

学 位 論 文 要 約

氏 名 大波冴子

題 目 3-Monochloropropane-1, 2-diol 脂肪酸エステルの毒性評価
に関する研究

3-Monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) 脂肪酸エステルは、食品の製造過程で副産物として生成し、多くの食品やその原料に含まれていることが、最近分かってきた。3-MCPD 脂肪酸エステルは、生体内において加水分解を起こし、非遺伝毒性発がん物質である 3-MCPD や、遺伝毒性発がん物質とされる glycidol へ変化することが懸念されているが、3-MCPD 脂肪酸エステル自体の安全性に関するデータは少ない。そのため、3-MCPD 脂肪酸エステルの生体への毒性影響評価が必要と考えられる。本研究では、3-MCPD 脂肪酸エステルのうち、3-MCPD palmitate diester : CDP, 3-MCPD palmitate monoester : CMP, および 3-MCPD oleate diester : CDO の三つに対し、ラットを用いて毒性学的影響の検討を行うこととした。

第 1 章では、3-MCPD 脂肪酸エステルのラット体内における代謝について検討を行った。9 週齢の F344 雄性ラットに、3-MCPD (40 mg/kg), glycidol (37.5 mg/kg), それらのエステル化合物 (CDP, CMP, CDO, glycidol oleate : GO, glycidol linoleate : GL) をほぼ等モル量強制胃内投与した。投与 30 分後に採血し、血清中濃度を測定した。その結果、すべての 3-MCPD 脂肪酸エステル投与群から 3-MCPD が検出され、3-MCPD 脂肪酸エステルは、生体内において 3-MCPD へ加水分解することが示された。さらに、CDP および CDO は、少量ながらそのままの形でも血中に移行することが示唆された。また、glycidol および glycidol 脂肪酸エステル投与群ではいずれも血清中に 3-MCPD が検出され、これらの化合物は、ラットの体内において 3-MCPD に変化することが明らかとなった。一方、3-MCPD および 3-MCPD 脂肪酸エステルから glycidol への変化は認められなかった。

さらに、*in vitro* 試験において、代謝が消化管のどの部位で起きうるか検討を行った。10 週齢の雄性 F344 *gpt delta* ラットを一晩絶食させた後、3 種類の消化管内容物 (胃内容物・十二指腸内容物・盲腸内容物) を採取し、各消化管内容物の希釈溶液に 3-MCPD, glycidol, それらのエステル化合物 (CDP, CMP, CDO, GO, GL) を一種類ずつ添加して、37°C で 30 分インキュベーションし、消化管内容物中濃度の測定を行った。その結果、3-MCPD 脂肪酸エステルから 3-MCPD への変化もしくは、glycidol 脂肪酸エステルから glycidol への変化は、胃・十二指腸・盲腸すべてにおいて起こりうることを示された。また、CDP から CMP への変化と、glycidol および GO から 3-MCPD への変化も、消化管内で起こりうることを示唆された。

第 1 章の結果をまとめると、3-MCPD 脂肪酸エステルは、一部は消化管内において加水分解されて 3-MCPD へ変化し、また一部は未変化体のまま体内に吸収されることが明らかとなった。

第 2 章では、3-MCPD 脂肪酸エステルの *in vivo* 遺伝毒性の有無を検討した。6 週齢の雄性 F344 *gpt delta* ラットに、発がん用量 (3.6×10^{-4} mol/kg B. W. /day) の 3-MCPD と等モル濃度の 3-MCPD 脂肪酸エステル (CDP, CMP および CDO) を週 5 回、4 週間強制胃内投与を行

い、小核試験・*Pig-a* 遺伝子突然変異試験・*gpt* 試験により *in vivo* 遺伝毒性について検討を行った。その結果、いずれの試験においても、明らかな *in vivo* 遺伝毒性は認められなかった。そのため、3-MCPD 脂肪酸エステルは、3-MCPD と同様に非遺伝毒性物質である可能性が示された。

第3章では、3-MCPD 脂肪酸エステルの亜慢性毒性の有無を検討するために、ラットを用いた13週間反復投与毒性試験を実施した。雌雄のF344ラットに対し、3種類の3-MCPD 脂肪酸エステル (CDP, CMP および CDO) をそれぞれ3用量、強制胃内投与を13週間実施し、病理組織学的解析を実施した。その結果、3-MCPD 脂肪酸エステル間における毒性の違いは認められなかったが、3-MCPD と比較した場合、急性期の反応 (尿細管壊死) は3-MCPD 脂肪酸エステルでは弱く、慢性期の反応 (腎臓の臓器重量変化・精巣上体先端部のアポトーシス細胞の増加) は同程度であった。本研究におけるNOAELは、CDPは14 mg/kg B. W. /day, CMPは8 mg/kg B. W. /day, CDOは15 mg/kg B. W. /dayであり、3-MCPD量に換算すると2.5 mg/kg B. W. /dayであった。

以上の結果より、3-MCPD 脂肪酸エステルは、遺伝毒性は認められないものの、高用量を長期間摂取することで、腎臓や精巣に影響を及ぼす恐れがあることが示唆された。今後、3-MCPD 脂肪酸エステルのTDIの設定が必要であると考えられる。

学 位 論 文 要 約

氏 名 ONAMI, Saeko

題 目 Studies on Toxicological Evaluation of
3-Monochloropropane-1,2-diol Fatty Acid Esters
(3-Monochloropropane-1,2-diol 脂肪酸エステルの毒性評価
に関する研究)

3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) fatty acid esters have recently found to be generated in various foods and food ingredients as a result of food processing. These compounds might be metabolized to 3-MCPD of a nongenotoxic carcinogen in the body. As a further concern, 3-MCPD might be metabolized to glycidol of a genotoxic carcinogen. But there are few reports about toxicity of these compounds. Therefore, we examined toxicity of three 3-MCPD fatty acid esters (3-MCPD palmitate diester: CDP, 3-MCPD palmitate monoester: CMP, 3-MCPD oleate diester: CDO) to rat.

In Chapter 1, we evaluated the bioavailability of 3-MCPD fatty acid esters in rats. We administered a carcinogenic dose of 3-MCPD (40 mg/kg), glycidol (37.5 mg/kg) or these esters at equimolar concentrations doses by gavage to 9-week-old male F344 rats. After 30 min, we collected blood samples and analyzed serum concentrations. As a result, 3-MCPD was detected in all 3-MCPD fatty acid esters, glycidol and glycidol fatty acid esters groups. Therefore, these compounds could be hydrolyzed to 3-MCPD in body. On the other hand, it was not shown that 3-MCPD and 3-MCPD fatty acid esters might be hydrolyzed to glycidol in body. Furthermore, CDP and CDO were detected themselves in serum.

In addition, we evaluated where 3-MCPD fatty acid esters might be hydrolyzed at gastrointestinal tract *in vitro* assay. After an overnight fast, we collected three gut content samples (gastric, duodenal and cecal contents) from 10-week-old male F344 *gpt* delta rats. The three gut content samples were suspended in purified water and mixed 3-MCPD and glycidol and associated esters (CDP, CMP, CDO, glycidol oleate: GO, glycidol linoleate: GL). The each mixture was incubated at 37°C 30min and we measured concentration of them. As a result, we detected that 3-MCPD fatty acid esters changed to 3-MCPD and glycidol fatty acid esters changed to glycidol in rat stomach, duodenum or cecum. Moreover, we detected that CDP might be changed to CMP or glycidol and GO might be changed to 3-MCPD in rat gastrointestinal tract.

These results of Chapter 1 are summarized as follows, some 3-MCPD fatty acid esters might be hydrolyzed to 3-MCPD in rat gastrointestinal tract and other 3-MCPD fatty acid esters absorbed as unchanged ester in rat.

In Chapter 2, we evaluated *in vivo* genotoxicity of 3-MCPD fatty acid esters. We administered a carcinogenic dose (3.6×10^{-4} mol/kg B. W. /day) of 3-MCPD or these esters at equimolar concentrations by gavage 5 times a week for 4 weeks to 6-week-old male

F344 *gpt* delta rats, and performed *in vivo* micronucleus, *Pig-a* mutation and *gpt* assays. As a result, *in vivo* genotoxicity was not detected in these analyses. It was suggested that 3-MCPD fatty acid esters, at least CDP, CMP and CDO, as well as 3-MCPD are not *in vivo* genotoxins.

In Chapter 3, we conducted the 13-week subchronic toxicity study of 3-MCPD fatty acid esters in rats to examine toxicity of them by histopathological analyses. We administered a carcinogenic dose (3.6×10^{-4} mol/kg B.W./day) of 3-MCPD or these esters at equimolar concentrations and two 1/4 lower doses by gavage 5 times a week for 13 weeks to F344 male and female rats. As a result, compared with 3-MCPD, the toxicities of the 3-MCPD fatty acid esters were lower in the acute phase regarding tubular necrosis and equivalent in the subchronic phase, as evidenced by kidney organ weight gain in males and females and apoptosis in the initial segment of the epididymis. The no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) in the present experiment in F344 rats were estimated to be 14 mg/kg B.W./day for CDP, 8 mg/kg B.W./day for CMP and 15 mg/kg B.W./day for CDO, equimolar to 2.5 mg/kg B.W./day 3-MCPD in both males and females. Based on the results obtained from these studies, although it can be concluded that 3-MCPD fatty acid esters did not appear to exert genotoxicity, it was suggested that toxicity for kidney and testes

These results suggest that 3-MCPD fatty acid esters are not *in vivo* genotoxicants, although they may exert renal and testicular toxicity. For risk assessment of these compounds, it is considered that TDI (tolerable daily intake) values should be established.