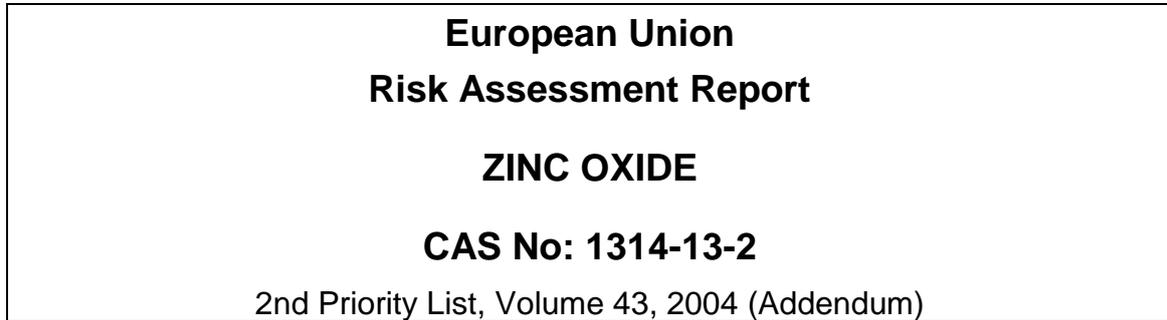
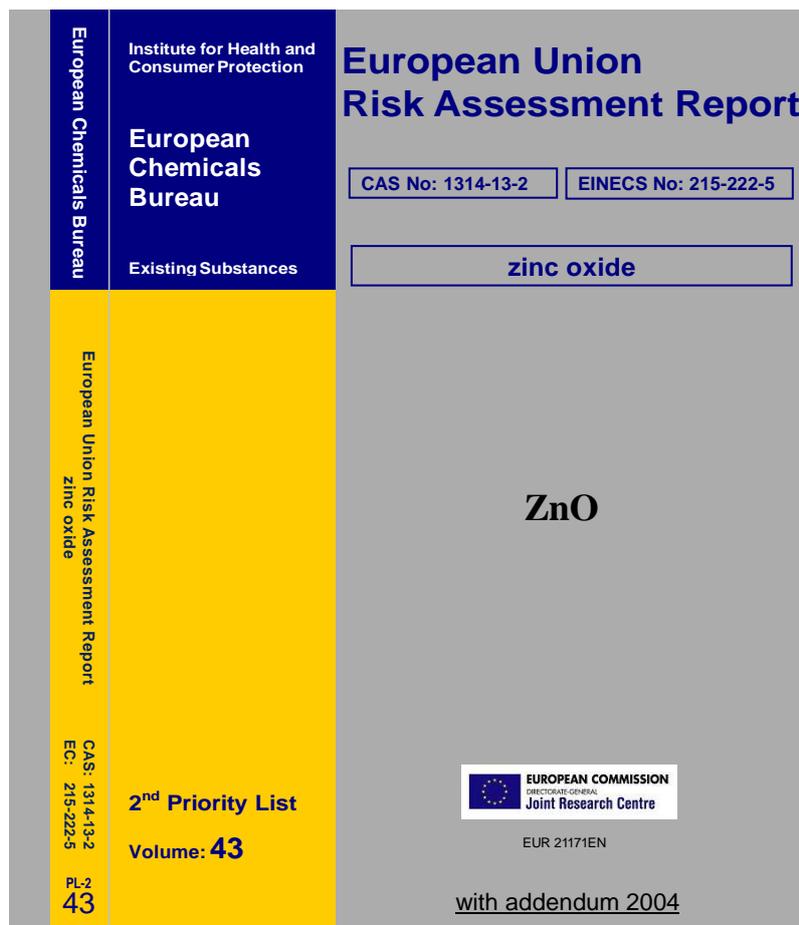


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 43, 2004-Addendum)
酸化亜鉛



国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部
2016年8月

本部分訳文書は、zinc oxide (CAS No: 1314-13-2)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 43, 2004追補)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、

<http://echa.europa.eu/documents/10162/596b1f42-8bfe-48f8-86f4-cd98fe6b7041>

を参照のこと。

4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)評価

4.1.2.1 序文

基本的な前提事項

EUの規則793/93の下で現在レビューされている6つの亜鉛化合物については、リスク評価書の有害性に関するセクションの大部分が同一である。これは、亜鉛陽イオン(溶解された亜鉛化合物はこの形で測定される)が、全身毒性に関して決定的な因子として働くという基本的な前提に依るものである。

亜鉛(および他の金属)化合物については、実験動物においてもヒトにおいても、毒性にとって重要な実際の濃度、もしくは生物学的に利用可能な濃度を明確にすることが重要であると理解されている。様々な物理化学的過程により、亜鉛は様々な化学的形態をとって存在しており、それらの中には他の形態よりも生物学的利用能が高いものもある。したがって、生物学的利用能は、様々な物理化学的パラメータ(イオンの挙動、溶解度、pH、アルカリ度など)によって影響を受けることが理解される。6種類の亜鉛化合物[水に溶解性のもの(硫酸化物、塩化物)、希酸に溶解性のもの(リン酸化物、ジステアリン酸化物および酸化物)、および亜鉛原子がHClによる攻撃を受けて Zn^{2+} が生じるもの(Windholz *et al.*, 1983)]についてはある程度の情報が得られているが、これら種々の亜鉛化合物のいずれについても、生物学的利用可能な画分の定量的な測定法もしくは推定法に関する適切な情報は、実験動物においてもヒトにおいても得られていない。そのため、全ての亜鉛化合物(金属亜鉛を含む)は、イオン化学種に(少なくとも一部は)転換される(金属および金属化合物の環境リスク評価についての技術指針書を参照)とみなされ、また、全ての毒性データ(被験化合物に関係なく)は、亜鉛陽イオンのものとして扱われ、記載される。

局所的影響に関しては、全ての亜鉛化合物のデータをどの様な場合にでも適用できるわけではない。したがって、局所的影響に関しては、それぞれの亜鉛化合物について得られたデータだけをういたか、そうしたデータの価値が低く見積られる場合には、溶解性がほ

ば同じ亜鉛化合物から得られたデータを用いた。

亜鉛化合物の物理化学的性質は様々であり、それによりトキシコキネティクス(吸収)やひいては毒性影響に違いが生じ得るため、吸入および経皮曝露については、経路間で外挿を行うと問題が生じる可能性がある。ある亜鉛化合物自身もしくは他の亜鉛化合物の経口毒性データから、吸入あるいは経皮曝露での全身毒性を予測することは可能であるが、こうした予測は、得られた全てのデータを注意深く検証して適切な外挿係数を確立した上でのみ、正当化される。

さらに、動物試験における亜鉛陽イオンの背景摂取量の影響は、ヒトにおいても同等であるとみなされる。

データベース

多くの情報が業界から提示されている。亜鉛および亜鉛化合物に関して、多くの付加的データが公表されており、それらの中には、米国環境有害物質・特定疾病対策庁(ATSDR, 1994)や Walsh *et al.*(1994)による、良質なレビューにおいて言及されているものもある。これらのレビューに加え(適切なものである場合には)一次文献を利用しているため、このリスク評価書の中で、ヒトにおける亜鉛の有害性や危険性を確立するのに重要なデータのほとんどが網羅されている。このリスク評価書において言及されている全ての試験に関して一次文献の照合が行われているわけではなく、他の試験と比べ詳細に記載されていない試験もある。このリスク評価書の文面では、レビューから引用した情報には、その参照の後に(r)の記号を付した。それらの情報は、HEDSET[EC/OECD Harmonised Electronic Data Set (for data collection of existing substances)]には含まれていないものである。

4.1.2.2 トキシコキネティクス、代謝、および分布

酸化亜鉛のトキシコキネティクスについて、いくつかのデータが提示されている。他の亜鉛化合物についてのデータも活用される。これは、全ての亜鉛化合物(金属亜鉛を含む)が、摂取されるとイオン化学種に(少なくとも一部は)転換され、それで生じた亜鉛陽イオンが、元の亜鉛化合物の生物学的活性を決定する要因となっているという、基本的な想定に基づいている(4.1.2.1 節を参照)。

4.1.2.2.1 吸収

経口曝露

動物試験

Furchner and Richmond (1962)は、Sprague-Dawley ラット(各群9匹ずつ)に、酢酸亜鉛を、亜鉛換算で58(酢酸亜鉛は含まれていないが、対照飼料にも通常濃度としてこの量の亜鉛は含まれていた)、117、175、293、410ないしは664 mg/kgの濃度で混餌投与した。これらの濃度は、それぞれ約3、6、9、14.5、20.5ないしは33 mg(Zn)/kg体重に相当した。28日後、絶食させていない状態の被験動物に、1.2 μCi の $^{65}\text{ZnCl}_2$ (約0.15 ng)を投与した。全身ガンマカウンタを用い、投与後11日までの各時点における全身の放射活性を測定した。

酢酸亜鉛無添加の飼料(すなわち58 mg/kgの亜鉛を含む飼料)を与えられていた群では、投与された放射活性の約20%が投与24時間後も体内に保持され、以降ゆっくりと減少し、11日目には約9%となった。投与24時間の時点で保持されていた放射活性の量は、飼料中の亜鉛濃度が増加するとともに減少し、亜鉛を最高用量で与えられた群では約13%であった。最高用量群では、11日後では、投与した放射活性のわずか2.3%しか残存していなかった。これらのデータから、低用量の場合には亜鉛の保持量が増加し、高用量になると亜鉛の吸収が低減することが示された。

雄のWistar ラットに準合成飼料を与え、7日間の非曝露期間を設け、その後 ^{65}Zn を、 ZnCl_2 (15匹)、 ZnCO_3 (15匹)ないしは $\text{Zn}_5(\text{OH})_8\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (20匹)として飼料中に加え、86~130 μg の用量で経口投与した。被験物質投与後の最初の5日間は、吸収されなかった亜鉛は糞便から排泄されるものとみなされた。標識された Zn^{2+} の吸収量は、*in vivo*全身ガンマカウンタを用いて投与後5~14日の期間に行った測定の結果から算出した。吸収率は、 $\text{Zn}_5(\text{OH})_8\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ で40%、 ZnCl_2 で45%、 ZnCO_3 で48%と算出された(Galvez- Morros *et al.*, 1992)。

ヒトにおける試験

ヒトにおいて測定された吸収率には大きなばらつきがあり(8~80%)、これは摂取された食物の量や種類が様々であったためと思われる(Hunt *et al.*, 1991(*r*); Reinhold *et al.*, 1991(*r*); Sandstrom and Sandberg, 1992(*r*))。栄養的に適切な水準の Zn^{2+} を摂取しているヒトは、食事で摂取される全ての Zn^{2+} のうち約20~30%を吸収する。亜鉛が欠乏しているヒトは、摂取した Zn^{2+} をより高率で吸収し(Johnson *et al.*, 1988(*r*); Spencer *et al.*, 1985(*r*))、過剰量の亜鉛を摂取しているヒトは、胃腸管からの吸収は少なくなることがある(Babcock *et al.*, 1982)。

胃腸管における Zn^{2+} の吸収は、小腸全体にわたって起こるが十二指腸において最も高率で、

総吸収率は濃度依存性を示すと考えられる (Lee *et al.*, 1989(r))。

腸における Zn^{2+} の吸収には、受動拡散による過程と担体による過程の両方が関わっている (Tacnet *et al.*, 1990(r))。亜鉛濃度が低い場合には、システインを多く含む腸管タンパク質 (CRIP) が担体として関与している。このタンパク質は、腸管腔から腸管細胞に入ってくる Zn^{2+} に結合するが、この過程は飽和性を示すと思われる。亜鉛濃度が高い場合には、金属結合性タンパク質であるメタロチオネイン (やはりシステインを多く含む) が関与していると考えられる (Gunshin *et al.*, 1991(r); Hempe and Cousins, 1992(r); Sturniolo *et al.*, 1991(r))。亜鉛陽イオンは、腸管の粘膜細胞におけるメタロチオネインの生成を誘発することがある (Richards and Cousins, 1975(r))。

Payton *et al.* (1982) は、5 人ずつの成人ボランティアからなる 6 群に $^{65}ZnCl_2$ を単回経口投与し、全身ラジオグラフィによる計測値と糞便排泄データを比較することにより、腸における吸収率を測定した。被験者は、投与に先立って一晩絶食した。亜鉛換算の用量が 18、45 ないしは $90\mu\text{mol}$ (約 1.2、2.9 ないしは 5.8 mg) の場合、投与された $^{65}ZnCl_2$ のうち、約 55% が吸収された。吸収率は用量の増加とともに減少し、亜鉛吸収が飽和性を示すことが裏付けられた。亜鉛換算の用量が 180、450 ないしは $900\mu\text{mol}$ (約 11.6、29 ないしは 58 mg) の場合、投与された ^{65}Zn のそれぞれ 51、40 ないしは 25% しか吸収されなかった。様々な消化管疾患を有する 15 人のボランティアを対象に行われた追加試験からは、亜鉛の吸収が主として腸管の近位部で起こることが示された。

この試験の結果から、摂取量が 10 倍異なる健康なヒトの間では、吸収量が最大で 2 倍異なってくる可能性があることが示された。

味覚と嗅覚障害の患者 50 人に ^{65}Zn が経口投与され、その吸収が調べられている。この試験は、3 段階で行われた。試験に先立って、10 人の患者を代謝病室に収容し、8~13 mg の亜鉛を含む一定の食事を与え続けた。第 1 段階では、全ての患者が、一晩の絶食の後に、 $ZnCl_2$ のかたちで 3~18 μCi の ^{65}Zn (亜鉛として約 0.4~1.2 ng) を単回経口投与され、その後 21 日間観察された。第 2 段階は 21 日後に始まり、290~440 (平均 336) 日間続けられた。この段階では、50 人の患者全てがプラセボの投与を受けた。追加の亜鉛摂取がその前に保持された放射活性の排泄に及ぼす影響を調べるために、試験の第 3 段階として、14 人の患者にプラセボを投与し続け、36 名の患者には、 $ZnSO_4$ (亜鉛として 100 mg/日) を 112~440 (平均 307) 日間投与した。第 2 および 3 段階は、 ^{65}Zn の保持に対する亜鉛の追加摂取の影響を調べる比較臨床試験であった。第 2 および 3 段階の結果は、4.1.2.2.4 項に記載した。

総体内保持量および血漿ならびに赤血球中の放射活性が、試験期間中、全ての患者について測定された。入院した 10 人の患者については、投与された放射活性の約 55% が吸収され

たと推算された。50人の患者全体では、吸収率は約60%であった(Aamodt *et al.*, 1982)。

備考：試験報告書では、放射活性が純粋な放射活性塩化亜鉛として投与されたのか、それとも非標識塩化亜鉛で希釈して投与されたのかが不明である。著者は、ナノグラム単位の亜鉛として⁶⁵Znの用量を表す際に、「患者は担体を含まない3~18 μCiの⁶⁵Znを投与された」と述べており、このことから、投与された亜鉛は事実上全て⁶⁵Znであったと考えられる。

溶解性の酢酸亜鉛、硫酸亜鉛、アミノ亜鉛、亜鉛メチオニンおよび不溶性の酸化亜鉛から生じる亜鉛の吸収性が、10人のボランティアを対象に調べられている。これらの被験者は、様々な亜鉛化合物を、50 mg (Zn)の用量で、2週間の間隔を開けて経口投与された。様々な亜鉛化合物由来の亜鉛の生物学的利用能が、血漿亜鉛濃度および血漿亜鉛濃度曲線下面積(AUC)に基づいて比較検討された。どの亜鉛化合物でも、血漿中最高濃度は約2.5時間後に現れた。しかし、最高血中亜鉛濃度は、酢酸亜鉛と硫酸亜鉛ではそれぞれ221 および225 μg/dLであったのに対し、酸化亜鉛では159 μg/dLに過ぎなかった。AUCの値を各亜鉛化合物で比較した場合、酸化亜鉛の生物学的利用能は、溶解性亜鉛化合物の生物学的利用能の約60%であると考えられた。生物学的利用能の絶対値に関する情報は得られなかった(Prasad *et al.*, 1993)。

Nève *et al.* (1991)は、10人の成年男子に、ゼラチンカプセルに入れた硫酸亜鉛を45 mg (Zn²⁺)の用量で単回投与し、その際の吸収半減期が0.4時間であったことを報告している。総観察期間の8時間以内に、頻りに血清中濃度が測定された。血清中のZn²⁺の最高濃度は、2.3時間(t_{max})後に現れ、平均で8.2 μmol/Lであった。腸内再循環の徴候が認められ、最初の再上昇が、t_{max}より前の吸収相の期間中である1.4時間後に現れた。また、平均再吸収率は、投与された容量の70%であった。その後の再上昇(最高5回)は、再吸収量の減少を伴って、1.2時間の規則的な間隔で現れる様であった。

胃腸管における亜鉛陽イオンの吸収に影響する因子には、配位子の存在が挙げられる[例えば、Zn²⁺の吸収減少は、大豆たんぱく質やフィチン酸塩などの植物性タンパク質を摂取すること(Sandstrom and Sandberg, 1992(r))、アルコールを摂取すること(Antonson and Vanderhoff, 1983(r))、EDTAを使用すること(Solomons *et al.*, 1979(r); Spencer *et al.*, 1966(r))、または食事から他の原子を微量摂取すること(Solomons, 1988(r))により生じる可能性がある]。また、体における亜鉛の状態、上皮を介した内因性亜鉛の腸管腔への分泌、胆汁や膵液の分泌、および細胞内輸送も、胃腸管におけるZn²⁺の吸収に影響を与える(Cunnane, 1988(r); Flanagan *et al.*, 1983(r))。亜鉛が微絨毛の粘膜表面に運ばれたりそこを通過したりする際のメカニズムについては、まだ明らかにされていない(Cousins, 1989(r))。

吸入曝露

動物試験

吸入による亜鉛陽イオンの吸収速度や吸収率についてはデータが得られていないが、肺における Zn^{2+} の保持に関する試験の情報が何件か得られている。

Pistorius *et al.* (1976) は、雌雄のラットを 15 mg/m^3 の濃度の酸化亜鉛の粉塵(粒子径 $1 \mu\text{m}$ 未満)に、1日4時間、週5日で、1日または2、4ないしは8週間曝露した。最終曝露処置の後、被験動物を屠殺し、肺、肝臓、腎臓、脛骨および大腿骨における亜鉛含量を測定した。曝露が1日の場合、雌雄のラットの肺における亜鉛含量は、それぞれ約46および49 μg であった。肺、肝臓、腎臓および骨における組織中亜鉛含量には、試験期間中わずかな差しか認められなかった。被験物質を投与されないラットにおける組織中亜鉛濃度が調べられていないため、組織中の亜鉛が試験における処置に由来したものか食餌に由来したものかについては不明である。しかし、肺における亜鉛濃度が試験期間を通じて上昇しなかったことから、肺における蓄積は非常にわずかであり、また肺からの排泄が非常に高率であることが予想される。

酸化亜鉛のエアロゾルに、 4.3 mg/m^3 (ラット)、 6.0 mg/m^3 (ウサギ)ないしは 11.3 mg/m^3 (モルモット)の濃度で2~3時間曝露した場合、肺における保持率は、11.5% (ラット)、4.7% (ウサギ)および19.8% (モルモット)であった。この試験で使われたエアロゾルの質量中央値は、 $0.17 \mu\text{m}$ と非常に小さかった (Gordon *et al.*, 1992)。

雄の Wistar ラット(各群3匹ずつ)を用いて経時的試験が行われている。被験動物の気管内に、0.4 mL の酸化亜鉛懸濁液(酸化亜鉛の粒子径は $2 \mu\text{m}$ 未満だったが、10~20個で集塊を形成していたようである)が、単回滴下投与された。この用量は、ラット1匹当たり、100 μg (Zn^{2+})に相当していた。ラットは投与後1/3、1、2、3、5、7、14および21日に屠殺された。また、雄の Wistar ラット(各群3匹ずつ)を用いて用量-反応試験が行われている。被験動物の肺に、0.4 mL の酸化亜鉛懸濁液(酸化亜鉛の粒子径は $2 \mu\text{m}$ 未満だったが、10~20個で集塊を形成していたようである)が、ラット1匹当たり20、50、100、200、500ないしは1,000 μg (Zn^{2+})の用量で、滴下投与された。ラットは2日後に屠殺された。これらのいずれの試験においても、対照群が設けられている。

経時的試験においては、肺の湿重量の有意な増加が滴下投与の1日後から認められ、その増加は試験期間を通して維持された。気管支肺胞洗浄液(BALF)中には、ごくわずかな量の亜鉛しか回収されなかった。5日後には、外因性の亜鉛は検出不可能であった。肺に滴下投与された酸化亜鉛の半減期は、14時間と算出された。

用量-反応試験においては、肺の湿重量は、酸化亜鉛の滴下投与の2日後から増加した。この試験の結果から、ラットの肺は、ラット1匹当たり 50 μg (Zn^{2+}) までの酸化亜鉛粒子を、2日以内に排除できることが示された。ラット1匹当たり 1,000 μg (Zn^{2+}) が投与された場合であっても、肝臓や腎臓に亜鉛の蓄積は認められなかった (Hirano *et al.*, 1989)。

Oberdörster *et al.* (1980) の試験では、雄の Wistar ラット (各群 8 匹ずつ) を 12.8 mg/m^3 の酸化亜鉛のエアロゾル (空気動学的平均粒径 1 μm) に 17 時間曝露し、0、2、4、8 および 24 時間後に、肺における酸化亜鉛エアロゾルの除去率を測定した。酸化亜鉛エアロゾルは、微細化した酢酸亜鉛のエアロゾルを 500°C で熱分解することにより生成させた。清浄な空气中に置いた別の 8 匹のラットを対照群とした。被験動物の肺と気管を取り出し、それらの亜鉛含量を蛍光光度法により測定した。対照群と比較すると、曝露されたラットの肺重量は (おそらく水腫のため) 増加し、この増加は、8 時間の時点で有意であり、24 時間の時点ではさらに顕著になっていた。気管の亜鉛含量は一律ではなかったが、24 時間後の時点を除き、対照群よりも多かった。肺の亜鉛含量は、単一指数関数的に減少し、24 時間後の時点では、負荷量の約 7% となっていた。この試験では、肺の亜鉛含量についての半減期は 6.3 時間と短いことが明らかとされており、これに基づくと、不活性な Fe_2O_3 の肺胞からの排泄半減期が約 34 時間であることから、被験物質粒子の迅速な分解が起きているはずである。亜鉛の肺からの排泄が肺の病理学的状況によって影響を受けるかどうかは不明である。

ヒトにおける試験

酸化亜鉛の煙に職業的に曝露されたヒトにおいて、血中および尿中の亜鉛濃度の上昇がみられた (Hamdi *et al.*, 1969; Trevisan *et al.*, 1982(r)) ことから、肺である程度の吸収があることが示唆されるが、ヒトにおいては定量的なデータが得られていない。

その他

3 つの異なる業種における、亜鉛エアロゾルの粒子径分布データが得られている。それらの業種は、亜鉛メッキ業 (3 施設、1 施設当たり 4 試料)、黄銅鋳物製造業 (2 施設、それぞれ 3 および 4 試料)、および酸化亜鉛製造業 (1 施設、10 試料) である。測定には携帯型の多段式インパクターが用いられ、ふるい分け粒子径は 0.52、0.93、1.55、3.5、6.0 および 21.3 μm に設定された。最後のフィルターの孔径は、0.3 μm であった (Groat *et al.*, 1999)。得られたデータを、多経路粒子付着モデル (Multiple Path Particle Deposition Model; MPPDep version V1.11; Freijer *et al.*, 1999) に入力し、以下の条件を用いて、労働者の気道 (頭部、気管気管支および肺領域) への付着量を推算した。

- ヒトと同じ五葉からなる肺モデルを用いる

- 酸化亜鉛製造業の 10 試料の平均粒子径分布〔空気動学的質量中央値(MMAD) 15.2 μm 、幾何標準偏差(GSD)4.0〕から、多分散粒子分布(粒子径が多岐にわたる分布)を想定する。総多分散分布にこの MMAD と GSD を用いることは、個々人のインパクター測定段階(所定のふるい分け粒子径による)における多分散粒子を単分散粒子として取り扱う上で好ましい。また、MPPDep モデルの最大粒子径(20 μm)が多段式インパクターの最大ふるい分け粒子径(21.3 μm)よりも小さいことから、そのような MMAD と GSD の使用が好ましい。
- 口呼吸と口鼻呼吸(呼吸増高)の両モードを想定するが、鼻呼吸モードは想定しない。鼻呼吸モードは、以下の理由から過小評価を生じると考えられる。1) 多くの人、彼らの活動に関係なく、口鼻呼吸もしくは口呼吸を行っている。2) 風邪をひいている人は、通常鼻呼吸を行わない。3) 激しい運動時には、短い周期の深い口呼吸が行われ、その結果、肺の奥への付着が増高する。
- 口鼻呼吸による呼吸増高に関連して吸入性を補正する必要が生じる可能性を考慮に入れる。吸入性は、エアロゾル中の、エアロゾルが吸入される際に鼻や口から入り込むことができる粒子の画分の割合と定義される。吸入性は、呼吸性とは異なることに留意しなくてはならない。前者は、粒子が気道の内部に入れられた後、付着することに関連する用語である。「吸入性の補正」が「無し」の場合、演算は、気流が鼻腔の入り口の方向に沿ったものであるという仮定によって始められる。しかし、実際は、気流は曲がって鼻に入るため、このような事はないであろう。このような仮定に基づくと、粒子径が大きくなればなるほど損失が大きくなる。Ménache *et al.* (1995)は、曝露濃度と気道の入り口における濃度との関係を、実験動物とヒトについて記載している。
- 8 時間の交代制勤務における呼吸量の規定値である 10 m^3 に対応した 1 回呼吸量と呼吸数を想定する(それぞれ 1,100 mL および 20 回/分)。この呼吸量は、中等度あるいは激しい運動・活動の場合よりも、軽い運動・活動が行われている場合によりよく当てはまり(EPA, 1997)、亜鉛業界の労働ではそのような軽い活動がなされているものと予測される(4.1.1.2 節参照)。したがって、中等度の運動・活動における 40 L/分という呼吸量(EPA, 1997)に基づいて、8 時間の交代制勤務における呼吸量の 19 m^3 に対応する、規定値でない 1 回呼吸量と呼吸数(それぞれ 1,700 mL および 23 回/分)も考慮に入れられる。口鼻呼吸をしていて通常呼吸増高のあるヒトでは、1 分間呼吸量が 35.3 L 未満の場合、呼吸は鼻を介してのみ行われており、一方、1 分間呼吸量が 35.3 mL 以上の場合、鼻と口を合わせて呼吸が行われていることに留意しなくてはならない。口呼吸を行うヒトでは、1 分間呼吸量がどのような値であっても、呼吸は常に口を介してのみ行われている。

MPPDep モデル化の結果を Table 4.9 に示す。MPPDep モデル化では、付着のみが対象とさ

れており、排泄や保持は考慮に入れられていないことに留意されたい。

Table 4.9 Deposition fractions for oral breathers and for oronasal augmenters, using a polydisperse particle distribution (MMAD 15.2 μm , GSD 4. 0).

	Inhalability	Tidal volume (ml)	Breaths / min	Deposition region			
				Head	Tracheo-bronchial	Pulmonary	Total
Oral	off	1,100	20	0.638	0.071	0.139	0.848
		1,700	23	0.676	0.100	0.101	0.877
Oronasal	off	1,100	20	0.927	0.011	0.021	0.960
		1,700	23	0.804	0.064	0.064	0.932
Oronasal	on	1,100	20	0.519	0.011	0.021	0.551
		1,700	23	0.585	0.063	0.064	0.713

Table 4.9 を見ると、口呼吸のヒトでも口鼻呼吸のヒトでも、付着の大半は、呼吸量に関係なく頭部で起こっていることが判る。吸入性の補正を「有り」にした場合、頭部での付着は幾分減少する。ただし、以下のことに留意が必要である。上述したように、粒子の吸入性に関する補正は、Ménache *et al.* (1995) が導出した関係性にに基づいている。ヒトに関しては、この関係性は、健康な成人ボランティア 4 人だけを対象とした試験に基づいている。したがって、この試験だけでは、この補正が全ての対象者および全ての状況(子供、老人、運動や活動時など)に適切であると結論付けるには、根拠として乏し過ぎる。そのため、最悪の事態を想定するには、吸入性の補正を無しにして付着を予測する方が正当である。これ以降、吸入性の補正を「有り」にした状況は考慮しない。

付着した粒子が吸収されるかなどは、気道の各部位ごとに異なる排除機構によって決まる。頭部では、ほとんどの物質が、排出機構(口呼吸の場合は当てはまらない)か胃腸管への移動のいずれかにより、速やかに排除される。粒径が小さい画分はより長く保持され、局所での直接的な吸収が起こり得る。気管気管支領域でもほぼ同様で、付着した物質の大部分は咽頭へと排除(粘液線毛除去機構による。半減期 100 分)された後、胃腸管へ運ばれるため、わずかな画分しかその場に保持されないと考えられる(ICRP, 1994)。吸収率が高くなり得るのは、頭部や気管気管支領域よりも、肺領域であると考えられる。

一旦胃腸管へ運ばれてしまうと、吸収は、経口吸収動態に従うことになる。したがって、頭部や気管気管支領域に付着した物質の内、胃腸管へと排除された画分については、経口吸収の数値(水溶性亜鉛化合物では 20%、難/不溶性亜鉛化合物では 12%、4.1.2.2.6 項参照)が考慮される。しかし、胃腸管へと排除される画分がどのくらいで、気道の様々な部分で局所的に吸収される画分がどのくらいであるのかを推算するためのデータは、亜鉛では得られていない。ただし後者については、放射線核種でのデータがいくつか得られている。放射線核種の溶液または懸濁液を小容量(ラットで 2~3 μL 、ハムスターで 10 μL 、イヌで 0.3

mL)気道の各部位へ滴下投与した場合の保持量と血中への吸収量が測定されている。溶解性が高い化学種(クエン酸塩や硝酸塩など)の吸収率は、鼻咽頭部で 4.8~17.6%、気管気管支領域で 12.5~48%、肺領域では最高 100%であることが示されている。溶解性が低い化学種(すなわち酸化物)では、鼻咽頭部や気管気管支領域における保持や吸収は、無視できる量である(ICRP, 1994)。放射性核種の様々な亜鉛化合物の溶解性を水溶性の亜鉛化合物の溶解性と比較したデータは得られていない。放射性核種における数値が通常の亜鉛化合物にどの程度当てはまるかは良く判っていないが、水溶性亜鉛化合物の局所的吸収に関して得られた上限値(すなわち、頭部で 20%、気管気管支領域で 50%、肺領域で 100%)を適用すると、おそらく最悪の状況を考慮することになると考えられる。難/不溶性亜鉛化合物については、頭部および気管気管支領域での吸収は無視できるが、肺領域での吸収は 100%とみなすと、おそらく安全であると考えられる。この想定は、Oberdörster *et al.*(1980)の試験における知見、すなわち、直径 1 μm の酸化亜鉛粒子の肺深部における溶解半減期が約 6 時間であったという知見によって支持される。胃腸管への排除が分の枠内(頭部や気管気管支領域からは 10~100 分)で起きていることから、これらの領域での溶解は考慮しなくても良いと考えられる。また、これらの領域ではほとんどの粒子が 1 μm を超える直径を有していると考えられることから、粒子の溶解半減期はさらに長いことが予想される。

上述の情報に基づくと、吸入の場合の吸収は、以下の様なものと想定される。

	Soluble zinc compounds (chloride and sulphate)	Less soluble/insoluble zinc compounds (metal, oxide, phosphate, distearate)
Fraction absorbed in airway region	20% head 50% tracheobronchial 100% pulmonary	0% head 0% tracheobronchial 100% pulmonary
Fraction cleared to g.i. tract, followed by oral uptake kinetics	80% head.20% 50% tracheobronchial.20% 0% pulmonary	100% head.12% 100% tracheobronchial.12% 0% pulmonary

これらの想定を Table 4.9 に示した各付着画分に適用すると、Table 4.10 に示す結果が得られる。

Table 4.10 Estimation of inhalation absorption percentage for soluble zinc compounds and for less soluble/insoluble zinc compounds

	Inhalability	Tidal volume (ml)	Breaths / min	Soluble zinc compounds (chloride and sulphate)	Less soluble/insoluble zinc compounds (metal, oxide, phosphate, distearate)
Oral	off	1,100	20	41.1	22.4
		1,700	23	40.4	19.4
Oronasal	off	1,100	20	36.1	13.4
		1,700	23	39.2	16.8

水溶性亜鉛化合物(塩化亜鉛および硫酸亜鉛)の吸入による吸収率は最高 40%であり、難/不溶性亜鉛化合物(金属亜鉛、酸化亜鉛、リン酸亜鉛およびジステアリン酸亜鉛)の吸入による吸収率は最高 20%である。これらの数値により、亜鉛業界の様々な職種間に存在する、運動・活動(呼吸量)および粒子径分布に関する相違を網羅できると考えられることから、以降これらを、合理的に想定される最悪の場合の数値として、リスク評価に適用することとする。

経皮曝露

動物試験

Skog and Wahlberg (1964)は、モルモットの背部の皮膚からの $^{65}\text{ZnCl}_2$ の吸収を、 $^{65}\text{ZnCl}_2$ によって放出される放射活性の減衰を経時的に測定して推算した。試験では、0.8~4.87 M(pH 1.8-6.1)の範囲の各濃度につき、少なくとも 10 回の試行が行われた。5 時間後までの放射活性の損失は、最低 pH での試行を除き、1%未満であると思われた。最低 pH の場合は、1~2%であった。この試験は詳細な記載が乏しく、リスク評価に用いることができない。

酸化亜鉛、ジンクピリチオン、硫酸亜鉛ないしはウンデンレン酸亜鉛($^{65}\text{Zn}^{2+}$ 1 モルにつき 131 μCi)を、ウサギの背中の中毛剃った皮膚に局所適用した試験が行われている。いずれの場合も、5 μCi の $^{65}\text{Zn}^{2+}$ を含む亜鉛化合物が 2.5 mg 適用された。2羽の被験動物に対し、背骨の左側の4箇所には1回、右側の4箇所には2回、塗布が行われた。2回目の塗布は、1回目の塗布の24時間後に行われた。被験動物は、2回目の塗布の6時間後および24時間後に屠殺された。別の1羽のウサギを対照動物とした。

4種類の亜鉛化合物で、皮膚における $^{65}\text{Zn}^{2+}$ の量や局在部位に有意差は認められなかった。毛幹の皮質や角質領域に $^{65}\text{Zn}^{2+}$ が高濃度で認められ、最も高濃度であったのは、角質形成領域であった。 $^{65}\text{Zn}^{2+}$ の蓄積は、表皮では非常にわずかであったが、皮下筋層では多量であった。脂溶性/水溶性、pH および分子量が違っていても、亜鉛化合物の吸収率や濃度には違いが見られず、 $^{65}\text{Zn}^{2+}$ が主に毛幹や毛包に多量に局在したため、皮膚における $^{65}\text{Zn}^{2+}$ 吸収の主要な機序として、毛包からの拡散が考えられる。Kapur *et al.* (1974)は、この知見について、化合物の組成の違いは、 $^{65}\text{Zn}^{2+}$ の皮膚からの吸収にとって重要な要素ではないことを明示するものであると述べている。全身的吸収については、データが示されていない。

雄の Sprague-Dawley ラットの剃毛した無傷の皮膚に、 ^{65}Zn 標識化した塩化亜鉛ないしは酸化亜鉛の調製物を適用することにより、それらの化合物に由来する $^{65}\text{Zn}^{2+}$ の経皮吸収が調べられている(Hallmans and Lidén, 1979)。屠体、肝臓、胃腸管、皮膚および被覆材中の ^{65}Zn 活性に対する屠体、肝臓および胃腸管の ^{65}Zn 活性の割合が亜鉛吸収率とされ、その値は 1.6

～6.1%と報告されている。高い吸収率(3.6～6.1%)は、塩化亜鉛の酸性溶液(pH = 1)を塗布した場合に得られていることに留意すべきである。それより酸性度が低い塩化亜鉛溶液もしくは酸化亜鉛溶液の場合は、皮膚吸収率は2%未満であった。この試験では、皮膚を除く体内への吸収のみが測定されている。pH 1の塩化亜鉛溶液が皮膚の健全性に及ぼす影響に関しては、データが示されていない。

妊娠した Sprague-Dawley ラットに、24 時間亜鉛非含有飼料を与えた後、油を媒体として塩化亜鉛を局所適用した試験が行われている。血漿中の亜鉛陽イオン濃度が測定されたが、値は正常範囲もしくはそれよりわずかに高いものであった(Keen and Hurley, 1977)。吸収率が測定されていないため、皮膚吸収はあるかも知れないと言えるが、定量的に論じることができない。

Agren *et al.* (1991)は、ラットに皮膚全層を取り除いた傷口を設け、酸化亜鉛の被覆物(1 cm² 当たり Zn²⁺を 250 µg 含有)もしくは硫酸亜鉛の被覆物(1 cm² 当たり Zn²⁺を 66 µg 含有)を 48 時間適用した。各傷口に運ばれた Zn²⁺の割合は、酸化亜鉛の場合は、12%であり、硫酸亜鉛の場合は 65%であった。これらのデータから、酸化亜鉛を適用した場合には、酸化亜鉛の分解速度が遅いため、Zn²⁺が持続的に運ばれて、傷を設けた組織での Zn²⁺濃度が一定に保たれるのに対して、水溶性の高い硫酸亜鉛の場合は、Zn²⁺がより速やかに傷口の体液へ運ばれ、血中へも速やかに移行することが示唆された。

ヒトにおける試験

亜鉛(陽イオン)が無傷の皮膚を介して吸収され得ることを示す定量的データは、得られていない。しかし、損傷あるいは熱傷を負った皮膚を介する吸収が起こることは報告されている(EHC, 1996)。

2 度から 3 度の熱傷を負い、粘着性の包帯(乾重量 100 g 中酸化亜鉛を約 7.5 g 含有)で手当てを受けた 8 人の患者において、血清 Zn²⁺濃度の上昇が認められている。最高濃度(最高値 28.3 µmol/L)は、包帯が施されている期間の 3～18 日以内に認められた。熱傷を負った患者におけるこの調査に基づいて、無傷の皮膚を介した吸収を論じることができないことに注意が必要である(Hallmans, 1977)。

Derry *et al.* (1983)は、健康な人および試験開始前の少なくとも 3 日間、非経口栄養剤(TPN)を供給されていた患者を対象として、酸化亜鉛の 40%軟膏(ワセリンを基剤とする)を局所適用した場合の全身吸収を検討した。TPN は、亜鉛欠乏(1 週間で平均 6.6 µg/dL 減少)を引き起こし、亜鉛を補給しないで長期間投与した場合、血清亜鉛濃度が大幅に減少することが知られている。

健康なボランティア:交差対照試験(1週間の間隔をおいて別々の2日に実施)の手法により、6人の健康な被験者の胸部、大腿部および下腿部に、100gの40%酸化亜鉛軟膏もしくは60gの対照軟膏(100%ワセリン基剤)を、3時間局所適用した(適用した皮膚の面積や閉塞条件は不明)。各被験者は、適用開始前の12時間、絶食状態とされた(水のみ随時摂取)。適用開始からの試験期間中は、飲水飲食とも禁じられた。局所適用前の12時間の絶食後、ならびに適用開始の1、2および3時間後に、血液試料が採取された(局所適用前の数値が基準値とされた)。これらの時点における血清 Zn^{2+} 濃度の平均値は、亜鉛軟膏の適用を受けた人で107.3、116.1、105.3および112.6 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、対照軟膏の適用を受けた人で115.2、103.5、105.5および110.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であった。血清亜鉛濃度の正常範囲は、68~136 $\mu\text{g}/\text{dL}$ と考えられた。被験者6人中4人の血清亜鉛濃度が、基準値を超える増加を示した。その4人のうち3人は、1時間後に最も顕著な上昇を示した。被験者6人中2人では、適用期間を通じて上昇は認められなかった。結局、適用開始1時間後の時点で、基準値を平均8.8 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 超過する Zn^{2+} の増加が認められた。この値は、血清亜鉛濃度の8.2%増加を意味するが、統計学的に有意な増加ではなかった。

患者:6人の患者の大腿部(10.15 cm)に、15gの40%酸化亜鉛軟膏が、1日1回、連続8日間局所塗布された(閉塞適用)。局所適用開始前、4、6および8日後(それぞれの日の塗布処置直前)ならびに10日後に、血液試料が採取された(局所適用開始前の数値が基準値とされた)。患者における平均基準値(88.6 $\mu\text{g}/\text{dL}$)には、健康な被験者における平均基準値と比べて有意差が認められた。試験を最後まで終えた3人の患者における平均亜鉛濃度は、試験期間の10日間を通じて比較的安定した推移(78~93 $\mu\text{g}/\text{dL}$)を示した。

40%酸化亜鉛軟膏は、健康な被験者に3時間局所適用された場合でも、TPNの投与を受けていた患者に10日間適用された場合でも、血清亜鉛濃度の有意な上昇を引き起こすことはなかったと結論付けられる。

備考:著者は、局所適用の場合、亜鉛は局所的に吸収されて、正常な血清亜鉛濃度を有する被験者では、迅速な全身的吸収の経路としては比較的に利用されにくい毛包に貯蔵されると論じている。低亜鉛血症の被験者では、そうした貯蔵部位からの吸収が、血清亜鉛濃度の低下を抑止するのに十分な速度で起こる。著者は、健康な被験者における試料採取が3時間後までであったことについて、まとまった量がそうした貯蔵部位から全身的に吸収されるには、時間が足りなかったかも知れないと述べているが、これはその通りである。

10人の健康なボランティアの前腕部に、酸化亜鉛が介在する閉塞包帯(25% w/w; 4×5 cm)を48時間適用したところ、正常な皮膚への亜鉛の平均放出速度が、約5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時}$ と測定された。他の5人のボランティアに酸化亜鉛包帯を48時間適用したところ、表皮や蓄えられた水疱液中(経皮吸収のモデルの1つである吸引水疱を形成させた)の亜鉛含量が有意に増

加した。ただし、亜鉛の透過は水泡が形成されている時期に亢進しており、防御機能の損傷が示唆されることに留意するべきである (Agren, 1990)。

Agren (1991) は、別の試験において、5 人のボランティアに、異なる組成の酸化亜鉛被覆物 (親水コロイド基剤もしくはガムロジン基剤) を閉塞適用した。48 時間後、適用部の皮膚を吸引して水泡を誘発させ、水泡中の Zn^{2+} 濃度を測定した。さらに、角質層 (テープ剥がし法で 10 回連続採取) の Zn^{2+} 濃度も測定した。この試験で示されたデータからは、吸収量を判定することはできなかったが、 Zn^{2+} の透過に関しては、基剤が重要な因子となると思われた。

In vitro 試験

Pirot *et al.* (1996a) は、ヒトの腹部の皮膚を用い、2-ピロリドン-5-カルボン酸亜鉛、酸化亜鉛および硫酸亜鉛の様々な組成物 (乳剤 3 種と軟膏 2 種) について、皮膚吸収性を検討した (各組成物の Zn^{2+} 含量は 0.02~5.62%、適用量は 16 mg/cm^2)。レセプター液としては、0.9% 食塩溶液が用いられた。適用開始の 72 時間後、皮膚を洗浄し、剥がし処置による試料採取を 2 回行った。経皮吸収の割合を、適用用量に対するレセプター液に認められた量の割合と、皮膚における生物学的利用性から判定した。経皮吸収率は、2% を超えることはなかった。酸化亜鉛を含む軟膏と硫酸亜鉛を含む軟膏からの亜鉛の吸収率は、それぞれ 0.36% および 0.34% であった。2-ピロリドン-5-カルボン酸亜鉛を含む乳剤からの亜鉛の吸収は、適用用量の 1.60% であった。やはりこの試験でも、吸収に対して基剤が影響することが示された。

Pirot *et al.* (1996b) はまた、ヒトの胸部ないしは腹部の皮膚を用い、ワセリンや親水性ゲルを基剤とした硫酸亜鉛や塩化亜鉛の組成物について、皮膚吸収性を検討した (適用量は 20 mg/cm^2)。レセプター液としては、等張食塩水が用いられた。適用開始の 72 時間後、皮膚を洗浄し、表皮を真皮から剥がし取った。その結果、使用された基剤に関わらず、組成物の吸収性は低いことが示された。

Pirot *et al.* (1996a, 1996b) の両試験で得られたデータを使用することには、以下の理由から制約がある。

- 皮膚膜の健全性が調べられていない。
- 皮膚を閉塞状態にしていたかどうか不明である。
- 最初の試験では、2 回の剥がし処理しか行われていないため、皮膚における生物学的利用性が過小評価されている恐れがある。
- 2 つ目の試験では、吸収率が真皮とレセプター液の値に基づいて求められており、表皮の値が考慮されていない。

業界では、代表的な2種類の亜鉛化合物(酸化亜鉛および硫酸亜鉛)の経皮吸収を *in vitro* で調べる試験に取り組んでいる(Grötsch, 1999)。この試験は、いずれも水を媒体とした、40 mg/mL の濃度の硫酸亜鉛一水和物の溶液ないしは酸化亜鉛の懸濁液を用い、ブタの皮膚における透過および吸収を *in vitro* で検討するものであった。皮膚試料は、改良された皮膚採取器を用い、厚さ1 mmの角質層、基底層および真皮の血管保有部位を計り取って調製した。

各化合物について、7つの皮膚試料を用い、独立した試行が2回行われている。皮膚試料は、テフロン製の流動拡散チャンバーに載せられ、生理学的レセプター溶液(試験用等級の水で作製した、抗生物質を含む0.9%食塩水)で、連続的にリンスされた。マーカー物質としてカフェインを用いて皮膚膜の健全性をチェックした後、各被験物質組成物を6つの皮膚試料1 mg/cm²の用量で非閉塞条件下で8時間適用し、その後試料を中性シャンプーで洗浄した。その0、2、4、6、8、16、24、40、48、64 および72時間後に、原子吸光分光高度分析(検出限界10 ng/mL)によりレセプター液中の亜鉛を定量して、皮膚透過量を測定した。各試行は72時間で終了した。さらに、皮膚試料中およびリンス液中の亜鉛も分析された。また、被験物質を適用しない対照チャンバーにおいて、ブランク値が測定された。結果をTable 4.11に要約した。

Table 4.11 Dermal absorption of Zn (% of dose) through pig skin *in vitro* within 72 hours ^{a)}

	ZnSO ₄	ZnO
Receptor fluid	0.3%	0.03%
Horny layer	1.3%	12.3%
Residual skin	0%	2.6%
Potentially absorbed dose	1.6%	14.9%

a) Corrected for background levels of zinc in receptor fluid and skin

両試行において、適用した亜鉛に対する回収された亜鉛の割合は、82~109.6%であった。使用されたレセプター液の分析結果、および亜鉛化合物を適用しなかった対照チャンバーでの分析結果から、レセプター液とブタの皮膚のいずれにも亜鉛が一定量内包されていたことが示された。したがって、レセプター液や皮膚のそれぞれの相に検出された亜鉛の量については、背景値を差し引く補正を行った。

著者は、亜鉛の皮膚透過率は、72時間後までにレセプター液に回収された蓄積量に基づいて、1%未満であったと述べている。しかし、皮膚に残っていた画分は、その後の段階で利用可能になる可能性があるため、吸収されたとみなされるべきである。したがって、本報告書作成者は、この *in vitro* 系における硫酸亜鉛一水和物溶液や酸化亜鉛懸濁液の経皮吸収率は、それぞれ1.6%および14.9%である可能性があると結論する。

4.1.2.2.2 分布

吸入曝露

データは得られていない。

経皮曝露

データは得られていない。

経口曝露

動物試験

Wistar ラットに 0.1 μCi の $^{65}\text{Zn}^{2+}$ を塩化亜鉛として単回経口投与した試験では、6 時間後、小腸に最も高い放射活性が認められた。続いて高い放射活性が認められたのは、腎臓、肝臓および大腸であった。肺や脾臓では、放射活性は低かった。投与 14 日後の時点では、最も高い放射活性は、被毛、精巣、肝臓および大腸に認められた (Kossakowski and Grosicki, 1983(r))。

別の 3 試験では、亜鉛濃度が高かった(新鮮重量 1 kg 当たり 20~60 mg)臓器は、肝臓、胃、腎臓、皮膚、肺、脳、心臓および膵臓であった (Bentley and Grubb, 1991(r); He *et al.*, 1991(r); Llobet *et al.*, 1988)。Bentley and Grubb (1991(r)) は、網膜や精液でも高濃度で検出されたと報告している。

ヒトにおける試験

Zn^{2+} は、胃腸管から吸収された後、血漿中で主としてアルブミンに結合して肝臓に輸送され、その後全身に運ばれる。血漿中亜鉛濃度の正常値は約 1 mg/L であり、ヒト(体重 70 kg)における総亜鉛含量は 1.5~2 g の範囲にある (ATSDR, 1994)。

亜鉛はあらゆる組織および組織液で検出され、200 を超える酵素系の補因子として働く。ヒトの体では、亜鉛は主として筋肉や骨に認められ、それぞれ全量の 60% および 30% を占める (Wastney *et al.*, 1986(r))。通常の状態下では、組織 1 kg 当たりの亜鉛濃度が最も高いのは、骨、毛髪および前立腺である (Cleven *et al.*, 1993)。

ヒトにおける亜鉛の分布は、ある程度年齢の影響を受ける様である。年齢とともに、肝臓、膵臓および前立腺における亜鉛濃度は増加し、子宮や大動脈における亜鉛濃度は減少する。

肝臓、腎臓および心臓における濃度は、40～50 歳頃に最大となり、その後減少していく。大動脈における濃度は、30 歳を超えると減少していく (Schroeder *et al.*, 1967(*r*))。

他の経路

雄の成獣 Wistar ラットに 15 μCi の $^{65}\text{Zn}^{2+}$ を (塩化亜鉛として) 腹腔内投与して、 $^{65}\text{Zn}^{2+}$ の組織分布が調べられている。亜鉛イオンの取り込みが最も多かったのは肝臓で、続いて腎臓、膵臓、脾臓、回腸、肺、骨、精巣、血液細胞および脳に多く取り込まれていた。脳における亜鉛イオンの取り込みについては追加データが得られており、それによると、血液脳関門における亜鉛陽イオンの透過はわずかしか起こらない (Pullen *et al.*, 1990(*r*))。

ウサギに ^{65}Zn で標識した塩化亜鉛を静脈注射した試験では、8 時間後の時点で最も放射活性が高かったのは肝臓、腸および腎臓であり、いずれの組織も総放射活性の 10% 以上を有していた (Lorber *et al.*, 1970(*r*))。

4.1.2.2.3 代謝

亜鉛は、溶液中に遊離陽イオンとして存在するよりも、主として有機配位子に結合して存在する (Gordon *et al.*, 1981)。亜鉛は、血液中では拡散型もしくは非拡散型として検出され、血中の拡散型亜鉛の約 66% は、自由に入れ換わることができ、アルブミンに緩く結合している (Cousins, 1985(*r*))。非拡散型亜鉛のうち少量は、血漿中の α_2 -マクログロブリンと緊密に結合しており、他の配位子の亜鉛と自由に入れ換わることはできない。亜鉛は、肝臓においてのみ、 α_2 -マクログロブリンに組み込まれたり、 α_2 -マクログロブリンから解離したりする (Henkin, 1974(*r*))。

4.1.2.2.4 排泄

吸入曝露

データは得られていない。

経皮曝露

データは得られていない。

経口曝露

動物試験

雄ラットに 86~130 μg の ^{65}Zn を塩化亜鉛、炭酸亜鉛または塩基性塩化亜鉛 ($\text{Zn}_5(\text{OH})_8\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) として単回経口投与した試験では、糞便、尿および全身 (*in vivo*) をガンマ線計測した結果、投与後 5~14 日の間に、吸収された ^{65}Zn の約 1.7% が体外に排泄されたと推定された。雄ラットに、1 kg 当たり 25 mg の炭酸亜鉛もしくは 100 mg の塩基性塩化亜鉛を含む飼料を 14 日与え、37 kBq の ^{65}Zn で標識した塩化亜鉛を皮下投与した試験では、その放射活性の約 1% が、投与後 5~14 日の間に排泄された (Galvez- Morros *et al.*, 1992)。

ヒトにおける試験

ヒトでは、糞便中の亜鉛は、吸収されなかった食物に由来するもの、および胆汁、膵液ならびに他の分泌物由来の内因性のものから構成される。摂取した亜鉛の約 70~80% が、糞便を介して排泄される (食物中の亜鉛濃度に応じて 5~10 mg/日) (Spencer *et al.*, 1976(r); Venugopal and Lucky, 1978; Reinhold *et al.*, 1991(r); Wastney *et al.*, 1986(r))。ヒトでは、摂取した亜鉛の 10% が尿から失われる (亜鉛の重量で 1 日当たり 200~600 μg)。尿への亜鉛の排泄は、亜鉛の状態の変化に対し、鋭敏に反応する様である (Babcock *et al.*, 1982; Aamodt *et al.*, 1982; 下記参照)。

主要でない亜鉛排泄経路は、唾液、脱毛、母乳および汗である。熱帯気候下では、一日に約 2~3 mg の Zn^{2+} が汗で失われる (Venugopal and Lucky, 1978; Rivlin, 1983(r); Prasad *et al.*, 1963(r); Rossowka and Nakamoto, 1992(r); Henkin *et al.*, 1975(r))。

亜鉛を過剰摂取していないヒトでは、吸収され体内に蓄積された放射性標識亜鉛の半減期は、162~500 日であった。 $^{65}\text{Zn}^{2+}$ が非経口投与された場合の半減期は、100~500 日の範囲であった (Elinder, 1986)。

Payton *et al.* (1982) は、6 人の健康な成人ボランティアに 92 μmol の ^{65}Zn を (塩化亜鉛として) 経口投与し、7~10 日後に体内に保持されている亜鉛の量を測定した。その結果、最初に吸収された亜鉛の約 10% が、投与後の最初の 10 日間の間に排泄されると判断された。他のボランティア 30 人に 18~900 μmol の ^{65}Zn を投与した場合には、投与後 10~60 日の期間の排泄データが、下記の様に得られた。

Dose group (μ moles; (mg))	Excretion rate (% of remaining Zn per day)	Biological half-live (days)
18 (1.2)	0.44	157
45 (2.9)	0.62	111
90 (5.8)	0.37	186
180 (11.6)	0.49	141
450 (29)	0.37	186
900 (58)	0.74 ^{a)}	93

a) Significantly different from the 18 μ moles group

18～450 μ mol の用量で投与された群では排泄率に差は見られなかったが、900 μ mol の用量で投与された群では、有意に排泄率が增高した。

嗅覚と味覚に障害を有する患者 50 人に、まず ^{65}Zn を経口投与し、その後経口による亜鉛の追加処置を施し、 ^{65}Zn がどのように排泄されるかが調べられている。この試験は、3 段階で行われた。第 1 段階では、全ての患者が、一晩の絶食の後に、塩化亜鉛により 3～18 μCi の ^{65}Zn (亜鉛として約 0.4～1.2 ng) を単回経口投与され、その後 21 日間観察された。第 2 段階は 21 日後に始まり、290～440 (平均 336) 日間続けられた。この段階では、50 人の患者全てがプラセボの投与を受けた。追加の亜鉛摂取がその前に保持された放射活性の排泄に及ぼす影響を調べるために、試験の第 3 段階として、14 名の患者にプラセボを投与し続け、36 名の患者には、硫酸亜鉛 (亜鉛として 100 mg/日) を 112～440 (平均 307) 日間投与した。第 2 および 3 段階は、前投与された ^{65}Zn の保持に対する亜鉛の追加摂取の影響を調べる比較臨床試験であった。第 1 段階の結果については、4.1.2.2.1 項に記載した。

総体内保持量および血漿ならびに赤血球中の放射活性が、試験期間中、全ての患者について測定された。吸収された放射活性の約 3 分の 1 が、約 19 日の半減期で体内から排泄され、投与後約 100 日以降は、吸収された放射活性の残余は、380 日という生物学的半減期で排泄された (試験の第 2 段階)。試験の第 3 段階の期間においては、硫酸亜鉛を投与された患者では、体内の総 ^{65}Zn 喪失速度が上昇し (半減期は約 230 日)、この半減期は、プラセボを投与された期間における半減期と有意に ($P > 0.001$) 相違していた。 ^{65}Zn の喪失速度の上昇は、大腿部ではすぐに顕著になり、一方肝臓では、平均で 107 日遅れて始まった。赤血球からの ^{65}Zn の平均喪失速度は、亜鉛の追加処置による顕著な影響を受けなかった (Aamodt *et al.*, 1982)。

備考：試験報告書では、放射活性が純粋な放射活性塩化亜鉛として投与されたのか、それとも非標識塩化亜鉛で希釈して投与されたのかが不明である。著者は、ナノグラム単位の亜鉛として ^{65}Zn の用量を表す際に、「患者は担体を含まない 3～18 μCi の ^{65}Zn を投与された」と述べており、このことから、投与された亜鉛は事実上全て ^{65}Zn であったと考えられる。

Aamodt *et al.*(1982)の試験(上述)の患者 10 人については、Babcock *et al.*(1982)により、 ^{65}Zn の動態がより詳しく調べられている。これらの患者は、 ^{65}Zn の単回経口投与を受ける前および受けた後の4~7日間、8~13 mg/日の亜鉛を含む所定の食事を摂取し、その後290~440(平均336)日間は制約のない食事を摂取し、その後の112~440(平均307)日間には、100 mg/日の非放射性亜鉛イオンを(硫酸亜鉛のかたちで)摂取した。これらの患者 10 人における動態学的パラメータは、全体として、他の患者における数値と同等であった(Aamodt *et al.*, 1982)。

著者はさらに、全身、血漿、赤血球、肝臓および大腿部における保持時間曲線データを提示しており、それらに基づいて多コンパートメント動態モデルが得られている。このモデル化分析により、Aamodt *et al.*(1982)による試験の第3段階で見られた亜鉛排泄の増高が、完全に、当該モデルの2つのパラメータが変化したことにより生じたと解釈できることが示されている。すなわち、胃腸管における吸収の減少(5分の1:試験開始時は43%であったが、患者が硫酸亜鉛を投与されている期間は9%となった)、および尿中排泄率の上昇(試験の第3段階において硫酸亜鉛が投与されている間は2倍)である。これらのパラメータの変化は、ミカエリス-メンテン型の飽和メカニズムで説明付けるのが適切であった。これらの変化は、亜鉛の摂取量が11倍に増加(すなわち約10 mg/日から約110 mg/日に増加)しているにもかかわらず、平均血漿亜鉛含量が前投与時より37%しか増加しなかったことにもつながっている(Babcock *et al.*, 1982)。

備考：このモデル化試験では、試験開始時における10人の患者の体内総亜鉛含量は、平均1.4 gと推算されている。Babcock *et al.*(1982)は、体内亜鉛含量の正常範囲は、2.1~2.5 gであることを示している。このことから、Babcock *et al.*(1982)の試験で被験者とされた患者は、体内総亜鉛含量がある程度欠乏していた可能性があり、この可能性は、Aamodt *et al.*(1982)の試験で被験者とされた患者にも当てはまるかも知れない。

4.1.2.2.5 恒常性

ある程度の範囲内であれば、哺乳類は、食物からの亜鉛摂取が低くなっても高くなっても、体内総亜鉛含量を一定に保つことができ、また、さまざまな組織における亜鉛濃度も生理的に要求される濃度に保つことができる。亜鉛代謝を制御する場面は、胃腸管からの Zn^{2+} の吸収、尿への亜鉛の排泄、赤血球での亜鉛交換、組織からの亜鉛放出、および胃腸管への亜鉛の分泌である。胃腸管からの吸収および胃腸管への分泌の制御が、亜鉛の恒常性にとっておそらく最も重要な役割を果たしている。全身の亜鉛の恒常性を保つ機構があるにもかかわらず、組織間での亜鉛のやり取りには制限があるため、生理学的要求を満たすためには、体外から定期的に亜鉛を補給することが必要である(Cleven *et al.*, 1993)。

Hempe and Cousins(1992(*r*))は、管腔細胞への Zn^{2+} の侵入にはシステインを多く含む腸管タンパク質(CRIP)が関与しており、それが細胞内で拡散性の亜鉛担体として働くこと、また亜鉛の内少量はメタロチオネインに結合すること、ただし管腔の Zn^{2+} 濃度が上昇すると、CRIP と会合する細胞質性 Zn^{2+} の割合が減少し、メタロチオネインに結合する Zn^{2+} が増加すること、を仮説として述べている。亜鉛濃度が低い場合、ラットの小腸の細胞に侵入した放射活性 Zn^{2+} の 40% が CRIP と結合していたが、亜鉛濃度が高い場合、その割合は 14% に過ぎなかった(Hempe and Cousins, 1992(*r*))。

亜鉛は、摂取されるとまず肝臓に集められ、その後全身に広く分布する。血漿亜鉛濃度が高い場合、肝臓におけるメタロチオネインの合成が刺激され、それにより肝細胞による亜鉛の保持が促される(Richards and Cousins, 1975(*r*))。

4.1.2.2.6 トキシコキネティクス、代謝および分布の結論

酸化亜鉛のトキシコキネティクスに関するデータがある程度得られている。他の亜鉛化合物についてのデータも使用される。これは、全ての亜鉛化合物(金属亜鉛を含む)が、摂取されるとイオン化学種に(少なくとも一部は)転換され、それで生じた亜鉛陽イオンが、元の亜鉛化合物の生物学的活性を決定する要因となっているという、基本的な仮定に基づいている。

ある程度の範囲内であれば、食物からの亜鉛摂取が低くなっても高くなっても、体内総亜鉛含量は一定に保たれ、また、さまざまな組織における亜鉛濃度も生理的に要求される濃度に保たれる。胃腸管からの吸収および胃腸管への分泌の制御が、亜鉛の恒常性にとっておそらく最も重要な役割を果たしている。それにもかかわらず、組織間での亜鉛のやり取りには制限があるため、生理学的要求を満たすためには、体外から定期的に亜鉛を補給することが必要である。

腸における Zn^{2+} の吸収には、受動拡散による過程と担体による過程の両方が関わっている。 Zn^{2+} の吸収には、食物中の配位子や体における亜鉛の状況といった、いくつかの要因が影響を及ぼす可能性がある。

適切な栄養水準のヒトでは約 20~30% が吸収され、動物では 40~50% が吸収される。しかし、亜鉛欠乏のヒトではより多くの吸収が生じ、過剰の亜鉛を摂取しているヒトでは吸収は少なくなる。リスク評価においては、水溶性の高い亜鉛化合物(塩化亜鉛、硫酸亜鉛)の場合、適切な栄養水準での吸収率範囲の下限値(すなわち 20%)を考慮に入れる。酸化亜鉛については、生物学的利用性が水溶性亜鉛塩の約 60% であることが示されており、これに対

応する吸収率範囲は約 12~18%である。金属亜鉛、リン酸亜鉛およびジステアリン酸亜鉛については、生物学的利用性に関するデータは得られていない。これらの化合物は、酸化亜鉛と同様に希酸(胃)での溶解性が乏しいため、水溶性の低い亜鉛化合物(酸化亜鉛、リン酸亜鉛、ジステアリン酸亜鉛、金属亜鉛)については、リスク評価において、経口吸収率を 12%と想定することにする。

過剰曝露(職場での高度の経皮吸収や吸入など)が起きている状況では、亜鉛化合物の経皮吸収は、リスク評価で用いるとした値(20%および 12%)よりもおそらく低くなる。ただし、この吸収率の低下は定量化できていないため、過剰曝露状況下でも、上述と同じ経口吸収率を適用することとする。この考え方の正当性は、摂取量が 10 倍異っても、吸収量は最大で 2 倍しか異なっていないという知見から、ある程度支持されると考えられる。

吸入曝露時(特に職場環境に関連)の亜鉛の吸収に関する定量的データは、得られていない。いくつかの動物試験データは、肺での吸収が起き得ることを示唆している。酸化亜鉛の肺における保持を調べた動物試験では、消失半減期として 14 および 6.3 時間という値が報告されている。吸入された亜鉛の吸収は、その粒子の径および付着性に左右されることから、亜鉛エアロゾルの粒径分布に関するデータを、異なる 3 職種について入手した。その粒径分布データを多経路粒子付着(MPPDep)モデルを用いて分析すると、亜鉛のエアロゾルの場合、最も付着が生じる部位は頭部であり、それに比べると気管気管支や肺領域における付着はかなり少ない。頭部や気管気管支領域に付着した物質の多くは速やかに胃腸管に運ばれるが、一部は局所的に吸収されると考えられる。放射性核種の吸収を様々な気道領域で調べたデータに基づくと、頭部、気道気管支領域および肺領域で付着した水溶性亜鉛化合物の局所吸収率は、それぞれ 20、50 および 100%であると想定される。難/不溶性亜鉛化合物については、頭部および気管気管支領域での吸収は無視できるが、肺領域での吸収は 100%と想定される。それぞれの気道領域に付着した物質の残余画分は、胃腸管へと排除され、そこでは経口吸収動態に従うため、経口吸収の数値が適用される。上述の想定を MPPDep モデルで示された付着画分に適用すると、水溶性亜鉛化合物(塩化亜鉛および硫酸亜鉛)の吸入による吸収率は最高 40%であり、難/不溶性亜鉛化合物(金属亜鉛、酸化亜鉛、リン酸亜鉛およびジステアリン酸亜鉛)の吸入による吸収率は最高 20%である。これらの数値により、亜鉛業界の様々な職種間に存在する、運動・活動(呼吸量)および粒子径分布に関する相違を網羅できると考えられることから、以降これらを、合理的に想定される最悪の場合の数値として、リスク評価に適用することとする。

経皮曝露(職場環境および消費者環境に関連)での亜鉛の吸収に関する適切な定量的データは、得られていない。ヒトにおけるデータが得られているが、傷のある皮膚について調べたものか、または吸引水疱を生じさせて健全性が損なわれた皮膚について調べたものであり、主としてこうした理由から妥当ではないと考えられる。無傷の皮膚を介しての吸収は、

in vivo の動物試験および *in vitro* 試験の結果に基づくと、わずか(2%未満)であると思われるが、残念ながら、それらの *in vivo* 動物試験は全てに欠陥があり、また、いずれの試験も定量的な判断に用いることはできない。*In vitro* 試験に関しては、レセプター液に移行した割合に基づくと、全身性に吸収された割合が、*in vivo* 試験で得られた値より小さくなってしまふ。したがって、皮膚で検出された画分も、当初から吸収されるものとして含められるべきである。この「おそらく吸収される画分」を考慮すると、*in vivo* 試験における全身吸収率により近い値になる。

皮膚に結合した亜鉛や皮膚中にある亜鉛は、後の段階で全身的に利用可能になる可能性がある。この可能性は、非経口栄養剤(TPN)を給与されていた患者において、血清亜鉛濃度の経時的減少が予想されたところ、亜鉛の経皮吸収によってそれが相殺され、結果として血清亜鉛濃度が一定に保たれたという知見から論じることができる。残念ながら、被験患者6人中3人しか、10日間の試験期間を最後まで終えることはできなかった。単回適用もしくは反復適用により健常な皮膚からどのくらい亜鉛が放出されるのかを推定するには、ヒトにおける適切なデータが得られておらず、血液採取時期が短か過ぎるもの(適用後3時間まで; Derry *et al.*, 1983)か、損傷を受けた皮膚に関するもの(Agren, 1990, 1991; Hallmans, 1977)しか得られていない。したがって結論としては、単回適用もしくは反復適用の場合、亜鉛は皮膚から吸収され得ると言えるが、皮膚に貯蔵された画分の重要性については、得られたデータに基づいて判断することができない。例えば、皮膚に人工的に亜鉛を貯留させ、それが他の必須イオン(Cu など)の吸収や恒常性にどのような影響を及ぼすかを調べるような試験は行われていない。ただし、利用可能な全てのデータからは、皮膚に結合した亜鉛は、血清において高いピークが現れるような様式ではなく、より緩徐な様式で全身的に利用可能となっていく可能性が示されている。体内総亜鉛含量を一定に保ち、さまざまな組織における亜鉛濃度も生理的に要求される濃度に保つ、有効な恒常性維持機構を哺乳類が有しているとする、皮膚からの亜鉛の放出が遅いとしても、体内の亜鉛平衡の恒常性が損なわれることはないと考えられる。したがって、専門家の判断としては、上述の考察に基づいて、亜鉛もしくは亜鉛化合物の溶液や懸濁液の経皮吸収に関し、デフォルト値として2%が選択される。物理学的状態に基づき、亜鉛または亜鉛化合物の粉塵への曝露の場合には、リスク評価のためのデフォルト値として、10倍低い0.2%が選択される。

亜鉛はあらゆる組織および組織液に分布し、200を超える酵素系の補因子として働く。

亜鉛は主として糞便を介して排泄されるが、尿、唾液、脱毛、汗および母乳からも排泄される。

4.1.2.3 急性毒性

4.1.2.3.1 動物試験

酸化亜鉛を被験物質とした試験が、ラットやマウスにおいて様々な曝露経路で実施されている。これらの試験の要約を Table 4.12 に示した。

Table 4.12 Acute toxicity

Acute toxicity	Species	Protocol	Results	References
Oral	mouse rat rat	unknown other other	LD ₅₀ = 7,950 mg ZnO/kg bw LD ₅₀ > 5,000 mg ZnO/kg bw LD ₅₀ > 15,000 mg ZnO/kg bw	Shumskaya et al. (1986) Löser (1977) Löser (1972)
Inhalation	mouse rat	unknown other	LC ₅₀ = 2.5 g ZnO/m ³ (a) LC _{50(4hr)} > 5.7 g ZnO/m ³ (b)	RTECS (1991) Klimisch et al. (1982)
Intraperitoneal	rat	unknown	LD ₅₀ = 240 mg ZnO/kg bw	Burkhanov (1978)

(a) Exposure time, exposure conditions and particle size unknown

(b) The test compound was Mn²⁺-containing ZnO (2.8% Mn; 78% Zn; 19.2% O) with a MMAD of 4 µm.

酸化亜鉛をマウスに胃内投与した試験では、7,950 mg (ZnO)/kg 体重という LD₅₀ 値が得られている。最小急性毒性用量は、1,000 mg (ZnO)/kg 体重であった。これ以上の詳細な情報は得られていない(Shumskaya *et al.*, 1986)。

Löser(1977)の急性毒性試験では、Wister ラット(雌雄 5 匹ずつ)に、酸化亜鉛が 5 g (ZnO)/kg 体重の用量で単回強制経口投与(媒体;水)され、14 日間の観察が行われた。死亡例は無く、毒性の徴候も観察されなかった。したがって、ラットの LD₅₀ は、5 g (ZnO)/kg 体重より大きい。

それより前に行われた Löser(1972)の試験では、雄の Wistar ラットに、塩化亜鉛が 15 g (ZnO)/kg 体重の用量で単回強制経口投与された。死亡例は生じなかった。毒性の徴候は、被毛不整、体重減少および下痢であった。ラットの LD₅₀ は、15 g (ZnO)/kg 体重より大きいと判断された。

マウスで酸化亜鉛の急性吸入試験が行われている(RTECS, 1991 で引用)が、詳細な情報は得られていない。Klimisch *et al.*(1982)の試験では、各群雌雄 10 匹の被験動物が、酸化亜鉛のエアロゾルに 4 時間曝露された(頭部および鼻部のみ)。エアロゾルの濃度は 5.7 mg/L で、粒径分布は、空気動学的質量中央値で表すと 4 µm ± 2.9(幾何標準偏差)であった。1 濃度群と対照群のみで試験が行われた。全ての被験動物が、曝露後 14 日間生残した。曝露の翌日に頭部の被毛に汚れが見られた以外は、影響は特に認められなかった。体重は、正常な増加を示した。病理検査では、全ての臓器が正常であった。LC₅₀ は 5.7 mg/L であった。

Burkanov(1978)の試験では、ラットに酸化亜鉛が腹腔内投与され、240 mg(ZnO)/kg 体重という LD₅₀ 値が得られている。この試験についてはこれ以上の詳細な情報は得られていない。

酸化亜鉛の急性経皮毒性については、データが得られていない。

他の単回投与試験

23 匹のモルモットを酸化亜鉛(燃焼炉で生じさせた粒径 0.05 μm のエアロゾル)に 0.9 mg (ZnO)/m³ の濃度で 1 時間吸入曝露し、肺機能が調べられている。肺コンプライアンスの進行性の減少が認められた(対照値よりも曝露終了時には 9%低い値であったのが、曝露終了 1 時間後には 16%低い値となった)。しかし、空気流抵抗には変化は認められなかった(Amdur *et al.*, 1982)。これらの結果とは対照的に、10 匹のモルモットを酸化亜鉛(燃焼炉で生じさせた粒径 0.05 μm のエアロゾル)に 7.8 mg (ZnO)/m³ の濃度で 3 時間吸入曝露した別の試験では、換気機能、肺の力学的機能、一酸化炭素拡散機能およびほとんどの肺容積パラメータに対して、影響は認められなかった。ただし、機能的残気量には有意な低下が示され(対照値より 10%低下)、肺容積に関する他の項目にも、ほんのわずかな変化が認められている(Lam *et al.*, 1982)。

Gordon *et al.*(1992)は、モルモット、ラットおよびウサギにおいて、酸化亜鉛吸入の影響を調べた。被験動物は、燃焼炉で発生させた粒径 0.06 μm のエアロゾルに、0、2.5 ないしは 5 mg (ZnO)/m³ の濃度で最長 3 時間曝露され、その 24 時間後に肺洗浄が行われた。最高濃度で曝露されたモルモットおよびラットでは、肺洗浄液に、総細胞数の増加(モルモットで 2.5 倍、ラットで 2 倍)、乳酸脱水素酵素(LDH)の上昇(モルモットで 24 倍、ラットで 9 倍)、β-グルクロニダーゼの上昇(モルモットで 13 倍、ラットで 27 倍)、およびタンパク質含量の増加(モルモットで 3.5 倍、ラットで 5.6 倍)が認められた。2.5 mg (ZnO)/m³ の濃度で 3 時間曝露されたモルモットでは、有意な上昇が、LDH(16 倍)、β-グルクロニダーゼ(5 倍)、およびタンパク質含量(1.4 倍)において認められた。2.5 mg (ZnO)/m³ の濃度で 3 時間曝露されたラットでは、有意な上昇が、LDH(4.5 倍)、β-グルクロニダーゼ(11 倍)、およびタンパク質含量(5 倍)において認められた。2.5 ないしは 5 mg (ZnO)/m³ の濃度で 2 時間曝露されたウサギでは、生化学的パラメータおよび細胞学的パラメータに変化は認められなかった。

4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

業務用の酸化亜鉛についてのデータは、得られていない。

亜鉛メッキ鋼の切断や溶接といった非常に高温で行われる非常に特殊な作業(金属亜鉛に

関するリスク評価書を参照)では、超微粒子(粒径 0.1 μm 未満)の酸化亜鉛を含む煙が発生する場合がある。この様な煙へ曝露されると、金属熱が引き起こされることがあり、それ自体により喉の渇きや痛み、発熱、咳、呼吸困難、体温上昇、筋肉痛、頭痛、金属味を感じるといった、いくつかの典型的な症状が現れる(Heydon and Kagan, 1990; Gordon *et al.*, 1992; Mueller and Seger, 1985)。これらの症状に加え、超微粒子の煙への曝露により、胃腸障害が生じる場合がある(NIOSH, 1975)。

多くの試験により、金属熱が生じる曝露濃度が測定されている。Gordon *et al.*(1992)の試験では、ヒト($n = 4$)が、単盲検法により、対照の燃焼炉ガスもしくは酸化亜鉛の超微粒子(5 mg/m^3)に 2 時間曝露された。酸化亜鉛に曝露された 4 人全てが、曝露の 4~8 時間後から、金属熱の典型的な症状を示す様になった。それらの症状は 24 時間以内に消失した。認められた症状は、発熱、悪寒、喉の渇きや痛み、胸部圧迫感および頭痛であったと報告されている。曝露直後には、肺機能に変化は認められなかった。気道比抵抗は、酸化亜鉛に曝露された全ての患者において 16%増加した。

Marquart *et al.*(1989)は、溶接作業中に発生する酸化亜鉛の煙に 6~8 時間職業曝露された場合の影響について調べている。亜鉛メッキ鋼の溶接工 11 人、間接的に溶接煙に曝露される非溶接工 10 人および対照被験者 17 人について、シフト制勤務の 5 日前および 5 日後に、肺活量などの肺機能の測定を行った。被験者それぞれの亜鉛への曝露量は、PAS-6 サンプラーを用いて計測した。溶接工における幾何平均濃度は $0.034 \text{ mg (ZnO)/m}^3$ 、曝露を受けた非溶接工においては $0.019 \text{ mg (ZnO)/m}^3$ 、対照被験者においては $0.004 \text{ mg (ZnO)/m}^3$ であった。5%有意水準では、肺機能パラメータに変化は認められなかった。金属熱の徴候は報告されていない。

Blanc *et al.*(1991)も、亜鉛溶接で生じる煙への曝露に対するヒトの反応を調べている。14 人の溶接工が、実際に 15~30 分間、亜鉛溶接で生じる煙へ曝露された。被験者それぞれの酸化亜鉛への曝露量を計測したところ、平均累積曝露量は $2.3 \pm 1.7 \text{ g} \cdot \text{分}/\text{m}^3$ で、曝露濃度は $77 \sim 153 \text{ mg (ZnO)/m}^3$ であった。肺機能、気道の反応性、血清亜鉛濃度および血球数が測定された。肺における細胞性炎症反応を検討するため、気管支肺胞洗浄(BAL)が実施された。肺機能や気道抵抗測定において見られた変化はわずかなものであった。亜鉛への累積曝露量と多形核白血球数とは、正の相関関係を示した。曝露終了 22 時間後に採取された BAL 液の検査では、免疫学的活性が有意に用量依存的に上昇(すなわち多形核白血球が増加)していることが確認された。

Blanc *et al.*(1991)のもう 1 件の試験では、典型的な溶接経験を持つ 23 人のボランティアに実際に溶接を行わせて、述べ 26 回の曝露が実施された。被験者は、亜鉛メッキ軟鋼のアーク溶接を 15~30 分実施した。曝露後、3、8、ないしは 22 時間の時点で、それぞれ被験者 6、

11 ないしは 9 人において BAL を行い、17 人の対照被験者から得た BAL の成績と比較した。亜鉛への平均曝露量は、BAL が 3、8、ないしは 22 時間後に行われた群で、それぞれ 18、2.0 ないしは 2.6 g・分/m³ であり、曝露濃度では、20~170 mg (Zn)/m³ [25~212 mg (ZnO)/m³ に相当; 曝露量の報告値 0.6~5.1 g・分/m³ と曝露時間 30 分に基づいて算出] となる。BAL 液では、炎症性細胞の増加、いくつかのサイトカイン、すなわち腫瘍壊死因子 (TNF)、インターロイキン-6 (IL-6) およびインターロイキン-8 (IL-8) の上清中濃度の増加が、溶接で生じた酸化亜鉛の煙への曝露後に、時間および曝露量依存性に認められた。

Kuschner *et al.* (1995) の試験では、14 人の被験者を、精製酸化亜鉛の煙に吸入曝露して検査し、さらに同じ条件で通常の空気に曝露して検査した。曝露濃度は 2.76~37 mg (Zn)/m³ [3.4~46 mg (ZnO)/m³] であり、曝露期間は 15~120 分であった (亜鉛への累積曝露量は 165~1,110 mg・分/m³)。曝露の 20 時間後に BAL を実施し、細胞成分、および TNF、IL-8 ならびにインターロイキン-1 (IL-1) などのサイトカインを分析した。空気への曝露の場合と比べて、被験物質への曝露の後では、BAL 液中に多形核白血球が増加していた。亜鉛への累積曝露量と、BAL 液上清における TNF および IL-8 の濃度変化とは、正の相関が認められた (r_2 値はそれぞれ 0.58 および 0.44)。喫煙は、BAL 液の TNF や IL-8 の濃度の変化とは無関係であった。著者は結論として、これらのデータが、亜鉛曝露に関連した TNF や IL-8 の増加に、500 (Zn) mg・分/m³ [625 (ZnO) mg・分/m³] という閾値があることを示唆していると述べている。しかし、累積曝露量と TNF や IL-8 の上昇との間の相関係数は小さい。本評価書の作成者は、データを分析して曝露濃度と影響との間に関連性が存在するかどうかを調べたが、得られる相関係数はさらに小さくなると思われた。したがって、金属熱の発症が曝露濃度ではなく累積曝露量によって決まるのか否かについては、データ点が限られているため、またデータのばらつきがかなり大きいため、確定的に結論づけることができない。つまり、この試験からは、適切な確実性に基づいて金属熱に関する NOAEL を導出することはできない。したがって、この試験のデータは、金属熱に関する影響濃度として 5 mg (ZnO)/m³ という値が導かれた Gordon *et al.* (1992) の試験のデータより重要とはみなされない。

他にも、Barceloux (1999) や Kelleher *et al.* (2000) などにより、金属熱の病因に関する試験の報告がなされている。しかし、これらの試験では、他のいくつかの症例報告 (Vogelmeier *et al.*, 1987; Langham Brown, 1988; Malo *et al.*, 1990; Ameille *et al.*, 1992 など) と同様に、やはり金属熱に関する明確な NOAEL を確立することができない。

前述したように、金属熱が起こるのは、亜鉛メッキ鋼の切断や溶接といった非常に高い温度を要する非常に特殊な作業を行う場合に限定されている。この様な作業は、業務用の酸化亜鉛を生産したり使用したりすることとは無関係である。金属熱は、ほとんどの場合、新たに発生した酸化亜鉛の超微粒子 (粒径 0.1 μm 未満) としか関連性がない。この様な超微粒子はすぐに凝集し、生産現場や加工現場で通常見かけられる様なより大きな粒子となるた

め、そのような現場では、金属熱の徴候は現れない。

全ての亜鉛関連会社に対するアンケートによって、過去数十年間の事業運営期間に、各社の事業所においてどのくらい金属熱の発症がみられたかが尋ねられている。産業衛生士は、定期的実施される医学的監視プログラムの中で、この問題について確認するように要請されていた。11 社(主として酸化亜鉛生産会社)から返答が得られた。この調査によると、亜鉛金属による金属熱は、最近 10 年間に於いて、また最近の業務実施手順においては確認されていない。すなわち、亜鉛を生産するないしは取り扱う業界における現在の曝露水準では、金属熱は生じていない。

4.1.2.3.3 急性毒性についての結論

得られたデータに基づく、酸化亜鉛の急性経口毒性および急性吸入毒性は低いと結論付けられる。EC の基準では、酸化亜鉛を急性経口毒性および急性吸入毒性に基づいて分類する必要はない。

金属熱の症状(頭痛、発熱、白血球増加症)が、溶接煙に含まれる酸化亜鉛の超微粒子に急性曝されたヒトで認められているが、 $0.034 \text{ mg (ZnO)}/\text{m}^3$ の濃度では、何も影響は報告されていない。別の試験では、対照の燃焼炉ガスもしくは酸化亜鉛の超微粒子[$5 \text{ mg (ZnO)}/\text{m}^3$]に 2 時間曝露された被験者 4 人全てが、酸化亜鉛への曝露の 4~8 時間後から、金属熱の典型的な症状を示すようになった。それらの症状は 24 時間以内に消失した。金属熱に関して適切な確実性をもって NOAEL を確立できるような試験のデータが得られなかったため、この LOAEL[$5 \text{ mg (ZnO)}/\text{m}^3$]が、リスクの総合評価において考慮されることになる。酸化亜鉛の超微粒子への曝露は、業務用の酸化亜鉛とは無関係であり、ほとんどの場合、亜鉛メッキ鋼の切断や溶接といった非常に特殊な作業でしか起こらない。11 の亜鉛関連会社からアンケートへの返答が得られており、それによれば、最近 10 年間に於いて、また最近の業務実施手順において、金属熱の発症は認められていない。

4.1.2.4 刺激性

4.1.2.4.1 皮膚刺激性

動物における試験

2 羽の NZW ウサギを用い、1 羽あたり 500 mg の酸化亜鉛を 24 時間閉塞条件で適用(耳)し

た試験(Löser, 1977)では、何も皮膚反応は認められなかった。観察期間は7日間であった。

マウス(n=6)、モルモット(n=8)およびウサギ(n=4)の背中の皮膚(5 cm²)で、非閉塞条件によるパッチテストが行われている。被験動物に、酸化亜鉛の20%懸濁液(0.1% Tween 80 溶液を媒体とし、pHは7.4)0.5 mLが、1日1回連続5日間適用されたが、皮膚刺激症状は何も認められなかった(Lansdown, 1991)。ウサギ(n=4)を用い、同じ組成の被験物質懸濁液0.5 mLにより、閉塞条件でもパッチテストが行われているが、やはり皮膚刺激は陰性であった(Lansdown, 1991)。

ヒトにおける試験

25%の酸化亜鉛を含むパッチをヒトの皮膚に48時間閉塞適用[2.9 mg(Zn)/cm²]した試験では、皮膚刺激性は何も示されなかった(Agren, 1990)。酸化亜鉛は、パッチの接着剤(天然ゴム、ガムロジンおよび白色鉱油；すべて医療用)中に加えられたかたちで適用された。

Derry *et al.* (1983)は、酸化亜鉛を40%含む軟膏による処置(150 cm²の部位に15 g)を受け、24時間閉塞包帯を施されていた患者において、24時間後に発疹と毛包性膿疱を認めたと報告している。この皮膚反応は、軟膏を取り除き冷却した生理食塩水で圧迫したところ、2日後には消失したが、酸化亜鉛を5%含む組成物を適用すると、再び出現した。この事例からは、皮膚への影響が、酸化亜鉛によるものなのか、処置に関連した他の刺激によるものなのかを判断することができない。酸化亜鉛を40%含む軟膏で同様の処置を受けた他の5人の患者、および胸部や脚に酸化亜鉛を40%含む軟膏を100 g適用された6人のボランティアでは、皮膚反応は認められていない。

4.1.2.4.2 吸入曝露

吸入曝露による刺激性に関しては、データが得られていない。酸化亜鉛の超微粒子の煙に単回吸入曝露(4.1.2.3章)ないしは反復吸入曝露(4.1.2.7.1項)された場合に、肺機能の変化や気道における炎症性反応の誘発が認められている。しかし、適切に実施されたラットの急性吸入毒性試験(Klimisch *et al.*, 1982, 4.1.2.3.1項参照)では、業務用酸化亜鉛のエアロゾル[粒径:MMADで4 μm ± 2.9 (GSD)]への曝露が行われたが、上部気道に刺激症状は認められなかった。

4.1.2.4.3 眼刺激性

2羽のNZWウサギを用いた眼刺激性試験(Löser, 1977)では、1羽あたり50 mgの酸化亜鉛投与により、紅斑(24~72時間後の時点にかけての平均スコアは3および2)および浮腫(24~72時間後の時点にかけての平均スコアは1.3および0.3)が、投与後48時間までに生じた。ウサギのうち1羽では、紅斑が7日間持続した。虹彩や角膜への影響は認められなかった。この試験からは、ウサギの眼への刺激性に関し、酸化亜鉛は、境界線上の陽性と判断される。

2羽のNZWウサギを用いた別の眼刺激性試験(Thijssen, 1978)では、1羽あたり50 mgの酸化亜鉛投与により、結膜に軽度の紅斑(24~72時間後の時点にかけての平均スコアは0.7および0.7)が生じ、それは2日間持続した。7日間の観察期間中、虹彩や角膜への影響は何も認められなかった。この試験では、酸化亜鉛はウサギの眼に対し、刺激性を示さなかった。

3羽の雄のNew Zealand Whiteウサギを用い、指令92/69/EEC B.5およびOECDガイドライン405に準拠して、眼刺激/腐食性試験が適切に実施されている。この試験では、片方の眼の結膜嚢に、約64 mgの酸化亜鉛(約0.1 mL)が滴下された。もう片方の眼は無処置対照とされた。2羽のウサギについては、24時間後に、両目を水で洗浄した。滴下の1、24、48および72時間後に、検眼を行った。

全身毒性の徴候は認められず、死亡例も生じなかった。1羽において、1時間後の時点でのみ、虹彩に軽度(グレード1)の刺激症状が観察された。結膜に軽度(グレード1~2)の刺激症状が発赤として認められ(24~72時間後の時点にかけての平均スコアは0.7、1および1)たが、この症状は72時間後には全ての被験動物で完全に消失していた。全ての被験動物において、結膜浮腫(グレード2)や眼やに(グレード1)も認められたが、こうした症状が認められたのは1時間後の時点だけであった。角膜混濁や上皮損傷は、被験動物のいずれにおいても認められなかった(Van Huygevoort, 1999a)。

4.1.2.4.4 刺激性についての結論

各皮膚刺激性試験は現行のガイドラインに準拠して行われたものではなかったが、それらのデータは容認できるものである。ECの基準に基づくと、酸化亜鉛を皮膚刺激性物質に分類する必要はない。

酸化亜鉛の超微粒子の煙に単回ないしは反復吸入曝露された場合に、肺機能の変化や気道における炎症性反応の誘発が認められている。しかし、適切に実施されたラットの急性吸

入毒性試験では、業務用酸化亜鉛への曝露で上部気道に刺激症状は何ら認められず、したがって、酸化亜鉛を呼吸器系への刺激物質として分類する必要はない。

眼刺激性試験(これらのうち1件はEUおよびOECDのガイドラインに沿って適切に実施されている)の知見に基づくと、酸化亜鉛は眼に刺激性も腐食性も示さないと判断され、したがって分類や特別な表記は必要としない。

4.1.2.5 腐食性

酸化亜鉛は、皮膚、眼および気道に対して腐食性を示さない(4.1.2.4章参照)。

4.1.2.6 感作性

4.1.2.6.1 動物における試験

酸化亜鉛(純度 99.69%)の皮膚感作性が、指令 96/54/EC B.6 および OECD ガイドライン 406 に準拠して適切に実施された2件の試験により、Dunkin Hartley モルモットにおいて調べられている。予備試験の結果に基づき、本試験では、被験動物(各試験 10 匹ずつ)に、20%の濃度での皮内投与と、50%の濃度(実際に適用できる最高濃度)での表皮適用が行われた。対照群の動物(各試験 5 匹ずつ)には、媒体(水)だけを用いて、同様の処置が行われた。表皮適用による感作誘導の約 24 時間前に、全ての動物に、10%ドデシル硫酸ナトリウム溶液による処置を実施した。表皮適用の 2 週間後、全ての動物に対し、酸化亜鉛を 50%含む調製物および媒体物質による感作惹起を行った。

1 件目の試験では、酸化亜鉛を 50%含む調製物による感作惹起の 24 時間後に、4/10 匹において、グレード 1 の皮膚反応が示された(感作率 40%)。対照群では、皮膚反応は何も示されなかった。これとは対照的に 2 件目の試験では、感作誘導を施した動物に皮膚反応は認められず(感作率 0%)、対照群の 1 匹にグレード 1 の皮膚反応が認められた。この対照群の 1 匹で観察された皮膚反応は、おそらく非特異的な刺激症状と思われる(Van Huygevoort, 1999b1; 1999b2)。

さらに別のマキシミゼーション試験が、上述と同様のガイドラインに準拠し、同様の試験デザインにより、分析用酸化亜鉛(Zincweiß Pharma A; 純度 99.9%)を用いて適切に実施されている。上述の 2 試験との相違は、皮内感作誘導における濃度だけである。すなわち、こ

の試験では、Zincweiß Pharma A が 2% の濃度で用いられた。この濃度は、再現性良く投与できる最高濃度と判断された。この試験では、感作誘導を施した動物にも対照群の動物にも、皮膚反応は認められなかった。したがって、Zincweiß Pharma A による感作率は 0% である。何匹かにおいて、感作惹起の 24 および 48 時間後の時点で、被験物質で処置された皮膚の白変化が認められた (Van Huygevoort, 1999i)。

4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

下腿潰瘍を有する患者から 100 人を選択し、パッチテストが実施されている。11/100 人が、亜鉛軟膏 (酸化亜鉛 60%、ごま油 40%) に対してアレルギー反応を示した。ただし、患者の 14/81 人が、ごま油だけの処置に対して陽性反応を示している (Malten and Kuiper, 1974)。この試験からは、ヒトにおける酸化亜鉛の皮膚感作性に関して、明確な示唆は得られない。

Söderberg *et al.* (1990) は、松脂への接触アレルギーにおける酸化亜鉛の影響を調べた。過去にパッチテストにおいて松脂に中等度の反応を示したことにある患者 14 人に対し、10% 酸化亜鉛を用いたパッチテスト [2.3 mg (Zn)/cm^2] を、松脂の存在下および非存在下で実施した。10% 酸化亜鉛だけを用いた場合には、14 人の患者には陽性反応は見られなかった。松脂に酸化亜鉛が加わると、松脂で誘発されるアレルギー反応が低減した。

4.1.2.5.3 感作性についての結論

得られたデータは、皮膚感作試験に求められる基本要件を満たしている。モルモットを用いた試験では、相反する結果が見受けられたものもあるが、証拠の重み付けに基づくと、いずれにせよ、酸化亜鉛は動物に対して非常に強力な感作物質としては働かないことが示唆される。さらに、ヒトで行われたパッチテストの結果も、酸化亜鉛がヒトに対しても感作物質として働かないことを示唆している。したがって、酸化亜鉛については、皮膚感作性に関して分類や表記を行う必要はない。この結論は、亜鉛化合物、特に酸化亜鉛とジステアリン酸亜鉛が、何十年にもわたり、様々な医薬品や化粧品 (これらの中には皮膚の炎症向けの皮膚用製剤さえもある) において、特に有害影響が報告されることも無く使用されてきているという事実によって支持される。

呼吸器感作性に関するデータは、得られていない。

4.1.2.7 反復投与毒性

4.1.2.7.1 動物試験

酸化亜鉛の反復投与毒性に関するデータは、ある程度得られている。他の亜鉛化合物についてのデータも活用される。これは、全ての亜鉛化合物(金属亜鉛を含む)が、摂取されるとイオン化学種に(少なくとも一部は)転換され、それで生じた亜鉛陽イオンが、元の亜鉛化合物の生物学的活性を決定する要因となっているという、基本的な想定に基づいている(4.1.2.1 節を参照)。

本項は 2 つの部分から構成する。「リスク評価に適切な試験」の見地から、ある程度ガイドラインに沿った反復投与試験を、そこから N(L)OAEI を確立できるものとして位置づけした。本項の一部分を構成する「補足的な試験」においては、標準的な実験動物以外の動物を用いて行われた試験、特殊なパラメータを指標とした特別な試験、報告が不十分な試験等を探り上げている。

リスク評価において重要な試験を、Table 4.13 にまとめて示した。

Table 4.13 Repeated dose toxicity

Repeated dose toxicity	Species	Protocol	Results	mg Zn ²⁺ / kg bw	Reference
Oral	mouse	other, but comparable with guideline study: 300 to 30,000 mg ZnSO ₄ · 7 H ₂ O/kg feed daily via diet for 13 weeks	NOAEL 3,000 mg/kg feed At 30,000 mg/kg feed: haematological and biochemical effects were observed. Gross pathology and histopathology showed changes in kidney, thyroid, gastrointestinal tract and pancreas.	NOAEL: 104 LOAEL: 1,107	Maita et al. (1981)
	rat	other, but comparable with guideline study: 300 to 30,000 mg ZnSO ₄ · 7 H ₂ O/kg feed daily via diet for 13 weeks	NOAEL 3,000 mg/kg feed At 30,000 mg/kg feed: haematological effects and pancreatic damage.	NOAEL: 53.5 LOAEL: 564	Maita et al. (1981)
	rat	According to OECD 408: up to 1% Zn-mono glycerolate via diet (~ 31.52 to 758.73 mg/kg bw) for 13 weeks	NOAEL 31.52 mg/kg bw At 0.2% (≈ 127.52 mg/kg bw): effects on pancreas, spleen and clinical chemical parameters	NOAEL: 13.26 LOAEL: 53.65	Edwards and Buckley (1995)

経口曝露

硫酸亜鉛

ICR マウス(各群雌雄 12 匹ずつ)を用いた試験では、硫酸亜鉛が、飼料 1 kg 当たり 300、3,000 ないしは 30,000 mg ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)/kg の濃度(雄で 42.7、458 および 4,927 mg/kg 体重、雌で 46.4、479 および 4,878 mg/kg 体重に相当)で、13 週間混餌投与された。対照群も設けられている。高用量群では、雄 4 匹と雌 1 匹が、死亡したかあるいは切迫屠殺された。これらの被験動物の組織学的検査では、尿路の損傷と膵臓の外分泌腺の退行性変性が認められた。高用量群においてのみ、ヘマトクリット値の中等度の低下(雄では対照群が 42%であったのに対して 29%、雌では対照群で 44%であったのに対して 31%)、およびヘモグロビン濃度の低下(対照群で 14 g/dL であったのに対して高用量群の雌雄では 10 g/dL)が認められた。高用量群の雄の白血球数は、中等度に低下(リンパ球は 70%から 60%に、単球は 5.3%から 4.9%に低下)した。高用量群において、血中の総タンパク質、グルコースおよびコレステロールは減少し、アルカリホスファターゼおよび尿素窒素は増加した。高用量群の雌では、ALAT の減少とカルシウムの上昇が示され、高用量群の雄では ASAT の上昇が示された。甲状腺の絶対重量および相対重量(括弧内の数値)は、対照群で 3.3 mg (0.007%)であったのに対し、高用量群では 4.2 mg (0.0011%)に増加した。雌の腎臓重量も、対照群で 0.42 g (0.93%)であったのに対し、高用量群では 0.53 g (1.62%)に増加した。肉眼病理検査および組織学的検査では、腎臓、甲状腺、膵臓(腺房細胞の変性/壊死、核小体の透明化)、胃腸管、および脾臓に変化が認められた。生殖器官(卵巣、精巣、副生殖器)には、特に影響は見られなかった。この試験における NOAEL は、雄および雌で、それぞれ 458 および 479 mg ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)/kg 体重[約 104 mg (Zn^{2+})/kg 体重]である(Maita *et al.*, 1981)。

Wistar ラット(各群雌雄 12 匹ずつ)を用いた試験では、硫酸亜鉛が、飼料 1 kg 当たり 300、3,000 ないしは 30,000 mg ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)/kg の濃度(雄で 23.2、234 および 2,514 mg/kg 体重、雌で 24.5、243、および 2,486 mg/kg 体重に相当)で、13 週間混餌投与された。対照群も設けられている。高用量群では、雌雄両方において、中等度の白血球減少が認められた(雄では対照群の 7.3×10^3 個/mm³ に対し 4.7×10^3 個/mm³、雌では対照群の 4.5×10^3 個/mm³ に対し 3.3×10^3 個/mm³)。対照群と比較すると雄では、ヘマトクリット値の軽度の減少(42%に対し 40%)や、総タンパク質の減少(5.2 g/dL に対し 4.4 g/dL)およびコレステロール値の減少(96 mg/dL に対し 62 mg/dL)も認められた。肝臓の絶対重量および相対重量(括弧内の数値)は、対照群で 16.1 mg (3.55%)であったのに対し、高用量群では 11.9 mg (3.20%)に減少した。腎臓の絶対重量は、高用量群の雄で減少した(対照群の 2.93 g に対し 2.29 g)。組織学的検査では、高用量群において、膵臓の損傷(腺房細胞の変性や壊死、腺房中心細胞の透明化、および間質の線維化)が認められた。生殖器官(卵巣、精巣、副生殖器)には、特に影響は見ら

れなかった。この試験における NOAEL は、雄および雌で、それぞれ 234 および 243 mg (ZnSO₄·7H₂O)/kg 体重[約 53.5 mg (Zn²⁺)/kg 体重]である (Maita *et al.*, 1981)。

モノグリセロール亜鉛

OECD のガイドライン 408 に準拠した試験が、各群雌雄 20 匹ずつの Sprague-Dawley ラットを用いて実施されている。モノグリセロール亜鉛が、0、0.05 ないしは 0.2% の飼料中濃度 (雄では 0、31.52 ないしは 127.52 mg/kg 体重、雌では 0、35.78 ないしは 145.91 mg/kg 体重に相当) で、13 週間混餌投与された。同様の 1 群に、モノグリセロール亜鉛が、飼料中濃度 1% (雄では 719 mg/kg 体重、雌では 805 mg/kg 体重に相当) で 58 日目まで混餌投与されたが、この日までに被験動物の臨床状態が悪化 (身体の健全性および飼料消費量の低下) が見られたため、飼料中のモノグリセロール亜鉛濃度が 0.5% (雄では 632 mg/kg 体重、雌では 759 mg/kg 体重に相当) に減じられた。しかし、状態に改善が見られなかったため、人道的な理由から、試験の 64 日目にこれらの被験動物を切迫屠殺した。これらの被験動物は、低銅血症を起しており、低色素性小球性再生性貧血 (低ヘモグロビン、低ヘマトクリット値、低 MCV、低 MCH、高 MCHC、赤血球数および網状赤血球数増加) を示していた。腸間膜リンパ節は肥大しており、また腎臓表面に軽度の陥凹形成が認められた。膵臓に重度の変性が、脾臓、腎臓、切歯、眼ならびに骨に病理学的変化が認められた。全ての雄において、精巣で精細管の低形成が様々な程度で認められ、さらに前立腺や精嚢も発育不全を示していた。雌では 1 匹を除く全てにおいて、子宮の発育不全が認められた。

これ以外の群のラットは全て、13 週間の混餌投与の最後まで生残した。0.2% 群では、血漿 ALAT、アルカリホスファターゼおよびクレアチンキナーゼの上昇が雄に、血漿クレアチンキナーゼの上昇が雌において認められた。血漿総コレステロール値は、雌雄両方で減少した。これらの変化は統計学的に有意であったが、絶対値としてはわずかであった。0.05 および 0.2% 群では、血液学的パラメータに変化は見られなかった。腹部の脂肪量が、用量依存的に 0.05 および 0.2% 群の雄で減少していた。腸間膜リンパ節の肥大が、0.2% 群では雄の 20 匹中 6 匹に、0.05% 群では雄の 1 匹に認められた。顕微鏡学的検査では、脛骨の骨幹端における骨小柱数の減少が、0.2% 群の雄 5 匹および雌 3 匹に認められ、雄 4 匹と雌 1 匹では、大腿骨の骨幹端においても同様の減少が認められた。0.2% 群の雌雄両方において、膵臓細胞の壊死が認められ、0.05% 群においても、統計学的に有意ではないが、その様な所見を有する動物の数のわずかな増加 (雄 3 匹および雌 1 匹) が認められた。この膵臓細胞の壊死は、対照群の雄 1 匹でも認められている。脾臓の赤脾髄における有色素マクロファージ数の減少が、0.2% 群の雌雄両方で認められた。この減少は、0.05% 群の雄でも、わずかながら認められた。生殖器官においては、0.05% 群でも 0.2% 群でも、特に影響は示されなかった。

膵臓細胞の壊死は、0.05% 群では統計学的に有意ではなく、対照群の雄 1 匹でも認められて

おり、また脾臓における有色素マクロファージの減少は、0.05%群では軽微であり血液学的変化が何も認められていないことから、0.05%が NOAEL と考えられる。この濃度は、雄と雌でそれぞれ 31.52 および 35.78 mg (モノグリセロール亜鉛)/kg 体重の用量に相当する。したがって、この試験における NOAEL は、31.52 mg/kg 体重[約 13.26 mg (Zn²⁺)/kg 体重]となる (Edwards and Buckley, 1995)。

吸入曝露

適切な吸入毒性データは、得られていない。

経皮曝露

経皮毒性のデータは、得られていない。

4.1.2. 7.2 補足的な動物試験

経口曝露

硫酸亜鉛

C3H マウスの 1 群 150 匹への飲水投与試験が行われている。硫酸亜鉛(詳細不明)が、0.5 g/L の濃度で 1 年間投与された[この濃度は、七水和物が用いられたとすれば、約 100 mg (ZnSO₄)/kg 体重、約 22.6 mg (Zn²⁺)/kg 体重に相当する]。投与終了後 2 ヶ月間の観察期間が設けられ、対照群も置かれた。1 ヶ月おきに、対照群および被験物質投与群の 5 匹ずつを対象に、血漿亜鉛、グルコースならびにインスリンの測定、および皮膚、肝臓ならびに脾臓中の亜鉛量の測定を行った。組織学的検査、組織化学的検査および顕微鏡学的検査を、副腎および膵臓について実施した。また、脳下垂体前葉について、顕微鏡学的検査のみを実施した。被験動物の健康状態は、試験期間を通じて良好に推移した。副腎の肥大(細胞の肥大)、および膵島や副腎皮質束状帯細胞の肥大や空胞化が、3 ヶ月目から進行し始めた。下垂体のあらゆる型の細胞に肥大化が見られるなど、下垂体前葉の機能亢進を示す変化が認められた。他のパラメータは全て、試験期間を通じて変化を示さなかった。この試験は、投与された亜鉛が内分泌器官に及ぼす影響を調べ、そうした影響が体内の様々な部位の亜鉛濃度に生じた変化とどの様な相関性を示すかを検討するために実施された (Aughey *et al.*, 1977)。

ミンク(各群雌雄 3 匹ずつ)を用いた試験では、硫酸亜鉛が飼料中 1 kg 当たり 0、500、1000

ないしは 1500 mg 添加され、144 日間投与された。肝臓、膵臓および腎臓における亜鉛濃度が、飼料中の亜鉛含量の上昇に応じて上昇した。組織学的病変は、これらの臓器には認められなかった(Aulerich *et al.* 1991(r))。

塩化亜鉛

Wistar ラット(2 ヶ月齢、雄 16 匹、雌 14 匹)を用いた試験では、塩化亜鉛が、0.12 mg (Zn²⁺)/mL の濃度[1.2 mg (Zn²⁺)/kg 体重、25 mg (ZnCl₂)/kg 体重に相当]で、4 週間連続で飲水投与された。対照群が 1 群設けられている。被験物質投与群では、雄の体重が低下し、雌雄両方の飼料摂取量および飲水量が減少した。また、被験物質投与群のラットでは、統計学的に有意な減少が、末梢血中のヘモグロビン含量(対照値の 85%)および赤血球数において認められた。被験物質投与群の雄では、リンパ球数の増加による白血球数の上昇が認められた。骨髄における赤血球産生は、阻害されなかった。この試験は、亜鉛とバナジウムの同時経口投与による影響を調べるために実施されたものであるが、内容に乏しく、これ以上の詳細な記載が無いため、リスク評価に活用することができない(Zaporowska and Wasilewski, 1992)。

酸化亜鉛

脳における形態学および組織酵素学的変化を調べるために、特殊な試験が実施されている。Wistar ラット 12 匹を用いた試験では、1 日量として 100 mg の酸化亜鉛[約 600 mg (ZnO)/kg 体重、約 480 mg (Zn²⁺)/kg 体重]が、10 日連続で胃内投与された。対照群が 1 群設けられている。10 日後、ラットを屠殺し、脳を形態学および組織酵素学的に検査して変化を調べた。

形態学的変化として、白質における希突起神経膠細胞の中等度の増殖および神経項細胞の増殖を伴って、神経細胞の退行性変性が認められた。また、小血管および毛細血管壁に、内皮浮腫が認められた。組織酵素学的変化としては、ACP(酸ホスファターゼ)、ATPase(アデノシン三リン酸分解酵素)および BChE(ブチリルチオコリンエステラーゼ)の活性低下が示された。TTPase(チアミノピロホスファターゼ)および NSE(非特異的エステラーゼ)の活性は上昇していた。酵素学的変化の定量的な所見は詳述されていない。アルカリホスファターゼには変化は見られなかった。著者は、観察された形態学および組織酵素学的変化について、非特異的であり特徴的なものではなく、ほとんどがおそらく可逆的であると述べている(Kozik *et al.*, 1980)。被験動物の視床下部および脳下垂体について行われた神経分泌機能の検査では、視床下部の視索上核および室傍核の細胞において神経分泌が亢進していること、およびそれに伴って脳下垂体の神経分泌が減少し、下垂体神経葉の抗利尿ホルモン分泌が増高していることが示された(Kozik *et al.*, 1981)。これらの所見が脳に対する亜

鉛の有害影響を象徴するものなのか、それとも体内のどこかで起きた変化に続発して生じたものなのかは不明である。

フェレットを用いた試験では、4群(各群3~5匹)に対し、酸化亜鉛が、飼料中濃度0、500、1500ないしは3000 mg/kgで混餌投与された[それぞれ0、81.3、243.8および478.5 mg (ZnO)/kg 体重に相当]。高用量群[478.5 mg (ZnO)/kg 体重]の全ての動物(3匹)が、13日以内に切迫屠殺された。肉眼検査では、粘膜の蒼白化し、胃内への暗色液体貯留、腸内での血液貯留、瀰漫性壊死を伴う肝臓の橙色化、瀰漫性壊死を伴う腎臓の肥大化、さらに腸からの出血および重度の大球性低色素性貧血が認められた。組織学的検査では、ネフローゼと脾臓における髄外造血像が認められた。中用量群[243.8 mg (ZnO)/kg 体重]の被験動物(4匹)は、7、14および21日目に状態の悪化を示して死亡した(21日目の2匹の内1匹は切迫屠殺)。肉眼検査では、脂肪浸潤を伴う肝臓の褪色化および腎臓の肥大が認められた。組織学的所見は、高用量群と同様であった。血液像は、大球性低色素性貧血、網状赤血球増加および白血球増多を特徴としていた。

低用量群[81.3 mg (ZnO)/kg 体重]の被験動物(3匹)は、48、138および191日目に死亡した。脾臓で髄外造血像が見られた他は、毒性症状や病理学的変化は認められなかった(Straube *et al.*, 1980)。

Ellis *et al.* (1984)は、血統の異なる3種のヒツジを用い、1 kg 当たり亜鉛を31 mg (Zn²⁺)含有する飼料を与え、14および49日間の試験を実施した。ヒツジは、追加のZn²⁺ (ZnO由来)を、1 kg 当たり亜鉛を261ないしは731 mg (Zn²⁺)含有する飼料(14日間混餌投与試験)、または731 and 1,431 mg (Zn²⁺)含有する飼料(49日間混餌投与試験)により投与された。261 mg (Zn²⁺)/kgの飼料を投与された群では、影響は何も認められなかった。他の全ての群では、脾臓に病変が認められた。

Smith and Embling (1993(r))は、去勢したヒツジ42頭に、240 mg (Zn)/kg 体重の用量で、酸化亜鉛を週3回で4週間投与した。その結果、脾臓病変の発生率が上昇した。

吸入曝露

酸化亜鉛

雄のHartley モルモットを用いた試験では、被験動物が、0、2.3、5.9ないしは12.1 mg/m³の濃度の酸化亜鉛(平均粒径0.05 μmの超微粒子)に、1日3時間で連続1、2または3日間、鼻部のみ曝露された。それぞれの曝露期間の後、各群3匹ずつを屠殺して肺組織を顕微鏡学的に検査した。肺洗浄液の検査も行った。

12.1 mg (ZnO)/m³ の濃度での曝露では、肺洗浄液中の有核細胞の数が増加した。5.9 および 12.1 mg (ZnO)/m³ の濃度での曝露では、血中のタンパク質および好中球が増加し、β-グルクロニダーゼ、酸ホスファターゼ、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素およびアンギオテンシン転換酵素の活性が上昇した。これらの増加・上昇は、用量依存的であり、2 回目の曝露以降検出可能となり、3 回目の曝露でも全体的に増加・上昇した。肺における中心細葉性炎症を特徴とする有意な形態学的損傷が、5.9 および 12.1 mg/m³ 群で認められた。最低濃度(2.3 mg/m³)では、3 回の曝露により、肺洗浄液中の好中球数、および乳酸脱水素酵素ならびにアルカリホスファターゼ活性にわずかな変化が認められたが、この濃度では、形態学的な変化は示されなかった。これらの結果に基づくと、この試験では、2.3 mg (ZnO)/m³ がおよそその LOAEL とみなされる (Conner *et al.*, 1988)。

雄の Hartley モルモットを用いた別の試験では、被験動物が、6 mg/m³ の濃度の酸化亜鉛(平均粒径 0.05 μm の超微粒子)に、1 日 3 時間で 1~5 日間、鼻部のみ曝露された。対照群が 1 群設けられている。それぞれの日の曝露の後、3 匹ずつを屠殺し、肺組織を鏡検した。1、2 および 3 日目の曝露の後には、さらに 3 匹を屠殺し、それらの被験動物の肺洗浄液を検査した。酸化亜鉛への曝露により、総細胞数、好中球数、タンパク質含量が増加し、アンギオテンシン転換酵素、酸ホスファターゼ、アルカリホスファターゼおよび β-グルクロニダーゼの活性が上昇した。さらに、2 日目の曝露以降、中心細葉性炎症が、用量依存的に認められた (Conner *et al.*, 1986)。

やはり雄の Hartley モルモットを用いた別の試験では、被験動物が、0、2.7 ないしは 7 mg (ZnO)/m³ の濃度の酸化亜鉛(平均粒径 0.05 μm の超微粒子)に、1 日 3 時間で 5 日間曝露された。毎日の曝露後、5~8 匹について、肺機能測定が行われた。最後の曝露後、被験動物を屠殺した。高濃度曝露群では、曝露期間中、総肺気量と肺活量が徐々に低下(それぞれ 18% および 22%)した。4 日目には、一酸化炭素拡散能が、対照値より 30%減少した。肺の湿重量は 29%増加し、水腫が生じたことを示していた。2.7 mg (ZnO)/m³ の濃度での曝露では、測定されたパラメータに変動は見られなかった (Lam *et al.*, 1988)。

73 匹の雄の Hartley モルモットを用いた試験では、被験動物が、5 mg/m³ の濃度の酸化亜鉛(平均粒径 0.05 μm)に、1 日 3 時間で 6 日間、鼻部のみ曝露された。53 匹からなる対照群が 1 群設けられている。最後の曝露から 1、24、48 および 72 時間後に、肺機能テストが 38 匹を対象に実施され、それらの動物の気道の形態学的検査が行われた。さらに、上皮透過性の測定(1 および 24 時間後に 5 匹を対象に)および上皮細胞における DNA 合成の測定(24、48 および 72 時間後に 5 匹を対象に)も実施された。

肺活量、機能的残気量、肺胞換気量および一酸化炭素拡散能は全て低下し、最後の曝露から 72 時間経過しても正常値に戻らなかった。肺重量は炎症のため増加し、最後の曝露から

72 時間経過しても増加したままであった (Lam *et al.*, 1985)。

240 匹の雌の Wistar ラットを用いた試験では、各群 80 匹ずつが、15 mg (ZnO)/m³ の濃度の酸化亜鉛に、1 日 1、4 または 8 時間で週 5 日曝露された。14、28、56 および 84 日目に各群 20 匹ずつを屠殺し、それらの動物の肺における亜鉛含量を測定した。

1 日当たりの曝露時間が最も長い群では、試験期間の長さに関わらず肺の乾燥重量値が最も大きくなったが、亜鉛含量はほぼ一定のままであると思われた。肺における亜鉛含量の絶対値および相対値 (肺組織の乾燥重量に対する割合) は、試験期間の長さの影響を受けた。84 日間の曝露後における亜鉛含量は、1 日当たりの曝露時間に関係なく、14 日間曝露時と比べて有意に高値であった (Dinslage-Schlünz and Rosmanith, 1976)。

4.1.2.7.3 ヒトにおける試験

ヒトにおいて金属亜鉛や亜鉛化合物を用いて行われた経口投与試験の重要なデータは、全てがこの項に記載されている。

食事から摂取される亜鉛の量については、ここに取り上げた全ての試験において測定が行われていない。米国食品医薬品局 (FDA) が 1982~86 年にかけて実施したトータルダイエツトスタディによると、成人男性 (25~35 歳) は、1 日当たり平均 16.4 mg (Zn²⁺) を消費する。また、成人女性 (25~30 歳) は、1 日当たり平均 9.72 mg (Zn²⁺) を消費する (Pennington, 1989)。

硫酸亜鉛

47 人 (女性 26 人および男性 21 人) の健康なボランティアを対象に行われた二重盲検交差試験では、220 mg の硫酸亜鉛を含むカプセルが 1 日 3 回毎回の食事ごとに投与された [1 日当たりの総投与量は 150 mg (Zn²⁺) となり、これは男性で約 2.1 mg (Zn²⁺) kg 体重/日、女性で約 2.5 mg (Zn²⁺) kg 体重/日に相当する]。投与期間は 6 週間であった。血漿中の銅および亜鉛の濃度、コレステロール値、低密度リポ蛋白 (LDL) コレステロール値、高密度リポ蛋白 (HDL) コレステロール値、血清中のセルロプラスミン値、および赤血球スーパーオキシドジスムターゼ (ESOD) が測定された。女性の 84% および男性の 18% において、頭痛、悪心、吐き気、食欲不振および痙攣性の腹痛といった症状が見られたと報告されている。この試験の著者は、胃部不快感は、体重減少を伴って生じ、それにつれて硫酸亜鉛カプセルは、少量の食事 (朝食や朝のお茶) と一緒にかあるいは食事無しで摂取されるようになったと報告している。血漿亜鉛濃度は男性と女性の両方で有意に上昇した (それぞれ 36% および 57%)。血漿銅濃度は有意な変動を示さなかった。血漿総コレステロール値および HDL コレステロ

ール値は、男性でも女性でも変化を示さなかった。女性では、LDL コレステロール値が、2.38 から 2.17 mmol/L へと有意に減少した。女性では、血清セルロプラスミン値や ESOD にも減少が見られた(それぞれ 13%および約 20%の減少) (Samman and Roberts, 1987; 1988)。

Hooper *et al.* (1980) は、ヒトが亜鉛の経口投与した場合にリポタンパク値へどのような影響が及ぶかを調べた。12 人の健康な成人男性に、220 mg の硫酸亜鉛を含むカプセル(亜鉛原子として 1 カプセル当たり 80 mg) が、1 日 2 錠(440 mg) 投与された[総投与量は 160 mg (Zn^{2+})/日では約 2.3 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日に相当する]。各カプセルは、主食とともに摂取された。投与期間は 35 日間であった。空腹時の脂質の値が毎週測定された。測定は、亜鉛の投与終了後は 2 週間置きに行われ、最後は試験開始の 16 週間後であった。HDL コレステロール値は、7 週目の時点で 25%減少していたが、16 週目には基準値に戻っていた。血清総コレステロール値、中性脂肪値および LDL コレステロール値には変動は見られなかった。

備考 : Samman and Roberts (1987/1988) の試験のデータと Hooper *et al.* (1980) の試験のデータを比較すると、用量的に不一致な点が存在する。前者の試験では、硫酸亜鉛の用量は 660 mg/日であり、150 mg (Zn^{2+})/日に相当するとしているが、後者の試験では、440 mg/日が 160 mg (Zn^{2+})/日となると述べられている。この不一致は、Samman and Roberts の試験においては硫酸亜鉛は七水和物の形態で投与され、Hooper *et al.* の試験では一水和物が用いられたと想定する以外に説明がつかない。硫酸亜鉛の形態についてはどちらの試験でも明確に述べられていないため、ここに示した用量データは、それぞれの文献で示されたデータと同じものとしてある。

Chandra (1984) は、亜鉛が免疫反応や血清リポタンパク質の値に及ぼす影響を調べた。11 人の成人男性に、硫酸亜鉛が 300 mg (Zn)/日の用量[通常食事で摂取される以外の亜鉛として ; 約 4.3 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日に相当]で、1 日 2 回に分けて投与された。食事から摂取される亜鉛の量は、約 11 mg/人/日であった。被験者のいずれにも、有害な副作用の徴候は認められなかった。投与開始後 4 および 6 週間の時点では、血清中の亜鉛濃度が有意に上昇しており、またフィトヘマグルチニン (PHA) により生じるリンパ球刺激反応が低減していた。LDL コレステロール値がわずかに増加しており、それとともに HDL コレステロール値が有意に減少していた。

以下の 2 件の試験では、亜鉛を薬物として慢性下腿潰瘍の治療に用いた場合の副作用が調べられている。

- 二重盲検試験において、13 人の被験者に、200 mg の硫酸亜鉛[約 135 mg (Zn^{2+})]が 18 週間の間に 3 回投与された。別の 14 人にはプラセボが投与された。亜鉛投与に関連した腎毒性の徴候は報告されていない。しかし、この試験は記述が不十分であり、結果の意義

を十分にくみ取ることができない(Hallbook and Lanner, 1972)。

- Greaves and Skillen(1970)の試験では、18人の被験者に、220 mgの硫酸亜鉛[約150 mg (Zn^{2+})]が16~26週間の間に3回投与された。いくつかの臨床生化学的および血液学的パラメータが測定されたが、血液毒性、肝毒性および腎毒性を示唆する変化は認められなかった。

グルコン酸亜鉛

Black *et al.*(1988)の12週間二重盲検試験では、健康な男性ボランティアで構成される2群に、グルコン酸亜鉛の錠剤が、50ないしは75 mg(Zn)/日[約0.71ないしは1.1 mg (Zn^{2+})/kg体重/日に相当]の用量で、12週間投与された。対照群にはプラセボの錠剤が投与された。血清コレステロール値、中性脂肪値、LDLコレステロール値および超低密度リポタンパク(VLDL)コレステロール値には、変化は見られなかった。

Yadrick *et al.*(1989)の10週間単純盲検経口投与試験では、9人の健康な女性ボランティアに、グルコン酸亜鉛が50 mg (Zn^{2+})/日[約0.83 mg (Zn^{2+})/kg体重/日に相当]の用量で投与され、別の9人の健康な女性ボランティアには、グルコン酸亜鉛50 mg (Zn^{2+})/日と硫酸鉄(II)一水和物50 mg (Fe^{2+})/日が投与された。投与は食事を介して1日2回に分けて行われた。亜鉛の追加処置が体内の鉄や銅や亜鉛の状態に及ぼす影響が調べられた。被験者(平均体重60 kgを想定)は、それぞれ自身の対照の役目も担った。両群とも、赤血球スーパーオキシドジスムターゼ(ESOD)活性が、10週間後の時点で47%減少していた。亜鉛だけの追加処置を受けた群では、10週間後の時点で、ヘマトクリット値と血清フェリチン濃度が有意に減少(それぞれ4%および23%減少)していたが、ヘモグロビン含量は不変であった。亜鉛と鉄の追加処置を受けた群では、血清フェリチン濃度が有意に増加(25%)したが、ヘマトクリット値やヘモグロビン含量に変化は無かった。両群とも、ESODと同様に銅の状態の指標となるセルプラスミン濃度には変化が無かったが、血清亜鉛濃度は有意に上昇した。この試験におけるNOAELは、0.83 mg (Zn^{2+})/kg体重/日未満である。

Fischer *et al.*(1984)は、二重盲検法により、13人の若年男性(平均体重70 kgを想定)に、グルコン酸亜鉛を50 mg (Zn^{2+})/日の用量で1日2回に分けて6週間投与し[約0.71 mg (Zn^{2+})/kg体重/日に相当]、ESOD活性が有意に15%減少したことを報告している。銅の状態を示す他の2つの指標、すなわちセルプラスミンおよび血漿中の銅濃度には、投与開始2、4および6週間の時点で対照群と比べて変化は見られなかったが、血清亜鉛濃度は、亜鉛追加処置開始の2週間目以降、有意に上昇した。血清亜鉛濃度とESOD活性は、6週目の時点において、有意な逆相関関係を示していた。

Yadrick *et al.* (1989) の試験と Fischer *et al.* (1984) の試験には、以下の様な難点がある。

- 試験期間が短く、被験者数も少ない。
- Yadrick の試験では、プラセボ対照群が設けられていない。ただし、全ての被験者が自身自身の対照の役割も担っている。
- 食事に含まれる亜鉛(および鉄や銅)の量に関する情報を欠いており、また食事の内容管理が行われていない。
- 身体検査や健康診断が行われていない。

ここ数年にわたり、業界では、米国農務省のグランドフォークス人類栄養研究所と協力して、ボランティアを対象とした一連の試験を賛助している。これらの試験は最近終えられたが、中等度の亜鉛欠乏および中等度の亜鉛過剰の効果を、銅などの無機栄養素の摂取量に関連させて評価するものであった。こうした試験が行われたのは、非常に多くの量の亜鉛により銅の取り込みおよび代謝が阻害されることが示されており、中等度に高用量の亜鉛が吸収された場合、やはり銅代謝に対して拮抗性が示されるのかどうか疑問として存在していたためである。これらの試験により、亜鉛の欠乏や過剰に関連する微妙な生化学的変化を、銅の状態の関数として表す方法が示されるのではないかと、また、亜鉛の状態の監視に応用可能な曝露のバイオマーカーを見い出せるのではないかと予想された。現在、これらのうち2件の結果が、一般に入手可能となっている(以下の Davis *et al.* の試験および Milne *et al.* の試験を参照)。

Davis *et al.* (2000) は、適切に管理された代謝病棟において、25 人の健康な閉経女性(平均 64.9 歳)を対象に試験を行っている。亜鉛の状態を示す様々な指標を測定し、それらの指標がヒトにおける亜鉛の状態を実用的に推し量るマーカーとして有用かどうかを評価した。被験者は2群に分けられ、200 日間の厳密な管理の下、10 日間の順化期間の後、90 日間別々の処方食を与えられ、さらに10 日間の順化期間の後、90 日間別々の処方食を与えられた。被験者の食事は、1 日当たりの総エネルギー量が 8.4 MJ (2000 kcal) であった。順化期間中、被験者は、1 日あたり 2 mg の銅と 9 mg の亜鉛を含む食事を与えられた。90 日間別々の処方食を供給するに当たり、被験者を無作為に2群に分けた。一方の群(n = 12)には銅含量が少ない処方食[低銅 ; 1 mg (Cu)/日]が、他方の群(n = 13)には銅含量が多い処方食[高銅 ; 3 mg (Cu)/日]が与えられた。この90 日間、両群には亜鉛の追加処置は行われなかった[低亜鉛 ; 3 mg (Zn)/日]。順化期間を置いた後、さらに90 日間別々の処方食が供給され、この期間には両群に対し、1 日あたり 50 mg の亜鉛が追加処置された[高亜鉛 ; 53 mg (Zn)/日]。亜鉛の追加処置にはグルコン酸亜鉛が、銅の追加処置には硫酸銅が用いられた。血液試料は、各順化期間中および処方食期間中(月 1~2 回)採取され、亜鉛の状態を示す様々な指標の分析に供された。

赤血球ならびに赤血球膜中の亜鉛濃度、血漿ならびに赤血球膜のアルカリホスファターゼ

活性、および赤血球膜の 5'ヌクレオチダーゼ活性は、処方食が異なっても、統計学的に有意な相違を示さなかった。

亜鉛の追加処置により、血漿中の亜鉛濃度、単核球の 5'ヌクレオチダーゼ活性および細胞外スーパーオキシドジスムターゼ活性は有意 ($P < 0.0001$) に上昇した。これら 3 つの指標に対する亜鉛追加の影響は、銅摂取量に依存して現れたが、血漿中の亜鉛濃度の上昇は統計学的に有意ではなかった。単核球の 5'ヌクレオチダーゼ活性については、亜鉛の追加処置による上昇は、被験者が高銅処方食を与えられていた場合に顕著であり (92% 上昇)、低銅処方食を与えられていた場合にはそれほど明確ではなかった (5% 上昇)。血漿中の亜鉛濃度および細胞外スーパーオキシドジスムターゼ活性への影響は、被験者が低銅処方食を与えられていた場合の方が、より顕著に現れた (低銅の場合と高銅の場合とで、それぞれ 35% と 22%、および 21% と 8%)。銅の摂取量に関係なく、亜鉛の追加処置により、比較的軽度の上昇が、遊離チロキシン濃度 (7~8%) ならびにトリヨードチロニン濃度 (7~9%)、血小板中亜鉛濃度 (10~13%) および骨特異的アルカリホスファターゼ活性 (18%) に認められた ($0.002 < P < 0.08$)。影響が見られた指標は、以下の例外を除き、いずれの処方食の場合でも、順化期間中の値より上昇していた。低銅/低亜鉛の場合における細胞外スーパーオキシドジスムターゼ活性、低銅/低亜鉛、低銅/高亜鉛ならびに高銅/低亜鉛の場合における単核球の 5'ヌクレオチダーゼ活性、および全ての処方食の場合におけるチロキシン濃度ならびにトリヨードチロニン濃度。血漿中の亜鉛濃度は、低亜鉛期間中は健康な成人の正常範囲 (10.7~18.4 $\mu\text{mol/L}$) 内であったが、亜鉛の追加処置が行われている期間には、被験者 23 人中 8 人が、18.4 $\mu\text{mol/L}$ を超える値を示した。

亜鉛の追加処置による数値の低下は、血漿中の 5'ヌクレオチダーゼ活性 ($P < 0.0001$)、甲状腺刺激ホルモン濃度 ($P < 0.07$) および赤血球中のスーパーオキシドジスムターゼ活性 (ESOD; 統計学的に有意ではない) において認められた。これら 3 つの指標については、高銅処方食を与えられた場合の方が、幾分低下率が大きかった (低銅の場合と高銅の場合とで、それぞれ 28% と 29%、5% と 9%、および 3% と 5%)。ただし、血漿中の 5'ヌクレオチダーゼ活性と ESOD は、高銅処方食を与えられていた場合の方が、低銅処方食の場合よりも高値であった (高銅/低亜鉛の場合にのみ、順化期間中の値より上昇)。甲状腺刺激ホルモンの値は、いずれの処方食の場合でも、順化期間中の値より低下した。データはわずかであるが、低銅処方食を与えて亜鉛の追加処置を行った場合、血小板中におけるアミロイド前駆タンパク質の発現が抑制されることが示唆された (Davis *et al.*, 2000)。

備考：低銅処方食を与えられたボランティア 2 人のデータが含まれていない。この 2 人には、心電図で著しい変化が現れたため、銅の追加処置を行う必要が生じた。

Davis *et al* (2000, 上述) が記載した試験においては、さらに別のパラメータ (銅や鉄の状態に

関する指標)が調べられており、それにより中等度の亜鉛の過剰ないしは欠乏が、低銅処方食ないしは高銅処方食を与えられたヒトにおける銅の代謝および利用に対し、どのような影響を及ぼすかが検討されている。こうした目的のため、それぞれの90日の処方食期間において、終わりの78日間に尿と糞便が採取され、銅および亜鉛の含有量が測定された(糞便試料は6日間分を合わせたもの)。1週間ごとに血液試料が採取され(1晩12時間の絶食の後)、銅や鉄の状態に関する様々な指標の分析に供された。

低銅処方食を与えられていた女性は、銅のバランスが負に傾いていた。亜鉛の摂取(低亜鉛ないしは高亜鉛)は、この状態を改変しなかった。高銅処方食を与えられていた女性でも、亜鉛の摂取が少ない場合、銅のバランスが負に傾いた。亜鉛の摂取を多くさせると、高銅処方食を与えられていた女性の銅バランスは正に傾き、これは、糞便中に失われる食事性の銅の量が減少した結果によるものと考えられた。尿中に排泄される銅の量は、影響を受けなかった。

亜鉛のバランスは、食事からの亜鉛摂取量を反映していた(亜鉛摂取量が多くなるとバランスはより正に傾いた)が、銅の摂取量による有意な影響は受けなかった。

銅の状態に関する指標は、処方食により、様々な程度で影響を受けた。血清セルロプラスミン濃度(酵素学的に測定)、HDLならびにVLDLコレステロール濃度、中性脂肪濃度、および赤血球中の亜鉛濃度は、処方食が異なっても、統計学的に有意な相違を示さなかった。

亜鉛の摂取量に関係なく、血漿中の銅濃度は、銅含量が少ない食事を与えられていた場合、多い場合よりも有意($P < 0.07$)に低値を示した。血漿中の銅濃度は、いずれの処方食が与えられた場合でも、順化期間中の値よりも低下したが、この低下の程度は、低銅処方食を与えられていた場合よりも、高銅処方食を与えられていた場合の方が小さかった($P < 0.03$)。

銅の摂取量に関係なく、亜鉛の追加処置により、以下の値が上昇ないしは低減した。上昇したもの：血清セルロプラスミン濃度(酵素学的に測定; 4~8%, $P < 0.05$)、血漿亜鉛濃度(19~32%, $P < 0.0001$)、および血小板中のチトクロムcオキシダーゼ活性(血小板数に基づく値; 19~27%, $P < 0.0007$)。低減したもの：赤血球中の銅濃度(8~16%, $P < 0.0008$)、全血中のグルタチオン濃度(8~12%, $P < 0.009$)、特異的セルロプラスミン活性(酵素学的に測定したものと免疫反動的に測定したものの比として定義される; 8~11%, $P < 0.0003$)、および赤血球中のグルタチオンペルオキシダーゼ活性(11~15%, $P < 0.002$)。これらの指標は、以下の例外を除き、いずれの処方食の場合でも、順化期間中の値よりも上昇した。免疫反応により測定した血清セルロプラスミン濃度(いずれの処方食の場合でも低下)、血小板中のチトクロムcオキシダーゼ活性(高銅/低亜鉛の場合に低下)、特異的セルロプラスミン活性ならびに全血グルタチオン濃度(低銅/高亜鉛ならびに高銅/高亜鉛では実質的に順化期間中の値

と同等)、および赤血球中の銅濃度(低銅/低亜鉛では実質的に順化期間中の値と同等、低銅/高亜鉛では減少)。

それほど顕著ではなかったが、亜鉛の追加処置による有意な減少が、ESOD 活性(5~7%, $P < 0.03$)、総コレステロール濃度(3~4%, $P < 0.005$)、および LDL コレステロール濃度(2~6%, $P < 0.003$)において認められた。ESOD への影響は、銅摂取量に依存的($P < 0.0001$)であり、順化期間中の値と比較すると、銅の摂取量が少ない場合には ESOD 活性が減少し、多い場合には上昇した。総コレステロール濃度および LDL コレステロール濃度は、低銅処方食を与えられていた場合、高銅処方食を与えられていた場合よりも有意(それぞれ $P < 0.02$ および $P < 0.03$)に高値を示した。この結果からは、これら 2 つの指標が銅摂取量に依存して変化することが示唆されるが、低銅処方食を与えられていた女性のこれらの指標の数値は、順化期間中において、高銅処方食を与えられていた女性の数値よりの高かったことに留意が必要である。

著者は、鉄の状態に関して測定した指標(血清鉄含量、ヘモグロビン含量、ヘマトクリット値およびトランスフェリン飽和度)には、ヘモグロビン含量を除き、処方食を与えられたことによる影響は認められなかったと述べている(データは示されていない)。ヘモグロビン含量は、低銅処方食と高銅処方食のいずれにおいても、亜鉛摂取量が多い方が亜鉛摂取量が少ない場合よりも低値であった。ヘモグロビン含量の低下は、亜鉛の追加処置が行われていた期間の最後の 1 ヶ月に特に発生しており、これはおそらく血液採取が頻繁に行われたためと思われた。

備考:別の 2 人のボランティア(1 人には低銅処方食が、もう 1 人には高銅処方食が与えられた)から得られたデータは含まれていない。この 2 人は、亜鉛含量が非常に高い入れ菌用接着剤を使用していたため、対象から除外された。

Davis et al. (2000) および Milne et al. (2001) によって報告されたグランドフォークス人類栄養研究所の試験に関する特記事項

1. 著者との私的なやり取りによると、最初の順化期間中における ESOD の活性値には大きな個人差が認められ、低銅処方食群に振り分けられた女性における ESOD 活性は、高銅処方食群に振り分けられた女性における活性値よりもかなり高かったようである。このことから、ESOD という指標に関しては、被験者の群分けが最適に行われておらず、他の指標についても同様である可能性がある。
2. 頻繁な血液試料採取(1 ヶ月当たり平均 235 mL)により、被験者の生理的状态が(ヘモグロビン含量に示される様に)悪化した可能性がある。
3. 被験者は、自身の対照としての役目も担っていた。それぞれの処置(すなわち低亜鉛および高亜鉛)で得られた数値は、最初の順化期間中の数値と比較された。しかし、2 回目の

処置(高亜鉛)は1回目の処置と無関係ではないため、試験デザインが最適とは言えない。

ヒトを対象とした上述の試験では、食事を介して高いもしくは中等度に高い用量の亜鉛を摂取した場合に、銅に関連していることが知られているいくつかの指標にどのような影響が及ぼされるかが検討されている。これらの指標には、血漿中の亜鉛ならびに銅濃度、コレステロールならびにリポタンパクコレステロール濃度、およびいくつかの酵素活性(ESODやセルロプラスミンなど)が含まれている。亜鉛の主要な役割が、様々な酵素の構成要素として働くことであること考慮すると、酵素活性への亜鉛の影響は、血漿中や組織中の亜鉛濃度の変化よりも先に現れるものと考えられる。亜鉛の追加処置を受けたヒトでは、血漿中の亜鉛濃度は上昇したが、血漿中の銅濃度は影響を受けなかった。これより以前に行われた Samman and Roberts (1987/1988)の試験、Yadrick *et al.* (1989)の試験および Fischer *et al.* (1984)の試験では、亜鉛の追加処置により ESOD 活性の低下が認められている。Samman and Roberts (1987/1988)の試験でセルロプラスミン活性の低下が認められていることから、ESOD 活性の低下には、銅欠乏が関与しているものと考えられる。Davis *et al.* (2000)や Milne *et al.* (2001)の試験はそれらより新しく、より洗練されているが、ESOD の低下はわずかなものでしかなく、銅バランスの変化との相関性も認められなかった。これらの試験では、より銅欠乏に特異的な徴候(血清セルロプラスミンおよび血小板チトクロム c オキシダーゼの低下)が認められ、閉経女性においては、低銅状態により生じる変化に関しては、亜鉛の摂取が適切よりも下回る場合の方が、中程度に高用量の亜鉛を摂取する場合よりも影響が大きくなること示されており、ESOD 低下の臨床的意義は疑わしいと言える。また、高用量の亜鉛を摂取した場合における ESOD 活性のわずかな低下は、銅代謝の障害によって引き起こされたものではなく、血清グルタチオンおよび赤血球グルタチオンペルオキシダーゼについての所見と合わせて、酸化ストレスが低減された状態を反映したものであるとも言えるかも知れない。いずれにせよ、グランドフォークス人類栄養研究所の試験(Davis *et al.*, 2000; Milne *et al.*, 2001)から導かれる結論は、処方食が異なることによって、非常に微妙な変化が生じるということだけである。

様々な試験(Fischer *et al.*, 1990; Barnett and King, 1995; Verhagen *et al.*, 1996 and Puscas *et al.*, 1999 など)から、健康なボランティアにおける ESOD 活性は、少なくとも 10~20%の係数で変動し得ると結論付けられる。これらの著者によって報告されている ESOD の絶対値をグランドフォークス人類栄養研究所の試験で得られた値と比較することは不可能であるが、Davis *et al.* (2000)や Milne *et al.* (2001)によって報告されている活性の相対的变化は、前述の ESOD 活性の変動係数と比較することができ、その結果、グランドフォークス人類栄養研究所の試験で認められた変化は、自然変動の範囲内であることが示されている。さらに、Fischer *et al.* (1990)は、様々な年齢の男性および女性ボランティアからなるヒトの大きな群を対象とした試験を行い、セルロプラスミンと血清中の銅濃度との間には高い相関性があるが、

血清中の銅濃度と ESOD との間には相関性が認められないことを明示している。ESOD 活性は、性別、年齢、閉経前か後か、エストロゲン使用状態(閉経後の女性などにおける)、喫煙や飲酒習慣、または身体的運動量とは無関係であった。

ESOD の全般的な、あるいは赤血球内における機能は、スーパーオキシドアニオンラジカルが過酸化水素と酸素に不均化するのを触媒することであり、これによって、酸素輸送中に発生するそうしたラジカル中間体が、細胞構成成分や細胞構造を損傷するのを防いでいる。スーパーオキシドアニオンラジカルの濃度は、病的状態にない場合、おおよそ 0.01 ~0.001 nmol/L である。一方、過酸化水素は、赤血球内に豊富に存在するカタラーゼによって分解されるが、濃度は 1~100 nmol/L である。我々の知るところでは、細胞内のフリーラジカル濃度の変化と組織損傷との間の直接的な関係性を示す実測データは、ほとんど得られていない。

ESOD 活性に相当程度の低下が生じると、赤血球内のスーパーオキシドアニオンラジカル濃度が上昇し、破壊的な影響を引き起こされる可能性がある。そうした影響は、例えば血液学的パラメータの変化(溶血亢進、赤血球数減少、網状赤血球増加など)によって検出されるはずである。しかし、こうした所見は、いずれの試験でも観察されていない。グランドフォークス人類栄養研究所の試験(Milne *et al.*, 2001)では、亜鉛を 50 mg (Zn^{2+})/日の用量で投与して ESOD 活性の 3~7%低下を引き起こしたが、ヘマトクリット値、血清鉄およびトランスフェリン飽和度には影響は認められなかった。Yadrick *et al.*(1989)は、亜鉛を 50 mg (Zn^{2+})/日の用量で 10 週間にわたり投与して ESOD 活性が 47%低下したことを報告しているが、ESOD がこれほど低下しても、認められたヘマトクリット値の低下はわずかであった。

グランドフォークス人類栄養研究所の試験では、臨床生化学的パラメータに微妙な変化が認められたことを報告しているが、これらの変化は、亜鉛が銅の恒常性の攪乱を引き起こしたことを示しているとは言い難い。これらの生化学的変化は、検出可能な水準の赤血球の機能低下を引き起こしていない。つまり、これらの変化はたとえあったとしても、生物学的意義が小さいと言える。したがって、亜鉛の追加処置を受けた女性における NOAEL は、50 mg (Zn^{2+})/日と結論付けられる。

4.1.2.7.4 反復投与毒性についての結論

酸化亜鉛の反復投与毒性に関するデータは、ある程度得られている。亜鉛化合物が摂取された場合の生物学的活性は亜鉛陽イオンによって決定付けられるという想定に基づき、他の亜鉛化合物に関するデータも活用した。

動物試験

動物への経皮適用による反復投与毒性試験のデータは、得られていない。

吸入曝露については、主として短期(3~6日)試験のデータが得られている。モルモットに酸化亜鉛の超微粒子を3日間吸入させた試験では、肺洗浄液中の好中球数、乳酸脱水素酵素活性およびアルカリホスファターゼ活性の変化が示されたが、おおよそのLOELとして、2.3 mg (ZnO)/m³(1日3時間)という値が得られた。これより高濃度になると、肺胞洗浄液中のタンパク質濃度、好中球数および酵素活性の上昇が示され、肺組織の中心細葉性炎症も有意に認められた。モルモットに酸化亜鉛の超微粒子を2.7 mg (ZnO)/m³(1日3時間で5日間)の用量で吸入させた場合には、肺機能パラメータに変化は認められなかったが、7 mg (ZnO)/m³(1日3時間で5日間)の場合および5 mg (ZnO)/m³(1日3時間で6日間)の場合には、全肺気量および肺活量が徐々に低下し、一酸化炭素拡散能も低減し、これらの変化には肺の炎症性変化や水腫が付随していた。酸化亜鉛の超微粒子の煙を用いた試験におけるこれらの知見の意義は、業務用酸化亜鉛の観点からは、業務用の場合粒子径がもっと大きく、異なる毒性学的性質を有する可能性があるため、不明確である。

硫酸亜鉛を用いた2件の13週間経口試験(1件はラット、もう1件はマウス)、およびモノグリセロール亜鉛を用いたラットにおける13週間経口試験のデータが得られており、モノグリセロール亜鉛を用いた試験において、もっとも小さな経口NOAEL値が示されている。この総括的なNOAEL値は、31.52 mg(モノグリセロール亜鉛)/kg体重[約13.26 mg (Zn²⁺)/kg体重]である。これより高い用量の場合、ラットにおける最も重要な影響として、低銅血症および膵臓や脾臓における著しい変化(膵臓の腺房細胞の巣状変性および壊死、脾臓の担色素マクロファージの減少)が認められた。なお、以下の点に注意が必要である。硫酸亜鉛を用いた試験では、マウスやラットに13週間に至るまで1kg中に30,000 mgの硫酸亜鉛七水和物を含む飼料[飼料1kg中6,794 mg (Zn²⁺)に相当]を与えられ続けることができたが、モノグリセロール亜鉛を用いたラットの13週間試験では、飼料中のモノグリセロール亜鉛濃度が1.0%[飼料1kg中4,420 mg (Zn²⁺)に相当]でも被験動物に対して非常に有害性が示され、人道的見地から9週間で切迫屠殺を行わざるを得なかった。

ヒトにおける試験

男性および女性に、カプセルに入れられた硫酸亜鉛を用いて150 mg (Zn²⁺)/日の追加処置を行った試験では、女性の方が男性よりも、亜鉛の高用量摂取による影響に対して感受性が高い様に思われた。頭痛、吐き気、胃部不快感といった臨床症状は女性の方でより頻繁に認められ、血清セルロプラスミンおよびESOD活性は、女性では低下したが男性では変化

は認められなかった。古い試験の中には、ヒトに対し、中程度に高用量で亜鉛の追加処置〔50 mg (Zn²⁺)/日〕を行ったものがいくつか存在するが、そこでも ESOD 活性の低下が認められており、またこの影響に対する感受性は、やはり女性の方が高いと思われた。この結果から、ESOD の低下は、銅の状態を示す鋭敏な指標と考えられた。ただし、近年に同じ用量で行われたより洗練された試験では、ESOD の減少はわずかであり（銅バランスの変化と関連していない）、より銅欠乏に特異的な徴候（血清セロプラスミンおよび血小板チトクロム c オキシダーゼの低下）が認められており、これらの知見から、閉経女性においては、低銅状態により生じる変化に対しては、亜鉛の摂取が適切よりも下回る場合の方が、中程度に高用量の亜鉛を摂取する場合よりも影響が大きくなることが示されている。これらを考慮し、認められた ESOD の低下の程度をその活性値の自然変動幅と比較すると、亜鉛によって誘発された ESOD 活性低下の生物学的意義は、あったとしてもわずかであるとみなされる。これには、ESOD の低下が銅代謝の障害によって引き起こされたものとは考えられないことも考慮に入れられる。

総括すると、ヒトに亜鉛（グルコン酸亜鉛として）の追加処置が行われた試験から、女性の方が、亜鉛の高用量摂取による影響に対して感受性が高いこと、および 50 mg (Zn²⁺)/日が NOAEL であることが結論として導かれる。LOAEL の 150 mg (Zn²⁺)/日では、臨床症状および銅の恒常性攪乱の徴候が認められた。ヒトの経口 NOAEL である 50 mg (Zn²⁺)/日が、リスクの総合評価において考慮される。

4.1.2.7 変異原性

酸化亜鉛の遺伝毒性に関するデータが、いくつかの *in vitro* 試験および 1 件の *in vivo* 試験から得られている。他の亜鉛化合物のデータも活用される。これは、全ての亜鉛化合物（金属亜鉛を含む）が、摂取されるとイオン化学種に（少なくとも一部は）転換され、それで生じた亜鉛陽イオンが、元の亜鉛化合物の生物学的活性を決定する要因となっているという、基本的な想定に基づいている（4.1.2.1 節を参照）。

Zn²⁺の遺伝毒性評価に有用と考えられた試験を、Table 4.14 に要約した。

Table 4.14 Mutagenicity data

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results	Form	Reference
<i>In vitro</i> studies					
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	Ames test; 1,000–5,000 µg/plate	negative	oxide	Crebelli et al. (1985)*
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (3 strains)	Ames test	negative	oxide	Litton Bionetics (1976)*

Table 4.14 continued overleaf

Table 4.14 continued Mutagenicity data

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results	Form	Reference
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (5 strains)	Ames test: with and without m.a.; 5 doses, up to 3,600 µg/plate	negative	sulphate	Gocke et al. (1981)
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (1 strain)	other: without m.a.; up to 3,000 nM/plate	negative	sulphate	Marzin and Vo Phi (1985)*
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	unknown	negative	chloride	Kada et al. (1980)(r)
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i>	Ames test: with and without m.a.	negative	distearate	Litton bionetics (1977)(r)
Bacterial test (gene mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	according to OECD guideline No. 471; 50-5,000 µg/plate; no toxicity up to 5,000 µg/plate	negative	mono-glycerolate	Jones and Gant (1994)**
Bacterial reverse mutation test	<i>E. coli</i> (strain WP2s (λ))	other: induction of λ prophage (adaptation of McCarroll et al., 1981); conc. 3,200 µmol/l; m.a. unknown	ambiguous (two-fold increase of λ prophage induction)	chloride	Rossmann et al. (1984)
Eukaryotic assay (gene mutation)	<i>S. cerevisiae</i> (1 strain)	other: without m.a.; single concentration (0.1 mol/l) screening assay	weakly positive (no details given)	sulphate	Singh (1983)*
Eukaryotic assay (gene mutation)	<i>S. cerevisiae</i> (1 strain)	unknown: m.a. unknown; 1,000 and 5,000 ppm	negative	sulphate	Siebert et al. (1970)*
Eukaryotic assay (gene mutation)	<i>S. cerevisiae</i>	unknown	negative	distearate	Litton Bionetics (1977)(r)
Eukaryotic assay (gene mutation)	mouse lymphoma cells	unknown: with and without m.a.	positive	oxide	Cameron (1991)(r)
Eukaryotic assay (gene mutation)	mouse lymphoma cells	according to OECD guideline No. 476; without m.a. 1-15 µg/ml (toxic at 15 µg/ml) with m.a. 1-30 µg/ml (toxic at 30 µg/ml)	positive: without m.a. from 10 µg/ml with m.a. from 15 µg/ml	mono-glycerolate	Adams and Kirkpatrick (1994)**
Eukaryotic assay (gene mutation)	mouse lymphoma cells	unknown: without m.a.	negative	chloride	Amacher and Paillet (1980)(r)
Cytogenetic assay (SCE's)	Syrian hamster embryo cells	unknown; m.a. unknown	ambiguous	oxide	Suzuki (1987)*
Cytogenetic assay	human embryonic lung cells:WI-38	unknown: without m.a.; 0.1, 1.0 and 10 µg/plate	negative	sulphate	Litton Bionetics (1974)*
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	human lymphocytes	other: m.a. unknown; 0, 30 and 300 µM (3mM toxic)	ambiguous	chloride	Deknudt and Deminatti (1978)*
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	human lymphocytes	according to OECD guideline No. 473; cytotoxicity at 40 µg/ml (MI 51%), con. tested: without m.a. 5-20 µg/ml, with m.a. 10-40 µg/ml	positive in the presence of m.a. at 30 and 40 µg/ml	mono-glycerolate	Akhurst and Kitching (1994)**

Table 4.14 continued overleaf

Table 4.14 continued Mutagenicity data

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results	Form	Reference
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	human lymphocytes	other: without m.a.; 0, 20, and 200 µg/culture (2,000 µg toxic)	negative	chloride	Deknudt (1982)*
Unscheduled DNA synthesis	Syrian hamster embryo cells	unknown: without m.a.; 0.3, 1, 3, 10 and 30 µg/ml	positive ≥ 1 µg/ml	oxide	Suzuki (1987)*
Cell transformation assay	Syrian hamster embryo cells	unknown: without m.a.; 0, 1, 3 µg ZnO/ ml	positive 1 and 3 µg/ml	oxide	Suzuki (1987)*
Cell transformation assay	Syrian hamster embryo cells	unknown; up to 20 µg/ml	negative	chloride	Di Paolo and Casto (1979)(r)
Cell transformation assay	Syrian hamster embryo cells	unknown; 0-0.34 mM	equivocal	chloride	Casto et al. (1979)
Cell transformation assay	Syrian hamster embryo cells	unknown; 0-0.2 mM	equivocal	sulphate	Casto et al. (1979)
<i>In vivo studies</i>					
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	mouse	other: 0.5% zinc in calcium-deficient (0.03% Ca) or standard diet (1.1% Ca) for 30 days	slightly positive in case of calcium deficient diet in the survivors (0.5% Zn with poor Ca-diet resulted in 50% mortality after 30 days)	chloride	Deknudt (1982)*
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	mouse	other; single i.p. injections of 0, 7.5, 10 or 15 mg ZnCl ₂ /kg bw and repeated i.p. injections every other day of 2 and 3 mg ZnCl ₂ /kg bw for 8, 16 or 24 days	single dose study: positive; repeated dose study: positive	chloride	Gupta et al. (1991)
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	rat	other: 5 months inhalation of 0.1 to 0.5 mg/m ³	only slight increases of chromosomal aberrations were seen; primarily hyperdiploid cells were seen	oxide	Voroshilin et al. (1978)*
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	rat	other: 2.75, 27.5 or 275 mg/kg bw by gavage once or daily for 5 consecutive days	negative	sulphate	Litton Bionetics (1974)
Micronucleus	mouse	other: i.p. 28.8, 57.5 or 86.3 mg/kg bw at 0 and 24 hours	negative	sulphate	Gocke et al. (1981)
Micronucleus	rat	other: resembling OECD guideline No. 474; 0.05%, 0.2%, and 1% in purified diet over a 13-week period	negative	mono-glycerolate	Windebank et al. (1995)**

Table 4.14 continued overleaf

Table 4.14 continued Mutagenicity data

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results	Form	Reference
Host-Mediated Assay	mouse	other: 2.75, 27.5 or 275 mg/kg bw by gavage once or daily for 5 consecutive days	weakly positive	sulphate	Litton Bionetics (1974)
Dominant lethal assay	rat	other: 2.75, 27.5 or 275 mg/kg bw by gavage once or daily for 5 consecutive days	negative	sulphate	Litton Bionetics (1974)
Drosophila SLRL test	drosophila melanogaster	other; 5 mM (in 5% saccharose) adult feeding method	negative	sulphate	Gocke et al. (1981)
Drosophila dominant lethal and SLRL test	drosophila melanogaster	unknown; 0.247 mg/ml adult feeding	negative	chloride	Carpenter and Ray (1969)*

m.a.: metabolic activation

* Although study or study documentation showed limitations (see hedset), the study is considered useful for the evaluation of the genotoxicity of zinc

** Studies on zinc monoglycerolate, submitted within the framework of the EEC Council Regulation

4.1.2.8.1 *In vitro* 試験

細菌を用いた試験系では、亜鉛化合物への曝露による突然変異発生頻度の上昇は認められなかった (Gocke *et al.*, 1981; Crebelli *et al.*, 1985; Marzin and Vo Phi, 1985; Kada *et al.*, 1980(r); Litton Bionetics, 1976(r); Jones and Gant, 1994)。ただし、塩化亜鉛を用いた試験では、1 件で陽性とも陰性とも判断しかねる結果が得られている (Rossman *et al.* 1984)。

出芽酵母を用いた真核細胞試験系では、1 件で弱い陽性、2 件で陰性という結果が得られている (Singh, 1983; Siebert *et al.*, 1970; Litton Bionetics, 1977)。

ヒトのリンパ球を用いた染色体異常試験では、陰性という結果 (Deknudt, 1982) と陽性という結果 (Akhurst and Kitching, 1994) が得られている。マウスリンフォーマ試験 (遺伝子突然変異) では、1 件で陰性 (Amacher and Paillet, 1980(r))、2 件で陽性 (Cameron, 1991(r); Adams and Kirkpatrick, 1994) という結果が得られている。

シリアンハムスター胚細胞を用いた細胞形質転換試験では、Di Paolo and Casto (1979(r)) によつては陰性という結果 (塩化亜鉛) が、Suzuki (1987) によつては陽性という結果 (酸化亜鉛) が報告されている。塩化亜鉛と硫酸亜鉛を被験物質とした細胞形質転換試験が実施されているが、結果は曖昧で、細胞形質転換の増高が見られたのは、塩化亜鉛で 6 回中 3 試行、硫酸亜鉛で 7 回中 3 試行であった (Casto *et al.*, 1979)。Suzuki (1987) は、酸化亜鉛を被験物質として試験を行い、不定期 DNA 合成試験では陽性という結果が、姉妹染色分体試験では陽性とも陰性とも判断しかねる結果が得られたことを報告している。

4.1.2.8.2 *In vivo* 試験

マウスを用いた小核試験(Gocke *et al.*, 1981)およびラットを用いた小核試験(Windebank *et al.*, 1995)で、信頼性の高い陰性という結果が報告されている。

塩化亜鉛は、極度にカルシウム不足の飼料を与えられていたマウスの骨髄において、染色体異常を誘発した。この試験では、C57Bl マウスに、通常飼料(カルシウムを 1.1%含有)もしくはカルシウム欠乏飼料(カルシウムを 0.03%含有)が、0.5%の亜鉛と共に 1 ヶ月間与えられた。この期間の後、カルシウム欠乏飼料を 0.5%の亜鉛と共に与えられていたマウスの 50%が死亡した。他の群における死亡例については情報が示されていない。さらに 1 ヶ月後、各群の生残マウス 10 匹ずつを屠殺し、骨髄細胞における染色体異常を検査した。各群につき、500 個の分裂中期像を調べた。染色体損傷の見られた細胞数は、通常濃度のカルシウムを与えられていた対照群で 9 個、カルシウム欠乏飼料を与えられていた対照群で 10 個、通常濃度のカルシウムと亜鉛を与えられていた群で 14 個、カルシウム欠乏飼料と亜鉛を与えられていた群で 25 個であった(Deknudt, 1982)。

別の染色体異常試験では、マウス(各群 5 匹ずつ)に、塩化亜鉛が 7.5、10 ないしは 15 mg (ZnCl₂)/kg 体重の用量で腹腔内投与された。被験動物にコルヒチン処置を施し、被験物質投与の 24 時間後に骨髄試料を採取し、各動物につき 60 個の分裂中期細胞を検査した。被験物質投与群では、対照群と比べ、骨髄細胞中の染色体異常数が(用量依存的に)増加した。この後、マウス(各群 5 匹ずつ)に、塩化亜鉛が 2 ないしは 3 mg (ZnCl₂)/kg 体重の用量で、1 日おきに 4、8 または 12 回腹腔内投与され、染色体異常発生率について、単回投与試験における対照群との比較が行われた。この場合もやはり発生率の上昇が認められた(4 回投与の場合は高用量群でのみ、8 および 12 回投与では両用量群において)が、用いられた対照群は完全に適切とは言えない。単回投与試験では、被験動物の精巣上体尾部が細切され、検査が行われた。精子頭部の異常増加が報告されているが、検査の詳細と判定基準は明示されていない(Gupta *et al.*, 1991)。単回投与試験における染色体異常の増加は、信頼できるものとみなされる。

ラットに硫酸亜鉛を 2.75、27.5 ないしは 175 mg (Zn)/kg 体重の用量で、単回もしくは 5 日連続で強制経口投与した試験では、染色体異常は誘発されなかった(Litton Bionetics, 1974)。Voroshilin *et al.*(1978)の試験では、ラットが酸化亜鉛に吸入曝露されたが、被験動物の骨髄における染色体異常の増加はごくわずかであった。この試験では、雌ラットが、0.5 ないしは 0.1 mg/m³ の濃度の酸化亜鉛を含むエアロゾルに、5 ヶ月間、連続吸入曝露された。200 個の分裂中期細胞が検査された。染色体損傷が認められた細胞の割合は、対照群で 1.0%、0.1 mg/m³ 群で 4.5%、0.5 mg/m³ で 6.5%であった。

ショウジョウバエ伴性劣性致死突然変異試験 (Gocke *et al.*, 1981) およびラット優性致死試験 (Litton Bionetics, 1974) が硫酸亜鉛を被験物質として行われているが、結果はともに陰性であった。塩化亜鉛を被験物質として、ショウジョウバエの優性致死試験および伴性劣性致死突然変異が行われている (Carpenter and Ray, 1969) が、これも結果は陰性であった。

硫酸亜鉛を被験物質とした宿主経由試験では、弱い陽性と思われる結果が報告されている (Litton Bionetics, 1974)。

4.1.2.8.3 変異原性についての結論

酸化亜鉛の遺伝毒性に関し、いくつかのデータが提示されている。亜鉛化合物が摂取された場合の生物学的活性は亜鉛陽イオンによって決定付けられるという想定に基づき、他の亜鉛化合物に関するデータも活用した。

データが得られた試験における遺伝毒性の結果は、非常に多岐にわたっていた。同じ試験系が用いられた場合でさえ、相反する結果が示されている。全般的に、*in vitro* では、哺乳類細胞を用いて遺伝子突然変異や染色体異常を調べた試験、および不定期 DNA 合成試験で陽性という結果が得られており、これらに基づくと、亜鉛は遺伝毒性を有する可能性があると言える。

In vivo では、染色体異常の増加が、カルシウム欠乏状態のマウスに混餌投与した場合、およびカルシウムの状態が正常なマウスに腹腔内投与した場合に認められている。ただし、マウスでは陰性という結果も報告されており、比較的高用量を腹腔内投与した場合でも陰性という結果が得られている。ラットでは、強制経口投与でも混餌投与でも、経口投与による染色体異常誘発は陰性であった。染色体異常に関しては、*in vitro* における陽性という結果の方が、*in vivo* における陰性という結果よりも優勢であると考えられる。

精子頭部の異常を調べた試験では陽性という結果が得られているが、この結果は、2 件の伴性劣性致死突然変異試験および 2 件の優性致死試験で陰性という結果が得られていることにより、相殺される。この精子頭部の異常を調べた試験は、報告が不十分であり、スコア化の際の基準が詳述されておらず、観察結果もかなり主観的に解釈されている。さらに、精子頭部の異常は、遺伝毒性の証拠というよりも、それを示唆する所見と考えられる。

得られたデータに基づくと、亜鉛を遺伝毒性物質と分類するには、根拠が不十分であると言える。*In vivo* においては遺伝子突然変異誘発性が十分に検討されていない、ということに留意すべきである。それでも、得られたデータからは、亜鉛が *in vivo* で遺伝毒性を示す

という明確な証拠は得られていない。また、明確な発がん性が示唆されていない状況(下記参照)では、標的組織に関する追加試験をどうすべきかという方向性が導かれない。

4.1.2.9 発がん性

適切な長期発がん性試験のデータは、得られていない。この章には、亜鉛および亜鉛化合物の発がん性に関する全ての情報を編入した。

4.1.2.9.1 動物試験

ニワトリ、トリおよびラットを用いた古い試験では、塩酸亜鉛や硫酸亜鉛など、さまざまな亜鉛化合物が精巣内に反復投与され、その結果、精巣奇形腫が生じたことが報告されている。亜鉛が筋肉内もしくは皮下投与された場合には、腫瘍原性影響は認められていない(Léonard *et al.*, 1986)。

内容が不十分な古い試験において、Chester Beatty マウスに、硫酸亜鉛(七水和物)が、1,000ないしは 5,000 ppm(水 1 L 中 4.4 ないしは 22 g)の濃度で、45~53 週間飲水投与された[算出用量は 200 ないしは 1,000 mg (Zn²⁺)/kg 体重]。対照群が 1 群含まれていたが、同時対照群は、多くの動物が感染性疾患(エクトロメリア感染症)で死亡した後に設けられた。開始時に各群に割り当てられた動物の数は示されていない。被験物質投与終了時点では、各群につき 22~28 匹のマウスしか生残していなかった。観察項目は、「週 1 回の詳細な検査および毎日のより大まかな検査」、体重測定、および終了時の「綿密な剖検」と腫瘍が疑われる病変の組織学的検査に限定されていた。結果は、腫瘍の発生率と種類のみが提示されていた。肝細胞がん、悪性リンパ腫ならびに肺腺腫の発生率、および前胃部上皮の過形成の所見は、投与を受けたマウスと対照群のマウスとで同等であった。他の腫瘍の発生は認められなかった(Walters and Roe, 1965)。

食餌性の亜鉛欠乏または亜鉛過剰による直接的な発がん作用は知られていないが、移植されたもしくは化学的に誘発された腫瘍の成長率や発生率は、飼料中の亜鉛濃度の影響を受ける。試験条件に応じて、腫瘍を促進させる作用と抑制させる作用の両方が報告されている。げっ歯類を用いた試験からは、がんの成長が亜鉛不足によって遅延すること、および多量の亜鉛の摂取によってがんの成長が促進される可能性があることが示唆されている。こうした影響は、亜鉛が DNA 合成や細胞増殖に必須であるという事実により説明付けられるかも知れない(Deknudt and Gerber, 1979; Léonard *et al.*, 1986)。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

亜鉛や銅を電気精錬する 9 箇所の施設 (1 箇所は亜鉛を精錬、1 箇所は銅と亜鉛を精錬、7 箇所は銅を精錬) で従事する 4,802 人の精錬工を対象に、コホート調査が行われている。これらの精錬工は、1946~1975 年にかけて就業しており、このうち亜鉛のみに曝露されていた 978 人および銅と亜鉛の両方に曝露されていた 269 人の合計 1,247 人については、死亡率のわずかな減少が報告されている。この調査の対象とされた従業員は、電気精錬業務に少なくとも 1 年間従事していた。年齢補正した標準化死亡比が、1970 年の全米人口集団における死亡率と比較することにより導出された。亜鉛に (単独でもしくは銅と組み合わせて) 曝露されていた上述の 1,247 人の内、88 人が追跡調査終了前に死亡した。それらの内 12 人は、死因を追及することができなかった。143 人については、全く追跡調査を行えなかった。がん発生率は、精錬工全体のコホート (すなわち全 4,802 人の対象者) についてのみ分析された。がんによる死亡率と、亜鉛や銅の精錬に従事していたこととの関連性は認められなかった。ただし、この調査からは、がんによる死亡率と亜鉛への曝露との間の関連性について、なんら結論を導くことはできない。なぜならば、亜鉛に関わっていた精錬工におけるがんによる死亡率が、銅に関わっていた精錬工におけるがんによる死亡率と別々に分析されていないからである (Logue *et al.*, 1982)。

Neuberger and Hollowell (1982) は、肺がんによる死亡率の過剰と、かつて鉛や亜鉛を採掘・精錬していた米国内の地域における居住歴との関連性を調べている。死亡率を年齢や性別で補正し、州や米国全体の数値と比較した。分析結果から、肺がんの死亡率が、上述の地域で上昇していたことが判明した。当該地位の居住者が曝露されていた亜鉛の定量は、この調査には含まれていない。著者は、肺がん有病率が上昇した原因としては、喫煙習慣、職業曝露 (採掘や関連作業)、居住などの、いくつかの要因が考えられると述べている。鉱石には、ヒ素、カドミウム、鉄、ゲルマニウム、放射活性物質といった不純物が含まれていた。結核や珪肺は、上述の地域の居住者に一般的に認められていた。この調査からは、環境的濃度の亜鉛や鉛に曝露されることと、肺がん有病率増加との間の関連性について、何ら結論を導くことはできない。

Leitzmann *et al.* (2003) は、男性医療従事者の疫学研究に参加した 46,974 人の米国人男性を対象に、亜鉛の追加摂取 (用量および期間) と、前立腺がんとの関連性を検討した。追跡調査の 14 年間 (1986~2000 年) に、前立腺がんが新規に 2,901 例確認され、このうち 434 例は、進行がんと診断された。調査対象集団の約 25% は、亜鉛サプリメントを使用していた (24% は 100 mg/日以下、1% は 100 mg/日を超える量)。亜鉛の追加的な摂取用量が 100 mg/日以下の場合、前立腺がんのリスクとの関連性は認められなかった。しかし、追加の亜鉛摂取が無かった人と比べると、過剰に高用量の亜鉛 (100 mg/日を超える量) を追加摂取していた人では、進行性前立腺がんの相対リスクが 2.29 (95% 信頼区間 1.06~4.95) となっていた。亜鉛

サプリメントの使用期間の長さは、前立腺がん全体のリスクとは無関係であった。しかし、慢性的に(10年を超える期間)使用していたヒトにおいては、進行性の前立腺がんの相対リスクは2.37となっていた(95%信頼区間1.42~3.95)。著者は、カルシウムの追加摂取による、あるいは亜鉛サプリメント使用に相関する、まだ測定されていない何らかの事象による残渣交絡がある可能性は否定できないと述べている。著者はまた、特定の作用機序を提示して発がんとの関連性を説明するには、目下のところ強い証拠が得られていないこと、および、慢性的な亜鉛の過剰追加摂取が、前立腺の発がんにどのような役割を果たす可能性があるかについては、さらに調査が必要とされることを指摘している。

4.1.2.9.3 発がん性の結論

得られているデータは少ない。亜鉛欠乏もしくは過剰は、がんを促進したり抑制したりすることが報告されており、発がんに影響を及ぼす可能性がある。ただし、亜鉛や亜鉛化合物が直接的な発がん作用を有することを支持する明確な実験的または疫学的証拠は得られていない。

4.1.2.10 生殖毒性

酸化亜鉛の生殖毒性に関するデータは、ある程度得られている。他の亜鉛化合物のデータも活用される。これは、全ての亜鉛化合物(金属亜鉛を含む)が、摂取されるとイオン化学種に(少なくとも一部は)転換され、それで生じた亜鉛陽イオンが、元の亜鉛化合物の生物学的活性を決定する要因となっているという、基本的な想定に基づいている(4.1.2.1節を参照)。

亜鉛は正常な成長および発達(遺伝子発現、葉酸やレチノールを含むビタミン類の代謝)に必須であり、したがって、動物において報告されている様に亜鉛欠乏が致死的障害を引き起こし得るということは、驚くべきことではない(Walsh *et al.*, 1994; ATSDR, 1994)。ヒトにおけるデータも動物データも、亜鉛欠乏により、さらに性成熟の遅延や生殖能力の障害が引き起こされ得ることを示している(WHO, 1996)。

4.1.2.10.1 動物試験

生殖能力

亜鉛に関しては、1 または 2 世代試験の情報は得られていない。しかし、雄の生殖能力への影響にある程度着目して実施された試験の情報が 1 件得られており (Samanta and Pal, 1986)、また別の 1 件では、雌の生殖能力への影響が検討されている (Pal and Pal, 1987)。さらに、マウスやラットに亜鉛を 13 週間混餌投与した、反復投与毒性試験の情報が 3 件得られている。これらの 3 件の試験では、亜鉛が性腺や副生殖器に及ぼす影響が調べられている。

18 匹の雄の Charles-Foster ラットに、無水硫酸亜鉛が、交配前に 30~32 日間混餌投与された。亜鉛濃度は、飼料 1 kg 中 4,000 mg (Zn^{2+}) であった [約 200 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日]。別の 15 匹の雄を対照動物とした。雄ラットはそれぞれ個別に、生殖能力が証明された雌ラットとの交配に供され、交配翌日に屠殺された。対照群の雄と交配された雌と、亜鉛の混餌投与を受けた雄と交配された雌とでは、妊娠例数に統計学的に有意な差が生じた (対照群 15/15 匹妊娠、混餌投与群 11/18 匹妊娠)。亜鉛投与により、生存産仔数が有意に減少した。亜鉛濃度の上昇が、亜鉛投与を受けた雄の精巣 (他の生殖器官は調べられていない) および精液において認められた。精子の運動性は低減していたが、生存率には影響は認められなかった (Samanta and Pal, 1986)。

Charles-Foster ラットの雌 12 匹に、無水硫酸亜鉛が、飼料 1 kg 当たり 4000 mg (Zn^{2+}) の濃度で、交尾後 1~18 日目まで混餌投与された [200 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日に相当]。対照群では 12 匹が妊娠したのに対し、投与群では 5 匹しか妊娠しなかった。妊娠した雌 1 匹当たり、および交尾が認められた雌 1 匹当たりの着床痕数は、いずれも投与群では低値であった。同用量を交配前 21~26 日から屠殺 (交尾後 18 日) まで投与した場合には、対照群の雌では交尾が認められた 11 匹中 10 匹が妊娠したのに対し、投与群の雌では交尾が認められた 15 匹中 14 匹が妊娠した。交尾が認められた雌 1 匹当たり、または妊娠した雌 1 匹当たりの着床痕数は、群間で相違は認められなかった。試験実施者によると、交尾後のみ投与を行った群における受胎能の低下は、着床の段階で障害が起きた結果と考えられている。交尾前と交尾後に投与を受けた被験動物では、高用量の亜鉛摂取に対して馴化する機会があったため、そのような影響から逃れられたものと考えられている。しかし、この考えを実証する追加試験は実施されていない (Pal and Pal, 1987)。

マウスとラットで、硫酸亜鉛七水和物の混餌投与試験が実施されている。飼料 1 kg 当たり最高で 30,000 mg の濃度で 13 週間投与が行われたが、雄にも雌にも生殖器官に有害影響は生じなかった。この飼料中濃度は、マウスとラットでそれぞれ約 1,100 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日および 565 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日に相当していた (Maita *et al.*, 1981; 4.1.2.7.1 項も参照)。

別の試験では、雌雄のラットに、1%の濃度でモノグリセロール亜鉛が混餌投与された。この濃度による投与は、約 335 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日に相当しており、58 日間行われ、その後、飼料中濃度は 0.5%に減じられた。この濃度による投与は、約 300 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日に相当しており、1 週間実施された。その後、被験動物は、健康状態が悪化し飼料消費量が低下した (Zn²⁺用量も非線形的となったことに留意)ため、64 日目で屠殺しなくてはならなくなった。これらの全ての雄で、精巣における精細管の低形成が様々な程度で認められ、さらに前立腺や精囊も低形成を示していた。雌では 1 匹を除く全てにおいて、子宮の発育不全が認められた。0.05 ないしは 0.2%の濃度 [それぞれ約 13 ないしは 60 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日に相当] で 13 週間混餌投与を受けたラットは、全例が投与終了時まで生残し、生殖器官に有害影響は認められなかった (Edwards and Buckley, 1995; 4.1.2.7.1 項も参照)。

発生・発達毒性

硫酸亜鉛や酸化亜鉛を用いた発生毒性試験の情報が、何件か得られている。硫酸亜鉛を用いた試験の 4 件は、Food and Drugs Research Labs, Inc. (1973, 1974)によって実施されたもので、試験デザインは OECD ガイドライン 414 に準拠している。これらの試験については、Table 4.15 において言及しており、また、以下に詳しく記載している。ただし、どの形態の硫酸亜鉛が試験に用いられたかについては、特定して報告されていない。このため、これらの試験で述べられている NOAEL は、Zn²⁺で表される 2つの NOAEL に換算した。一方は無水物が使用されたとの仮定に基づくものであり、もう一方は七水和物が使用されたとの過程に基づくものである。

Table 4.15 Developmental toxicity data

Developmental toxicity	Species	Protocol	Result	mg Zn ²⁺ / kg bw	Reference
Oral	mouse	females received daily doses of 0, 0.3, 1.4, 6.5 and 30 mg ZnSO ₄ (unspecified)/kg bw during days 6-15 of gestation.	NOAEL 30 mg/kg bw (highest dose level tested): no discernible effects were seen on nidation, or maternal or foetal survival. No difference in number of abnormalities found in foetuses.	NOAEL: anhydr: 12 hepta: 6.8	Food and Drugs Research Labs., Inc., (1973)*
	rat	females received daily doses of 0, 0.4, 2.0, 9.1 and 42.5 mg ZnSO ₄ (unspecified)/kg bw during days 6-15 of gestation.	NOAEL 42.5 mg/kg bw (highest dose level tested): no discernible effects were seen on nidation, or maternal or foetal survival. No difference in number of abnormalities found in foetuses.	NOAEL: anhydr: 17 hepta: 9.6	Food and Drugs Research Labs., Inc., (1973)*
	hamster	females received daily doses of 0, 0.9, 4.1, 19, and 88 mg ZnSO ₄ (unspecified)/kg bw during days 6-15 of gestation.	NOAEL 88 mg/kg bw (highest dose level tested): no discernible effects were seen on nidation, or maternal or foetal survival. No difference in number of abnormalities found in foetuses.	NOAEL: anhydr: 35.2 hepta: 19.9	Food and Drugs Research Labs., Inc., (1973)*
	rabbit	females received daily doses of 0, 0.6, 2.8, 13 and 60 mg ZnSO ₄ (unspecified)/kg bw during days 6-18 of gestation.	NOAEL 60 mg/kg bw: no discernible effects were seen on nidation, or maternal or foetal survival. No difference in number of abnormalities found in foetuses.	NOAEL: anhydr: 24 hepta: 13.6	Food and Drugs Research Labs., Inc., (1974)*

* Valid study, with restrictions. ZnSO₄ form is unspecified. The NOAEL, expressed as Zn cation, has been calculation for both anhydrate- and heptahydrate forms.

経口曝露

硫酸亜鉛

CD-1 マウスの雌 (25~30 匹/群) に、詳細不明の硫酸亜鉛が、0.3、1.4、6.5 ないしは 30 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 6~15 日目の間に強制経口投与された。対照群が 1 群設けられている。全被験動物について、飼料消費量や体重に特に注意を払いながら、外観や行動の観察を毎日実施した。体重測定は、妊娠 0、6、11、15 および 17 日目に実施した。これらの雌マウスは、妊娠 17 日目に屠殺された。各被験動物の尿生殖路について、詳細な検査が実施された。試験終了時、全ての群で、21~23 匹の雌が妊娠していたのが確認された。母動物の生存率、体重増加量、黄体数、着床数および吸収胚数には、明確な影響は認められなかった。生存子を有していた妊娠例数、生存胎仔数、死亡胎仔数、胎仔重量および性比には、投与による影響は認められなかった。奇形(軟部組織および骨格)の発生数や種類は、投与群と対照群とで同等であった。結論として、詳細不明の硫酸亜鉛を 30 mg/kg 体重〔無水物だとすれば約 12 mg (Zn²⁺)/kg 体重、七水和物だとすれば約 6.8 mg (Zn²⁺)/kg 体重〕までの用量で

投与しても、母マウスおよびそれらの胎仔に対して、有害影響は生じなかったと言える (Food and Drug Research Labs., Inc., 1973)。

Wistar ラットの雌(25~28 匹/群)に、詳細不明の硫酸亜鉛が、0.3、2.0、9.1 ないしは 42.5 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 6~15 日目の間に強制経口投与された。対照群が 1 群設けられている。全被験動物について、飼料消費量や体重に特に注意を払いながら、外観や行動の観察を毎日実施した。体重測定は、妊娠 0、6、11、15 および 20 日目に実施した。これらの雌ラットは、妊娠 20 日目に屠殺された。各被験動物の尿生殖路について、詳細な検査が実施された。試験終了時、全ての群で、25 匹の雌が妊娠していたのが確認された。母動物の生存率、体重増加量、黄体数、着床数および吸収胚数には、明確な影響は認められなかった。生存仔を有していた妊娠例数、生存胎仔数、死亡胎仔数、胎仔重量および性比には、投与による影響は認められなかった。奇形(軟部組織および骨格)の発生数や種類は、投与群と対照群とで同等であった。結論として、詳細不明の硫酸亜鉛を 42.5 mg/kg 体重[無水物だとすれば約 17 mg (Zn²⁺)/kg 体重、七水和物だとすれば約 9.6 mg (Zn²⁺)/kg 体重]までの用量で投与しても、母ラットおよびそれらの胎仔に対して、有害影響は生じなかったと言える (Food and Drug Research Labs., Inc., 1973)。

ハムスターの雌(23~25 匹/群、非近交系ゴールデンハムスター)に、詳細不明の硫酸亜鉛が、0.9、4.1、19 ないしは 88 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 6~10 日目の間に強制経口投与された。対照群が 1 群設けられている。全被験動物について、飼料消費量や体重に特に注意を払いながら、外観や行動の観察を毎日実施した。体重測定は、妊娠 0、8、10 および 14 日目に実施した。これらの雌ハムスターは、妊娠 14 日目に屠殺された。各被験動物の尿生殖路について、詳細な検査が実施された。試験終了時、全ての群で、21~24 匹の雌が妊娠していたのが確認された。母動物の生存率、体重増加量、黄体数、着床数および吸収胚数には、明確な影響は認められなかった。生存仔を有していた妊娠例数、生存胎仔数、死亡胎仔数、胎仔重量および性比には、投与による影響は認められなかった。奇形(軟部組織および骨格)の発生数や種類は、投与群と対照群とで同等であった。結論として、詳細不明の硫酸亜鉛を 88 mg/kg 体重[無水物だとすれば約 35.2 mg (Zn²⁺)/kg 体重、七水和物だとすれば約 19.9 mg (Zn²⁺)/kg 体重]までの用量で投与しても、母ハムスターおよびそれらの胎仔に対して、有害影響は生じなかったと言える (Food and Drug Research Labs., Inc., 1973)。

Dutch ウサギの雌(14~19 羽/群)に、詳細不明の硫酸亜鉛が、0.6、2.8、13 ないしは 60 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 6~18 日目の間に強制経口投与された。対照群が 1 群設けられている。全被験動物について、飼料消費量や体重に特に注意を払いながら、外観や行動の観察を毎日実施した。体重測定は、妊娠 0、6、12、18 および 29 日目に実施した。各被験動物の尿生殖路について、詳細な検査が実施された。これらの雌ウサギは、妊娠 29 日目に屠殺された。試験終了時、全ての群で、10~12 羽の雌が妊娠していたのが確認された。母動物

の生存率、体重増加量、黄体数、着床数および吸収胚数には、明確な影響は認められなかった。生存仔を有していた妊娠例数、生存胎仔数、死亡胎仔数、胎仔重量および性比には、投与による影響は認められなかった。奇形(軟部組織および骨格)の発生数や種類は、投与群と対照群とで同等であった。結論として、詳細不明の硫酸亜鉛を 60 mg/kg 体重[無水物だとすれば約 24 mg (Zn²⁺)/kg 体重、七水和物だとすれば約 13.6 mg (Zn²⁺)/kg 体重]までの用量で投与しても、母ウサギおよびそれらの胎仔に対して、有害影響は生じなかったと言える (Food and Drug Research Labs., Inc., 1974)。

蛋白質含量が低く(10%)、1 kg 当たり亜鉛を 30 mg (Zn²⁺)含む飼料に、2%の硫酸亜鉛溶液により飼料 1 kg 当たり 150 mg (Zn²⁺)の亜鉛をさらに添加し[7.5 mg (Zn²⁺)/kg 体重]、雌ラット(13 匹)に、妊娠 1~18 日目の間に投与した。対照群(雌 12 匹)が設けられ、追加の亜鉛が添加されていない、同様の飼料が与えられた。試験の詳細についてはこれ以上示されていないが、対照群の雌 12 匹では、着床痕が合計 101 箇所確認され、そのうち胚吸収が雌 2 匹において 2 例(その雌 2 匹のそれぞれにつき 1 例ずつ)認められた。投与群の雌 13 匹では、着床痕が合計 116 箇所確認され、そのうち胚吸収が 8 匹において 11 例(その雌 8 匹のそれぞれにつき 1 例以上)認められた。対照群と投与群との間の相違は、統計学的に有意であったと報告されている (Kumar, 1976)。

備考：低蛋白飼料が被験動物の生理機能に影響を及ぼし、亜鉛への感受性を増高させた可能性がある。このことに関してはさらに追及がなされておらず、また、実質的に試験の詳細が得られていないため、この試験は考慮の対象とされない。

Charles Foster ラットの雌 12 匹に、無水硫酸亜鉛が、飼料 1 kg 当たり 4000 mg (Zn²⁺)の濃度で、交尾後 1~18 日目まで混餌投与された[200 mg (Zn²⁺)/kg 体重に相当]。また、別の 15 匹に対し、同様の飼料が、交配前 21~26 日から屠殺時(交尾後 18 日目)まで投与された。対照群は、それぞれ 12 匹および 11 匹で構成された。死産や奇形胎仔は認められず、被験物質投与群と対照群との間には、いずれの投与期間の場合でも、吸収胚数や平均胎盤・胎仔重量に、有意な差は認められなかった (Pal and Pal, 1987)。

Campbell and Mills (1979)は、Cheviot ヒツジ(各群 6 頭ずつ)に、妊娠期間から分娩に至るまで、硫酸亜鉛(詳細不明)を 1 kg 中に 30, 150 ないしは 750 mg 含む飼料を投与し、生殖能力の検討を行った。対照群が 1 群設けられた。高用量群のヒツジでは、飼料消費量、食物利用率および体重増加量が減少した。血中の銅濃度、血漿中のセルロプラスミン量およびアミンオキシダーゼ活性は統計学的に有意に低下し、血漿亜鉛濃度は大幅に上昇していた。高用量群では、以下の様に、生殖能力に深刻な障害が認められた。仔ヒツジのほとんどは、生存不能であり、肝臓における亜鉛濃度が高く(この影響は中用量群でも認められた)、銅濃度が低下していた。これらの仔ヒツジはまた、長骨の不連続生育を示しており、この影

響は低、中用量群では認められなかった。高用量の場合、銅の補給(2.5 および 10 mg)により、銅欠乏の発生を防ぐことができたが、仔ヒツジの生育不能や飼料消費量・利用率低下といった、他の影響を防ぐことはできなかった。

酸化亜鉛

ラットに、酸化亜鉛を、0.4% (Zn^{2+}) の濃度 [200 mg (Zn^{2+}) mg/kg 体重/日に相当] で、交配 21 日前から妊娠 15 日目まで混餌投与した試験では、全ての胎仔が吸収されるという結果となった。交配前には混餌投与を行わず、妊娠 0 日目から 15、16、18 または 20 日目まで酸化亜鉛 [0.4% (Zn^{2+})] を混餌投与した場合には、生存胎仔重量の低下と 4~29% の胎仔吸収が示された。亜鉛の飼料中濃度を 0.2% (Zn^{2+}) として [100 mg (Zn^{2+}) mg/kg 体重/日に相当]、交配の 21 日前から妊娠 15 日目まで投与した試験では、胚吸収は認められず、胎仔重量への影響も示されなかった。亜鉛の濃度や投与時期に関わらず、亜鉛の混餌投与により、外表奇形が生じることはなかった。いずれの投与処置の場合も、胎仔や母動物の肝臓においては、総亜鉛含量および亜鉛濃度は用量依存的に有意に上昇し、銅濃度は用量依存的に有意に低下した。母動物の健康状態に関する情報は、他には示されていない。0.2% の場合も、被験動物の一部は交配 21 日前から試験終了時まで被験物質投与を受けたが、雌の受胎能がどの様になるのかについてのデータは提示されていない。この試験は内容が乏しく、発生毒性に関する NOAEL を導出することはできない (Schlicker and Cox, 1968)。

Sprague-Dawley ラット (各群 10 匹ずつ) を用いた試験では、酸化亜鉛を 1 kg 中に 2,000 ないしは 5000 mg (ZnO) 含む飼料 [150 ないしは 375 mg (ZnO) mg/kg 体重と算出され、約 120 ないしは 300 mg (Zn^{2+}) mg/kg 体重/日に相当] が、妊娠 0 日目から授乳 14 日目まで投与された。その後、母動物および生残仔動物は屠殺された。対照群の動物には基礎飼料が与えられ、基礎飼料 1 kg には亜鉛 (Zn^{2+}) が 9 mg 含まれていた。

母動物の体重、1 日当たりの飼料摂取量、妊娠期間および 1 腹当たりの生存仔動物の数には、影響は認められなかった。外表奇形も認められなかった。

5,000 mg/kg 群の 2 匹の雌親では、全死産が確認され、その中には水腫性胎仔が含まれていた。2000 mg/kg 群では、死亡胎仔 (水腫性ではない) が 4 例認められた。肝臓の乾燥重量の低下が、5,000 mg/kg 群の仔動物 (新生仔および 14 日齢) で認められた。亜鉛含量は用量依存的に上昇しており、鉄含量は用量依存的に低下していた。しかし、亜鉛の投与を受けた雌親から生まれた新生児の肝臓は、対照群よりも有意に多くの鉄を含有していた。この所見は、14 日齢の仔動物では認められなかった。肝臓の銅濃度は、5,000 mg/kg 群の新生児においてのみ、有意に低下していた。14 日齢の仔動物における肝臓の銅濃度は、被験物質処置群では、どちらの濃度の場合でも有意に低下していた (Ketcheson *et al.*, 1969)。

Bleavins *et al.* (1983)は、ミンク(各群雌 11 匹および雄 3 匹)に、基礎飼料[1 kg 中の亜鉛濃度は 20.2 mg (Zn^{2+}) mg および 3.1 mg (Zn^{2+}) mg]、または 1 kg 当たり亜鉛を 1,000 mg (ZnO) 追加した飼料を与える試験を実施した。母動物への影響は認められなかった。基礎飼料を与えられた全ての雌に仔動物が生まれ、亜鉛を追加した飼料を与えられた雌では 8/11 匹に仔動物が産まれた。被験動物(雄、雌および仔動物)はいずれも屠殺されることはなく、肉眼検査のみが実施された。仔動物にも、基礎飼料ないしは亜鉛を追加した飼料が与えられ続けた。亜鉛を追加した飼料を与えられた仔動物の雄は、12 週齢時の体重が有意に低かった。亜鉛を追加した飼料を与えられた仔動物では、8 週齢時におけるヘマトクリット値や他の血液パラメーターが、基礎飼料を与えられていた仔動物と比較して、有意に低下していた。亜鉛を追加した飼料を与えられていた仔動物では、T 細胞有糸分裂反応の低減が認められたが、この影響は可逆的で、飼料を基礎飼料に変えると回復した。亜鉛を追加した飼料を与えられた雌から生じた仔動物(3~4 週齢)では、眼、耳、顎および生殖器の周囲の毛に灰色化が見られたり、それらの部位に脱毛や皮膚病が見られるなど、銅欠乏に合致した影響が示された。

吸入曝露

吸入毒性のデータは、得られていない。

経皮曝露

経皮毒性のデータは、得られていない。

他の経路

塩化亜鉛

Chang (1976)が報告している試験では、CF-1 アルビノマウス(各群 7~15 匹ずつ)に、塩化亜鉛が、12.5、20.5 または 25 mg ($ZnCl_2$)/kg 体重[6、9.8 または 12 mg (Zn^{2+})/kg 体重]の用量で、妊娠 8、9、10 または 11 日目に、単回腹腔内投与された。その結果、骨格奇形の発生率が有意かつ用量依存的に上昇したが、軟部組織の異常は伴われなかった。25 mg ($ZnCl_2$)/kg 体重で妊娠 10 日目に投与された場合に、母動物や胎仔への毒性影響が最も強く認められた。12.5 mg ($ZnCl_2$)/kg 体重で妊娠 11 日目に投与された場合には、母動物にも胎仔にも影響は認められなかった。この他の情報が示されていないため、これらの結果をリスク評価に活用することはできない。

4.1.2.10.2 ヒトにおける試験

ヒトにおける試験の多くは、母親における亜鉛状態を示す指標の悪化と、神経管欠損症を有する新生児が生じるなどの妊娠への有害影響との関連性を検討したものである (Walsh *et al.*, 1994)。

Mukherjee *et al.* (1984) は、妊娠後半期に血漿中の亜鉛濃度が低かった女性において、胎仔仮死や母児感染などの妊娠合併症が、非常に有意に増加していたことを示している。Neggers *et al.* (1990(*r*)) は、妊娠初期に血漿中の亜鉛濃度が低値であることと、出生時体重が低い新生児が産まれる可能性が増高することとの間に関連性を見出している。以前には、Meadows *et al.* (1981(*r*)) が、分娩期に母体の白血球や筋肉の亜鉛含量が少ないと新生児低体重につながる可能性があることを報告しており、また、Cambell-Brown *et al.* (1985(*r*)) は、インド人の女性における低亜鉛摂取と新生児低体重との間の関連性について報告している。

過剰の亜鉛がヒトの妊娠成績に有害影響を及ぼす可能性については、データが示されていない。Mahomed *et al.* (1989) は、妊娠女性を対象に、妊娠期間中の亜鉛の追加処置が、母体および胎児の点から見て妊娠結果を改善するかどうかを検討した。妊娠女性は、二重盲検法により、亜鉛の追加処置を受ける群とプラセボの投与を受ける群とに、無作為に振り分けられた。494 人(246 人が亜鉛の追加処置を受け、248 人がプラセボ投与を受けた)の女性が、妊娠終了時まで経過観察された。亜鉛の追加処置は、20 mg (Zn^{2+}) の硫酸亜鉛を含むカプセルを、妊娠 3 半期のうちの 2 期間、1 日 1 回投与することによって行われた [0.3 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日]。亜鉛追加群とプラセボ群との間で、妊娠時の状態(体重、体重増加量、母体からの出血および高血圧)、分娩時の状態、妊娠期間、Apgar スコア、新生児異常、および出生状態に関して、有意差は認められなかった。

これまで取り上げてきたものとは異なる他の亜鉛化合物で行われた試験の情報が 2 件得られている。妊娠 3 半期の終わりの 2 期間に、0.3 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日のクエン酸亜鉛を摂取していた母親 (Simmer *et al.*, 1991(*r*))、もしくは 0.06 mg (Zn^{2+})/kg 体重/日のアスパラギン酸亜鉛を摂取していた母親 (Kynast and Saling, 1986) から生まれた新生児には、何も影響は認められていない。

4.1.2.10.3 生殖毒性についての結論

酸化亜鉛の生殖毒性に関するデータが、ある程度得られている。亜鉛化合物が摂取された場合の生物学的活性は亜鉛陽イオンによって決定付けられるという想定に基づき、他の亜鉛化合物に関するデータも活用した。

生殖能力に関しては、1 または 2 世代試験、もしくはガイドラインに準拠した他の有用な試験の情報は得られていない。雄ラットに、約 200 mg (Zn²⁺)/kg 体重の用量で、交配前 30～32 日間混餌投与した場合には、雄の繁殖成績に、統計学的に有意な低下が認められた。この影響は、精子の運動性の低下によるものと考えられた。200 mg (Zn²⁺)/kg 体重の投与を受けていた雌では、交配後の投与の場合、受胎率の低下が認められたが、妊娠前および妊娠中に投与が行われた場合には、そのような影響は認められなかった。雄で見られた精子の運動性の低下や雌でみられた受胎率への相反する影響については、亜鉛が直接的に精子細胞、胚ないしは子宮機能に作用して生じたものなのか、あるいは他の生理機能が障害を受けた結果生じたものなのかは不明である。Schlicker and Cox (1968) の試験では、この用量で[および追加投与用量が 100 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の場合でも]、雌において銅バランスが障害され得ることが示されている。

硫酸亜鉛七水和物を用いた反復投与毒性試験では、マウスとラットでそれぞれ約 1,100 および 565 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の用量まで、生殖器官への影響は認められなかった。モノグリセロール亜鉛を用いた反復投与毒性試験では、約 300 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の用量で、いくつかの生殖器官に低形成が認められたが、13 および 60 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日では、そのような影響は認められなかった。これらの影響は、非常に重度の一般毒性が生じる用量でのみ認められていることから、亜鉛に直接関連している有害影響とは言えない。これらの試験は、精子細胞の運動性への影響を検討するためのものではないことに留意する必要がある。

発生毒性試験については、OECD ガイドライン 414 相当のデザインにより、マウス、ラット、ハムスターおよびウサギで行われたものが報告されているが、使われた硫酸亜鉛が特定されていない。これらの試験では、最高用量においても生殖、発生への影響や母体への影響が認められておらず、適切な NOAEL を導出することはできない。ハムスターを用いた試験で七水和物が使用されたと(最悪の場合を)想定すると、母動物への影響と仔動物への影響の両方に関する NOAEL は、19.9 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日以上であると言える。他の(ガイドラインに準拠していない)試験では、高用量[200 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日まで]において、胚吸収や胎仔の生育遅延が報告されているが、外表奇形は示されていない。100 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日では胚吸収や生育遅延は認められていないが、試験の報告内容が非常に乏しいため、この用量を発生・発達毒性に関する NOAEL とみなすことはできない。さらに、100 および 200 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の両方で、母動物や胎仔における銅の状態に影響が見られている。これ以上の良い情報が得られていない状況では、動物における発生・発達毒性に関して、19.9 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日より大きいという NOAEL が採用される。

妊娠の最後の 6 ヶ月間に、0.3 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の亜鉛を(硫酸もしくはクエン塩として)追加摂取していた妊娠女性に関する調査では、生殖能力への影響や発生・発達への影響は認められなかった。ヒトの妊娠に亜鉛が毒性を示すとする明確な証拠は報告されていないが、

これは通常、ヒトの妊娠中に非常に高用量の亜鉛への曝露が生ずることが無いという実態を反映しているのかも知れない。対照的に、妊娠期の亜鉛欠乏は、胎児に様々な有害影響を及ぼすことがあり、また、動物と同様にヒトでも、生殖能力の低下や性成熟の遅延につながる可能性がある (Walsh *et al.*, 1994; ATSDR, 1994; WHO, 1996)。

すなわち、生殖性への影響に関しては、亜鉛欠乏が、生殖能力や胎仔の発生・発達を障害することが判っている。ヒトでは、妊娠期に 0.3 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日までの用量で亜鉛の追加処置を行っても、有害影響は生じていない。動物において亜鉛が過剰になった場合には、200 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日の用量で、生殖能力や胎仔の発生・発達に有害影響が、親動物と胎仔における銅の恒常性変動といった他の影響と合わせて生じる可能性があることが、得られたデータから示されている。ヒトでは、50 および 150 mg (Zn²⁺)/日 [それぞれ 0.83 および 2.5 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日] の亜鉛過剰により、おそらく銅欠乏の現れである正常な生理機能の (あったとしても) わずかな障害を生じることが示されており、150 mg (Zn²⁺)/日 [2.5 mg (Zn²⁺)/kg 体重/日] においては臨床症状が認められている。ヒトで臨床症状が見られる用量と動物で生殖毒性影響が見られる用量との間の差は非常に大きい (すなわち 80 倍) と報告されており、ヒトにおいては臨床症状が現れない用量で生殖毒性影響が生じることが無いと考えられる。したがって、生殖能力への毒性も発生・発達毒性も、ヒトで懸念される事項にはならないと考えられる。得られた情報に基づくと、生殖毒性に関しては、金属亜鉛や他のいずれの亜鉛化合物についても、分類する根拠は存在しない。

4.1.2.11 他の化合物との相互作用

亜鉛は、カドミウム、鉄、カルシウム、そして特に銅といった、他の微量元素と相互に作用し合い、主としてこれらの元素の欠乏による毒性影響を生じ、栄養失調を引き起こす可能性がある。メタロチオネインは、亜鉛と銅などの他の金属との間の相互作用に関与している。

銅と亜鉛は、同種のメタロチオネインタンパク質に結合する様であるが、銅の方が亜鉛よりもこのタンパク質への親和性が高く、メタロチオネインに結合している亜鉛と置き換わる (Ogiso *et al.*, 1979(*r*); Wapnir and Balkman, 1991(*r*))。銅の代謝に対して食事性の亜鉛が及ぼす影響には、様々な要因が関与している。例えば、食事に含まれる銅や亜鉛の量、銅の量に対する亜鉛の量の比、年齢、高用量の亜鉛に曝露されていた期間、などである (Johnson and Flagg, 1986(*r*))。

Prasad *et al.* (1978(*r*)) と Porter *et al.* (1977(*r*)) は、ヒトが慢性的に 1 日当たり 100 mg 以上の多

量の亜鉛を摂取した場合、銅欠乏症となると報告している。Yadrick *et al.* (1989) と Fischer *et al.* (1984) は、ヒトに 1 日当たり 50 mg の亜鉛を投与した場合、銅バランスの変調が見られたことを報告している。しかし、それらより最近になって行われた試験 (Davis *et al.*, 2000; Milne *et al.*, 2001) では、銅の状態が精緻に観察されており、ヒトが 1 日当たり 50 mg (Zn^{2+}) の亜鉛を経口摂取した場合、銅の保持量は低減せず、増高する様であると報告されている。

通常、亜鉛の吸収に対する鉄の影響は、大きくないと考えられる。しかし、特別な状況下では、食物の供給無しで高用量の鉄が摂取された場合、鉄により亜鉛の吸収が損なわれ得る。このことは、多くの臨床試験により裏付けられている (Solomons, 1988(r))。

Yadrick *et al.* (1989) は、女性を対象に、1 日当たり 50 mg の亜鉛の追加処置を、亜鉛単独でもしくは 1 日当たり 50 mg の鉄と一緒に 10 週間行い、その影響を検討した。その結果、亜鉛のみの追加処置を 1 日当たり 50 mg という用量で行った場合には、鉄と銅の両方の状態に有害影響が生じた。同時に鉄の追加処置も行われていた場合には、鉄の状態が保護された。ただし、それよりも最近になって行われた試験 (Davis *et al.*, 2000; Milne *et al.*, 2001) では、鉄の状態が精緻に観察されており、ヒトが 1 日当たり 50 mg (Zn^{2+}) の亜鉛を経口摂取した場合でも、鉄の状態を示す指標に有害影響は見られなかった。

カドミウムへの曝露は、肝臓や腎臓に亜鉛を蓄積させ、亜鉛の分布に影響を及ぼす可能性がある。この様な蓄積により、他の臓器では欠乏が生じるおそれがある。Harford and Sarkar (1991(r)) は、カドミウムと亜鉛を同時投与することにより、相加的にメタロチオネインが誘導されると報告している。

高用量で亜鉛を摂取すると、腸管でのカルシウム吸収の低下も生じ、体内でのカルシウム状態の悪化が引き起こされる (Yamaguchi *et al.*, 1983(r); Spencer *et al.*, 1992(r))。

他の化合物との相互作用の結論

亜鉛は、特に銅などの他の微量元素と相互に作用し合い、主としてこれらの元素の欠乏による毒性影響を生じ、栄養失調を引き起こす可能性がある。いくつかの古い試験では、亜鉛の追加処置が 1 日当たり 50 mg という用量で行われた場合、鉄と銅の両方の状態に悪影響が生じる可能性が示されたが、より最近になって相互作用を検討した試験では、そのような影響は認められなかった。亜鉛と銅などの他の金属との間の相互作用は、少なくとも一部は、亜鉛がメタロチオネインの状態に及ぼす影響と関連している可能性がある。

4.1.2.12 生物学的機能および推奨摂取量

亜鉛はヒトや動物にとって必須の元素であり、200種を超える酵素において、それらが最適に機能するために必要とされる。これらの酵素には、酸、タンパク質および膜の正常な代謝や、細胞の増殖および分裂に必要な酵素が含まれる。亜鉛はさらに、DNAやRNA合成の制御にも関わっている (Vallee and Auld, 1990(r); South and Summers, 1990(r); Berg, 1990(r))。亜鉛はまた、成長ホルモンが至適な活性を示し、膵臓が正常な外分泌および内分泌機能を果たすのにも必要とされる元素である (Lee et al., 1990(r))。

食物中の亜鉛が欠乏すると、食欲低下、嗅覚や味覚の低下、免疫機能の障害、創傷治癒の遅延、および皮膚炎が生じる可能性があると考えられている。食物中の亜鉛欠乏はまた、生育遅延、および生殖能力の障害を伴った性腺機能低下を引き起こし得る。母親における亜鉛欠乏により、新生児における先天奇形の発生率が上昇することも報告されている (Cotran et al., 1989(r); Elinder, 1986; Sandstead, 1981(r))。

子どもにおける亜鉛欠乏の症状は、成人における症状とは異なる場合がある。慢性的な亜鉛欠乏の場合、子供においては食欲不振、易刺激性および低身長が主要な症状として現れる可能性があるが、成人では味覚や嗅覚不全、性腺機能低下および創傷治癒の遅延が初期症状として現れると思われる。男性ボランティアを亜鉛欠乏にさせた試験で認められた主症状は、体重低下および精巣機能低下であった (Prasad, 1983)。

米国科学アカデミー/米国学術研究会議(1989(r))により推奨される、1日当たりの亜鉛摂取量を以下に示す。

新生児(0~1歳)		5 mg/日
子供(1~10歳)		10 mg/日
男性(11~51 ⁺ 歳)		15 mg/日
女性(11~51 ⁺ 歳)		12 mg/日
妊婦		15 mg/日
授乳期	(最初の6ヵ月)	19 mg/日
	(次の6ヵ月)	16 mg/日

EU(1993)やオランダ栄養評議会(1992)などの他の機関は、幾分低めの摂取量、すなわち、男性では9~10 mg/日、女性では7~9 mg/日を推奨している。

生物学的機能および推奨摂取量の結論

亜鉛は、多数の酵素にとって、それらが機能するために必須の元素である。亜鉛は、DNA や RNA の合成、および体内における他の多くの反応過程に関わっている。食物中の亜鉛が欠乏していると、健康に重大な影響が引き起こされ得る。1 日あたりの推奨亜鉛摂取量は、5 mg/日 (新生児) から 19 mg/日 (授乳期の女性) の範囲とされる。