

令和 3 年度

既存添加物の安全性評価 に関する調査研究

調査研究報告書



国立医薬品食品衛生研究所

調査研究報告書

既存添加物の安全性評価に関する調査研究

令和 4 年 3 月

主任研究者

平林容子

国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長

研究協力者

北嶋 聡	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部長
佐藤恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
今井俊夫	国立がん研究センター研究所動物実験支援施設長
山田雅巳	防衛大学校応用科学群応用化学科 教授
諫田泰成	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター薬理部長
小川久美子	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部長
杉山圭一	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター変異遺伝部長
広瀬明彦	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター安全性予測評価部長

目次

A. 研究要旨.....	3
B. 研究目的.....	3
C. 研究方法.....	3
D. 研究結果.....	3
E. 考察.....	4
F. 結論.....	4
G. 各論.....	5
ミルラ.....	6

A. 研究要旨

平成8年度厚生科学研究報告書「既存天然添加物の安全性評価に関する調査研究」（主任研究者 林裕造、以下「林班報告書」という）において、既存添加物の基本的な安全性について検討した結果、「今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であるもの」に分類されたミルラについて安全性の評価を行った。

ミルラについて、国立医薬品食品衛生研究所（国衛研）で実施した安全性試験及び使用実態から総合的に判断して、食品添加物としての使用においては安全性に懸念はないと考えられた。

B. 研究目的

平成7年の食品衛生法（昭和22年法律第233号）の改正において、既存添加物名簿（平成8年厚生省告示第120号）に記載された既存添加物は、引き続き使用等が認められることとされ、それに伴い、安全性の見直しを行うこととされた。これらの既存添加物について、平成8年度厚生科学研究報告書「既存天然添加物の安全性評価に関する調査研究」（主任研究者 林裕造、以下「林班報告書」という）において、国際的な評価結果、欧米での許認可状況、並びに安全性試験成績結果等から既存添加物の基本的な安全性について検討した結果、①「今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であるもの」、②「基原、製法、本質からみて、現段階において安全性の検討を早急に行う必要はないもの」、③「入手した試験成績の評価により、安全

性の検討を早急に行う必要はないもの」、④「既に国際的な評価がなされており基本的な安全性は確認されているもの」とに分類された。本調査研究は、①に分類されたミルラについて安全性を評価（考察）することを目的とした。

C. 研究方法

「今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であるもの」と分類されたミルラについて、令和2年度に実施された反復投与毒性試験の結果の他、急性毒性試験、変異原性試験等の結果等について取り纏め¹、複数の専門家から構成された食品添加物安全性評価検討会において、対象品目の安全性に関する評価（考察）を行った。

D. 研究結果

ミルラを用い0、5,000、15,000、50,000 ppm（雄；0、290、850、3000 mg/kg 体

¹ 文献調査に当たっては、次の組織のデータベース及び成書を対象とした。

- ・ European Food Safety Authority (EFSA)
- ・ Food and Drug Administration (FDA)
- ・ Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)

- ・ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)
- ・ Health Canada
 - ・ Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS)

重/日、雌 ; 0、310、950、3,220 mg/kg 体重/日に相当) の用量で混餌投与にてラット 90 日間反復投与毒性試験が実施され、NOAEL (無毒性量) は雌雄ともに中用量の 15,000 ppm と判断された。遺伝毒性に関しては、Ames 試験、染色体異常試験、*in vivo*小核試験はいずれも陰性と判定され、ミルラは生体にとって懸念すべき遺伝毒性はないものと考えられた。

以上の情報から、現状の使用においては、人の健康影響に対する懸念はないと結論された。

E. 考察

本事業において評価したミルラについ

て、安全性試験の成績から食品添加物としての使用においては安全性に懸念はないと考えられた。

F. 結論

平成 8 年度厚生科学研究「林班報告書」において「今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であるもの」に分類された既存添加物のミルラについて安全性の評価を行った結果、毒性試験に関する情報から総合的に判断すると、食品添加物として使用する限りにおいて安全性上の懸念はないと考えられた。

G. 各論

ミルラ

英名：	Myrrh
CAS No.	9000-45-7 (Myrrh Gum, Myrrh Resin)
JECFA No.	該当なし
別名：	Arabian myrrh C molmol Commiphora molmol Karam Morr higazi
化学式：	—
分子量：	—
構造式：	—

1. 基原・製法

カンラン科ボツヤク (*Commiphora mukul ENGL.*) の分泌液より、低沸点部を蒸留により除去し、室温時エタノールで抽出し、エタノールを留去して得られたものである。成分としてコミホールを含む。

2. 主な用途

ガムベース

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット、経口、TDL₀ (最小毒性量) 14 g/kg (14 日間連続投与)¹⁾

2) 90 日間反復投与毒性試験

6 週齢の雌雄 F344/DuCrIj ラットにミルラを 0、5,000、15,000 又は 50,000 ppm (雄 ; 0、290、850、3,000 mg/kg 体重/日、雌 ; 0、310、950、3,220 mg/kg 体重/日相当) の濃度で 90 日間混餌投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血清生化学的検査、臓器重量測定、肉眼病理学的検査及び病理組織学的検査が実施された。その結果、雌雄ともに 50,000 ppm 群において体重増加抑制が認められ、雄の 50,000 ppm 群の腎臓において近位尿細管上皮における軽度の硝子滴が認められた。なお、同群の腎臓の免疫組織化学染色において α_{2u} -グロブリンの増加は認められず、雄ラット特異的な α_{2u} -グロブリン腎症以外の要因も否定できなかった。

以上の結果から、本試験における被験物質の無毒性量は雌雄ともに中間用量である 15,000 ppm (雄 : 850 mg/kg 体重/日、雌 : 950 mg/kg 体重/日) と判断された^{2,3)}。

3) 遺伝毒性試験

ミルラをネズミチフス菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) 及び大腸菌 (WP2 *uvrA* 株) にそれぞれ処理し、その変異原性、すなわち遺伝子突然変異誘発性の有無を代謝活性化によらない場合と代謝活性化による場合を用いて検討された。

本試験は、各試験菌株の最高用量を 5,000 µg/plate 又は生育阻害が認められる用量に設定し、以下公比 2 で計 6 用量とされた。すなわち、非代謝活性化条件下の TA98、TA100、TA1535、TA1537 株は 625、312.5、156.3、78.1、39.1、19.5 µg/plate、WP2 *uvrA* 株、代謝活性化条件下の TA98、TA100、TA1535、TA1537 株は 5000、2500、1250、625、312.5、156.3 µg/plate とされた。

本試験の結果、各試験菌株の復帰変異コロニー数は、代謝活性化系の有無に関らず、用量依存性ならびに陰性対照群の 2 倍以上の増加は認められなかった。なお、生育阻害は非代謝活性化条件下の TA98、TA100、TA1535、TA1537 株の 312.5 µg/plate 以上、非代謝活性化条件下の WP2 *uvrA* 株、代謝活性化条件下の TA98、TA100、TA1535、TA1537 株の 5,000 µg/plate で認められた。代謝活性化条件下の WP2 *uvrA* 株では認められなかった。被験物質の沈殿は認められなかった。また、用量設定試験及び本試験との間に再現性も確認された。一方、各試験菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数は、いずれも陰性対照群と比較して顕著な増加が認められた。

以上の結果より、当該試験条件下におけるミルラの遺伝子突然変異誘発性は、陰性と判断された⁴⁾。

ミルラのチャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞(CHL/IU)を用いた染色体異常試験を実施し、その染色体異常誘発性の有無が検討された。用量設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果をもとに、短時間処理法及び連続処理法の 24 時間処理では 400 µg/mL を最高用量とし、以下、公比 2 で計 4 用量を、連続処理法の 48 時間処理では 300 µg/mL を最高用量とし、以下、公比 2 で計 5 用量を設定して染色体異常試験が実施された。

その結果、短時間処理法及び連続処理法ともに、全ての用量でギャップを含まない染色体異常を有する細胞の出現率、及び倍数体の出現頻度ともに 5%未満を示した。全ての処理法において、陰性対照群、及び陽性対照群ともに、試験施設の背景値内の異常細胞の出現頻度を示したことから、試験は適切に実施されたと考えられた。

以上の結果から、ミルラは本試験条件下において染色体の構造異常、及び数的異常は誘発しないと結論された⁵⁾。

ミルラの生体での染色体異常誘発性の有無について調べる目的で雄性 ICR 系マウスを用いて小核試験が実施された。ミルラを 2,000、1,000、500 及び 0 mg/kg (媒体) の用量で 24 時間間隔 2 回経口投与し、最終投与の 24 時間後に標本が作製された。

同時に陽性対照群としてマイトマイシン C、2 mg/kg の単回腹腔内投与群を設け、投与 24 時間後に標本が作製された。各々の小核誘発能及び全多染性赤血球出現率を評価された。

一般状態及び体重推移において特記すべき異常は確認されなかった。標本観察においてミルラ投与群では、小核を有する多染性赤血球の出現率は陰性対照の背景データの上限を越えておらず、統計学的にも陽性を示さなかった。それに対し陽性対照群は陰性対照の背景データの上限を上回り統計学的にも陽性を示した。また、同時に観察した全多染性赤血球の全赤血球に対する比において、ミルラ投与群では陰性対照群と比較して、一定の傾向はみられなかった。また、陽性対照群では有意な増殖抑制が観察された。

以上の結果より本試験条件下において、ミルラは 2,000、1,000 及び 500 mg/kg 用量の 24 時間間隔で 2 回経口投与した時、*in vivo* における小核誘発能を有さず、また、骨髄細胞の増殖抑制作用を有さないものと結論された⁶⁾。

遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陰性
染色体異常試験	陰性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	陰性

4) その他

情報なし

5) 海外評価書における扱い

海外では評価されていない。

4. 検討結果

現状の使用において、人の健康影響に対する懸念はないものと結論された。

5. 参考資料

1. RTECS Number : GK1279500
2. 石井雄二、高須伸二、並木萌香、小川久美子：令和2年度 既存添加物の安全性に関する試験「ラットを用いたミルラの90日間反復経口投与毒性試験」（最終報告書）、2021年
3. Mitsumoto T., Ishii Y., Namiki M., Nakamura K., Takasu S., Ogawa K. A 90-day subchronic toxicity study of Myrrh in F344 rats. Regul. Toxicol. Pharmacol. 2021, in press.

4. 松村直子：ミルラの細菌を用いる復帰突然変異試験、最終報告書、株式会社SRD生物センター、2011年
5. 園明：ミルラのは乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、指定添加物の安全性に関する試験最終報告書、株式会社ボゾリサーチセンター、2011年
6. 青山典人：ミルラのマウスを用いる小核試験、最終報告書、株式会社DIMS医科学研究所、2011年