

ファフィア色素の F344ラットにおける13週間亜慢性毒性試験

小野寺博志[#]・三森 国敏・安原加壽雄・竹川 潔・高橋 道人

13-week Subchronic Oral Toxicity Study of Phaffia Colour in F344 Rats

Hiroshi Onodera[#], Kunitoshi Mitsumori, Kazuo Yasuhara,
Kiyoshi Takegawa and Michihito Takahashi

A 13-week subchronic oral toxicity study of phaffia colour was performed in both sexes of F344 rats by feeding of CRF-1 powder diet containing 0, 0.2, 0.6, 1.7 and 5%. Rats were randomly divided into 5 groups, each consisting of 10 males and 10 females. No animals died during the administration period. There were no treatment-related changes in body weight gain, hematological and blood biochemical examination. No treatment-related histopathological changes were also observed in any dosed groups. These findings indicate that the treatment of 5% phaffia colour in diet for 13 weeks does not cause any toxicological changes in rats.

Keywords : phaffia colour, astaxanthin, F344 rats, subchronic toxicity study,
(Received May 30, 1997)

はじめに

アスタキサンチンは、鮭、鯛、海老および蟹など水産物の赤色調の主成分であり、色調、熱安定性に優れ、天然食用色素として有用性が期待されている。さらに、アスタキサンチンには活性酸素消去能¹⁾や免疫賦活能²⁾、化学物質による発がん抑制作用^{3,4)}などの報告もあり、機能性を有する色素としても注目されている。従来、アスタキサンチンは天然物から抽出精製していたが、色素濃度の均一性や原料由来の臭気、経済性などの面から実用化には至っていない。一方、酵母の一種である *Phaffia rhodozyma* は、高率にアスタキサンチンを産生することから、その培養液より抽出された Phaffia colour (ファフィア色素) がアスタキサンチンの代用として実用化されている⁵⁾。高濃度のファフィア色素は特有の臭い(酵母臭)があるが、色調の均一性、安定性は優れている。この種の天然色素についての毒性データは少ないことから今回、ファフィア色素のラットにおける13週間亜慢性毒性試験を行ったので報告する。

試験材料および方法

1. 被験物質ならびに投与量

ファフィア色素 (Phaffia colour) はヤエガキ発酵技研(株)より供与されたものを用いた。ファフィア色素は培養液よ

りアセトンで抽出後、溶媒を除去したものであり、暗褐色のペースト状で特有の発酵臭を持つ。13週間亜急性毒性試験を行うにあたり、混合飼料中の色素安定性、および動物の被験物質混入飼料の忌避を確認する目的で、5%を最高濃度とする2週間の予備投与試験を行った。ファフィア色素はアセトンで溶解し飼料に混じるため、同量のアセトンを添加した対照群を設けたが、アセトンによる摂餌量の減少などの影響は認められず、5%、2.5%、1.25%および0.6%とも体重の増加程度および被験物質混餌飼料摂取量で対照群との間に差は認められなかった。また、混餌飼料中の色素の安定性についても室温保存で各濃度90%以上の色素含有を保持し、冷蔵保存ではそれ以上であり問題はなかった。その結果 (Table 1) に基づいて、13週間亜急性毒性試験におけるファフィア色素の最高用量を5%とし、以下公比3で減じ、1.7、0.6、および0.2% (端数切り上げ) に設定した。各濃度の色素含有飼料の調製は、ファフィア色素原体をアセトンで溶解し、粉末基礎飼料 (オリエンタル酵母(株) CRF-1) と混合して20%色素含有飼料を調製、一晚ドラフト内でアセトンを除去した後、各濃度に希釈し、懸架式粉末給餌器を用いて13週間自由に摂取させた。対照群には粉末基礎飼料のみを同様に与えた。飲料水は水道水を自由に与えた。ファフィア色素製剤は、ファフィア色素15%と大豆油85%から構成されているが、今回用いた被験物質はファフィア色素100%のものを用い、実験中の用量表示濃度は製剤全体での濃度に換算した。従って、今回、実験に用いた5%ファフィア色素含有飼料中のファフィア色素含有量は0.075%と換算された。

[#] To whom correspondence should be addressed: Hiroshi Onodera, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel: 03-3700-9845; Fax: 03-3700-2348; E-mail: onodera@nihs.go.jp

2. 動物および方法

5週齢のSPF雌雄F344ラットを日本チャールス・リバー(厚木)より購入し、1週間馴化させた後、実験に供した。ラットはプラスチックケージに1ケージ当り雌雄いずれも5匹づつ収容し、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間明暗サイクルに制御されたバリアーシステムの動物室にて飼育した。

調製した被験物質飼料は使用時まで 4°C に維持された飼料保管室にて保存し、週2回交換した。一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重および飼料摂取量は毎週測定した。投与開始13週後に全生存動物を屠殺剖検し試験を終了した。動物は屠殺の前日より一晩絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行った。血液学的検査には多項目自動血球計数装置(東亜医用電子、M-2000型)を用い、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、白血球数(WBC)および血小板数(PLT)を測定するとともに、血液塗末標本を作製し、血液細胞自動分析装置(立石電気、MICROX HEG-120A型)を用いて以下の血液像について分類した。分葉核好中球(Seg)、好酸球(Eosin)、リンパ球(Lymph)、単球(Mono)、有核赤血球(Ebl)、総蛋白(TP)、アルブミン・グロブリン比(A/G)、総コレステロール(TC)、トリグリセライド(TG)、尿素窒素(UN)、クレアチニン(CRE)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、クロール(Cl)、グルタミンク オキサロアセテック トランスアミラーゼ(GOT)、グルタミンク ピルビック トランスアミラーゼ(GPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、およびアルブミン(Alb)の各項目について血清生化学的検査を(株)SRLで実施した。動物を剖検後、脳、胸腺、心、肺、腎、副腎、脾、肝および精巣の重量を測定した。また、上記臓器に加え、主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、常法に従い薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、対照群と最高用量群について病理組織学的検索を行った。

3. 統計学的解析

体重、血液学的検査値、血清生化学的検査値および臓器重量の結果は各群の分散比をBartlettの方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、不等分散の場合にはKruskal-Wallisの方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合の多重比較は例数が等しいのでDunnnett型で対照群と各群間との有意差検定を行った⁹⁾。

結 果

1. 一般状態および死亡動物

試験全期間を通じて雌雄全群に死亡動物は認められず、一般状態においても被験物質投与に起因すると思われる異常は認められなかった。

2. 体重および摂餌量

2週間の予備投与においては各群の最終体重や平均飼料摂取量に投与群と対照群間に差はみられず、被験物質混入による忌避も認められなかった(Table 1)。13週間の試験期間中、雌0.2%群が投与開始時から対照群に比べて軽度の体重増加抑制がみられた。雄の5%群では全期間を通じむしろ高い傾向を示した(Fig. 1)。摂餌量においても雌雄で対照群との間に差は認められず、被験物質の摂取量も設定濃度と相関していた(Table 2)。

3. 血液学的および血清生化学的検査

血液学的検査では、雌の1.7%群ではPLT、0.6%群ではRBCとPLTの増加、0.2%群ではRBC、Hb、およびPLTの増加が認められたが、これらに用量相関性はみられず、また変動傾向が一定でないことから、偶発的な変動とみなした。雄においては対照群と比べ明らかな変動のある項目は認められなかった(Table 3)。血液像での白血球百分率では、雄の投与全群でSegおよびLymphの増加あるいは減少する傾向がみられたが、用量に相関性は認められなかった。雌においては、対照群に比べて明らかな変動のある項目は認められなかった(Table 4)。

血清生化学的検査では、雄の投与全群でNaおよびClが

Table 1. Body weight and food consumption in rats fed diet containing phaffia colour for 2 weeks

	Body weight		Average food consumption (g/day/rat)
	0 week	2 weeks	
5 %	146±3.4	198±5.0	15.2
2.5 %	145±6.8	203±7.8	15.4
1.25 %	145±6.0	201±8.8	15.1
0.6 %	144±3.3	197±6.6	15.1
Control (acetone)	141±4.6	197±6.2	15.6
Control	138±5.5	190±10.6	14.7

Table 2. Food consumption and chemical intake in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

Group	Food consumption (g / animal / day)		Daily food intake (mg / kg / day)		Total food intake (g / kg)		Phaffia colour intake (mg / kg / day)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
5 %	15.6	10.5	2956	3255	269	296	448	493
1.7 %	14.7	9.7	977	1055	89	96	148	160
0.6 %	14.4	10.2	340	356	31	35	52	58
0.2 %	14.4	9.9	113	123	10	11	17	18
Control	14.5	10.2	-	-	-	-	-	-

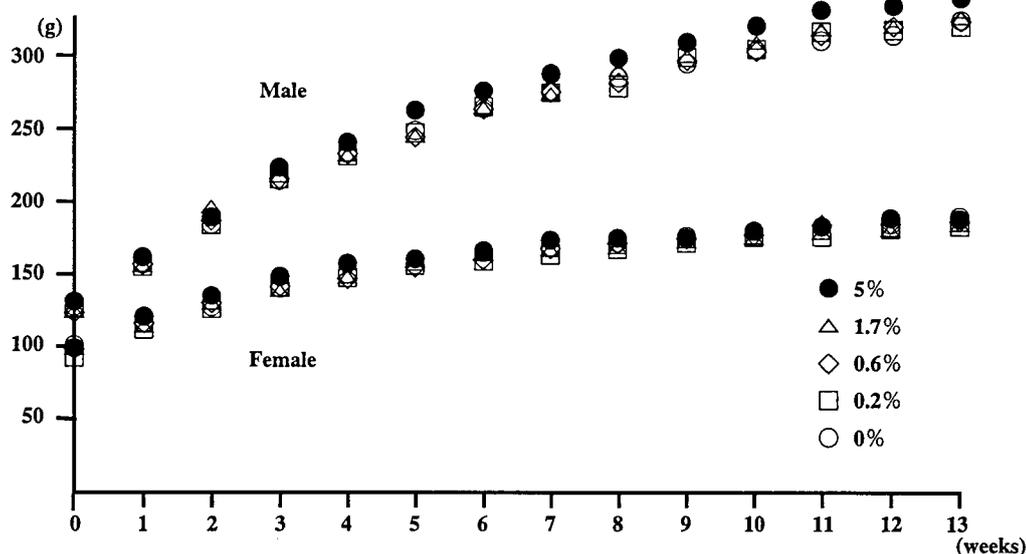


Fig. 1. Body weight curves in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

増加, 0.6%群以上の投与群で GOT の減少が認められた。また, 0.2%と0.6%群で TG の減少と P の増加傾向, さらに, 0.6%群では K と ALP の減少および GPT の増加がみられたが, これらは用量相関性のあるものではなかった (Table 5)。

雌では, 0.2%と0.6%の群で UN の減少, 0.2%群で K, GOT の減少, 0.6%群で GOT, GPT の減少, 1.7%群で Na の増加, 5%群で GOT の減少が認められた。しかし, これらの変動は用量相関性のあるものではなかった。

4. 臓器重量

雄の 5%群で, 脳, 肝の実重量の増加, 脳の相対重量の減少, 1.7%群で脳の実重量, 相対重量の増加および, 脾の実重量, 相対重量の増加および 0.6%群で脳の実重量の増加, 0.2%群で脳の実重量, 相対重量は有意に減少した (Table 6)。一方, 雌において, 1.7, 0.6, 0.2%群で

脳の実重量, 1.7%群で心の実重量, および0.2%群で腎の実重量が有意に減少した (Table 7)。しかし, これらの減少は相対重量では対照群に比べ有意な変動は認められなかった。

5. 病理組織学的所見

雌の 5%群に肝臓の小肉芽腫が 3 例, 対照群に 1 例, 雄の対照群の心臓に, 心筋繊維症が 6 例, 5%群に 3 例認められた (Table 8)。これらの所見は投与群と比べてその程度や大きさに差異はなく, 発生頻度にも有意な差は認められなかった。その他の臓器に種々の所見が散発的に認められた。

考 察

ファフィア色素はその色調の主成分がアスタキサンチンである。天然食用色素は, 添加物の安全性への関心から近

Table 3. Hematological data in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

Group	WBC (x 10 ² / ul)	RBC (x 10 ⁴ / ul)	Hb (g / dl)	Ht (%)	PLT (x 10 ⁴ / ul)
Male					
5 %	41 ± 5 ^{a)}	929 ± 44	15.8 ± 0.7	44.1 ± 2.3	77.3 ± 6.0
1.7 %	40 ± 6	920 ± 31	15.6 ± 0.4	43.7 ± 1.4	74.3 ± 2.5
0.6 %	41 ± 7	931 ± 29	15.9 ± 0.5	43.8 ± 1.3	75.9 ± 2.9
0.2 %	39 ± 4	939 ± 31	15.8 ± 0.5	44.7 ± 1.5	77.8 ± 4.0
Control	45 ± 9	936 ± 81	15.9 ± 1.4	44.8 ± 3.8	74.0 ± 7.7
Female					
5 %	35 ± 6	864 ± 38	15.9 ± 0.7	43.3 ± 1.8	79.3 ± 3.7
1.7 %	35 ± 6	899 ± 54	16.4 ± 1.0	44.9 ± 2.8	88.0 ± 5.2 **
0.6 %	36 ± 7	919 ± 45**	16.4 ± 0.8	46.6 ± 2.3	112.4 ± 6.0 **
0.2 %	38 ± 4	928 ± 37**	16.7 ± 0.6*	46.6 ± 1.9	105.6 ± 10.5**
Control	36 ± 6	859 ± 29	15.9 ± 0.5	43.0 ± 1.4	79.4 ± 3.1

a) : Mean ± S.D.

* ** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

Table 4. Differential leukocyte counts in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

Group	Seg (%)	Eosin (%)	Lymph (%)	Mono (%)	Ebl (no.)
Male					
5 %	21.4 ± 4.5 ^{a)} *	1.5 ± 0.9	77.1 ± 4.3 *	0.1 ± 0.2	1.8 ± 2.1
1.7 %	24.4 ± 4.1 **	1.3 ± 0.5	74.0 ± 3.8**	0.3 ± 0.3	1.8 ± 1.8
0.6 %	25.0 ± 2.7**	1.6 ± 0.7	73.4 ± 3.1**	0.1 ± 0.2	3.1 ± 2.3
0.2 %	22.5 ± 3.8**	1.3 ± 1.1	76.0 ± 3.6**	0.2 ± 0.2	1.9 ± 1.2
Control	17.3 ± 3.6	1.3 ± 0.5	81.3 ± 3.5	0.1 ± 0.2	2.2 ± 1.8
Female					
5 %	15.4 ± 3.6	1.1 ± 1.1	83.3 ± 3.8	0.2 ± 0.3	3.7 ± 2.9
1.7 %	19.3 ± 6.0	0.9 ± 0.7	79.6 ± 5.7	0.2 ± 0.3	2.5 ± 1.6
0.6 %	13.8 ± 4.9	1.4 ± 0.8	84.6 ± 5.5	0.2 ± 0.2	4.1 ± 2.1
0.2 %	16.2 ± 2.5	1.3 ± 0.9	82.3 ± 2.9	0.2 ± 0.3	3.6 ± 2.9
Control	17.5 ± 5.3	1.3 ± 0.8	81.1 ± 5.2	0.2 ± 0.3	4.6 ± 3.7

a) : Mean ± S.D.

* ** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

年需要が増大している。特に暖色系色素は視覚的に食進増強作用があり食用色素中に占める割合も高い。しかし、天然色素は原料の品質によって、色調の均一性にばらつきが生じる場合が多い。アスタキサンチンは鮭、鯛、海老など魚介類の赤色色調の主成分であり、主にオキアミや甲殻類

からの抽出によって得られているが、色素濃度、原料由来の臭気等、品質と経済性から問題が多い。一方、1976年にアスタキサンチンを特異的に産生するファフィア酵母が見つかり、その後、菌株の選択、培養条件の改良により高率にアスタキサンチンを生産することが可能となった⁵⁾経緯

Table 5. Serum biochemical data in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

Group	TP (g/dl)	A/G	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	UN (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)
Male							
5 %	6.4±0.1 ^{a)}	2.4±0.1	73.7±5.3	96.9±29.8	18.8±1.6	10.4±0.2	5.3±0.3
1.7 %	6.5±0.1	2.5±0.1	72.4±4.1	90.7±28.5	19.9±1.1	10.4±0.2	5.5±0.3
0.6 %	6.4±0.2	2.6±0.2	72.4±5.9	84.1±25.4**	19.3±2.0	10.6±0.1	5.8±0.3*
0.2 %	6.5±0.1	2.5±0.2	68.4±5.5	65.1±17.3**	19.7±1.2	10.4±0.1	6.8±0.4**
Control	6.4±0.2	2.4±0.1	72.8±4.8	113.1±13.1	20.1±1.8	10.5±0.2	5.5±0.3
Female							
5 %	6.6±0.2	3.0±0.2	103.9±9.4	25.2±6.5	19.2±2.0	10.4±0.2	6.1±0.3
1.7 %	6.5±0.2	3.0±0.2	97.8±7.6	20.5±9.1	18.7±1.8	10.3±0.4	6.0±0.5
0.6 %	6.5±0.2	3.0±0.2	97.3±9.8	23.5±7.4	18.5±1.4*	10.4±0.2	6.1±0.4
0.2 %	6.5±0.2	2.9±0.2	96.3±6.2	22.2±10.0	17.9±1.3**	10.5±0.2	6.1±0.4
Control	6.5±0.2	2.9±0.2	98.3±7.5	28.5±9.3	20.4±2.1	10.6±0.2	6.1±0.4

a) : Mean ± S.D.

* ** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

Table 5. Serum biochemical data in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks (continued)

Group	Na (mEQ/l)	K (mEQ/l)	Cl (mEQ/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	Alb (g/dl)
Male							
5 %	144.8±0.9 ^{a)}	4.3±0.3	106.0±0.6**	75.5±8.5**	53.0±3.0	348.5±16.5	4.5±0.1
1.7 %	145.0±0.9**	4.3±0.2	106.3±0.7**	74.5±8.9**	51.2±4.0	338.8±20.6	4.6±0.1
0.6 %	144.6±1.0**	4.1±0.2**	105.5±1.8*	76.7±11.5*	56.7±5.0*	324.0±23.5*	4.6±0.1
0.2 %	146.5±1.0**	4.4±0.2	104.8±0.8*	89.1±5.1	51.2±5.5	341.7±18.9	4.6±0.1
Control	142.9±0.7	4.4±0.1	103.8±0.8	90.9±12.5	52.4±4.1	343.1±15.7	4.5±0.1
Female							
5 %	144.0±1.2	4.1±0.1	105.4±1.0	70.7±4.9**	39.4±7.9	232.1±31.3	5.0±0.2
1.7 %	146.0±1.2*	4.1±0.2	105.3±1.6	77.7±6.4	39.8±2.7	222.4±16.6	4.8±0.1
0.6 %	143.9±1.4	4.0±0.2	105.2±1.1	69.8±3.7**	37.1±3.3**	223.7±35.0	4.9±0.1
0.2 %	144.8±1.1	3.8±0.2*	105.1±1.7	67.9±4.1**	41.9±6.5	229.6±18.4	4.8±0.2
Control	144.8±1.1	4.1±0.2	106.4±2.2	80.0±4.0	41.6±2.6	248.7±46.6	4.8±0.2

a) : Mean ± S.D.

* , ** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

があるが、その毒性についての情報はほとんどない。ファフィア色素製剤の構成は色素15%と大豆油85%であるが、大豆油の影響を除去するため、今回供与されたファフィア色素原体はファフィア100%のものを使った。実験に用いた用量は製剤での濃度とし、その濃度に含有しているファフィア色素量を実際に添加した。色素としての実際の摂取

量は Table 2 のファフィア色素摂取量に表記した。今回用いたファフィア色素中のアスタキサンチンは78%であった。血液学的検査において雌の投与群で PLT や赤血球の増加傾向が認められたが、用量相関や雌雄差等はなく、偶発的な変動と考えられた。白血球の血液像分類では雄の投与群で分葉核好中球の増加とリンパ球の減少が投与群で認

Table 6. Organ weights of male in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

	Dose level (%)				
	0	0.2	0.6	1.7	5
Absolute					
Body (g)	312.0±16.1 ^{a)}	314.2±10.3	314.2±17.4	314.6±12.8	327.4±13.1*
Brain(mg)	1911±4	1905±5 *	1923±5**	1946±4**	1946±4**
Thymus(mg)	199±26	208±44	229±46	210±43	215±47
Lung(g) R	0.66±0.08	0.66±0.05	0.67±0.04	0.67±0.04	0.69±0.04
L	0.35±0.02	0.35±0.02	0.35±0.02	0.35±0.02	0.36±0.01
Heart(g)	0.93±0.09	0.95±0.05	0.92±0.05	0.93±0.05	0.97±0.07
Spleen(g)	0.62±0.04	0.65±0.04	0.64±0.05	0.67±0.05*	0.64±0.03
Relative					
Brain (mg)	614±3	607±2 *	613±3	619±2 **	595±2**
Thymus (mg)	64±6	66±15	73±12	67±12	66±14
Lung (mg) R	211±23	209±17	214±10	213±14	211±10
L	113±5	112±7	110±4	113±8	108±3
Heart (mg)	298±18	301±16	294±14	296±15	295±15
Spleen (mg)	197±10	207±12	203±11	213±15*	197±10

a) : Mean± S.D.

* ,** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

Table 6. Organ weights of male in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks (continued)

	Dose level (%)				
	0	0.2	0.6	1.7	5
Absolute					
Liver (g)	7.58±0.43 ^{a)}	7.28±0.41	7.36±0.60	7.70±0.47	7.98±0.38*
Adrenal (mg) R	17±3.0	17±1.6	17±2.0	16±2.0	16±2.1
L	18±2.1	17±4.5	19±1.5	19±3.3	18±3.6
Kidney (g) R	0.95±0.06	0.95±0.06	0.94±0.06	0.95±0.04	0.99±0.08
L	0.97±0.08	0.93±0.05	0.96±0.05	0.98±0.05	1.01±0.07
Testis (g) R	1.49±0.05	1.51±0.02	1.44±0.27	1.51±0.04	1.52±0.07
L	1.43±0.23	1.56±0.09	1.48±0.27	1.55±0.05	1.53±0.06
Relative					
Liver (g)	2.43±0.09	2.32±0.07	2.34±0.09	2.45±0.10	2.44±0.06
Adrenal (mg) R	5.4±0.9	5.4±0.6	5.3±0.5	5.1±0.6	4.9±0.6
L	5.8±0.6	5.8±0.7	6.1±0.5	6.1±1.2	5.5±1.1
Kidney (g) R	0.30±0.01	0.30±0.01	0.30±0.01	0.30±0.01	0.30±0.02
L	0.31±0.02	0.30±0.01	0.31±0.01	0.31±0.01	0.31±0.02
Testis (g) R	0.48±0.03	0.48±0.02	0.46±0.09	0.48±0.02	0.46±0.02
L	0.46±0.08	0.50±0.03	0.47±0.09	0.49±0.03	0.47±0.02

a) : Mean± S.D.

* : Significantly different from the control at p<0.05

Table 7. Organ weights of female in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

	Dose level (%)				
	0	0.2	0.6	1.7	5
Absolute					
Body (g)	178.6±6.0 ^{a)}	172.3±5.5*	178.1±8.1	175.0±10.3	179.9±6.8
Brain(mg)	1796±4	1787±5**	1775±5**	1776±3**	1797±3
Thymus(mg)	164±28	155±34	166±20	176±28	175±36
Lung(g) R	0.47±0.03	0.48±0.03	0.47±0.03	0.47±0.02	0.49±0.02
L	0.26±0.02	0.25±0.02	0.25±0.02	0.25±0.02	0.26±0.02
Heart(g)	0.61±0.04	0.59±0.05	0.60±0.04	0.57±0.02*	0.61±0.03
Spleen(g)	0.41±0.02	0.39±0.03	0.40±0.06	0.40±0.03	0.40±0.01
Relative					
Brain (mg)	1007±34	1038±45	998±35	1017±49	1000±49
Thymus (mg)	92±16	90±19	93±11	100±13	97±21
Lung (mg) R	265±11	279±20	265±19	270±17	272±18
L	146±11	148±11	142±11	145±8	145±11
Heart (mg)	340±31	343±26	338±20	325±18	338±23
Spleen (mg)	230±16	229±20	225±34	228±11	225±10

a) : Mean ± S.D.

*,** : Significantly different from the control at * p<0.05, ** p<0.01, respectively

Table 7. Organ weights of female in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks (continued)

	Dose level (%)				
	0	0.2	0.6	1.7	5
Absolute					
Liver (g)	4.00±0.24	3.85±0.19	3.94±0.20	3.78±0.27	4.02±0.14
Adrenal (mg) R	20±2.4	21±3.0	21±1.8	19±2.2	20±3.5
L	23±3.0	23±3.2	21±2.0	21±2.6	22±2.0
Kidney (g) R	0.60±0.04	0.56±0.03*	0.58±0.04	0.57±0.04	0.60±0.04
L	0.61±0.03	0.57±0.03*	0.59±0.05	0.59±0.03	0.62±0.04
Relative					
Liver (g)	2.24±0.15	2.23±0.11	2.21±0.06	2.16±0.12	2.24±0.08
Adrenal (mg) R	11.1±1.4	11.9±1.8	11.6±1.2	10.7±1.0	11.2±1.8
L	12.8±1.8	13.5±2.1	11.9±1.0	12.0±1.1	12.2±1.1
Kidney (g) R	0.33±0.02	0.33±0.02	0.33±0.02	0.32±0.01	0.33±0.02
L	0.34±0.02	0.33±0.02	0.33±0.02	0.34±0.01	0.34±0.02

a) : Mean ± S.D.

* : Significantly different from the control at p<0.05

Table 8. Histopathological findings in rats fed diet containing phaffia colour for 13 weeks

Organ	Findings	Male		Female	
		0%	5%	0%	5%
Stomach	Squamous metaplasia in glandular stomach +	1	0	0	0
	Ectopic gland in forestomach +	0	1	0	0
Liver	Microgranuloma +	1	1	1	3
Pancreas	Acinar atrophy +	1	1	0	0
	Cell infiltration +	0	0	1	0
Heart	Myocarditis ±	6	3	0	0
Lung	Perivascular cell infiltration +	0	1	0	0
Peyer's patch in small intestine	Calcification +	0	1	0	0
Thymus	Cyst +	0	1	0	0
Pituitary	Dilatation of sinusoid +	0	1	0	0
	Rathke's pouch +	0	1	0	1
Testis	Focal atrophy +	1	0	-	-
	Diffuse atrophy +	1	0	-	-
Prostate	Cell infiltration +	1	0	-	-
		0	1	-	-
Abdominal cavity	Accessory spleen +	0	0	0	1

められたが、用量相関性や雄のみの変動、白血球総数の変化や炎症等の対応する病理組織所見がなかったことから、投与に起因するものではないと考えられた。血液生化学的検査においては、雌雄ともに用量相関性のある変化ではなく散発的な変動であり、被験物質の影響は認められなかった。雌の0.2%群で体重の増加抑制が認められた、しかし減少率は対照群の96%であり、この抑制程度は投与開始時に対照群との間に認められたものと同じであった。臓器重量において雄の5%群で肝実重量の有意な増加が認められたが、相対重量や組織学的に肝細胞の腫大など重量増加を示唆する所見は認められず、投与に関連する変化が否か明らかにすることができなかった。雄の0.6%以上の投与群で脳重量が有意に増加したが、対応する組織学的変化が見られなかったことから投与に起因した変化ではないと考えられた。病理組織学的所見の多くは異所性臓器の出現や胎生期の遺残などであり、投与に起因したものではなかった。また、小肉芽腫や細胞浸潤が種々の臓器・組織に見られたが、散発的で、発生傾向や程度に同一性がなかったことから、偶発的な自然発生の病変と考えられた⁷⁻⁸⁾。

以上の結果より、ファフィア色素5% (ファフィア色素量として0.075%) 飼料に混じり、13週間雌雄F344ラットに投与したが、被験物質に起因する毒性所見は認められず、本物質の食品添加物としての安全性に問題ないことが示唆された。

文 献

- 1) Schroeder WA, Johnson EA: Singlet oxygen and peroxy radicals regulate carotenoid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma*. *J. Biol. Chem.* **270**(31):18374~9, (1995)
- 2) Jyonouchi H, Zhang L, Tomita Y: Studies of immunomodulating actions of carotenoids. II. Astaxanthin enhances in vitro antibody production to T-dependent antigens without facilitating polyclonal B-cell activation. *Nutr. Cancer* **19**(3):269~80, (1993)
- 3) Tanaka T, Morishita Y, Suzui M, Kojima T, Okumura A, Mori H: Chemoprevention of mouse urinary bladder carcinogenesis by the naturally occurring carotenoid astaxanthin. *Carcinogenesis* **15**(1):15~9, (1994)
- 4) Tanaka T, Makita H, Ohnishi M, Mori H, Satoh K, Hara A: Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Res.* **55** (18):4059~64 (1995)
- 5) 「6」アスタキサンチン産生微生物を用いた色素生産技術の開発。新しい食品素材への挑戦、食品機能の変換・高度化技術。フードデザイン技術研究組合 (1994)
- 6) 山崎実, 野口雄次, 丹田勝, 新谷茂: ラット一般毒性試験における統計的手法の検討。武田研究所報, **40**(3/4), 163~187 (1981)
- 7) 豊田和弘, 林修次, 畝山智香子, 川西徹, 高田幸一, 高橋道人: β -cyclodextrin13週間経口投与 F344ラットにおける肝病変。衛生試験所報告 **113**, 36~43 (1995)
- 8) Boorman, G. A., Eustis, S. L., Elwell, M. R., Montgomery, C. A., Jr. and Mackenzie, W. F. (eds): "Pathology of the Fischer rat, Reference and Atlas" Academic Press, San Diego (1990)