



平成 15 年度

既存添加物の安全性に関する試験

(90 日間反復投与毒性試験)

コメヌカ酵素分解物のラットを用いる
90 日間反復経口投与毒性試験

国立医薬品食品衛生研究所 委託

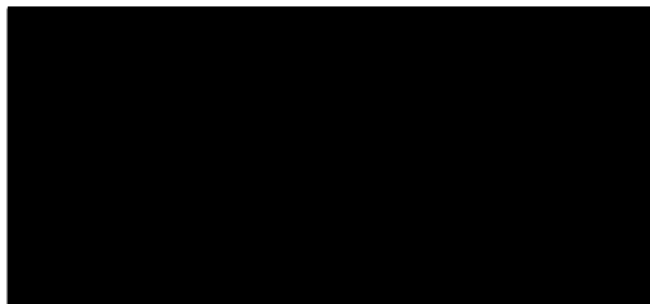




表 題 コメヌカ酵素分解物のラットを用いる 90 日間反復経口投与
毒性試験

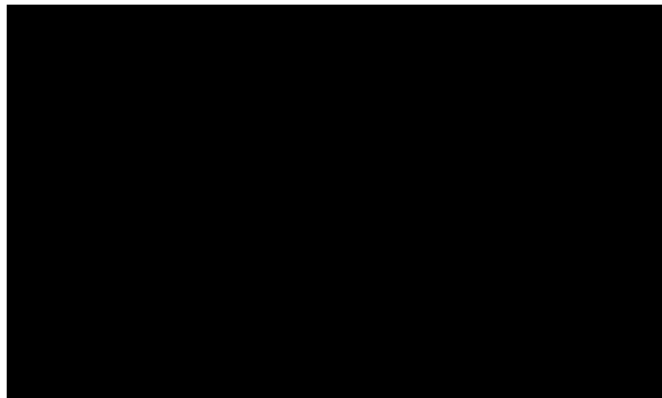
試 験 委 託 者 国立医薬品食品衛生研究所
東京都世田谷区上用賀 1-18-1

被 験 物 質 名 コメヌカ酵素分解物

試 験 項 目 ラットを用いる 90 日間反復投与毒性試験

試 験 実 施 施 設

請 負 契 約 者



コメヌカ酵素分解物のラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

試験責任者

要旨

コメヌカ酵素分解物の90日間反復投与毒性試験を，ラットを用いて実施した．投与量は0（注射用水），100，300及び1000 mg/kg/日とし，F344/DuCrj（Fischer）系SPFラット（1群雌雄各10匹，6週齢）に90日間強制経口投与した．

死亡はみられず，一般状態，体重，摂餌量，眼科学検査，尿検査（摂水量含む），血液学検査，血液化学検査，器官重量，剖検及び病理組織学検査のいずれの項目にも被験物質投与に起因する変化はみられなかった．

以上の如く，コメヌカ酵素分解物を100，300及び1000 mg/kg /日の用量でF344ラットに90日間強制経口投与した結果，いずれの項目においても明らかな毒性変化は認められなかった．したがって，無毒性量は雌雄ともに1000 mg/kg/日を上回ると考えられた．

A. 目的

既存添加物，コメヌカ酵素分解物のラットを用いる 90 日間経口投与毒性試験を行い，安全性評価の資料を得ることを目的とした．

媒体

名称：注射用水
規格：日本薬局方
メーカー：株式会社大塚製薬工場
ロット番号：
保存：室温

B. 方法

1 被験物質及び媒体

被験物質

コメヌカ酵素分解物は，日本食品添加物協会から提供された．使用した被験物質の性状などを以下に示した．

供給者：日本食品添加物協会

ロット番号：

性状：黄褐色の粉末（脱脂米ぬかから得られたフィチン酸及びペプチドを主成分とする）で，わずかに特有のにおいがある．

保存：室温（実測温度：14～24℃）

2 投与液の調製

被験物質を秤量し注射用水で懸濁して高用量液（100 mg/mL 液）とした．中及び低用量液（30 及び 10 mg/mL 液）はそれぞれを段階希釈して調製した．調製は，投与当日に用時に行った．

3 試験動物

F344/DuCrj（Fischer）系 SPF ラット（日本チャールス・リバー㈱，厚木飼育センター）雌雄 62 匹を 5 週齢で入手し，7 日間檢疫・馴化飼育した後，体重増加が順調で，一般状態及び眼科学検

査に異常のみられない健康と思われる動物雌雄各 40 匹を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日における動物の体重範囲は、雄は 98~119 g、雌は 89~96 g であった。

動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日（投与開始の 3 日前）の体重により層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。動物の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てる）により実施した。群分け後の余剰動物は試験系から除外し、エーテル深麻酔により安楽死させた。

4 飼育条件

動物は、温度 22~25℃、相対湿度 37~64%、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間（07:00~19:00）の飼育室で飼育した。動物は、ブラケット式金属製網ケージ（W 254 x D 350 x H 170mm：リードエンジニアリング(株)）に 1 匹ずつ収容し、固型飼料 CRF-1（放射線滅菌：オリエンタル酵母工業(株)、ロット番号：[REDACTED]）及び飲料水（[REDACTED]：自動給水装置使用）を自由に摂取させた。

飼料中の混入物質については、使用したロットを(財)日本食品分析センターで分析したデータを入手した。飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を [REDACTED]

[REDACTED]に定期的（年 4 回）に依頼してデータを入手した。それぞれ異常のないことを確認したのち、これらのデータを保存した。

5 投与経路、投与期間及び投与回数とそれらの選択理由

本被験物質は主に食品添加物として使用されていることから、毒性試験における投与方法は混餌投与による経口投与が望ましい。しかし、混餌中での安定性が確認できないことから、げっ歯類の毒性試験における一般的な投与方法である強制経口投与を選択した。投与期間は 90 日間とした。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている 1 日 1 回（7 回/週）とした。

6 投与方法及びその選択理由

投与方法は、げっ歯類の経口投与に際して一般的な強制経口投与とした。

投与容量は 10 mL/kg 体重とし、フレキシブル胃ゾンデを用いて強制経口投与した。対照群には媒体（注射用水）を同様に投与した。投与は、08:18~14:50 の間に行った。個体ごとの投与液量は最新の体重を基準に算出した。

7 投与量及びその設定根拠、群構成並びに動物数

ラットにおける 14 日間反復経口投与予備試験（[REDACTED]

[REDACTED] 試験番号 [REDACTED] 投与量：100, 300 及び 1000 mg/kg) において、食品添加物を強制経口投与する場合の最大量である 1000 mg/kg/日においても何ら

毒性学的変化は認められなかった。したがって、1000 mg/kg/日を高用量とし、以下公比約 3 で除した 300 及び 100

mg/kg/日を設定した。1 群当たりの動物を雌雄 10 匹とした。群構成表を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg/日)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg/日)	性	動物数	動物番号
対照群	0	0	10	雄	10	1001~1010
				雌	10	1101~1110
低用量群	100	10	10	雄	10	2001~2010
				雌	10	2101~2110
中用量群	300	30	10	雄	10	3001~3010
				雌	10	3101~3110
高用量群	1000	100	10	雄	10	4001~4010
				雌	10	4101~4110

8 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物用耳標をつけて個体識別を行った。各飼育ケージには、投与量（群）ごとに色分けしたケージラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記して、表示した。

9 検査方法

すべての動物について以下の検査を行った。なお、投与開始日を投与第 1 日と起算し、投与 1 から 7 日を投与第 1 週とした。

一般状態の観察

検疫・馴化期間中は、全個体について毎日 1 回観察した（データは示さず）。

投与期間中は、全個体について毎日 3 回（投与前、投与直後及び投与約 2 時間後、ただし、土曜日及び休日は投与前と投与直後の 2 回）、体外表、栄養状

態、姿勢、行動及び排泄物の異常などの一般状態を観察した。

体重測定

検疫・馴化期間中は、全個体について 3 回測定した（データは示さず）。

投与第 1 週は投与 1 及び 7 日の 2 回、その後は 7 日ごとに 1 回、測定日の投与前（08：17～11：51 の間）に全個体について測定した。また、相対器官重量算出のため、剖検日にも絶食（約 16 時間）後の体重を測定した。

摂餌量測定

投与第 1 週は投与 1 日（前日からの 1 日量）及び 7 日（6 日間の累積量）の 2 回、それ以降は 7 日ごとに 1 回、7 日間の累積量を測定日の投与前（08：43～12：05 の間）に測定し、1 匹 1 日量を算出した。

眼科学検査

検疫・馴化期間中（検疫・馴化 4 日）及び投与第 13 週（投与 87 日）の投与後に検査を行った。

検疫・馴化期間中は、全動物について倒像検眼鏡（Omega 200, HEINE OPTOTECHNIK, Germany）を用いて角膜、眼房、水晶体、硝子体及び眼底などを観察した。なお、異常が認められた動物は群構成から除外した。

投与第 13 週は、各群雌雄各 5 例（群内番号 1～5 番）について、検疫・馴化期間中と同様に肉眼的観察及び検眼鏡を用いた観察を行った。なお、散瞳には散瞳剤（ミドリン®P：参天製薬株式会社）を用いた。

尿検査（摂水量測定を含む）

投与第 13 週（投与 86～87 日）に検査を行った。

当日の投与後に各群雌雄各 5 例（群内番号 1～5 番）を、それぞれ採尿器をセットしたケージに收容し、絶食・自由摂水下で 4 時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の 20 時間尿を採取した。検査項目は次の通りである。なお、最初の 4 時間尿を用いて pH 以下沈渣までの検査と尿量を、その後の 20 時間尿を用いて尿量、浸透圧及び電解質の測定を行った。尿量は 4 時間及び 20 時間の尿量を合計して 24 時間の尿量（mL/24h）を算出した。また、電解質は測定濃度及び 24 時間尿量から 1 日の総排泄量を算出した。摂水量は採尿器をセットしたケージに收容した状態で、1 日摂取量を給水瓶からの減量で測定した。

検査項目	測定方法
pH	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
たん白質	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
ケトン体	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
グルコース	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
潜血	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
ビリルビン	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
ウロビリノーゲン	オーシヨンスティックス-7EA 試験紙 [アークレイ(株)] ^{a)}
色調	肉眼観察
沈渣（細胞，円柱，結晶成分）	鏡検法
尿量	容量測定 (単位：mL)
浸透圧	氷点降下法 ^{b)} (単位：mOsm/kgH ₂ O)
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{c)} (単位：mmol/24h)
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{c)} (単位：mmol/24h)
塩素 (Cl)	電量滴定法 ^{c)} (単位：mmol/24h)

使用測定機器

a) : AUTION MINI™ AM-4290 (アークレイ㈱)

b) : 自動浸透圧測定装置オートアンドスタット OM-6030 (アークレイ㈱)

c) : 全自動電解質分析装置 PVA-α II (株式会社アナリティカル・インスツルメンツ)

血液学検査

投与期間終了翌日の剖検時に、前日から一夜(約 16~20 時間)絶食させた全個体をエーテル麻酔下に開腹し、腹

大動脈から EDTA-2K 加採血瓶 (SB-41 : シスメックス㈱) に血液を採取した。得られた血液を用いて以下の項目について検査した。

検査項目	測定方法	単位
赤血球数 (RBC)	電気抵抗変化検出法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法 ^{a)}	g/dL
ヘマトクリット値 (Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出	%
平均赤血球容積 (MCV)	電気抵抗変化検出法 ^{a)}	fL
平均赤血球血色素量 (MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出	pg
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出	%
網赤血球率	Brecher 法	%
血小板数	電気抵抗変化検出法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
白血球数 (WBC)	電気抵抗変化検出法 ^{a)}	10 ² /μL
白血球百分率	May-Giemsa 染色による鏡検法	%

使用測定機器

a) : コールター全自動 8 項目血球アナライザー T890 (ベックマン・コールター㈱)

血液化学検査

血液学検査のための採血と同時に、腹大動脈から血液を凝固促進剤入り試験管 (ベノジェクト II-オートセップ : テルモ㈱) に採取し、遠心分離 (設定 3,000 rpm, 約 1,600×g, 10 分間) して得られた血清について以下の項目を

測定した。ただし、ASAT, ALAT 及び γ-GTP の測定には、ヘパリン加試験管 (血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン) に採取して遠心分離 (設定 3,000 rpm, 約 1,600×g, 10 分間) により得られた血漿を用いた。

検査項目	測定方法	単位
ASAT (GOT)	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
ALAT (GPT)	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 ^{a)}	IU/L

ALP	Bessey-Lowry 法 ^{a)}	IU/L
総コレステロール	CEH-COD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
トリグリセライド	LPL-GK-GPO-POD 法 ^{a)}	mg/dL
総ビリルビン	ビリルビンオキシダーゼ法 ^{a)}	mg/dL
グルコース	グルコースデヒドロゲナーゼ法 ^{a)}	mg/dL
尿素窒素	Urease-LEDH 法 ^{a)}	mg/dL
クレアチニン	Creatininase-creatinase- sarcosine-oxidase-POD 法 ^{a)}	mg/dL
ナトリウム	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カリウム	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
塩素	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カルシウム	OCPC 法 ^{a)}	mg/dL
無機リン	モリブデン酸法 ^{a)}	mg/dL
総たん白質	Biuret 法 ^{a)}	g/dL
アルブミン	BCG 法 ^{a)}	g/dL
A/G 比	総たん白質及びアルブミンから算出	

使用測定機器

^{a)}: 臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形 (株東芝)

病理学検査

剖検

すべての動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織について肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

器官重量測定

剖検後、すべての動物について以下に示す器官の重量(絶対重量)を測定した。また、絶対重量と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。*印を付した両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)*、副腎*、胸腺、脾臓、心

臓、肺(気管支を含む)、唾液腺(顎下腺、舌下腺)*、肝臓、腎臓*、精巣*、精巣上体*、前立腺(腹側葉)、精囊(凝固線を含む)*、卵巣*及び子宮

病理組織学検査

全個体について、次の器官/組織をリン酸緩衝 10 vol%ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、眼球及び視神経はリン酸緩衝 3 w/v%グルタルアルデヒド・2.5 vol%ホルマリン液で固定、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、リン酸緩衝 10 vol%ホルマリン液で保存した。次いで、全ての器官/組織をパラフィン包埋し、切片とした後ヘマトキシリン・エオジン(H・E)染色を行い対照群と 1000 mg/kg 投与群

のすべての器官／組織について鏡検した。*印を付した器官については両側を摘出し、片側を検察した。

大脳, 小脳, 脊髄 (胸部), 坐骨神経, 眼球*, 視神経*, ハーダー腺*, 下垂体, 甲状腺*, 上皮小体*, 副腎*, 胸腺, 脾臓, 頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節, 心臓, 胸大動脈, 気管, 肺 (気管支を含む), 舌, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 顎下腺*, 舌下腺*, 肝臓, 脾臓, 腎臓*, 膀胱, 精巣*, 精巣上体*, 精囊 (凝固腺を含む)*, 前立腺 (腹側葉), 卵巣*, 子宮, 卵管*, 膣, 乳腺, 皮膚 (鼠径部), 骨及び骨髄 (胸骨及び大腿骨) 及び大腿部骨格筋

上記以外に, 鼻腔及びジンバル腺, 喉頭及び耳標装着部 (耳介) をリン酸緩衝 10 vol%ホルマリン液で保存した。

10 統計解析

各検査項目のうち数値化した成績 (体重, 摂餌量, 摂水量, 尿検査の定量的項目, 血液学検査値, 血液化学検査値及び器官重量) について, まず, Bartlett 法により各群の分散の均一性の検定を行った (有意水準: 1%, 両側)。その結果, 分散が均一の場合には Dunnett 法を用いて対照群と各投与群との平均値の差の検定 (有意水準: 5 及び 1%, 両側) を, 分散が均一でない場合には Dunnett 型の順位和検定法を用いて, 対照群と各投与群との平均順位の差の検定 (有意水準: 5 及び 1%, 両側) を行った^{1), 2)}。

C. 結果

1 一般状態

成績を Table 1 に示した。

雌雄とも死亡はみられず, またいずれの動物にも異常はみられなかった。

2 体重

成績を Fig. 1, Table 2-1 及び 2-2 に示した。

雄: 1000 mg/kg 投与群の体重は投与第 2~4 週の測定時点で対照群を有意に下回ったが, ごく軽度であり, 投与期間終了時の平均体重は対照群と差はなかった。

雌: 各被験物質投与群の体重は対照群とほぼ同様に推移した。

3 摂餌量

成績を Fig. 2, 3, Table 3-1 及び 3-2 に示した。

雄: 100 mg/kg 投与群の摂餌量は, 対照群とほぼ同様に推移した。

300 mg/kg 投与群の摂餌量は, 投与第 8, 9 及び 11 週の測定時点で対照群を有意に下回ったが, ごく軽度な変化であった。

1000 mg/kg 投与群の摂餌量は, 投与第 2~4, 7~9 及び 11 週の測定時点で対照群を有意に下回ったが, ごく軽度な変化であった。

雌: 各被験物質投与群の摂餌量は, 対照群とほぼ同様に推移した。

なお, 各被験物質投与群の投与開始日 (投与前) の摂餌量は, 対照群を有意に上回ったが投与前値であり偶発的な変動であった。

4 眼科学検査

成績を Table 4 に示した。

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、網膜白斑（び漫性）が対照群の雄 1 例に、眼底反射性亢進（限局性）が 100 及び 1000 mg/kg 投与群の雄各 1 例にみられたが、変化の内容と出現状況からいずれも偶発所見と判断した。

5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1～5-4 に示した。

いずれの項目においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、300 mg/kg 投与群の雌で尿量の有意な低値、100 及び 300 mg/kg 投与群の雌でナトリウム排泄量の有意な低値及び 100 mg/kg 投与群の雌でカリウム排泄量の有意な低値がみられたが、用量に関連のない変化であった。

6 血液学検査

成績を Table 6-1 及び 6-2 に示した。

いずれの項目においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、300 mg/kg 投与群の雄で赤血球数の有意な低値、雌で血小板数の有意な高値がみられたが、用量に関連のない変化であった。

7 血液化学検査

成績を Table 7-1 及び 7-2 に示した。

いずれの項目においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみら

れなかった。

8 器官重量

成績を Table 8-1～8-4 に示した。

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

9 剖検

成績を Table 9 に示した。

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、以下の所見がみられたが出現状況からいずれも偶発所見と判断した。

大脳：皮質の低形成が 100 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。

眼球：角膜の暗赤色化が 300 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。

肝臓：横隔膜ヘルニア結節が対照群の雄 1 例及び雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例、300 mg/kg 投与群の雌 3 例及び 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。

卵管：嚢胞が 1000 mg/kg 投与群の 1 例にみられた。

10 病理組織学検査

成績を Table 10-1 及び 10-2 に示した。

被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、以下の所見がみられたが出現状況及び病理組織学的性状からいずれも偶発所見と考えられた。

精巢上体：限局性の細胞浸潤が対照群の 1 例にみられた。

眼球：強膜の鉍質沈着が対照群の雄 1

例にみられた。

大腿骨（骨髄を含む）：骨髄の肉芽腫が対照群の雌 1 例及び 1000 mg/kg 投与群の雌 2 例にみられた。

ハーダー腺：腺房細胞の限局性萎縮が対照群の雌 2 例に，限局性の細胞浸潤が対照群の雄 1 例及び 1000 mg/kg 投与群の雌 2 例にみられた。

心臓：限局性心筋炎が対照群の雄 3 例にみられた。

腎臓：好塩基性尿細管が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に，尿細管の好酸性小体が対照群及び 1000 mg/kg 投与群の雄全例に，血管周囲の細胞浸潤が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。

腸間膜リンパ節：肉芽腫が対照群及び 1000 mg/kg 投与群の雌各 2 例にみられた。

肝臓：横隔膜ヘルニア結節が対照群の雄 1 例と雌 2 例及び 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に，微小肉芽腫が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例にみられた。

肺（気管支を含む）：限局性の出血が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に，泡沫細胞の集簇が対照群及び 1000 mg/kg 投与群の雄各 1 例にみられた。

卵管：嚢胞状拡張が 1000 mg/kg 投与群の 1 例にみられた。

卵巢：嚢胞が 1000 mg/kg 投与群の 1 例にみられた。

脾臓：腺房細胞の限局性萎縮が対照群の雄 2 例及び 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に，限局性の細胞浸潤が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。

胃：封入体嚢胞が対照群の雌 1 例に，腺胃の糜爛が 1000 mg/kg 投与群の雄 1

例にみられた。

胸骨（骨髄を含む）：骨髄の肉芽腫が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例にみられた。

膈：萎縮が対照群の 1 例にみられた。

D. 考察および結論

コメヌカ酵素分解物の 90 日間反復投与毒性試験を F344 ラットを用いて実施した。投与量は，0（注射用水），100，300 及び 1000 mg/kg/日とし，6 週齢の F344/DuCrj (Fischer) 系 SPF ラット（1 群雌雄各 10 匹）に 90 日間強制経口投与した。

投与期間中，死亡はみられず，また，一般状態の異常もみられなかった。

体重では，1000 mg/kg 投与群の雄で投与期間の前半に対照群をやや下回ったが，一時的でごく軽度な変化であり，投与期間終了時の平均体重に差はなかったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。

摂餌量では，300 及び 1000 mg/kg 投与群の雄で対照群をやや下回る測定時点が散見されたが，ごく軽度な変化であり，投与期間終了時の体重への影響もみられなかったことから毒性学的意義の低い変化と考えられた。

眼科学検査，尿検査，血液学検査，血液化学検査，器官重量，剖検及び病理組織学検査には被験物質投与によると考えられる変化はみられなかった。

以上の如く，コメヌカ酵素分解物を 100，300 及び 1000 mg/kg /日の用量で F344 ラットに 90 日間強制経口投与した結果，いずれの項目においても明らかな毒性変化は認められなかった。した

がって、無毒性量は、雌雄ともに 1000 mg/kg/日を上回ると考えられた。

Hayes, ed.), 3rd ed., pp.221-274, Raven Press, Ltd., New York.

E. 参考文献

1) Shayne C. Gad and Carrol S. Weil (1994) : Chapter 7. Statistics for Toxicologists, *In* Principles and Methods of Toxicology (A.Wallace

2) 佐久間昭 (1981) : 薬効評価－計画と解析－Ⅱ, pp.387-389, 東京大学出版会, 東京.

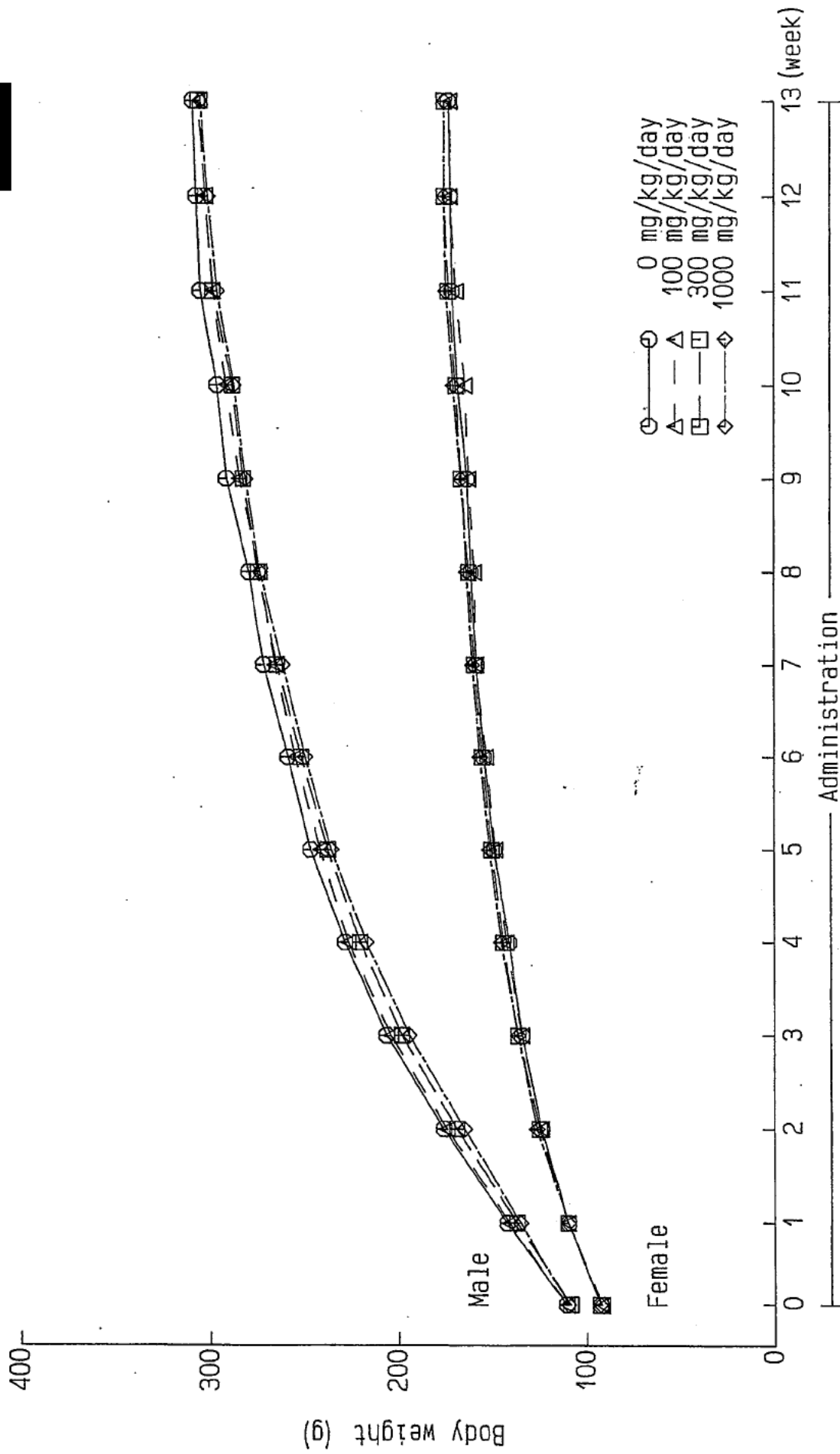


Fig.1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats

— Body weight —

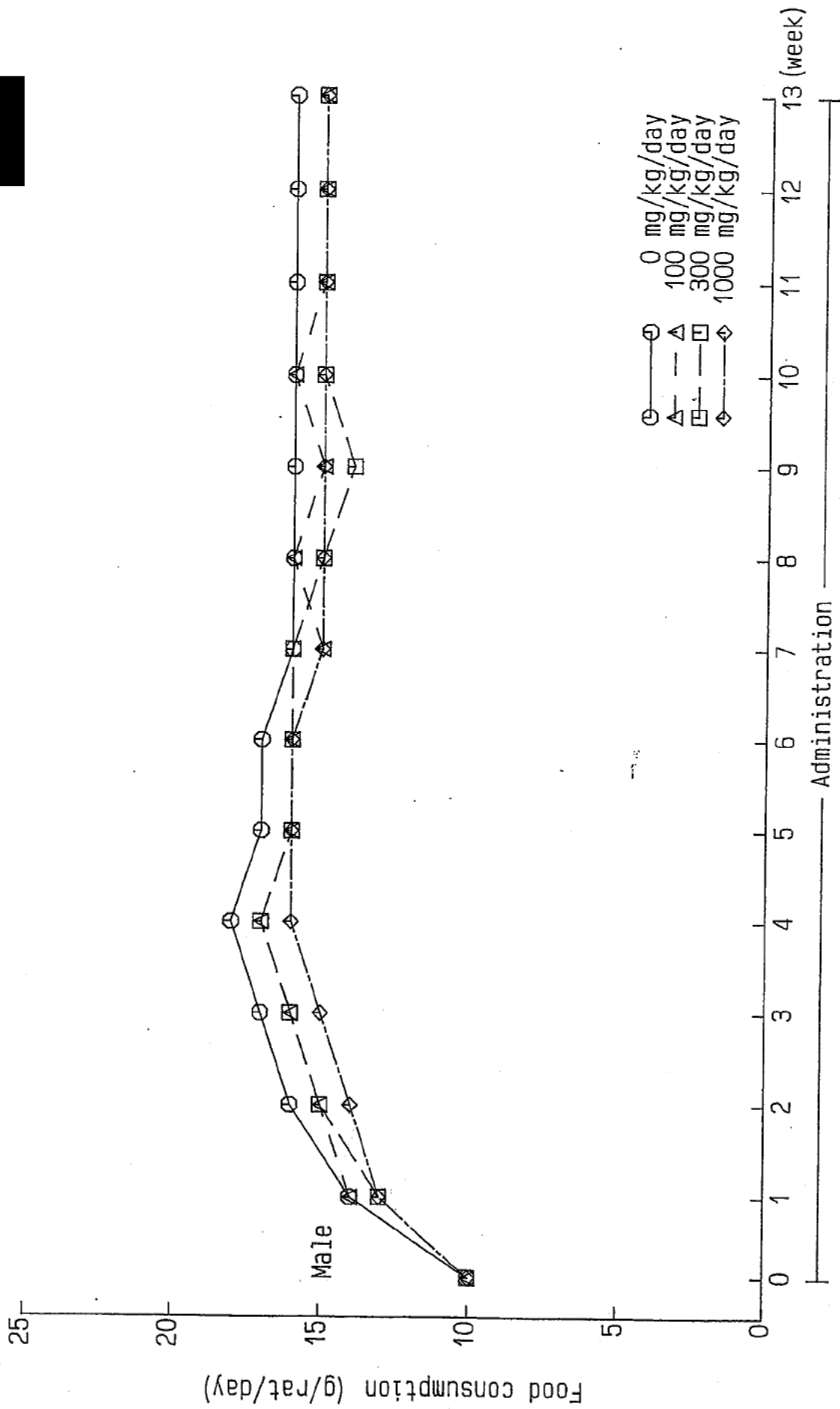


Fig.2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats

— Food consumption — ○

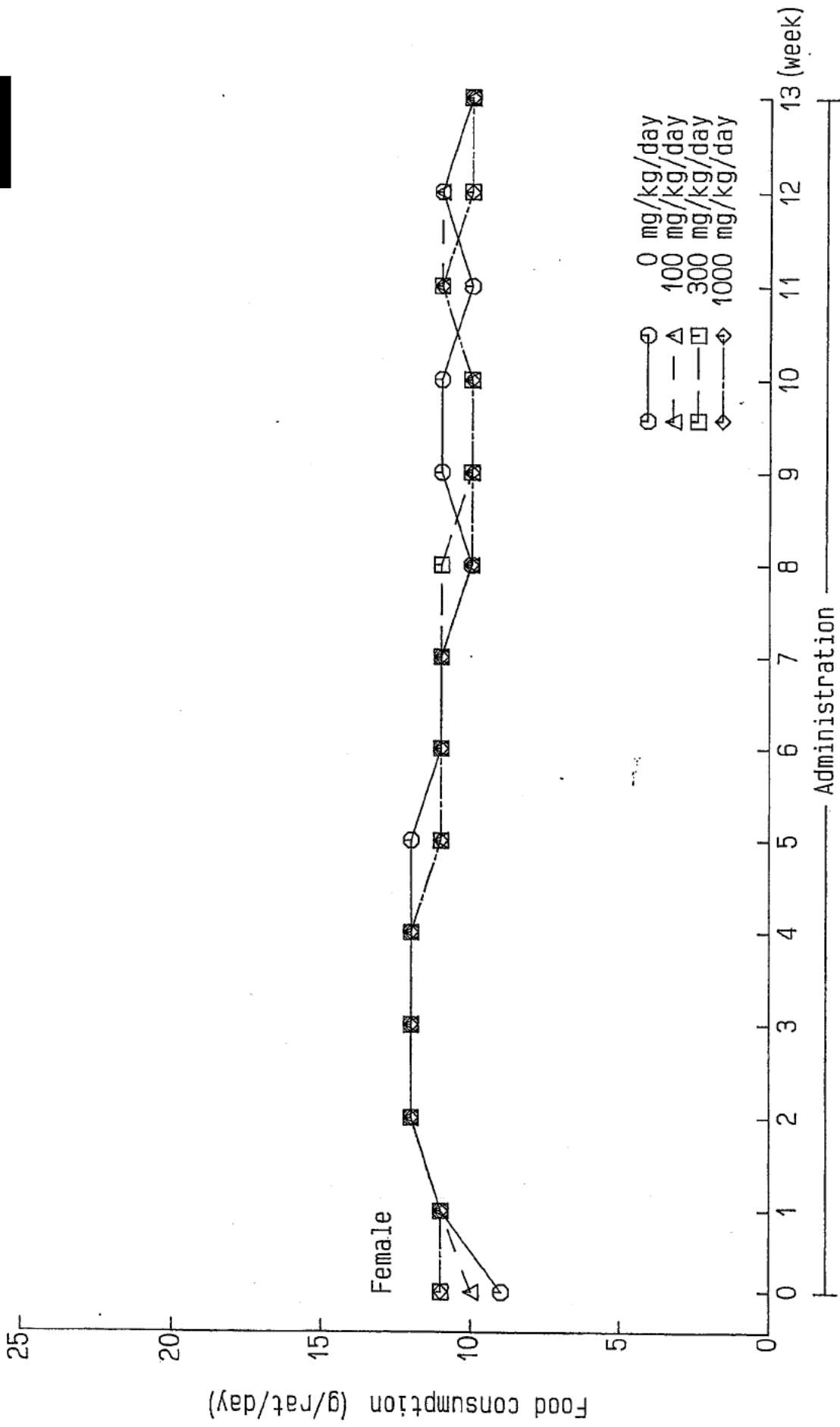


Fig.3 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats

—— Food consumption ——

Table 1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Clinical signs

Sex	Dose mg/kg/day	Findings	Week of administration													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Male	0	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
300	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
1000	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Female	0	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	100	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
300	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
1000	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		

Table 2-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Body weight

Sex	Dose mg/kg/day	Week of administration			Gain 0-13
		12	13	13	
Male	0	No.	10	10	10
		Mean	307	309	198
		S.D.	14	15	14
	100	No.	10	10	10
		Mean	302	305	194
		S.D.	15	18	17
	300	No.	10	10	10
		Mean	302	306	197
		S.D.	13	14	13
	1000	No.	10	10	10
		Mean	301	305	196
		S.D.	10	9	8
Female	0	No.	10	10	10
		Mean	172	173	80
		S.D.	8	9	9
	100	No.	10	10	10
		Mean	172	172	80
		S.D.	7	7	7
	300	No.	10	10	10
		Mean	175	175	82
		S.D.	10	10	9
	1000	No.	10	10	10
		Mean	175	175	82
		S.D.	9	8	7

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Food consumption

Sex	Dose mg/kg/day	Week of administration																					
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11										
Male	0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		Mean	10	14	16	17	18	17	17	16	16	17	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		S.D.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Male	100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	10	14	15	16	17	16	16	15	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		S.D.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Male	300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	10	13	15	16	17	16	16	16	15*	16	16	16	16	15*	14**	15*	15*	15*	15*	15*	15*
		S.D.	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Male	1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	10	13	14**	15**	16*	16	16	15*	15*	16	16	15*	15*	15*	15**	15**	15**	15**	15**	15**	15**
		S.D.	1	1	1D	1D	1D	1	1	1	1	1	1	1D	1D	1D	1D	1D	1D	1D	1D	1D	1D
Female	0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	9	11	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		S.D.	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Female	100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	10*	11	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		S.D.	1D	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Female	300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	11**	11	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		S.D.	1D	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Female	1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Mean	11**	11	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		S.D.	1D	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Unit : g/rat/day
* : p<0.05; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 3-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Food consumption

Sex	Dose mg/kg/day	Week of administration		
		12	13	13
Male	0	No.	10	10
		Mean	16	16
		S.D.	1	1
	100	No.	10	10
		Mean	15	15
		S.D.	1	1
	300	No.	10	10
		Mean	15	15
		S.D.	1	1
	1000	No.	10	10
		Mean	15	15
		S.D.	0	1
Female	0	No.	10	10
		Mean	11	10
		S.D.	1	1
	100	No.	10	10
		Mean	11	10
		S.D.	1	1
	300	No.	10	10
		Mean	10	10
		S.D.	1	1
	1000	No.	10	10
		Mean	10	10
		S.D.	1	0

Unit : g/rat/day
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Ophthalmology

Sex	Findings	Dose (mg/kg/day)	0	100	300	1000
Male	Number of animals		5	5	5	5
	No abnormality		4	4	5	4
	Fundus oculi					
	Hyperreflectivity in fundus, focal		0	1	0	1
	Unilateral					
	White patch in retina, diffuse		1	0	0	0
	Unilateral					
Female	Number of animals		5	5	5	5
	No abnormality		5	5	5	5

Table 5-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Urinalysis

Sex	Dose mg/kg/day	No.	pH							1) Protein			2) Ketone body			3) Glucose											
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++						
Male	0	5	0	0	0	1	0	1	1	2	0	0	3	2	0	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0
	100	5	0	0	0	0	0	1	4	0	0	4	1	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0
	300	5	0	0	0	1	0	0	2	2	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	1000	5	1	0	0	0	0	0	2	2	0	1	2	2	0	0	0	3	1	1	0	0	5	0	0	0	0
Female	0	5	0	0	0	0	1	1	2	1	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	100	5	0	0	0	0	1	1	2	1	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	300	5	0	0	0	0	1	1	1	2	0	4	0	1	0	0	0	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0
	1000	5	0	0	0	0	0	2	1	2	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0

1) - : <10 mg/dL
- : <5 mg/dL
- : <30 mg/dL

+ : 10 - 25 mg/dL
+ : 5 - 7.5 mg/dL
+ : 30 - 60 mg/dL

+ : 26 - 85 mg/dL
+ : 7.6 - 30 mg/dL
+ : 61 - 125 mg/dL

+ : 86 - 250 mg/dL
+ : 31 - 70 mg/dL
+ : 126 - 250 mg/dL

+ : 251 - 600 mg/dL
+ : 71 - 125 mg/dL
+ : 251 - 750 mg/dL

+ : >600 mg/dL
+ : >125 mg/dL
+ : >750 mg/dL

Table 5-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Urinalysis

Sex	Dose mg/kg/day	No.	4) Occult blood			5) Bilirubin			6) Urobilinogen			7) Color						
			-	+	++	+++	-	+	++	+++	++	+++	++++	LY	Y	DY		
Male	0	5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0		
	100	5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	
	300	5	4	0	0	1	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0
	1000	5	4	0	0	1	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0
Female	0	5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	
	100	5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	
	300	5	5	0	0	0	5	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
	1000	5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0

4) - : <0.03 mg/dL
 5) - : <0.5 mg/dL
 6) + : <2.0 mg/dL
 7) LY : Light yellow
 Y : Yellow
 DY : Dark yellow
 +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL
 + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL
 + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL
 Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-3 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Urinalysis

Sex	Dose mg/kg/day	No.	URINE SEDIMENT																																			
			RBC		WBC		SEC		SREC		Cast		CRYSTALLIZATION																									
			-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+																						
	0	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0									
Male	100	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0				
	300	5	4	1	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	100	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	2	2	1	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell
 SREC : Small Round Epithelial Cell
 PS : Phosphate Salts
 CO : Calcium Oxalate

- : Negative
 +- : Slight
 + : Mild
 ++ : Moderate
 +++ : Severe

Table 5-4 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Water intake and urinalysis

Sex	Dose mg/kg/day	No.	Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kgH ₂ O	Na mmol/24h	K mmol/24h	Cl mmol/24h
Male	0	Mean	22	4.7	2388	0.91	1.52	1.17
		S.D.	5	2.6	512	0.47	0.75	0.55
	100	Mean	21	3.6	2361	0.89	1.17	0.89
		S.D.	4	1.4	476	0.28	0.42	0.33
300	Mean	22	5.6	1954	0.84	1.63	1.10	
	S.D.	3	1.2	240	0.11	0.40	0.21	
1000	Mean	22	3.3	2849	0.83	1.38	1.03	
	S.D.	2	1.4	636	0.25	0.42	0.31	
Female	0	Mean	20	8.3	1857	1.33	2.04	1.59
		S.D.	4	2.4	300	0.47	0.56	0.48
	100	Mean	17	4.8	1798	0.72*	1.10*	0.92
		S.D.	4	2.0	297	0.24D	0.41D	0.33
300	Mean	17	4.4*	2171	0.67*	1.26	0.91	
	S.D.	4	2.6D	418	0.23D	0.47	0.33	
1000	Mean	19	7.0	1955	1.22	1.98	1.57	
	S.D.	4	2.4	280	0.39	0.62	0.51	

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 6-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Hematology

Sex	Dose mg/kg/day	No.	RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC %	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ⁶ /μL
Male	0	Mean	921	16.6	49	52.5	18.1	34.4	1.6	80.5
		S.D.	11	0.2	1	0.4	0.1	0.3	0.3	3.7
	100	Mean	912	16.5	48	52.7	18.1	34.4	1.7	79.9
		S.D.	15	0.3	1	0.5	0.2	0.3	0.2	6.9
300	Mean	904*	16.4	48	52.9	18.1	34.3	1.7	81.1	
	S.D.	14D	0.3	1	0.4	0.2	0.4	0.2	4.7	
1000	Mean	918	16.7	49	52.8	18.2	34.4	1.7	80.2	
	S.D.	19	0.3	1	0.5	0.2	0.5	0.3	3.4	
Female	0	Mean	878	16.5	48	54.5	18.8	34.6	1.5	77.2
		S.D.	19	0.3	1	0.4	0.2	0.4	0.2	3.3
	100	Mean	867	16.3	47	54.4	18.8	34.6	1.5	78.6
		S.D.	17	0.3	1	0.4	0.1	0.4	0.3	4.2
300	Mean	869	16.4	48	54.6	18.8	34.5	1.6	82.0*	
	S.D.	20	0.4	1	0.3	0.2	0.4	0.3	3.4D	
1000	Mean	871	16.4	48	54.5	18.9	34.7	1.6	79.7	
	S.D.	20	0.3	1	0.2	0.2	0.5	0.3	5.1	

* : p<0.05 (Significant difference from control group)
D : Dunnett's test

Table 6-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Hematology

Sex	Dose mg/kg/day	No.	WBC $\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential leukocyte counts (%)							Erythroblast counts (/200 leukocyte)	
				Mean S.D.	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.		Others
Male	0	10	61	75.3	0.1	23.7	0.7	0.0	0.0	0.3	0.0	0
		12	12	6.5	0.2	6.3	0.5	0.0	0.0	0.3	0.0	1
	100	10	62	72.7	0.1	26.2	0.8	0.0	0.0	0.3	0.0	0
		13	13	6.8	0.2	6.6	0.7	0.0	0.0	0.5	0.0	1
300	10	66	78.6	0.1	20.6	0.7	0.0	0.0	0.2	0.0	0	
	15	15	7.0	0.2	7.1	0.4	0.0	0.0	0.3	0.0	0	
1000	10	67	78.7	0.1	20.5	0.5	0.0	0.0	0.3	0.0	0	
	13	13	5.1	0.2	5.0	0.4	0.0	0.0	0.4	0.0	0	
Female	0	10	44	80.1	0.1	18.6	0.9	0.0	0.0	0.5	0.0	0
		8	8	5.6	0.2	5.4	0.6	0.0	0.0	0.4	0.0	1
	100	10	41	78.3	0.1	20.5	0.9	0.0	0.0	0.3	0.0	0
		10	10	4.4	0.3	4.4	0.9	0.0	0.0	0.3	0.0	1
300	10	42	78.9	0.1	19.9	0.9	0.0	0.0	0.3	0.0	0	
	12	12	4.7	0.2	4.3	0.8	0.0	0.0	0.3	0.0	0	
1000	10	45	76.1	0.0	22.5	1.1	0.0	0.0	0.3	0.0	0	
	14	14	7.6	0.0	7.4	0.7	0.0	0.0	0.3	0.0	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Blood chemistry

Sex	Dose mg/kg/day	No.	ASAT (GOT) IU/L	ALAT (GPT) IU/L	7-GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	T. billi- rubin mg/dL	Glucose mg/dL	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL
Male	0	Mean	81	50	1	442	70	48	0.0	139	18	0.28
		S.D.	19	8	0	26	5	17	0.0	9	2	0.04
	100	Mean	90	53	1	458	71	46	0.0	141	18	0.29
		S.D.	27	13	0	28	6	10	0.0	8	1	0.03
300	Mean	78	46	1	451	69	40	0.0	144	17	0.29	
	S.D.	14	7	0	17	7	5	0.0	11	2	0.04	
1000	Mean	91	55	1	450	70	62	0.0	144	18	0.29	
	S.D.	22	12	0	19	5	25	0.0	5	1	0.04	
Female	0	Mean	67	37	1	347	74	8	0.0	119	19	0.34
		S.D.	5	6	0	43	5	2	0.0	10	2	0.03
	100	Mean	67	33	1	341	73	7	0.0	118	19	0.35
		S.D.	5	5	0	25	6	3	0.0	10	1	0.03
300	Mean	67	34	1	355	76	7	0.0	119	19	0.34	
	S.D.	6	3	0	48	2	2	0.0	9	1	0.04	
1000	Mean	68	35	1	347	73	7	0.0	120	19	0.35	
	S.D.	10	7	0	28	8	3	0.0	7	2	0.04	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats

Blood chemistry

Sex	Dose mg/kg/day	No.	Na		K		Cl		Ca		P		TP Albumin		A/G
			mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	g/dL	g/dL			
Male	0	Mean	144	4.3	107	9.9	6.3	6.4	3.0	0.86					
		S.D.	1	0.1	1	0.3	1.0	0.1	0.1	0.03					
	100	Mean	143	4.3	107	9.9	6.2	6.4	3.0	0.85					
		S.D.	1	0.2	2	0.3	1.0	0.1	0.1	0.03					
300	Mean	143	4.4	107	9.9	6.2	6.4	2.9	0.86						
	S.D.	1	0.1	1	0.2	0.6	0.1	0.1	0.03						
1000	Mean	143	4.4	106	9.9	6.2	6.4	3.0	0.87						
	S.D.	1	0.2	1	0.1	0.8	0.1	0.0	0.02						
Female	0	Mean	143	4.3	110	9.7	5.8	6.0	2.8	0.86					
		S.D.	1	0.3	1	0.2	0.8	0.2	0.1	0.03					
	100	Mean	142	4.2	110	9.6	5.5	6.1	2.8	0.85					
		S.D.	1	0.3	2	0.3	1.0	0.2	0.1	0.04					
300	Mean	142	4.3	110	9.7	5.6	6.1	2.8	0.84						
	S.D.	1	0.3	1	0.2	1.0	0.2	0.1	0.02						
1000	Mean	143	4.3	109	9.7	5.7	6.1	2.8	0.84						
	S.D.	1	0.2	1	0.1	1.0	0.2	0.1	0.03						

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Absolute and relative organ weight
Male

Dose mg/kg/day	Body weight		Brain g (g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Salivary gland (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Lung g(g/100g BW)
	g	%							
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	288	1.91	6.9	14.5	426	134	0.82	0.93
	S.D.	14	0.04	1.5	2.0	34	12	0.05	0.04
Absolute 100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	284	1.91	7.2	14.5	411	141	0.81	0.91
	S.D.	16	0.07	1.1	2.0	32	19	0.04	0.06
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	286	1.90	6.5	14.7	407	140	0.82	0.90
	S.D.	13	0.04	1.0	2.0	15	16	0.04	0.02
1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	285	1.91	7.1	14.9	408	135	0.80	0.90
	S.D.	8	0.03	0.8	4.6	20	8	0.02	0.02
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	0.67	0.67	2.4	5.0	148	47	0.29	0.32
	S.D.	0.03	0.03	0.5	0.7	8	4	0.01	0.01
Relative 100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	0.67	0.67	2.5	5.1	144	50	0.28	0.32
	S.D.	0.03	0.03	0.4	0.6	6	5	0.01	0.01
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	0.67	0.67	2.3	5.2	143	49	0.29	0.32
	S.D.	0.03	0.03	0.3	0.7	5	5	0.01	0.01
1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	0.67	0.67	2.5	5.2	143	47	0.28	0.32
	S.D.	0.02	0.02	0.3	1.5	5	3	0.01	0.01

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Absolute and relative organ weight

Male

Dose mg/kg/day	Liver		Spleen		Kidney (R+L)		Adrenal (R+L)		Testis (R+L)		Epididymis (R+L)		Seminal vesicle		Prostate	
	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.	No.	Mean S.D.
0	10		10		10		10		10		10		10		10	
	6.93		0.53		1.83		42		3.01		873		0.86		0.26	
	0.46		0.04		0.10		5		0.11		31		0.09		0.04	
Absolute 100	10		10		10		10		10		10		10		10	
	6.84		0.53		1.82		40		2.99		862		0.86		0.26	
	0.68		0.05		0.13		4		0.11		41		0.08		0.06	
300	10		10		10		10		10		10		10		10	
	6.76		0.53		1.74		39		2.96		862		0.82		0.27	
	0.45		0.04		0.11		3		0.14		52		0.08		0.06	
1000	10		10		10		10		10		10		10		10	
	6.84		0.53		1.79		40		3.01		854		0.79		0.28	
	0.22		0.03		0.07		1		0.08		25		0.11		0.04	
0	10		10		10		10		10		10		10		10	
	2.40		0.18		0.64		14		1.05		303		0.30		0.09	
	0.07		0.01		0.02		2		0.04		18		0.04		0.01	
Relative 100	10		10		10		10		10		10		10		10	
	2.40		0.19		0.64		14		1.05		304		0.30		0.09	
	0.11		0.01		0.02		2		0.05		12		0.03		0.02	
300	10		10		10		10		10		10		10		10	
	2.36		0.19		0.61		14		1.04		302		0.29		0.09	
	0.07		0.01		0.03		1		0.04		17		0.03		0.02	
1000	10		10		10		10		10		10		10		10	
	2.40		0.19		0.63		14		1.05		300		0.28		0.10	
	0.07		0.01		0.02		1		0.03		7		0.03		0.02	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
 Absolute and relative organ weight
 Female

Dose mg/kg/day	Body weight		Brain g (g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Salivary gland (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Lung g(g/100g BW)
	g	%							
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	160	1.75	9.5	11.6	288	136	0.52	0.68
	S.D.	7	0.04	1.9	2.1	11	12	0.03	0.02
Absolute 100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	159	1.79	9.8	11.3	289	137	0.51	0.68
	S.D.	7	0.03	1.2	1.6	16	13	0.02	0.05
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	164	1.79	10.2	10.0	296	137	0.52	0.68
	S.D.	9	0.04	3.2	1.5	18	13	0.03	0.04
1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	161	1.79	9.4	10.8	292	136	0.53	0.69
	S.D.	8	0.04	0.8	1.9	11	7	0.02	0.02
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	110	1.10	5.9	7.3	181	85	0.33	0.43
	S.D.	0.05	0.05	1.0	1.3	10	8	0.01	0.02
Relative 100	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	113	1.13	6.1	7.2	182	86	0.32	0.42
	S.D.	0.05	0.05	0.7	1.2	12	8	0.01	0.02
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	110	1.10	6.2	6.1	181	84	0.32	0.42
	S.D.	0.04	0.04	1.7	1.0	12	7	0.02	0.01
1000	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	111	1.11	5.8	6.7	181	85	0.33	0.42
	S.D.	0.05	0.05	0.5	1.3	7	5	0.01	0.02

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-4 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
 Absolute and relative organ weight
 Female

Dose mg/kg/day	Liver			Spleen			Kidney (R+L)			Adrenal (R+L)			Ovary (R+L)			Uterus		
	No.	Mean	S.D.	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	
0	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	3.72		0.37	0.37	1.09	1.09	45	45	48.1	48.1	369	369	48.1	48.1	369	369	
	S.D.	0.28		0.02	0.02	0.06	0.06	4	4	7.2	7.2	79	79	7.2	7.2	79	79	
100	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	3.65		0.37	0.37	1.09	1.09	44	44	47.8	47.8	489	489	47.8	47.8	489	489	
	S.D.	0.18		0.03	0.03	0.04	0.04	3	3	4.6	4.6	153	153	4.6	4.6	153	153	
300	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	3.74		0.38	0.38	1.10	1.10	43	43	47.1	47.1	486	486	47.1	47.1	486	486	
	S.D.	0.28		0.03	0.03	0.08	0.08	5	5	5.7	5.7	84	84	5.7	5.7	84	84	
1000	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	3.74		0.38	0.38	1.10	1.10	44	44	50.7	50.7	429	429	50.7	50.7	429	429	
	S.D.	0.21		0.03	0.03	0.04	0.04	5	5	10.5	10.5	60	60	10.5	10.5	60	60	
0	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	2.32		0.23	0.23	0.68	0.68	28	28	30.0	30.0	230	230	30.0	30.0	230	230	
	S.D.	0.10		0.01	0.01	0.02	0.02	2	2	3.6	3.6	42	42	3.6	3.6	42	42	
100	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	2.30		0.23	0.23	0.68	0.68	28	28	30.1	30.1	297	297	30.1	30.1	297	297	
	S.D.	0.05		0.01	0.01	0.03	0.03	2	2	2.1	2.1	101	101	2.1	2.1	101	101	
300	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	2.29		0.23	0.23	0.67	0.67	26	26	28.8	28.8	266	266	28.8	28.8	266	266	
	S.D.	0.07		0.01	0.01	0.03	0.03	2	2	3.3	3.3	46	46	3.3	3.3	46	46	
1000	No.	10		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	Mean	2.32		0.24	0.24	0.69	0.69	27	27	31.4	31.4	266	266	31.4	31.4	266	266	
	S.D.	0.08		0.01	0.01	0.03	0.03	2	2	6.5	6.5	39	39	6.5	6.5	39	39	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
Gross pathological findings

Organs Findings	Dose(mg/kg/day):		Sex:		M		M		F		F	
	0	10	100	10	300	10	1000	10	100	300	1000	10
Cerebrum	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aplasia	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Discoloration, dark red	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver	1	1	1	0	1	2	1	3	0	0	0	0
Hepatodiaphragmatic nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oviduct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyst	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Table 10-1 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
 Histopathological findings

Organs	Findings	Dose(mg/kg/day):		Sex:		M		M		M		F		F		
		10	300	1000	10	300	1000	10	300	1000	10	300	1000	10	300	1000
Epididymis	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Cell infiltration, focal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eye	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Mineralization, sclera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Femur + marrow	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Granuloma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Harderian gland	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Atrophy, acinar, focal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cell infiltration, focal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Myocarditis, focal	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Basophilia, tubular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Eosinophilic body, tubular cell	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	slight	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cell infiltration, perivascular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Granuloma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Hepatodiaphragmatic nodule	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	present	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Microgranuloma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung (bronchus)	Number examined	10	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
	Hemorrhage, focal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Accumulation, foam cell	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	slight	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oviduct	Number examined	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dilatation, ductal, cystic	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 10-2 A 90-day oral toxicity study of Enzymatically decomposed rice bran in F344 rats
 Histopathological findings

Organs	Dose (mg/kg/day):		Sex:		M		M		F		F	
	0	10	100	10	300	1000	10	10	100	300	1000	10
Findings	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ovary												
Number examined												
Cyst												
slight												
Pancreas												
Number examined												
Atrophy, acinar, focal												
Slight												
Cell infiltration, focal												
slight												
Stomach												
Number examined												
Cyst, inclusion												
present												
Erosion, glandular stomach												
slight												
Sternum + marrow												
Number examined												
Granuloma												
slight												
Vagina												
Number examined												
Atrophy												
mild												

食品添加物のラットを用いる 90 日間反復投与毒性試験結果報告書(平成 15 年度)

1. 一般的事項

食品添加物の名称	コメヌカ酵素分解物(脱脂米ぬかから得られた、フィチン酸及びペプチドを主成分とするものをいう。)
別 名	情報なし
主成分/成分	イネ科イネ (<i>Oryza sativa</i> LINNE) の種子より得られる脱脂米ぬかを酵素分解したものより、水で抽出して得られたものである。主成分はペプチド及びフィチン酸である。
常温における性状	黄褐色の粉末で、わずかに特有のにおいがある。
安 定 性	情報なし
溶 解 性	水には溶けやすいが、エタノールには極めて溶けにくい。

2. 投与量設定の根拠となった試験

試験の種類及び期間	14 日間反復投与毒性試験							
動 物 種	ラット							
投 与 経 路	強 制 経 口							
投与用量 (mg/kg)	1 群あたりの動物数	一般状態	体重	摂餌量	剖検	器官重量	血液学検査	血液化学検査
1000	雄 5	—	—	—	—	—	—	—
300	雄 5	—	—	—	—	—	—	—
100	雄 5	—	—	—	—	—	—	—

3. 90 日間反復投与毒性試験

試験実施年度		平成 15 年度							
使用動物・系統		ラット, F344, SPF		1 群あたりの動物数					
投与経路		強制経口投与		雄:10 雌:10					
群 投与量(mg/kg) 性		対照 0		低用量 100		中用量 300		高用量 1000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
体重	投与第 2 週			-	-	-	-	▽	-
	投与第 3 週			-	-	-	-	▽	-
	投与第 4 週			-	-	-	-	▽	-
摂餌量	投与第 2 週			-	-	-	-	▼	-
	投与第 3 週			-	-	-	-	▼	-
	投与第 4 週			-	-	-	-	▽	-
	投与第 7 週			-	-	-	-	▽	-
	投与第 8 週			-	-	▽	-	▽	-
	投与第 9 週			-	-	▼	-	▼	-
	投与第 11 週			-	-	▽	-	▽	-
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学検査 投与第 87 日(最終週)	網膜白斑、び慢性 眼底反射性亢進、限局性	1	-	-	-	-	-	-	-
尿検査 投与第 86~87 日(最終週)	尿量			-	-	-	▽	-	-
	ナトリウム排泄量			-	▽	-	▽	-	-
	カリウム排泄量			-	▽	-	-	-	-
血液学検査	赤血球数			-	-	▽	-	-	-
	血小板数			-	-	-	△	-	-
血液生化学検査				-	-	-	-	-	-
剖検時体重				-	-	-	-	-	-
器官重量(実重量)				-	-	-	-	-	-
器官重量(相対重量)				-	-	-	-	-	-
剖検所見	肝臓 横隔膜ヘルニア結節	1	2	1	1	-	3	1	-
	大脳 低形成、皮質	-	-	1	-	-	-	-	-
	眼球 暗赤色化、角膜	-	-	-	-	1	-	-	-
	卵管 嚢胞		-		-		-		1
組織学所見	精巣上体								
	限局性細胞浸潤 (±)	1		*		*		0	
	眼球 鉾質沈着 (±)	1	0	*	*	*	*	0	0
	大腿骨(骨髓を含む) 肉芽腫(±)	0	0	*	*	*	*	0	2
	(+)	0	1	*	*	*	*	0	0
	ハーダー線								
	腺房細胞の限局性萎縮 (±)	0	2	*	*	*	*	0	0
	限局性細胞浸潤 (±)	1	0	*	*	*	*	0	2
	心臓 限局性心筋炎 (±)	3	0	*	*	*	*	0	0
	腎臓 好塩基性尿細管 (±)	0	0	*	*	*	*	1	0
	尿細管の好酸性小体 (±)	10	0	*	*	*	*	9	0
	(+)	0	0	*	*	*	*	1	0
	血管周囲の細胞浸潤 (±)	0	0	*	*	*	*	1	0
	腸間膜リンパ節 肉芽腫 (±)	0	2	*	*	*	*	0	2
	肝臓 横隔膜ヘルニア結節	1	2	*	*	*	*	1	0
	微小肉芽腫 (±)	0	0	*	*	*	*	0	1

△: 対照群に比べ有意な増加(p<0.05) ▽: 対照群に比べ有意な減少(p<0.05)
▲: 対照群に比べ有意な増加(p<0.01) ▼: 対照群に比べ有意な減少(p<0.01)
↑: 対照群に比べて増加傾向 ↓: 対照群に比べて減少傾向
-: 変化なし ±: 軽微 +: 軽度 数値: 例数 *: 試験せず 空欄: 該当なし
注) 例数を記載した項目については「↑」および「↓」の記号を省略する

試験実施年度	平成 15 年度							
使用動物・系統	ラット, F344, SPF		1 群あたりの動物数					
投与経路	強制経口投与		雄:10 雌:10					
群 投与量(mg/kg) 性	対照 0		低用量 100		中用量 300		高用量 1000	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
肺(気管支を含む)								
限局性の出血 (±)	0	0	*	*	*	*	1	0
泡沫細胞の集簇 (±)	1	0	*	*	*	*	1	0
卵管 嚢胞状拡張 (+)		0		*		*		1
卵巣 嚢胞 (±)		0		*		*		1
脾臓								
腺房細胞の限局性萎縮 (±)	2	0	*	*	*	*	0	1
限局性の細胞浸潤 (±)	0	0	*	*	*	*	1	0
胃 封入体嚢胞	0	1	*	*	*	*	0	0
腺胃の糜爛 (±)	0	0	*	*	*	*	1	0
胸骨(骨髄を含む)								
肉芽腫 (±)	0	0	*	*	*	*	0	1
膣 萎縮 (+)		1		*		*		0
NOAEL (mg/kg/day)	雌雄:1000mg/kg 以上							
NOAEL の推定根拠とした変化	毒性所見なし							

△:対照群に比べ有意な増加(p<0.05)

▽:対照群に比べ有意な減少(p<0.05)

▲:対照群に比べ有意な増加(p<0.01)

▼:対照群に比べ有意な減少(p<0.01)

↑:対照群に比べて増加傾向

↓:対照群に比べて減少傾向

—:変化なし ±:軽微 +:軽度 数値:例数 *:試験せず 空欄:該当なし

注)例数を記載した項目については「↑」および「↓」の記号を省略する

4. その他

反復投与毒性試験	名称	
実施機関	所在地	
試験責任者	職氏名	
試験実施年度		平成 15 年度