

塩化マグネシウムのF344ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験

瀧澤 保・安原加壽雄#・三森国敏・小野寺博志・
 糀谷高敏・田村 啓・高木久宜・広瀬雅雄

A 90-day Repeated Dose Oral Toxicity Study of Magnesium Chloride in F344 Rats

Tamotsu Takizawa, Kazuo Yasuhara #, Kunitoshi Mitsumori,
 Hiroshi Onodera, Takatoshi Koujitani, Toru Tamura,
 Hisayoshi Takagi, and Masao Hirose

In order to examine the toxicity of magnesium chloride hexahydrate, four groups of 10 male and 10 female F344 rats received the compound by dietary supplementation at 2.5, 0.5, 0.1 or 0% for 90 days. No treatment-related death was observed during the study. Transient soft stool and sustained increase in water consumption were observed both in males and females of the 2.5% group and slight reduction in body weight gain was noted in the high-dose males. There were no toxic changes in food consumption, organ weights, hematology and biochemistry, and histopathological examinations in any treated-groups. Based on these results, the no-observed-adverse-effect-level was estimated to be 0.5%, and 2.5% is considered to be appropriate as highest dose for a 2-year carcinogenicity study.

Keywords: Magnesium chloride, F344 rat, Dietary supplementation

はじめに

塩化マグネシウムは、海水より塩化ナトリウムを精製する際の副産物である苦汁の主成分であり、単独あるいは硫酸カルシウム等と共に豆腐用凝固剤として使用されている¹⁾。また、硫酸マグネシウム、酸化マグネシウム等の一部のマグネシウム化合物は塩類下剤として使用されており、塩化マグネシウムも以前は同様の目的で使用されていた^{2,3)}。従来の安全性報告では、塩化マグネシウムの経口投与による致死量は、マウスで1,050 mg/kg、ラットで2,800 mg/kgとされている。また、B6C3F1系マウスにおいては、5%混合飼料の13週間投与により腎尿細管の空胞化が認められているが⁴⁾、2%混合飼料の96週間経口投与では各種臨床検査、病理組織学的検索等による異常所見は認められず、発癌性も示さないことが確認されており⁵⁾、妊娠ラットでは、800 mg/kgの経口投与で催奇形性を示さないことが報告されている⁶⁾。しかし、食品添加物を含む化学物質の安全性評価に繁用されているラットでの長期投与による毒性報告はない。そこで、慢性毒性および発癌性試

験における投与量設定の参考にすると共に安全性評価の目的から、F344系ラットに90日間反復投与した際の塩化マグネシウムの毒性について検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質および投与量

塩化マグネシウムは、潮解性を有する無色～白色の結晶性粉末であり、温度により結晶水量が変化するが常温では6水塩として存在する。本試験では、赤穂化成(株)より供与された塩化マグネシウム6水塩をオリエンタル酵母工業(株)において基礎飼料(CRF-1)に混合し、ペレット状に成型した固型の混合飼料を使用した。本混合飼料は、冷蔵、遮光下で3ヶ月間密閉保存後、室温、室内散乱光下で2週間開封保存した際の安定性が確認されていることから、使用時まで冷蔵の飼料貯蔵庫で保管し、動物に与えた飼料は、安定性が確保されている期間内に適宜交換した。本試験における混合飼料中の被験物質濃度は、本試験に先だって実施した2週間の予備試験の結果から決定した。すなわち、動物の混合飼料忌避および予備的毒性を確認する目的で、通常食品添加物の混餌投与試験における最高濃度の上限とされている5%およびその1/2量の2.5%に混じた粉末の混合飼料をF344系ラットに2週間与えた結果、5および2.5%群共に摂餌量の減少はみられなかった。しかし、両

To whom correspondence should be addressed:

Kazuo Yasuhara; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501,
 Japan; Tel: 03-3700-9845 Fax: 03-3700-1425
 E-mail address: yasuhara@nihs.go.jp

濃度群において、下痢と共に飲水量の増加および体重の増加抑制傾向が認められた。また、剖検において盲腸・大腸内容物の泥状化が認められた。これらの成績から、本試験における最高濃度を被験物質の影響が現れると予想された2.5%に設定し、以下公比5で減じ0.5および0.1%に設定した。

2. 動物および方法

5週齢のF344/DuCrjラット (SPF) 雌雄各40匹を日本チャールス・リバー(株)より購入し、8日間馴化させた後、6週齢で実験に供した。動物は、投与開始前日の最新体重に基づいて、各群の平均体重が近似するように雌雄それぞれ1群10匹の4群に配した。動物は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18回/時 (オールフレッシュ)、12時間の明暗サイクル (7~19時点灯) に制御されたバリアシステムの飼育室で、ソフトチップ (三協ラボサービス) の床敷を敷いたプラスチックケージに1ケージあたり3~4匹ずつ収容して飼育し、ケージを適宜交換した。被験物質群の動物には、2.5、0.5あるいは0.1%の塩化マグネシウム混合飼料を、対照群の動物には基礎飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業(株)) をそれぞれ自由摂取させ、飲料水として水道水を自由摂取させた。

試験期間中、一般状態および生死の確認を毎日行い、体重、摂餌量および摂水量を週1回測定した。投与期間終了後、全生存動物を一夜絶食させた後、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血した。血液学的検査として赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数 (WBC) および血小板数 (Plt) を多項目自動血球計数装置 (M-2000型, 東亜医用電子) を用いて測定すると共に、Wright染色した塗抹標本を作製し、桿状核好中球 (Band)、分葉核好中球 (Seg)、好酸球 (Eosino)、好塩基球 (Baso)、リンパ球 (Lympho)、単球 (Mono) および有核赤血球 (Ebl) について血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-120A型, 立石電気) を用いて計測した。また、血清について総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、総コレステロール (T-Chol)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ GTP)、コリンエステラーゼ (ChE)、アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K) およびクロール (Cl) の各項目を(株)エスアールエル (東京) で測定した。採血終了後、動物を放血死させ、剖検を実施すると共に、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓および精巣の重量を測定した。また、リンパ節 (頸部・腸間膜)、唾

液腺、骨および骨髄 (胸骨、大腿骨)、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、前胃、腺胃、十二指腸、小腸 (空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣および卵管、子宮、陰、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球およびその附属器を10%中性緩衝ホルマリン液で、精巣 (対照群と最高用量群の各5例) を Bouin 液でそれぞれ固定後、常法に従って薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して、対照群と最高用量群の動物について病理組織学検索を行った。

3. 統計学的処理

投与期間中の体重、血液学的検査、血清生化学的検査および器官重量の各成績は一元配置分散分析により群間比較を行い、有意水準5%で有意な項目については、さらに対照群との比較を、Dunnettの検定を用いて両側検定にて有意水準5%および1%で実施した。

結 果

1. 一般状態および死亡動物

対照群の雄1例で投与5週から左側臀部における直径3~4 cm大の腫瘤に加え、耳介と眼球の褪色 (貧血) がみられ、体重が減少したため、投与10週に同個体を切迫屠殺した。切迫例の剖検では、脾臓の腫大および肝臓の褪色がみられた。生存例では、2.5%群で投与2週から軟便によると思われる被毛の汚れが雌雄で認められたが、投与期間中に消失した。

2. 体重、摂餌量および摂水量

2.5%群の雄で、対照群と比べ体重の低値が投与5週以降認められ、投与最終週の体重では有意であった (Fig 1)。

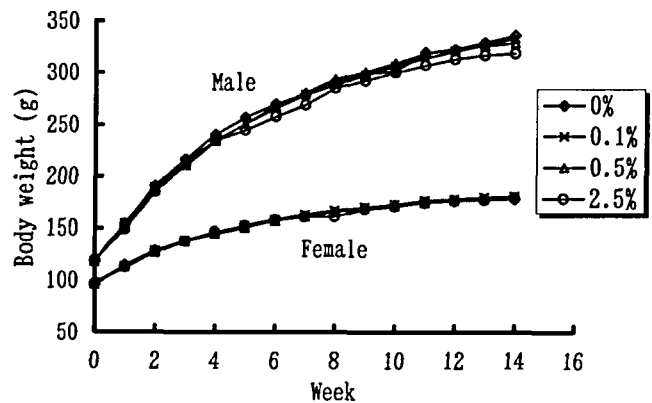


Fig. 1 Body weight change of rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

摂餌量に関しては対照群と被験物質群との間に明らかな差は認められず、1日当たりの被験物質平均摂取量は0.1%群の雄で62 mg/kg、雌で59 mg/kg、0.5%群の雄で308 mg/kg、雌で299 mg/kg、2.5%群の雄で1,600 mg/kg、雌で1,531 mg/kgと被験物質濃度に相関して増加した (Table 1)。2.5%群の雌雄で投与1週より投与期間中継続して摂水量の増加が認められた (Fig 2)。

Table 1 Food consumption and the amount of magnesium chloride consumed in rats fed diet containing the substance for 90 days

	Dose level (%)	Food consumption (g/rat/day)	Intakes of MgCl ₂ (mg/kg/day)
Male	0	13.4	—
	0.1	13.6	62
	0.5	13.4	308
	2.5	13.7	1600
Female	0	8.1	—
	0.1	8.3	59
	0.5	8.3	299
	2.5	8.5	1531

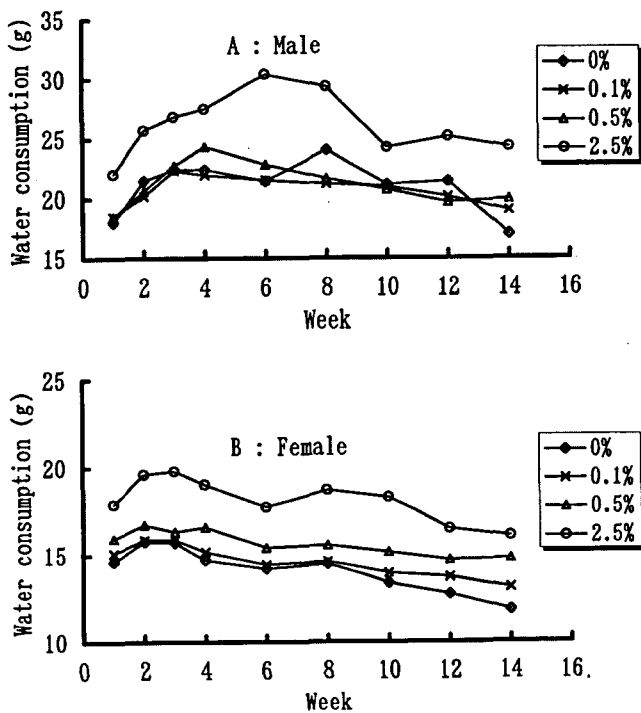


Fig.2 Water consumption in rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

3. 血液学的検査および血清生化学的検査

血液学的検査において、雄では2.5%群で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値および白血球分類における好酸球比が対照群に比して低値となり、0.5%群でも赤

血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低値であったが、その値は2.5%群よりも低く、投与量に相関した変化ではなかった (Table 2)。雌では2.5%群でヘモグロビン量およびMCHが高値であった (Table 3)。血清生化学的検査においては、雄の2.5%群で総コレステロール、コリンエステラーゼ、乳酸脱水素酵素およびアルカリホスファターゼの低下と無機リンの増加がみられ、コリンエステラーゼ、アルカリホスファターゼおよび無機リンについては0.5%群でも同様の変化がみられた (Table 4)。雌では2.5%群で乳酸脱水素酵素の低下がみられた (Table 5)。その他、血液学的検査あるいは血清生化学的検査の幾つかの項目で統計学的有意差が認められたが、いずれも投与量との相関に乏しい変化であった。

4. 器官重量

雄では2.5%群で剖検時体重がわずかに低値であり、脾臓の実重量、肝臓の実重量および相対重量が低値であった (Table 6)。肝臓相対重量の低値は0.5および0.1%群でも認められたが、0.1%群における変化が最も大きく、投与量に相関した変化ではなかった。雌では2.5%群で肝臓の実および相対重量が低値を示した (Table 7)。

5. 病理組織学的検査

腎臓で尿細管の好塩基化、尿細管上皮内の好酸性小体が対照群を含み散見されたが、投与群と対照群との間に変化の差はみられなかった。なお、対照群の切迫屠殺例における左側腎部の腫瘍は、病理組織学的には広範な壊死を伴った上皮性の悪性腫瘍であった。

考 察

塩化マグネシウムや硫酸マグネシウム等のマグネシウム無機塩は瀉下作用を示すことが知られており^{2,3)}、我々の検討でも2週間予備試験では5および2.5%群で下痢が認められ、90日間試験では2.5%群で軟便が投与初期に一過性に認められた。90日間試験で投与期間中に症状が消失した一因として、体重増加により被験薬の体重当たりの負荷量が減少したことが考えられた。2.5%群の雌雄でみられた摂水量の増加も被験物質の影響と考えられたが、90日間の投与期間中継続して認められており、軟便・下痢による水分喪失に伴った変化とは断定できず、その原因を特定することはできなかった。しかし、水分貯留を示唆する浮腫や血液希釈あるいは排泄器官である腎に負荷が加わったことによると考えられる障害は認められていないことから、摂取された水は通常の過程により処理排泄されているものと考えられ、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。2.5%群では、さらに雄で体重の増加抑制が認められた。Tanakaらの報告⁴⁾によると、B6C3F1マウスに塩化マグネ

Table 2 Hematological changes in male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		9	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	919 ± 28	899 ± 14 ^a	867 ± 29 ^{b**}	877 ± 39 [*]
Hb	g/dL	15.2 ± 0.4	14.7 ± 0.2 ^a	14.2 ± 0.4 ^{b**}	14.6 ± 0.6 [*]
Ht	%	44.0 ± 1.4	43.3 ± 0.3 ^a	41.7 ± 1.2 ^{b**}	42.5 ± 1.8 [*]
MCV	fL	47.9 ± 0.4	48.2 ± 0.6 ^a	48.1 ± 0.7 ^b	48.4 ± 0.5
MCH	pg	16.5 ± 0.1	16.3 ± 0.3 ^a	16.4 ± 0.2 ^b	16.6 ± 0.2
MCHC	g/dL	34.5 ± 0.3	33.9 ± 0.5 ^{a*}	34.1 ± 0.5 ^b	34.3 ± 0.4
Plt	10 ¹⁰ /L	71.1 ± 7.0	83.6 ± 9.7 ^{a**}	89.9 ± 8.6 ^{b**}	73.5 ± 4.6
Ebl	count/200 WBC	1.9 ± 1.3	2.4 ± 1.8	1.9 ± 1.5	1.7 ± 1.7
WBC	10 ⁸ /L	39.8 ± 4.4	41.6 ± 8.6 ^a	34.7 ± 3.5 ^b	39.6 ± 5.2
Differential cell count (%)					
	Band	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Seg	20.0 ± 5.5	25.0 ± 6.0	24.6 ± 2.2	24.0 ± 5.0
	Eosino	1.8 ± 1.0	0.9 ± 0.5 [*]	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.6 ^{**}
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	77.7 ± 5.9	73.8 ± 6.1	74.0 ± 2.2	74.8 ± 5.1
	Mono	0.5 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.4	0.5 ± 0.3

Each value represents the mean±S.D. (a: 8 animals, b: 9 animals).

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

Table 3 Hematological changes in female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		10	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	850 ± 37 ^a	842 ± 26	844 ± 24	877 ± 34
Hb	g/dL	14.9 ± 0.5 ^a	14.9 ± 0.4	15.0 ± 0.3	15.6 ± 0.5 ^{**}
Ht	%	42.6 ± 2.0 ^a	42.4 ± 1.1	42.4 ± 1.2	44.3 ± 1.8
MCV	fL	50.1 ± 0.1 ^a	50.3 ± 0.5	50.2 ± 0.2	50.5 ± 0.3
MCH	pg	17.5 ± 0.2 ^a	17.8 ± 0.3	17.7 ± 0.2	17.8 ± 0.2 [*]
MCHC	g/dL	34.9 ± 0.6 ^a	35.3 ± 0.5	35.4 ± 0.3	35.3 ± 0.6
Plt	10 ¹⁰ /L	75.7 ± 2.7 ^a	75.7 ± 4.0	76.9 ± 3.1	76.4 ± 2.4
Ebl	count/200 WBC	3.6 ± 2.0	5.3 ± 2.3	4.2 ± 2.5	5.1 ± 2.7
WBC	10 ⁸ /L	28.7 ± 5.8 ^a	30.5 ± 7.8	30.4 ± 3.7	34.8 ± 5.0
Differential cell count (%)					
	Band	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Seg	19.5 ± 4.8	20.4 ± 6.1	18.8 ± 4.3	18.6 ± 4.8
	Eosino	1.4 ± 1.0	1.7 ± 0.6	1.2 ± 0.9	1.4 ± 1.0
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	78.6 ± 4.9	77.4 ± 6.2	79.6 ± 4.1	79.6 ± 5.5
	Mono	0.5 ± 0.3	0.5 ± 0.5	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.3

Each value represents the mean±S.D. (a: 9 animals).

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

Table 4 Serum biochemistry in male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		9	10	10	10
TP	g/dL	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.5 ± 0.2	6.5 ± 0.2
Alb	g/dL	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1
A/G		2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.1*	2.2 ± 0.1
T-Cho	mg/dL	74.9 ± 5.5	68.4 ± 3.9*	70.7 ± 4.6	65.2 ± 4.9**
γGTP	IU/L	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0
ChE	IU/L	5.9 ± 0.6	5.2 ± 1.0	4.6 ± 0.7**	4.7 ± 0.7**
ALT	IU/L	57.7 ± 6.2	57.5 ± 5.0	58.8 ± 8.4	58.3 ± 4.6
AsT	IU/L	86.2 ± 12.3	82.6 ± 10.0	85.4 ± 10.1	79.6 ± 9.4
LDH	IU/L	880.3 ± 151.0	759.9 ± 330.4	607.0 ± 269.3	371.8 ± 226.9**
ALP	IU/L	395.9 ± 23.8	382.7 ± 24.0	346.2 ± 19.2**	360.6 ± 18.7**
BUN	mg/dL	21.0 ± 2.6	22.4 ± 1.5	21.7 ± 1.2	22.1 ± 1.2
Cre	mg/dL	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1
Ca	mg/dL	10.0 ± 0.2	10.1 ± 0.1	10.2 ± 0.2*	10.2 ± 0.2
IP	mg/dL	5.1 ± 0.4	5.2 ± 0.3	5.9 ± 0.3**	6.1 ± 0.4**
Na	mEQ/L	143.4 ± 0.9	142.8 ± 0.8	142.8 ± 0.8	142.6 ± 1.1
K	mEQ/L	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.5 ± 0.2
Cl	mEQ/L	103.8 ± 1.4	104.5 ± 0.9	104.9 ± 0.7*	103.8 ± 0.9

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 5 Serum biochemistry in female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)		0	0.1	0.5	2.5
No. of animals		10	10	10	9
TP	g/dL	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.2	6.4 ± 0.2*	6.4 ± 0.2
Alb	g/dL	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.2	4.6 ± 0.1**	4.7 ± 0.1
A/G		2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.2
T-Cho	mg/dL	91.6 ± 7.3	90.8 ± 5.3	90.8 ± 6.6	94.7 ± 5.3
γGTP	IU/L	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0
ChE	IU/L	9.0 ± 0.8	8.4 ± 0.7	8.6 ± 0.8	9.1 ± 1.2
ALT	IU/L	46.9 ± 4.5	42.1 ± 4.0*	44.3 ± 5.4	43.6 ± 2.9
AsT	IU/L	75.2 ± 6.7	71.4 ± 5.0	72.7 ± 7.6	72.4 ± 6.7
LDH	IU/L	591.5 ± 234.1	407.5 ± 240.6	391.0 ± 257.4	315.4 ± 155.9*
ALP	IU/L	212.7 ± 26.2	217.6 ± 25.0	227.6 ± 29.2	223.1 ± 24.7
BUN	mg/dL	20.0 ± 1.7	19.0 ± 0.8	19.1 ± 3.8	19.5 ± 2.5
Cre	mg/dL	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
Ca	mg/dL	10.3 ± 0.4	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.1	10.1 ± 0.1
IP	mg/dL	6.1 ± 0.8	5.4 ± 0.5*	5.7 ± 0.5	5.6 ± 0.3
Na	mEQ/L	144.1 ± 1.1	143.6 ± 1.0	143.6 ± 0.7	143.4 ± 0.7
K	mEQ/L	4.4 ± 0.7	4.1 ± 0.5	4.0 ± 0.3	4.1 ± 0.2
Cl	mEQ/L	105.9 ± 1.7	105.9 ± 1.2	105.3 ± 3.5	105.7 ± 0.9

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 6 Organ weight of male rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)	0	0.1	0.5	2.5
No. of animals	9	10	10	10
Body weight (g)	324.1 ± 16.44	322.0 ± 14.53	319.9 ± 9.08	307.3 ± 19.65
Absolute (g)				
Brain	1.927 ± 0.031	1.933 ± 0.039	1.942 ± 0.031	1.907 ± 0.050
Thymus	0.197 ± 0.033	0.200 ± 0.035	0.192 ± 0.029	0.174 ± 0.033
Lung	1.006 ± 0.068	1.027 ± 0.072	1.060 ± 0.136	0.929 ± 0.076
Heart	0.945 ± 0.065	0.956 ± 0.098	0.950 ± 0.047	0.901 ± 0.057
Spleen	0.606 ± 0.027	0.619 ± 0.018	0.601 ± 0.017	0.552 ± 0.045**
Liver	7.871 ± 0.494	7.506 ± 0.467	7.467 ± 0.283	7.192 ± 0.553**
Adrenal	0.039 ± 0.006	0.038 ± 0.009	0.034 ± 0.003	0.038 ± 0.005
Kidney	1.958 ± 0.128	1.901 ± 0.167	1.909 ± 0.060	1.908 ± 0.152
Testis	3.161 ± 0.110	3.073 ± 0.168	3.136 ± 0.104	3.071 ± 0.181
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	0.596 ± 0.028	0.601 ± 0.024	0.608 ± 0.022	0.622 ± 0.028
Thymus	0.061 ± 0.010	0.062 ± 0.012	0.060 ± 0.009	0.057 ± 0.010
Lung	0.310 ± 0.012	0.319 ± 0.011	0.332 ± 0.045	0.302 ± 0.020
Heart	0.291 ± 0.015	0.296 ± 0.019	0.297 ± 0.015	0.294 ± 0.016
Spleen	0.187 ± 0.004	0.193 ± 0.010	0.188 ± 0.007	0.180 ± 0.008
Liver	2.428 ± 0.078	2.330 ± 0.061**	2.335 ± 0.069*	2.339 ± 0.062*
Adrenal	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.002
Kidney	0.605 ± 0.041	0.590 ± 0.030	0.597 ± 0.014	0.621 ± 0.022
Testis	0.976 ± 0.033	0.955 ± 0.044	0.981 ± 0.040	1.001 ± 0.042

Each value represents the mean±S.D.

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

Table 7 Organ weight of female rats fed diet containing magnesium chloride for 90 days

Dose level (%)	0	0.1	0.5	2.5
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	170.8 ± 6.76	171.8 ± 5.45	171.1 ± 12.82	170.3 ± 6.81
Absolute (g)				
Brain	1.762 ± 0.047	1.748 ± 0.032	1.738 ± 0.036	1.737 ± 0.065
Thymus	0.169 ± 0.021	0.158 ± 0.014	0.163 ± 0.023	0.156 ± 0.007
Lung	0.729 ± 0.028	0.696 ± 0.034	0.724 ± 0.089	0.664 ± 0.056
Heart	0.575 ± 0.037	0.565 ± 0.032	0.562 ± 0.053	0.595 ± 0.025
Spleen	0.384 ± 0.031	0.369 ± 0.030	0.362 ± 0.024	0.358 ± 0.024
Liver	3.766 ± 0.195	3.581 ± 0.121	3.607 ± 0.238	3.508 ± 0.184*
Adrenal	0.040 ± 0.008	0.035 ± 0.007	0.039 ± 0.007	0.036 ± 0.006
Kidney	1.069 ± 0.051	1.059 ± 0.065	1.065 ± 0.085	1.077 ± 0.060
Relative (g/100g B.W.)				
Brain	1.033 ± 0.051	1.018 ± 0.031	1.021 ± 0.085	1.021 ± 0.035
Thymus	0.099 ± 0.013	0.092 ± 0.008	0.095 ± 0.011	0.092 ± 0.004
Lung	0.427 ± 0.026	0.405 ± 0.021	0.430 ± 0.098	0.390 ± 0.025
Heart	0.337 ± 0.024	0.329 ± 0.022	0.329 ± 0.019	0.349 ± 0.012
Spleen	0.225 ± 0.016	0.215 ± 0.019	0.212 ± 0.014	0.211 ± 0.014
Liver	2.207 ± 0.119	2.087 ± 0.108	2.113 ± 0.112	2.060 ± 0.057*
Adrenal	0.023 ± 0.004	0.020 ± 0.004	0.023 ± 0.006	0.021 ± 0.004
Kidney	0.626 ± 0.019	0.617 ± 0.043	0.622 ± 0.025	0.633 ± 0.024

Each value represents the mean±S.D.

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

シウムを混餌投与した際にも、5%では明らかな体重増加の抑制が認められており、本試験における成績も、体重に対する軽微な影響を示唆する変化と考えられた。

血液学的検査では、2.5および0.5%群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値が低値となり、2.5%群の雌では逆にヘモグロビン量およびMCHが高値であった。Akagiらは、硫酸マグネシウムをビーグル犬に2あるいは4週間静脈内投与することにより、軽度の貧血が網赤血球の増加および骨髓と脾臓における造血亢進を伴って起こることを報告している^{7,8)}。ヒトに早産治療を目的として硫酸マグネシウムを処置した場合、その血管拡張作用により血液希釈効果が発現しヘマトクリット値が低下することが報告されているが⁹⁾、Akagiらの試験^{7,8)}では、血中の高マグネシウムに起因すると考えられる心刺激誘導遅延や血清カルシウムの低下が認められているにもかかわらず、貧血は投与期間の経過に伴って発現し、貧血以外に血液希釈を示唆する所見は認められないなど血液希釈では説明できない点も多く、ヒトにおける場合とは異なる機序であるとの推測がなされている。一方、Tanakaらの報告⁴⁾では、B6C3F1マウスに塩化マグネシウムを5%まで混餌投与しても、赤血球関連項目の変化は認められていない。今回の試験でみられた赤血球関連項目の減少は、いずれも対照群の動物でも示しうる程度¹⁰⁻¹²⁾の変化であり、血液中の有核赤血球の増減や造血器系に組織学的異常もみられていない。さらに本試験において高マグネシウム血症時に認められる麻痺や中枢抑制症状等は観察されず、血清カルシウムにも変化がみられないことからマグネシウムが高度に蓄積したとは考えがたい。以上の観点から本試験でみられた赤血球項目の減少は毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。血清生化学的検査では、2.5%群の雌雄で乳酸脱水素酵素活性が低下し、2.5%群の雄で総コレステロール、コリンエステラーゼおよびアルカリホスファターゼの低下が、0.5%群の雄でコリンエステラーゼおよびアルカリホスファターゼの低下がみられた。乳酸脱水素酵素は、細胞毒性により細胞から漏出するため、組織障害のマーカーの一つとして測定されているが、血清中の活性値は血液凝固過程で遊出される血球由来の酵素を含んだ値であり、中でも血小板の影響は無視できないとされている¹³⁾。マグネシウムは過剰状態では、血小板の凝集抑制、血清コレステロールの低下を招くことが報告されているが^{14,15)}、先に述べたごとく本試験においてマグネシウムが高度に蓄積したとは考えがたい。また、いずれの項目とも対照群の動物が示しうる程度¹⁰⁻¹²⁾の変化であり、乳酸脱水素酵素およびアルカリホスファターゼは、通常、障害時には上昇するマーカーであるが、本試験では逆に低下しており、測定方法の特性から測定系への干渉もないと考えられた。さらに他の肝臓関連の生化学マーカーに変化がなく、組織学的検索でも肝臓に異常は認められなかった。同様に、無機リン値の上

昇も高マグネシウム血症時に認められることのある変化とされており¹⁶⁾、硫酸マグネシウムのビーグル犬における4週間静脈内投与試験⁸⁾では、マグネシウム負荷による変化として血清カルシウムの低下と共に認められているが、本試験において2.5および0.5%群の雄で認められた変化は、血清カルシウムの変動を伴っておらず、腎、骨等の異常所見も伴わない軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に問題とはならないものと考えられた。

2.5%群の雄でみられた肝臓および脾臓の実重量の減少は、対照群との体重差を反映していると考えられた。肝臓の変化については相対重量の減少を伴っており、2.5%群の雌でも同様の変化がみられたが、肝臓に組織学的異常所見はみられないことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。肝臓相対重量の低値は0.5および0.1%群の雄でもみられたが、投与量との相関性を欠き、実重量の変化もないことから、被験物質の影響とは判断しなかった。

TanakaらによるB6C3F1マウスを用いた塩化マグネシウムの毒性試験⁴⁾では、5%の混餌投与により腎近位尿細管上皮の空胞化がみられている。しかし、本試験ではその様な変化がみられなかったことから、この変化は2.5%より高用量においてのみ発現する変化と考えられた。

以上の結果より、塩化マグネシウムを混じた固型飼料をラットに90日間投与した際には、2.5%投与群で軟便が認められ、2.5%群の雄で体重の増加抑制が認められたことから、無毒性量は0.5% (雄308 mg/kg, 雌299 mg/kg) と推察された。しかし、2.5%投与での軟便は投与を継続しても回復したことから、2年間の発癌性試験の最高用量としては2.5%が適切であると考えられた。

文 献

- 1) 鈴木 郁生, 野島 庄七, 谷村 顕雄 監修: 第7版 食品添加物公定書解説書, 廣川書店, 東京, D208-D211 (1999).
- 2) 熊谷 洋 監修: 臨床薬理学大系 第14巻 無機化合物 消毒薬・殺虫薬 局所に作用する薬物, (株)中山書店, 東京, 18-21 (1966).
- 3) 大阪府病院薬剤師会 編集: 医薬品要覧 (中巻), (株)薬業時報社, 東京, pp.392 (1972).
- 4) Tanaka, H., Hagiwara, A., Kurata, Y., Ogiso, T., Futakuchi, M. and Ito, N.: *Toxicol. Lett.* **73**, 25-32 (1994).
- 5) Kurata, Y., Tamano, S., Shibata, M.-A., Hagiwara, A., Fukushima, S. and Ito, N.: *Fd. Chem. Toxic.* **27**, 559-563 (1989).
- 6) Usami, M., Sakemi, K., Tsuda, M. and Ohno, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **114**, 16-20 (1996).
- 7) Akagi, K., Ide, M., Mizuno, H., Ishii, T., Tamura, K., Inoue, K. and Shimamura, K.: *J. Toxicol. Sci.* **23**, suppl.I, 34-49 (1998).
- 8) Akagi, K., Ide, M., Mizuno, H., Ishii, T., Tamura, K., Inoue, K. and Shimamura, K.: *J. Toxicol. Sci.* **23**, suppl.I, 51-65

- (1998).
- 9) Ferguson, J.E.II., Holbrook, Jr.R.H., Stevenson, D.K., Hensleigh, P.A.and Kredentser, D.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 103-107 (1987).
 - 10) Imazawa, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikeda, T., Nakamura, H., Miyauchi, M.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 115-118 (1999).
 - 11) Nakamura, H., Imazawa, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikeda, T., Miyauchi, M.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 119-122 (1999).
 - 12) Miyauchi, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Nakamura, H., Imazawa, T.and Horose, M.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 123-128 (1999).
 - 13) 谷本 義文：実験動物の臨床化学，清至書院，東京，pp.17-22 (1981).
 - 14) Gawaz, M., Ott, I., Reininger, A.J.and Neumann, F.J.: *Thromb. Haemost.***72**, 912-918 (1994).
 - 15) Altura, B.T., Brust M., Bloom, S., Barbour, R.L., Stempark, J.G.and Altura, B.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 1840-1844 (1990).
 - 16) Massry, S.G., Brautbar, N.: *Adv. Exp. Med. Biol.*, **128**, 51-66 (1980).