.8±0.8	47.6±0.8	47.6±0.9	47.5±1.0	47.5±1.3	47.6±0.9
PLT	x10 ³	669±41	662±49	710±28	692±72	700±45	652±51
MCV	μ ³	50.0±0.5	50.5±0.5	50.5±0.5	50.4±0.6	50.5±0.6	49.8±0.4
MCH	μ μ g	17.1±0.1	17.3±0.3	17.4±0.3	17.3±0.2	17.3±0.4	17.1±0.2
MCH	%	34.2±0.3	34.3±0.5	34.5±0.4	34.4±0.4	34.3±0.5	34.4±0.4
Female							
WBC	x10 ³	4.6±1.4	4.5±0.8	4.5±1.0	4.2±1.1	4.5±0.9	4.2±1.2
RBC	x10 ⁶	8.98±0.13	9.05±0.26	9.15±0.15	9.11±0.19	9.02±0.10	9.07±0.25
Hgb	gm	16.4±0.3	16.6±0.4	16.7±0.3	16.5±0.4	16.2±0.3	16.4±0.4
Hct	%	47.2±0.9	47.7±1.4	48.0±0.8	47.8±1.0	47.1±0.7	47.3±1.2
PLT	x10 ³	676±63	681±46	675±61	720±41	691±46	655±63
MCV	μ ³	52.6±0.4	52.8±0.5	52.4±0.3	52.5±0.2	52.2±0.5	52.1±0.3
MCH	μ μ g	18.2±0.2	18.3±0.2	18.2±0.3	18.1±0.2	18.0±0.2	18.1±0.3
MCHC	%	34.7±0.3	34.7±0.3	34.7±0.5	34.6±0.3	34.5±0.3	34.7±0.5

a) Number of rats examined.

b) Mean±SD

* Significantly different from control group (P<0.05).

一部に局在していることなど、色素投与と関連したびまん性の変化とは性状が異なっていた。またいずれも軽度であり、その発現率には用量相関がなく、今回の耳下腺の組織評価からは除外した。また耳下腺以外の唾液腺では特に変化は見られなかった。その他の臓器で投与によって発現頻度及び程度が増加した変化は腎臓の皮髄境界部の尿細管の鉍質（石灰様物質）沈着であった。沈着物は微少顆粒状から層状構造の小貝殻片様で、その部位では沈着物により圧迫、変形した尿細管や上皮細胞の編成、脱落によって生じた空洞構造が認められた。個々の動物について変化の程度をその存在数及び範囲に基づき――+++に分類した。程度の強い例では沈着物を伴った空洞構造が皮髄境界部に沿って帯状に隙間なく配列しさらに変化を示す部位が被膜方向に広がっていた (Fig.2-A,B)。Table 10に示すようにこの変化は雄対照群では見られないが雌では軽度な変化として認められ、いずれも投与に伴い頻度や程度が増加した。雄に比べ雌で強く見られた。そのほか肝の細胞浸潤、肺血管壁の石灰沈着等が各群の動物に見られたが濃度との関連は認められなかった。剖検時暗紫色の着色が見られた舌では組織学的には対照群と差はなかった。

考 察

天然着色料のラットによるラック色素の混餌投与による13週間毒性試験を行った。投与と関連した変化として組織学的に耳下腺の肥大及び腎における石灰沈着が見られた他は特に体重、摂餌・摂水量、血液学的検査、血清生化学的検査結果、臓器重量に特に顕著な変化は認められず、今回の実験条件下でのラック色素の作用は弱いものと考えられた。体重は2.5%群で試験期間中増加抑制が認められたが終了時には対照群と差はなく、また最高濃度群及び雌で変化がなかったことから2.5%群における体重変化は投与と関連のない偶発的なものと考えられた。

血清生化学検査において雌2.5, 5.0%群でアミラーゼ (AMY) の増加が認められた。AMYは膵、耳下腺に多く含まれ、また血清中のAMYの変動は膵炎や耳下腺炎等の場合に測定の意味があると言われている^{7,8)}。耳下腺の組織変化の程度は雌雄で同様であったが、雄の血清AMYの増加の程度は雌に比べ低く、雌の血清AMYの増加が耳下腺の変化を反映しているかどうかは明らかでない。また血清中のAMYは尿中へ排泄されることが知られている⁸⁾。雌では腎における鉍質沈着が雄に比べ顕著であった。この病変による腎機能の低下が血清AMYの排泄を障害した結果、耳下腺の変化により増加傾向にあ

Table 5. Blood Biochemical Examination in Male Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

Item	Dose level(%)					
	0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
	10) a)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
ALP(IU/l)	458± 34 ^{b)}	458± 23	454± 30	462± 40	451± 34	461± 28
ALT(U/l)	54± 10	56± 7	54± 8	53± 9	50± 6	56± 11
AMY(IU/l)	1818± 56	1745± 79	1761± 90	1793± 317	1872± 83	2255± 566
AST(U/l)	114± 33	114± 20	117± 24	113± 21	116± 17	126± 36
CHE(ΔpH)	0.14±0.02	0.15±0.03	0.17±0.03	0.17±0.04	0.19±0.03*	0.20±0.03*
GGT(U/l)	0.4± 0.2	0.5± 0.2	0.5± 0.2	0.5± 0.3	0.6± 0.2	0.5± 0.2
LAP(IU/l)	66± 3	68± 3	67± 3	68± 2	66± 2	68± 2
LDH(IU/l)	1261± 452	1192± 326	1303± 368	1202± 412	1195± 214	1290± 473
ALB(g/dl)	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.6± 0.1	2.6± 0.1	2.7± 0.1
A/G	0.78±0.03	0.79±0.03	0.79±0.03	0.77±0.05	0.79±0.04	0.77±0.03
BIL(mg/dl)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04± 0.0	0.05±0.01
CHO(mg/dl)	80± 6	80± 5	79± 5	80± 8	80± 4	86± 6
CRE(mg/dl)	0.49±0.05	0.48±0.04	0.47±0.03	0.49±0.05	0.49±0.05	0.50±0.05
GLU(mg/dl)	175± 5	174± 9	166± 7*	174± 6	170± 6	176± 7
PL(mg/dl)	162± 13	160± 11	157± 13	161± 14	160± 8	167± 10
TG(mg/dl)	97± 36	84± 37	88± 38	79± 20	76± 22	74± 25
TP(g/dl)	6.2± 0.1	6.1± 0.1	6.0±0.1*	6.1± 0.2	5.9±0.1*	6.1± 0.2
UA(mg/dl)	1.7± 0.3	1.6± 0.4	1.5± 0.3	1.7± 0.3	1.5± 0.3	1.6± 0.4
UN(mg/dl)	20.2± 1.1	20.1± 1.1	20.0± 1.5	20.1± 1.2	19.4± 1.1	20.1± 2.0
Ca(mg/dl)	10.3± 0.2	10.2± 0.2	10.1± 0.2	10.2± 0.1	10.0±0.1*	10.2± 0.3
Na(mEq/l)	142.8± 2.2	143.1± 1.2	142.2± 1.6	142.8± 1.0	142.7± 1.0	142.8± 1.0
K(mEq/l)	5.34±0.36	5.43±0.24	5.68±0.30*	5.35±0.27	5.58±0.12	5.51±0.31
Cl(mEq/l)	99.1± 1.6	99.3± 0.9	98.9± 1.5	99.3± 0.9	99.9± 0.8	99.1± 1.0

a) Number of rats examined. b) Mean±SD

*: Significantly different from control group (p<0.05).

る血清AMYが雌ではより顕著に検出された可能性も考えられることから、その由来についてアイソザイムの測定などの検討が必要である。臓器重量では雄で腎重量の減少が1.25, 2.5%群で認められたが、明らかな用量相関や特徴的な組織変化がないことから体重の変動等に伴った二次的な変化と考えられた。また雌2.5%群で脾相対重量の増加が認められたが特に組織変化もないことからの偶発的なものと考えられた。組織学的に耳下腺腺房細胞のびまん性の肥大と腎の鉍質沈着が投与に関連した変化として認められた。ラック色素による耳下腺の変化については過去に報告はない。同様な変化を起こす薬物として抗ヒスタミン薬のドキシラミン(Doxylamine)が知られているがその毒性的意義や作用機構については明らかにされていない⁹⁾。唾液腺の機能は食物の組成や湿潤性などの外的要因の影響やホルモンや自律神経系などの生理学的な要因の支配を受けている。今回観察された変化の発現には明らかな用量相関がありラック色素の作用の可能性が示唆されるが、唾液腺のうちで耳下腺のみにど

のような原因で起こるかは今までのところ不明である。長期投与試験によってこの変化の経過を観察する必要があると思われる。腎の鉍質沈着はF344系ラットの雌に特徴的に見られる自然発生病変で、その発生にはホルモンや飼料中のカルシウム等のミネラルのバランスが関与していることが知られている¹⁰⁻¹²⁾。雌高濃度群ではその程度は強く現れたが体重の変化や血清学的に腎機能に関連した測定項目の変動は認められず、動物の成育に影響する性質のものではないと考えられた。ラック色素の作用に関して、肝機能に対する作用の観察を目的としたラットによる投与実験^{13,14)}では障害作用は報告されていない。また今回の実験では一般状態や体重や摂餌、摂水量は対照群と顕著な差がなくラック色素の毒性は低いものと思われるが、2.5%群で体重の抑制傾向や耳下腺の肥大が認められていることからラック色素の作用については、現在実施中である慢性投与試験において確認したい。

謝 辞

被験物質および試験飼料中のラッカイン酸の分析に関

Table 6. Blood Biochemical Examination in Female Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

Item	Dose level(%)					
	0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
	10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
ALP(IU/l)	388± 42 ^{b)}	409± 45	387± 25	399± 28	396± 47	415± 40
ALT(U/l)	48± 9	50± 8	51± 6	50± 6	57± 8	55± 10
AMY(IU/l)	1205± 96	1214± 137	1193± 138	1240± 56	1447± 174*	1568± 280*
AST(U/l)	116± 31	111± 25	123± 30	115± 29	121± 20	119± 35
CHE(ΔpH)	1.07±0.08	1.04± 0.10	1.06± 0.08	1.06± 0.09	0.99± 0.08	1.04±0.08
CPK(IU/l)	5633±2208	4938±1419	4757±1509	4234±1509	3868±1178	4569±1726
GGT(U/l)	1.0± 0.3	1.0± 0.3	1.0± 0.2	1.2± 0.2	1.6± 0.4*	1.2± 0.2
LAP(IU-l)	68± 4	71± 4	71± 3	70± 3	70± 4	70± 4
LDH(IU/l)	1149± 427	1083± 432	1258± 400	1151± 426	1031± 255	1023± 405
ALB(g/dl)	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.7± 0.1	2.7± 0.1
A/G	0.86±0.03	0.87± 0.05	0.87± 0.03	0.86± 0.05	0.85± 0.03	0.85±0.03
BIL(mg/dl)	0.05±0.01	0.05± 0.01	0.05± 0.01	0.04± 0.01	0.05± 0.01	0.05±0.01
CHO(mg/dl)	84± 6	87± 6	84± 5	82± 4	91± 7*	89± 3
CRE(mg/dl)	0.47±0.11	0.46± 0.04	0.47± 0.05	0.46± 0.03	0.45± 0.02	0.44±0.04
GLU(mg/dl)	169± 13	166± 10	163± 14	162± 10	161± 11	160± 12
PL(mg/dl)	165± 13	167± 15	160± 10	162± 10	174± 14	170± 8
TG(mg/dl)	34± 20	38± 16	30± 11	33± 22	37± 32	29± 14
TP(g/dl)	5.7± 0.2	5.8± 0.3	5.7± 0.2	5.8± 0.2	5.8± 0.2	5.8± 0.2
UA(mg/dl)	1.6± 0.4	1.7± 0.4	1.6± 0.2	1.6± 0.4	1.6± 0.3	1.5± 0.4
UN(mg/dl)	18.8± 1.3	19.6± 1.6	19.3± 1.6	19.8± 1.3	19.5± 2.2	19.3± 2.0
Ca(mg/dl)	9.7± 0.3	9.8± 0.3	9.6± 0.2	9.7± 0.3	9.8± 0.3	9.6± 0.2
Na(mEq/l)	140.8± 1.2	141.7± 1.5	141.8± 2.0	142.2± 1.4	141.8± 1.4	141.7± 1.5
K(mEq/l)	4.86±0.31	5.12± 0.28	5.16± 0.24	5.16± 0.40	5.29± 0.24*	5.07±0.22
Cl(mEq/l)	98.8± 1.9	99.6± 1.5	99.6± 1.3	99.9± 1.9	99.9± 1.1	99.9± 1.6

1) Number of rats examined. 2) Mean±SD

*: Significantly different from control group (p<0.05).

してご協力いただいた当所食品添加物研究科の平田恵子氏に感謝致します。

文 献

- 1) 化学的合成品以外の食品添加物リスト注解書, 129, 平成3年度版, 食品添加物協会
- 2) 藤井正美, 清水重孝, 中村幹雄: 概説食用天然色素, 63-66, 1993, (株)光琳, 東京
- 3) 藤田 博, 広門雅子, 平田恵子, 他: 東京衛験年報, 47, 309-313, 1996
- 4) 小縣昭夫, 安藤 弘, 久保喜一, 他: 東京衛験年報, 48, 309-311, 1997
- 5) Chkravarty, I and Roy, B. R.: Indian shellac, ed. by Majumder, S 6-11, 1982
- 6) Neuenschwander, S. B and Elwell, W.R.: Salivary glands. In Boorman, G.M., et. al. (eds.), Pathology of the Fischer rats, 31-43, 1990, Academic Press, San Diego
- 7) 谷本義文: 実験動物の血液・尿生化学, 101, 1988, ソフトサイエンス, 東京
- 8) 馬場忠雄, 石塚義之: 検査値のみかた, 臨床医, 19, 増刊号, 144-145, 1993
- 9) Jackson, C.D. and Blackwell, B.N.: Fund. Appl. Toxicol., 10, 243-253, 1988
- 10) Iwata, H., Hirouch, Y., Inoue, H. and Enomoto, M.: Exp. Anim. 35, 299-305, 1986
- 11) Armstong, W. G. and Horsley, H. G.: Nature, 21, 980, 1966
- 12) Peter, C. P., Burek, J.D. and van Zwieten, M. J.: Toxicol. Path., 14, 91-100, 1986
- 13) Gosh, A and Chkravarty, I: J. Fd. Sci. Tecnol. 25, 94-96, 1988
- 14) Gosh, A and Chkravarty, I: The Ind. J. Nutr. Dietet. 17, 147-1530, 1980

Table 7. Organ Weights of Male Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

Item	Dose level(%)					
	0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
	10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Brain(mg)	1924± 34 ^{b)} (721± 42) ^{c)}	1929± 41 (732± 42)	1936± 40 (709± 46)	1914± 80 (739± 28)	1918± 39 (767± 40)	1932± 31 (726± 35)
Liver(g)	8.10±0.91 (3.02±0.19)	7.93± 0.60 (3.00± 0.10)	8.20± 0.69 (2.99± 0.11)	7.62± 0.69 (2.93± 0.11)	7.80± 0.51 (3.11± 0.10)	7.94±0.52 (2.98±0.10)
Heart(mg)	761± 59 (284± 14)	741± 36 (281± 10)	763± 35 (279± 9)	714± 61 (275± 16)	707± 48 (282± 10)	760± 44 (285± 16)
R-Kidney(mg)	789± 51 (295± 8)	761± 36 (288± 10)	780± 57 (285± 15)	726± 62* (279± 9)*	726± 44* (290± 10)	744± 46 (279± 9)
L-Kidney(mg)	773± 51 (292± 8)	760± 40 (288± 10)	773± 88 (282± 24)	741± 66 (285± 13)	715± 36 (285± 11)	761± 41 (286± 7)
Spleen(mg)	564± 94 (210± 27)	543± 37 (205± 7)	573± 48 (209± 17)	542± 55 (209± 19)	526± 35 (210± 6)	541± 29 (203± 6)
Lung(mg)	849± 47 (318± 14)	863± 37 (327± 17)	863± 53 (315± 15)	846± 76 (326± 17)	808± 53 (323± 15)	839± 45 (315± 14)
R-Testis(mg)	1478± 48 (553± 30)	1489± 43 (564± 19)	1500± 39 (549± 36)	1472± 76 (568± 23)	1450± 60 (579± 28)	1483± 42 (558± 32)
L-Testis(mg)	1506± 49 (564± 27)	1546± 42 (586± 27)	1549± 43 (568± 43)	1512± 75 (583± 24)	1501± 64 (600± 26)	1517± 74 (570± 37)
Prostate(mg)	231± 46 (87± 14)	245± 47 (93± 16)	230± 50 (84± 16)	229± 48 (88± 17)	205± 39 (82± 13)	206± 25 (77± 9)
R-Adrenal(mg)	15.4± 1.7 (5.8± 0.9)	14.6± 1.2 (5.5± 0.5)	15.2± 1.4 (5.6± 0.3)	13.8± 1.5 (5.3± 0.5)	14.5± 1.4 (5.8± 0.5)	14.2± 1.7 (5.3± 0.6)
L-Adrenal(mg)	16.9± 0.9 (6.3± 0.6)	17.5± 1.6 (6.6± 0.6)	16.7± 1.7 (6.1± 0.4)	15.5± 1.1 (6.0± 0.3)	15.9± 1.9 (6.4± 0.8)	16.7± 2.5 (6.3± 0.8)
Thymus(mg)	161± 17 (60± 3)	158± 19 (60± 7)	161± 18 (59± 5)	155± 14 (60± 8)	149± 14 (60± 7)	162± 26 (61± 9)

a) Number of rats examined. b) Absoluteweight(mean±SD).

c) Relative weight(mg or g/100g body weight, mean±SD).

* Significantly different from control group(p<0.05).

Table 8. Organ Weights of Female Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

Item	Dose level(%)					
	0 (Control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
	10) a)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Brain(mg)	1799± 29 ^{b)} (1178± 88) ^{c)}	1785± 40 (1171± 64)	1785± 24 (1200± 74)	1763± 36 (1213± 69)	1775± 26 (1177± 29)	1778± 39 (1199± 40)
Liver(g)	4.56±0.63 (2.96±0.22)	4.58± 0.32 (3.00± 0.15)	4.24± 0.41 (2.83± 0.14)	4.22± 0.49 (2.89± 0.22)	4.55± 0.44 (3.02± 0.27)	4.35±0.42 (2.93±0.25)
Heart(mg)	503± 48 (328± 21)	496± 27 (325± 15)	477± 34 (320± 21)	463± 38 (317± 18)	475± 22 (315± 12)	482± 31 (325± 18)
R-Kidney(mg)	515± 51 (335± 19)	505± 24 (331± 15)	495± 23 (332± 17)	491± 33 (337± 18)	498± 28 (331± 21)	524± 39 (353± 24)
L-Kidney(mg)	514± 47 (335± 16)	506± 30 (332± 22)	490± 25 (329± 15)	490± 35 (336± 17)	495± 28 (328± 20)	513± 35 (346± 19)
Spleen(mg)	347± 32 (226± 11)	347± 22 (227± 12)	335± 26 (224± 8)	328± 21 (225± 4)	360± 19 (239± 10)*	338± 17 (228± 11)
Lung(mg)	624± 40 (407± 24)	630± 41 (412± 12)	612± 44 (410± 12)	608± 37 (417± 17)	619± 35 (411± 20)	602± 24 (406± 17)
R-Ovary(mg)	28.7± 7.1 (18.6± 3.7)	27.5± 5.2 (18.0± 3.4)	26.6± 4.3 (17.8± 2.6)	28.3± 6.5 (19.3± 3.7)	25.8± 4.4 (17.1± 2.8)	25.6± 2.6 (17.2± 1.7)
L-Ovary(mg)	25.9± 4.2 (16.8± 1.9)	27.2± 5.2 (17.7± 2.8)	26.1± 2.6 (17.3± 2.0)	24.1± 3.6 (16.5± 2.0)	25.8± 5.5 (17.1± 3.6)	25.7± 6.2 (17.3± 4.1)
Uterus(mg)	441± 62 (289± 44)	416± 98 (271± 59)	410± 99 (276± 70)	383± 89 (262± 56)	386± 74 (256± 49)	400± 80 (271± 65)
R-Adrenal(mg)	19.9± 1.8 (13.0± 1.5)	19.1± 1.9 (12.5± 1.4)	18.0± 2.3 (12.1± 1.3)	17.7± 1.8 (12.1± 1.0)	20.4± 2.0 (13.5± 1.2)	17.7± 2.5 (11.9± 1.5)
L-Adrenal(mg)	21.6± 2.1 (14.1± 1.3)	21.7± 2.8 (14.2± 1.7)	21.3± 2.2 (14.3± 1.4)	20.9± 4.6 (14.4± 3.5)	21.4± 2.3 (14.8± 1.4)	20.3± 2.7 (13.6± 1.7)
Thymus(mg)	131± 15 (85.5± 6.9)	140± 14 (91.5± 6.6)	135± 12 (90.7± 6.2)	134± 12 (91.8± 8.5)	136± 10 (90.0± 6.4)	132± 10 (89.2± 7.1)

a) Number of rats examined, b) Absoluteweight(mean ± SD).

c) Relative weight(mg or g/100g body weight, mean ± SD).

* Significantly different from control group(p<0.05)

Table 9. Number of Nuclei of Acinar Cells per 10⁴ μ m² in Parotid Gland of Rats Fed Diets Containing Lac Colour for 13 Weeks

Sex	Dese level (%)					
	0 (control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male	45.4±3.1 ^{a)}	45.4±3.4	43.2±2.8	40.2±4.3*	23.7±4.2*	13.2±1.9*
Female	50.8±3.5	50.9±3.3	48.4±2.9	42.7±5.3*	28.5±5.3*	17.5±4.1*

a) Values are mean±SD. One slide per rat was used to count No.of nuclei/100×100 μ m² of acinar cells, and for each slide, 5 areas were counted. Values, thus, represent means for 10 rats in each group.

*: Significantly different from control ; p<0.05

Table 10. Incidence and Severity of Mineralisation in Kidney of Rats Fed Diet Containig Lac Colour for 13 Weeks

Sex	Des level (%)					
	0 (control)	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
Male	(10) ^{a)}	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
— ^{b)}	10	10	10	9	0	0
±	0	0	0	1	3	3
+	0	0	0	0	7	5
++	0	0	0	0	0	2
Female	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
— ^{b)}	0	0	0	0	0	0
±	9	1	0	0	0	0
+	1	5	8	5	0	0
++	0	4	2	5	8	4
+++	0	0	0	0	2	6

a) Number of rats examined.

b) Severity : — ; no changes, ± ;very slight, +; slight, ++: moderate
+++; severe

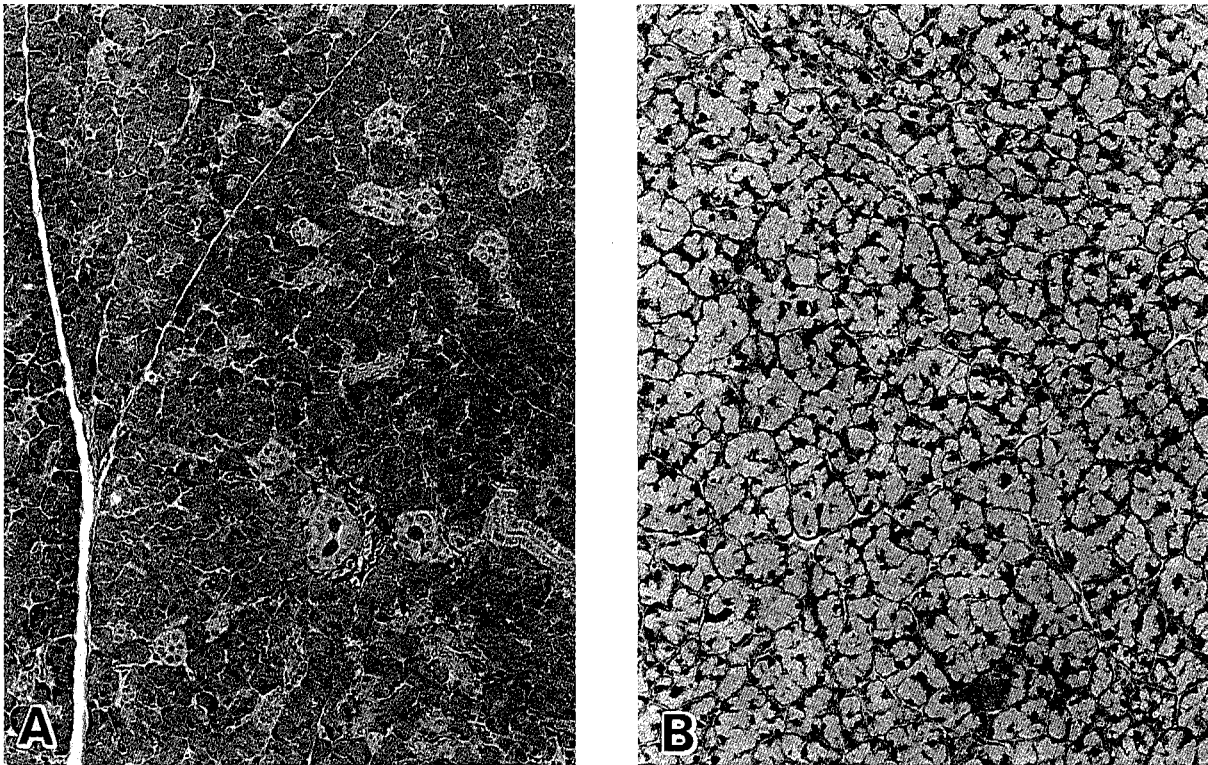


Fig. 1. Parotid gland of male rats fed the diets containing lac colour for 13 weeks.
(A) Control group. (B) 5.0% group ; diffuse hypertrophy of acinar cells.(H&E, $\times 120$)

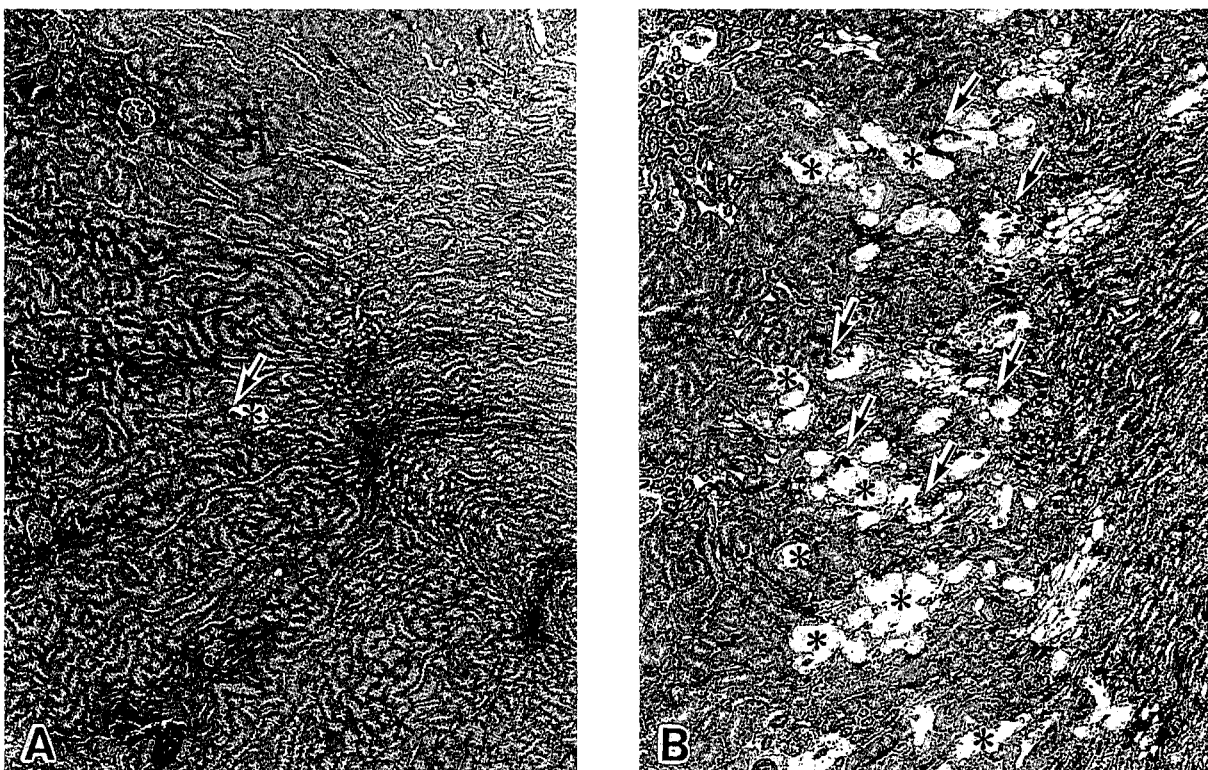


Fig.2. Kidney of female rats fed diets containig lac colour for 13 weeks.
(A) Control group. (B) 5.0% group ; marked mineralisation at cortico-medullary junction. Arrows indicate the mineral doposit and Asterisks indicate the artificial defects during the process of preparing tissue sections due to the mineral deposit and desquamation of epithelium.(H&E, $\times 48$)