

イソプロパノール及び亜酸化窒素の食品健康影響評価に関する
審議結果についての御意見・情報の募集結果関係資料

- 1 イソプロパノールの食品健康影響評価に関する審議結果についての御意見・情報の募集結果について 1
- 2 イソプロパノールを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果 2
- 3 亜酸化窒素の食品健康影響評価に関する審議結果についての御意見・情報の募集結果について 8
- 4 亜酸化窒素を添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果11

**イソプロパノールの食品健康影響評価に関する
審議結果についての御意見・情報の募集結果について**

- 1．実施期間 平成16年10月21日～平成16年11月17日
- 2．提出方法 インターネット、ファックス、郵送
- 3．提出状況 なし

イソプロパノールを添加物として定めることに 係る食品健康影響評価に関する審議結果

1. はじめに

イソプロパノールは、特異な香気を有し、果実、野菜、乳製品、酒類等の食品に天然に含まれている成分である¹⁾。欧米では、清涼飲料、キャンディー等、様々な加工食品に香りを再現するため添加されている。

2. 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請を待つことなく、国が主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般この条件に該当する香料の成分として、イソプロパノールについて評価資料がまとまったことから、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである（平成 15 年 12 月 15 日、関係書類を接受）。

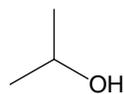
なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。

3. 名称等

名称：イソプロパノール

英名：Isopropanol, Isopropyl alcohol

構造式：



化学式：C₃H₈O

分子量：60.1

CAS 番号：67-63-0

4. 安全性

(1) 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験（TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2uvrA、最高用量 5 mg/plate^{2),3)}及び TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538、最高用量 10 mg/plate⁴⁾）及びチャイニーズハムスター卵巣 CHO 細胞を用いた前進突然変異試験（Hprt、最高濃度 5 mg/ml）^{5),6),7)}は、S9mix の有無にかかわらず陰性であった。

また、ICR マウス（雌雄各 5 匹）の腹腔内投与による *in vivo* 骨髄小核試験（350、1,173、2,500 mg/kg 溶液）は陰性であった⁶⁾。ラットへの胃内投与（用量は 1/5 LD₅₀に相当）による骨髄細胞染色体異常（polyploid, gap, aberration）が報告されている⁸⁾が、その詳細が報告されておらず、その実験方法及び結果の解釈には不備があると考えられるので評価の対象とすることはできないとされている。

In vitro の試験がすべて陰性であること、及び *in vivo* 骨髄小核試験が陰性であることから、特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

(2) 反復投与

雄の Wistar ラットへの飲水投与による 12 週間反復投与試験(0、870、1,280、1,680、2,520 mg/kg 体重/日)において、2,520 mg/kg 体重/日投与群で精巣重量の増加、1,680 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で副腎重量の増加、1,280 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で肝重量及び腎重量の増加が認められ、腎臓の近位尿細管に硝子円柱 / 硝子滴の形成等がみられた。肝重量の増加は本物質又は代謝物(アセトン)による酵素誘導のため、また、腎臓中での硝子質の形成等は雄ラットに特有の α_2u -グロブリンに関係したためと考えられている⁹⁾。無毒性量(NOEL)は 870 mg/kg 体重/日と推定されている。

(3) 発がん性

International Agency for Research on Cancer (IARC)では、ヒト及び実験動物で発がん性に関して十分な証拠がないため、グループ 3(ヒトに対する発がん性については分類できない)に分類されている¹⁰⁾。European Chemicals Bureau (ECB)、U. S. Environmental Protection Agency (EPA)、National Toxicology Program (NTP) では、発がん性の評価はされていない。

(4) 繁殖試験及び催奇形性試験

SD ラットへの強制経口投与による 2 世代繁殖試験(100、500、1,000 mg/kg 体重/日)の結果、親動物では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で肝実重量増加(雄 P1、雌 P2)、肝比重量増加(雄 P1)、腎比重量増加(雄 P2、雌 P1、P2)、小葉中心性肝細胞肥大(雄 P2)及び交尾率の低下(雄 P2)がみられ、500 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で肝比重量増加(雄 P2、雌 P1、P2)が認められた。児動物では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で生後 4 日までの低体重(F1、F2)、500 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で離乳前の生存率低下(F1、F2)が認められた¹¹⁾。親及び児動物に対する NOEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられる。

SD ラット(400、800、1,200 mg/kg 体重/日)と NZW ウサギ(120、240、480 mg/kg 体重/日)の器官形成期における強制経口投与による催奇形性試験の結果、ラットでは 800 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で母動物の死亡及び胎児体重低下が観察されており、ウサギでは 480 mg/kg 体重/日群で母動物の死亡、体重増加抑制及び摂餌量減少がみられたが、胎児に対する影響は観察されなかった¹²⁾。ラットにおける母体毒性及び発生毒性の NOEL は 400 mg/kg 体重/日、ウサギにおける母体毒性の NOEL は 240 mg/kg 体重/日、発生毒性の NOEL は 480 mg/kg 体重/日と考えられる。ラット及びウサギにおける催奇形作用は認められなかった。

(5) その他

内分泌かく乱性を疑わせる報告は見当たらない。

5. 摂取量の推定

本物質の年間使用量の全量を人口の 10% が消費していると仮定する JECFA の PCTT 法による 1995 年の使用量調査に基づく米国及び欧州における一人一日当りの推定摂取量はそれぞれ

10,968 µg 及び 85,510 µg^{7),13)}。欧州の香料工業会の報告によれば、欧州での使用実態は香料としての使用だけでなく、担体溶剤としての使用及び宗教上の理由によるエタノールの代替品としての使用分も含まれていると考えられる¹⁴⁾ため、正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、我が国での香料としての推定摂取量は米国と同程度の 10,968 µg と想定される。なお、米国では、食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の 0.7 倍程度との報告もある¹⁵⁾。

6．安全マージンの算出

2 世代繁殖試験成績の NOAEL 100 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量 (10,968 µg/ヒト/日) を日本人平均体重 (50 kg) で割ることで算出される推定摂取量 (0.219 mg/kg 体重/日) と比較し、安全マージン 457 が得られる。

7．構造クラスに基づく評価

本物質及びその酸化代謝産物 (アセトン) は生体成分であり、アセトン又はそのままの形で呼気及び尿中に、及びグルクロン酸抱合等により尿中に比較的速やかに排出される⁷⁾ことから、構造クラス に分類される。

8．JECFA における評価

JECFA では、1998 年に飽和脂肪族非環式鎖状二級アルコール類、ケトン類及び関連の飽和・不飽和エステル類のグループとして評価され、クラス に分類されている。推定摂取量 (9,900 µg/ヒト/日*) がクラス の摂取許容値 (1,800 µg/ヒト/日) を上回るものの、本物質又はその代謝物は生体成分に代謝され、かつそのレベルは生理的範囲を超えないと予測されるため、香料としての安全性の問題はないとされている⁷⁾。

* JECFA における評価に用いられた推定摂取量

9．「国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法」に基づく評価

本物質は、クラス に分類され、生体内において特段問題となる遺伝毒性はないと考えられる。繁殖試験に基づく安全マージンは 457 であり、本物質の想定される推定摂取量 (10,968 µg/ヒト/日) はクラス の摂取許容値 (1,800 µg/ヒト/日) を超えている。

10．その他

イソプロパノールの通常の生体内における血中濃度及び体内動態に関するパラメーターは、個人差もあいついて、大きなばらつきがあると考えられるが、正常人において 1.95 µM 以下の濃度で検出されたという報告がある¹⁶⁾。一方、過大な見積もりではあるが、わが国におけるイソプロパノールの一日当たりの想定される推定摂取量 (約 11 mg/ヒト/日) を一度に摂取し、かつ摂取したイソプロパノールが 100% 吸収され、また代謝されずに体内に分布したと仮定すると、血中濃度は 8.1 µM に達すると算出される。

入手資料から得られたイソプロパノールの血中半減期のデータには、ばらつきがあるものの経口摂取の場合の平均的なレベルと考えられる 4.8 時間¹⁷⁾を試算に用いると、摂取後、9.8 時間後には、イソプロパノールの血中濃度は正常人の血中濃度レベル以下にまで低下すると考えら

れる。

香料として使用される量（濃度）程度のイソプロパノールを含む食品を日常の食生活において摂取する状況は、この仮定とは大きく異なり、また経口摂取の場合、イソプロパノールは消化管内での抱合及び肝臓における初回通過効果による代謝を受けることから、体内でイソプロパノール濃度が異常に上昇するとは考えられない。

1 1 . 評価結果

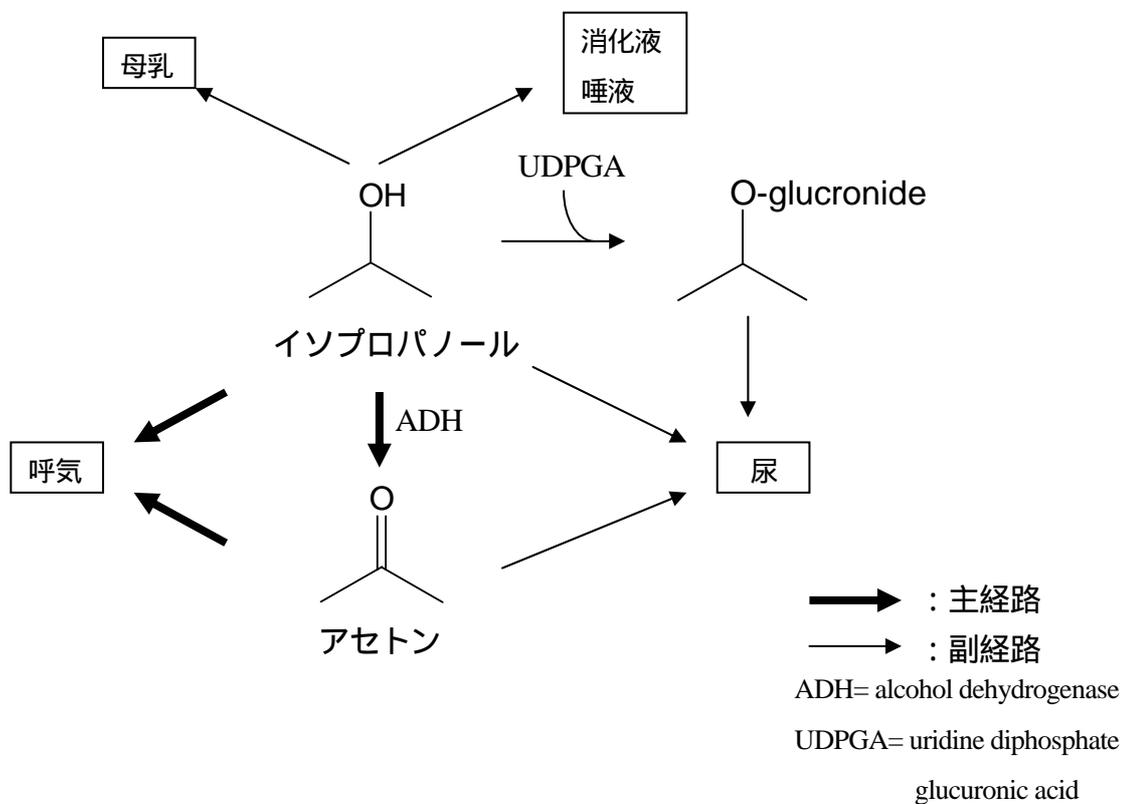
イソプロパノールは、生体内において特段問題となる遺伝毒性はないと考えられる。本物質の想定される推定摂取量は、クラス の摂取許容量を超えているが、適切な安全マージン 100 を上回っており、また、本物質及びその代謝物は、生体成分に代謝され、かつそのレベルは生理的範囲を著しく超えることはないと予測されることから、本物質を食品の着香の目的で使用する場合にあっては、安全性に懸念がないと考えられる。

【引用文献】

- 1) TNO (1996) Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7th.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist.
- 2) Florin I, Rutberg L, Curvall M, Enzell CR. Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames test. *Toxicology*. (1980) 18: 219-232.
- 3) Shimizu H, Takemura N, Goto S, Matsushita H. The results of microbial mutation test for forty-three industrial chemicals. *Jpn. J. Ind. Health*. (1985) 27: 400-419.
- 4) Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests. V. Results from the testing of 311 chemicals. *Environ. Mol. Mutag.* (1992) 19: 2-141.
- 5) Chemical Manufacturers' Association (1990) Unpublished submission to the United States Environmental Protection Agency.
- 6) Kapp RW, Marino DJ, Gardiner TH, Maston LW, McKee RH, Tyler TR, Ivett JK, Young RR. In vitro and in vivo assays of isopropanol for mutagenicity. *Environ. Mol. Mutag.* (1993) 22: 93-100.
- 7) 第 51 回 JECFA WHO Food Additives Series 42.
- 8) Barilyak IR, Kozachuk SY. Investigation of the cytogenetic effect of a number of monohydric alcohols on rat bone marrow cells. *Cytol. Genet.* (1988) 22: 51-54.
- 9) Pilegaard K, Ladefoged O. Toxic effects in rats of twelve weeks' dosing of 2-propanol, and neurotoxicity measured by densitometric measurements of glial fibrillary acidic protein in the dorsal hippocampus. *In Vivo*. (1993) 7: 325-330.
- 10) IARC Monograph Vol. 71 (1999) (p-1027) (Summary).
- 11) Bevan C, Tyler TR, Gardiner TH, Kapp RW Jr, Andrew SL, Beyer BK. Two-generation reproduction toxicity study with isopropanol in rats. *J. Appl. Toxicol.* (1995) 15: 117-123.
- 12) Tyl RW, Masten LW, Marr MC, Myers CB, Slauter RW, Gardiner TH, Strother PE, McKee RH, Tyler TR. Developmental toxicity evaluation of isopropanol by gavage in rats and rabbits. *Fund. Appl. Toxicol.* (1994) 22: 139-151.
- 13) RIFM/FEMA database, Material information on propyl alcohol.

- 14) Propan-2-ol (Isopropyl alcohol; IPA) ; Unpublished dossier to SCF by EFFA in 2002.
- 15) Stofberg J, Grundschober F. Consumption ratio and food predominance of flavoring materials. *Perf. Flav.* (1987) 12: 27-56.
- 16) Ernstgard L, Sjogren B, Warholm M, Johanson G. Sex differences in the toxicokinetics of inhaled solvent vapors in humans 2. 2-propanol. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2003) 193: 158-167.
- 17) Zuba D, Piekoszewski W, Pach J, Winnik L, Parczewski A. Concentration of ethanol and other volatile compounds in the blood of acutely poisoned alcoholics. *Alcohol.* (2002) 26: 17-22.

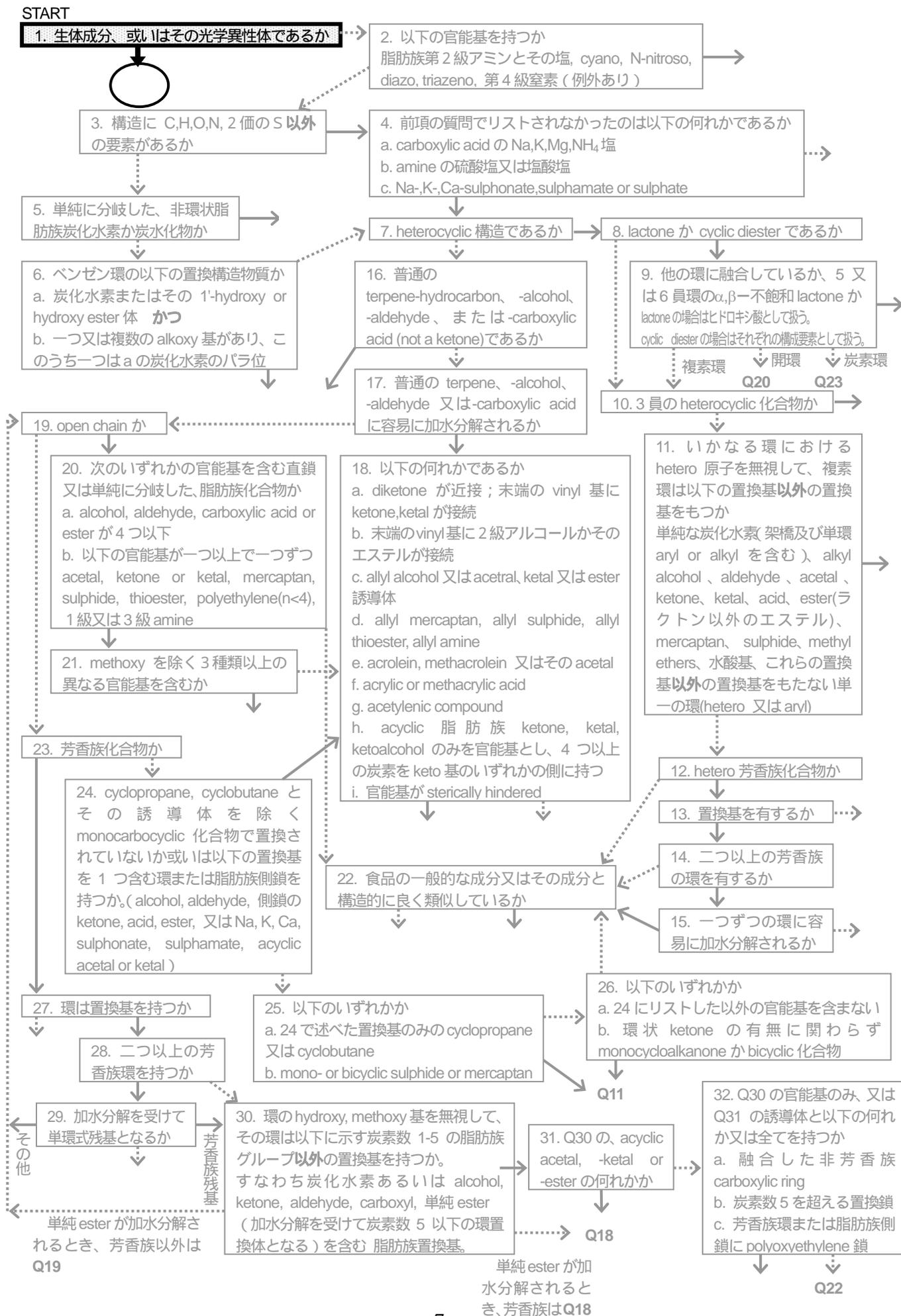
(参考) ほ乳動物におけるイソプロパノールの代謝及び排泄



参考資料 : International Program on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 103: 2-Propanol

香料構造クラス分類 (イソプロパノール)

YES : → , NO :→



**亜酸化窒素の食品健康影響評価に関する
審議結果についての御意見・情報の募集結果について**

1. 実施期間 平成16年10月28日～平成16年11月24日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 4通
4. 御意見・情報の概要及びそれに対する添加物専門調査会の回答

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	<p>食品安全委員会添加物専門調査会の審議は、使用状況に関係なく、あくまでも食品中に残留しているものについて消費者安全を評価すべきではないか。また、他の食品添加物で器具を指定して食品添加物として認可されている例があるのか。</p> <p>亜酸化窒素は食品添加物として20ヶ国以上で使用されているにもかかわらず、米国のエアゾール缶の引例のみが審議資料となっているが、他の国の使用状況を調査しなくて良いのか。欧州では器具（クリームウィッパー、ホイップクリーマー等）に使用される亜酸化窒素カートリッジが数億本販売されているのが実状である。米国で使用されているエアゾール缶式ホイップクリームは食品添加物として認めるが、欧州で使用されているような器具で作るホイップクリームは食品添加物として認めないというのは本末転倒ではないか。</p>	<p>今回の亜酸化窒素の食品健康影響評価は、要請者から厚生労働大臣に対し、亜酸化窒素を乳脂肪及び/又は植物性脂肪のエアゾール缶入り加工食品（以下、ホイップクリーム缶という）に用途を限定すると共に、成分規格を定めた上で、食品添加物として指定するよう要請が提出され、これを受けて厚生労働大臣から食品安全委員会に評価の依頼がなされたものです。</p> <p>添加物の安全性評価にあたっては、その使用状況も考慮の上、評価を行うことも必要と考えます。</p> <p>添加物の対象食品の拡大等について頂いたご意見はリスク管理に関するものであり、担当のリスク管理機関である厚生労働省にも転達いたします。</p>
2	<p>当社が取扱いを予定、検討している商品は、エアゾール缶入りのホイップクリームではなく、欧州メーカーが製造するホイッパーと呼ばれている泡立て用、あるいは攪拌用の加圧容器である。</p> <p>今般、亜酸化窒素を食品添加物として審議されている内容に関して、疑問の余地のある主張及び判断が見受けられた。亜酸化窒素を食品添加物（噴出剤）として食品健康影響評価の審議をされている段階で、悪用・乱用の恐れからエアゾール缶タイプに限定して使用を認めることに理があるのか、正当性があるのかといった議論がなくして進行している点について懸念している。</p>	

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
	<p>(続き)</p> <p>日本で亜酸化窒素が食品添加物として認められる場合、エアゾール缶に限定して許可されるべきものではない。使用を限定することで国益を損なうばかりか、本来、厚生労働省が目指している「国際的に必要性が高い食品添加物 46 品目」に対する判断としては世界でも異例な認可となり、世界での使用状況と比べて大きく乖離してしまうものとなる。</p>	
3	<p>亜酸化窒素の用途に関して、欧米ではチョコレート類に空気を含ませる含気チョコレート製造に亜酸化窒素が広く使用されている。含気チョコレートは、日本で含気させる場合は現状亜酸化窒素が使用できないために窒素または二酸化炭素が使用されているが、これらの2種類の気体は決して菓子類の含気技術に適しているものではない。</p> <p>亜酸化窒素は、窒素及び二酸化炭素のもつ問題点が解消された気体であり、また亜酸化窒素はチョコレートにのみならず、ビスケット類やクッキー類に使用されるサンドクリームの含気などにも好適である。</p> <p>以上のような状況を鑑み、亜酸化窒素の用途の拡大をご検討頂きたい。</p>	
4	<p>亜酸化窒素を食品添加物として使用した最終製品(ホイップクリーム)が製造され流通することを是とする本審議結果には異論はない。最終製品が流通するだけであれば全く問題ないと思われるが、今後、米国等で問題にされている「家庭用のホイップクリーム製造器」用の「亜酸化窒素の小ボンベ」が認められ、一般家庭用に流通し濫用されることの危険性を懸念する。</p> <p>米国では「小ボンベ」を用いた濫用が蔓延し、その重篤な副作用に鑑み、自由にスーパーで購入できる状態で良いのかという議論も起きている。</p> <p>当社で製造販売しているボンベ充填の医療用「亜酸化窒素」については、納入先を把握し、納入先では麻酔科が厳重に管理している。工業用(半導体製造等)でも、その販売先を確認して販売し、厳重な管理をお願いしている。</p>	<p>亜酸化窒素に係る食品健康影響評価結果において、本物質の薬理作用を考慮し、通常の使用方法によらない本物質の直接摂取等、過剰な摂取には注意が必要としたところです。</p> <p>今回の食品健康影響評価は、ホイップクリーム缶に用途を限定することを前提として行ったものです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
	<p>(続き)</p> <p>「亜酸化窒素の小ボンベ」が、一般家庭用に流通し濫用されることがないように、これらの流通を規制する何らかの「法的規制」を併せて導入されることを強く要望する。</p>	

亜酸化窒素を添加物として定めることに 係る食品健康影響評価に関する審議結果

1 はじめに

亜酸化窒素は、無色のガスで、20 カ国以上で食品添加物として用いられている。米国では、加圧容器入りの乳脂肪等の噴射剤として GRAS (Generally Recognized as Safe) 物質として使用が認められており¹⁾、欧州連合 (EU) においても、幅広い食品に一般的に使用可能な食品添加物とされている²⁾。

医療分野では、国内外で古くから吸入麻酔薬として用いられており、わが国では日本薬局方に収載されている³⁾。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) では、第 22 回 (1978 年) 会議⁴⁾で評価された後、第 29 回 (1985 年)⁵⁾及び第 55 回 (2000 年)⁶⁾で再評価された。第 29 回の JECFA において、噴射剤としての亜酸化窒素の使用は「Acceptable」とされ、ADI は設定されていない。第 55 回の JECFA では packaging gas in modified atmospheric packaging への亜酸化窒素の使用について検討されたが、この用途からの摂取量に関する情報がなく、評価できないと結論されている。

2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目については、企業等からの指定要請を待つことなく、指定に向けた検討を開始する方針を示している。これに該当する亜酸化窒素については、指定の要請もあったことから、食品安全基本法に基づき、厚生労働省から食品安全委員会に食品健康影響評価が依頼されたものである。(平成 15 年 10 月 20 日、関係書類を接受)

3 添加物指定の概要

今般、亜酸化窒素について、乳脂肪及び / 又は植物性脂肪のエアゾール缶入り加工食品に用途を限定し、JECFA や日本薬局方等の規格を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

Acceptable : 現在の特定用途 (及び摂取量以下での) 使用は毒性学的に問題がないと考えられる場合に用いられる。

4 物理化学的性質等

名称： 亜酸化窒素（別名：一酸化二窒素、酸化二窒素）

英名： Nitrous oxide、Dinitrogen monoxide、Hyponitrous acid anhydride

CAS 番号： 010024-97-2

分子式： N_2O

分子量： 44.01

性状等： 室温、大気圧下において無色のガスで、においはない。

温度 0 °C、気圧 101.3 kPa における亜酸化窒素 1,000 mL の重量は約 1.96 g。

1 気圧、25 °C における亜酸化窒素の水への溶解性は 1.06 mg/g。

亜酸化窒素は、通常温度では安定であり、またオゾン、水素、ハロゲン類、アルカリ金属類とは反応しない。加熱条件下では、亜酸化窒素は支燃性ガスとなり、他の可燃性ガスと混ぜると可燃性又は爆発性混合物を生成する。

亜酸化窒素は、我が国では、エアゾール缶入り加工食品にのみ使用されることが想定されている食品添加物であり、海外における実際の使用例として、1 缶（ホイップクリーム約 198 g）に 8.5 g 程度の亜酸化窒素が充填されている。

吐出後のクリーム中の N_2O 含量は、実測値から泡中 N_2O 含量 1.7 ~ 4.57 mg/g クリームと溶解 N_2O 含量 1.06 mg/g クリームを合わせた 2.76 ~ 5.63 mg/g クリームと推定されている。

5 安全性に関する検討

1) 経口投与毒性試験

亜酸化窒素は長年麻酔薬として使用されており、その吸入による安全性に関する試験は多数報告されている。しかし、経口投与での安全性に関する試験報告はこれまでなく、今回、5 日間及び 28 日間反復投与毒性試験が実施された。

なお、亜酸化窒素は気体であり、経口投与することは不可能であるため、実際に人が摂取する亜酸化窒素含有ホイップクリーム投与により亜酸化窒素の毒性を評価する方法が選択されている。

5 日間経口投与試験

6 週齢の F344/DuCrj (Fischer) 雄性ラット（各群 4 匹）に亜酸化窒素含有ホイップクリーム 0、5、10 及び 15 g/kg 体重（亜酸化窒素として 0、29.80、59.60 及び 89.40 mg/kg 体重：推定値）を 5 日間連続強制経口投与し、毎日一般状態の観察を行うとともに体重測定、摂餌量測定及び病理学的検査が行われた⁷⁾。

対照群及び各投与群ともに死亡動物は認められなかった。一般状態では、15 g/kg 体重投与群において、投与直後、口腔内へのクリームの逆流が投与 1 日目で 2 例に、また、投与 1 日目の投与 15 分後に腹部の軽度な膨満が 2 例にみられたが、他に投与によると思われる影響は認められなかった。

各投与群（5、10 及び 15 g/kg 体重）の体重増加率は対照群のそれぞれ 98、88 及び 76% で、摂餌量は対照群のそれぞれ 90、89 及び 82% であった。

肉眼的検査では、いずれの投与群においても被験物質の投与によると思われる毒性学的変化は認められなかったが、5 g/kg 体重投与群の 1 例、10 及び 15 g/kg 体重投与群のそれぞれ 3 例の胃内部にガスが貯留し、15 g/kg 体重投与群では 2 倍以上に膨張していた。また、5 g/kg 体重投与群の 1 例、10 及び 15 g/kg 体重投与群のそれぞれ 3 例の胃内部に白色内容物、さらに、5、10 及び 15 g/kg 体重投与群のそれぞれ 3 例の小腸内部に白色内容物が認められた。

15 g/kg 体重投与群で投与 1 日目にホイップクリームの逆流が観察されたことから 10 g/kg 体重が技術的に投与可能な上限であると考えられ、また、15 g/kg 体重投与群では、体重増加率と摂餌量が対照群よりも低値を示し、胃が 2 倍以上に膨張していたことから、28 日間反復経口投与試験の最高投与量は 10 g/kg 体重が妥当と判断されている。

28 日間反復経口投与試験

6 週齢の F344/DuCrj (Fischer) 雌雄ラット（各群 6 匹）に亜酸化窒素含有ホイップクリームを 0、2.5、5 及び 10 g/kg 体重（亜酸化窒素として 0、16.8、33.6 及び 67.1 mg/kg：推定値）、クリームのみ（亜酸化窒素非含有）又はクリームに空気を加えたもの（亜酸化窒素非含有）を 28 日間反復経口投与し、臨床症状の観察、行動機能検査、体重測定、摂餌量測定、摂水量測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、眼科学的検査及び病理学的検査が行われた⁸⁾。

誤投与による 1 例を除き、各投与群とも死亡動物は認められなかった。臨床症状及び行動機能検査では、いずれの投与群でも投与によると思われる影響は観察されず、体重増加についても各投与群とも明らかな差は認められなかった。摂餌量及び摂水量は、雌雄ともに亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 体重投与群、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重投与群及び亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群において投与期間中減少傾向を示し、この減少はクリームの大量投与による影響と考えられている。

尿検査では、亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 体重投与群の雌でナトリウム及び塩素の有意な低値が認められたが、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群でも同様に低値を示しており、これは亜酸化窒素の影響ではないと判断される。また、各投与群の雄で塩素の有意な低値が認められたが、亜酸

化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群においても同様に低値を示している。

血液学的検査では、5 g/kg 体重投与群の雄で血小板数が有意な高値を示したが、用量相関が認められず、投与に起因した増加ではないと判断されている。

血液生化学的検査では、亜酸化窒素含有ホイップクリーム 10 g/kg 体重投与群の雄で尿素窒素が低値を示したが、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群でも同様の低値が認められており、また、亜酸化窒素含有ホイップクリーム 5 及び 10 g/kg 体重投与群の雄でナトリウムの低値が認められたが、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重投与群及び亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群でも同様に低値が認められており、さらに、亜酸化窒素含有ホイップクリーム 5 及び 10 g/kg 体重投与群の雄で塩素が低値を示したが、亜酸化窒素非含有クリーム 10 g/kg 体重 + 空気投与群でも認められており、これらはクリームによる影響と推察されている。

病理組織学的検査で無処置対照群を含む各群に散発的に病変が観察されたが、投与に関連したものは認められていない。

以上から、いくつかの所見は認められているが、亜酸化窒素によると考えられる影響は認められないとされ、本試験における亜酸化窒素の無毒性量（NOAEL）は 67.1 mg/kg 体重/日と結論されている。

2) 経口投与以外の曝露による毒性試験

亜酸化窒素の吸入曝露による試験がいくつか報告されているが、想定される経口による摂取とは摂取経路が異なり、またいずれも曝露量レベルは、ヒトが食品を介して摂取するレベルよりも高いことから、今回の毒性評価にあたっては参考データとして取り扱うこととする。

なお、参考として、吸入曝露の各試験用量については、Lewis らの論文⁹⁾に基づき、その用量を経口による投与量に換算した値を試験結果一覧に併記する。

急性毒性試験

ブタに亜酸化窒素を大腿静脈から 30 分間静脈内投与（0.1 mL/kg 体重/min）したところ、死亡例はなく、血液 pH、血中二酸化炭素分圧、心拍数、平均動脈圧及び終末呼気二酸化炭素濃度に有意な変化はみられなかった¹⁰⁾。

反復投与毒性試験

ラット（各群 12 匹）に、空気（対照群）、25% 亜酸化窒素、21% 酸素及び 54% 窒素の混合気体、又は 60% 亜酸化窒素、21% 酸素及び 19% 窒素の混合気体を 14 日間曝露した結果、60% 亜酸化窒素曝露群において白血球数が有意に減少し、2 匹は白血球減少症を呈し、1 匹は白血球の著減を示して死亡し、60% 亜酸化窒素

曝露群の実験は中止された¹¹⁾。

雄の CD-1 マウスに亜酸化窒素（50、500 及び 5,000 ppm）を 1 日 6 時間、週に 5 日、2 又は 13 週間曝露したところ、5,000 ppm の 2 週間曝露及び 13 週間曝露で、いくつかの指標に影響（肝重量の減少、白血球減少等）が認められた¹²⁾。

生殖発生毒性試験

マウスを用いて、亜酸化窒素（0.5、5.0 及び 50%）を雌の妊娠 6 ~ 15 日の間に曝露する試験、及び雄の交配前 9 週間曝露する試験では、いずれの試験においても亜酸化窒素の影響はみられなかった¹³⁾。

LEW/f Mai 雄性ラットを 20% 亜酸化窒素、20% 酸素及び 60% 窒素の混合気体に最長 35 日間曝露したところ、精細管の精子形成細胞の傷害、精子数の減少がみられた^{14), 15)}。

妊娠ラットに 50% 亜酸化窒素を 2 ~ 6 日間曝露したところ、胎児死亡、胎児の内臓・骨格異常が観察された。また、ラットの妊娠 5 ~ 11 日のいずれか 1 日に 70% 亜酸化窒素を 24 時間曝露したところ、妊娠 9 日の曝露で、生存児 108 例中 54 例に何らかの異常がみられた¹⁶⁾。

妊娠 9 日の SD ラットに亜酸化窒素（0.75、7.5、25 及び 75%）を 24 時間曝露したところ、75% 曝露群で初期及び後期の吸収胚の増加、催奇形性がみられたが、25% では有害影響は認められなかった¹⁷⁾。

Wistar ラットに亜酸化窒素（0.025、0.05、0.1 及び 0.5%）を 1 日 6 時間、週に 5 日、妊娠期間中 3 週間持続曝露したところ、0.5% 曝露群で平均胎児数が減少した。吸収胚や骨格奇形の増加の兆候はなかった¹⁸⁾。

妊娠中の Wistar ラットに亜酸化窒素（0.025、0.05 及び 0.1%）を 19 日間持続曝露したところ、0.1% 曝露群で胎児数の減少、吸収胚の増加等が認められた¹⁹⁾。

Wistar ラットに亜酸化窒素（0.5%）を妊娠 1 ~ 19 日昼夜曝露したところ、胎児数の減少、吸収胚の増加、骨格異常、胎児重量の減少等が認められた²⁰⁾。

Wistar ラットに亜酸化窒素（1%）を 1 日 6 時間、週に 5 日、妊娠第 1 週、妊娠第 1 週及び第 2 週、並びに妊娠第 1 ~ 第 3 週曝露したところ、平均胎児数の減少、全亜酸化窒素曝露群を合計して対照群と比較すると出生児の体重減少等が認められた²¹⁾。

発がん性試験

3 週齢 Swiss-Webster マウスに、10 又は 40% 亜酸化窒素の 1 日 4 時間週 5 日間の曝露を 78 週間行ったところ、40% 曝露群で 5% 程度の体重増加抑制がみられ

たが、それ以外に投与の影響は認められず、総腫瘍数及び腫瘍別の発生数でも全ての群間で有意な差はみられていない²²⁾。

ラットを用いた発がん性試験データは見当たらない。

3) 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験 (TA98 及び TA100)²³⁾、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) を用いた姉妹染色分体交換試験²⁴⁾及びチャイニーズハムスターの V79 系肺線維芽細胞を用いた 8-アザグアニン耐性突然変異コロニー数の計測²⁵⁾において、いずれも遺伝毒性は認められていない。

ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験において、ハロタン : N₂O : O₂ = 1% : 74% : 25%、N₂O : O₂ = 75% : 25%、ハロタン : 空気 = 1% : 99%、空気の 4 種類を 48 時間曝露したところ、染色体異常の誘発は認められなかった²⁶⁾。

その他、植物細胞において染色体異常の誘発を示唆する報告²⁷⁾があるが、ヒトリンパ球を用いた試験においては高用量で染色体異常が認められていないことから、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を有するものではないと考えられる。

4) 薬理作用

亜酸化窒素の薬理作用は個体により差が認められるものの、20%亜酸化窒素の吸入で鎮痛作用が現れ、30%で意識を喪失する例もあるが、大半は 30 ~ 80%で鎮静状態が得られた。また、心血管系への作用は軽微で、中枢神経系への副作用はなく、80%亜酸化窒素吸入によっても骨格筋は弛緩しない。術後 15%の患者に悪心あるいは嘔吐が起こる。また、亜酸化窒素は、ビタミン B₁₂ の不活性化により造血機能障害や神経障害を起こすことが知られている²⁸⁾。

80%亜酸化窒素と 20%酸素混合気体をラットに 2、4 及び 6 日間曝露した試験では、5 日目に生存していた動物の半数が 6 日目に死亡し、また、曝露群では“酩酊状態” (intoxicated) を呈し、対照群 (空気投与) に比べて睡眠時間が長く、摂餌量及び摂水量も少なく、出血を伴わない下痢症状が投与 5 日以降に全ての動物で観察された。白血球数は、投与 4 及び 6 日後に有意に低下し、多形核球の減少が大きく、6 日目にはリンパ球のみとなった。大腿骨骨髄の病理組織学的検査において、進行性の形成不全が観察され、空胞の増加と形成不全に伴う髄質の赤血球の増加、有糸分裂像の消失が観察された。さらに重度に変性した髄質では、出血及び広範なフィブリン塊が観察された。また、曝露期間が長くなるのに伴って、巨核球が見かけ上増加した²⁹⁾。

80%亜酸化窒素、20%酸素の混合気体への 6 日間曝露により、ラットの白血球数は急激に減少し、亜酸化窒素曝露下の動物における急性骨髄形成不全は細

胞有糸分裂や再生の停止を導いた。また、骨髄性白血病患者 2 例に亜酸化窒素を曝露したところ、白血球数が減少したとの報告がある³⁰⁾。

ハロタンまたはメトキシフルランとの併用で、亜酸化窒素による血圧や心拍数の低下等が報告されている³¹⁾。

10 名の健常被験者に 40%亜酸化窒素と 60%酸素の混合気体を吸入させたところ、ほとんどの被験者は、亜酸化窒素曝露中に異常感覚の繰り返しを経験し、全ての人に聴覚過敏と痛覚消失があったが、不安や興奮はみられなかった。また 30%亜酸化窒素の吸入で意識の喪失が 1 例認められた³²⁾。

5) その他の生化学データ

Sprague-Dawley 及び Long-Evans ラットに通常の大気又は混合気体 (70%亜酸化窒素、20%酸素及び 10%窒素) を曝露し、白血球数、骨髄と胸腺の RNA 及び DNA 含量を検討したところ、混合気体曝露群の DNA 含量は両系統ともに著しく減少したが、Long-Evans ラットでより顕著で、Long-Evans ラットでは胸腺で RNA 含量が著しく上昇した。DNA 含量の減少から新細胞形成速度の低下が示唆された³³⁾。

6) 体内動態

吸収

健常人に亜酸化窒素 80%と酸素 20%の混合気体をスピロメーターに連結して吸入 (スピロメーター内の酸素により実際は亜酸化窒素 70%と酸素 30%の混合気体の吸入)させたところ、亜酸化窒素吸収は、開始直後には大量で、個体の飽和量の 50%は開始後 5 分以内に吸収されるが、時間の経過とともに急に減少した。また、吸収量には個体差があった³⁴⁾。

手術患者において、局所麻酔後に気管内挿管し、亜酸化窒素を吸入させ、吸気量と呼気量から亜酸化窒素吸収量を算出したところ、開始数分間は吸収は特に多く (個体差も大きい)、開始から早くて 5 分、遅くても 20 分までの間に吸収は低下した³⁵⁾。

分布

ヒト及びイヌについて、*in vitro*、³⁷⁾、1 気圧における亜酸化窒素の血中及び脳ホモジネートへの平衡濃度から求めた脳 - 血中分配係数は、それぞれ 1.06 及び 1.03 であった。40%亜酸化窒素、60%酸素混合気体のイヌへの 2 時間吸入試験では、脳と中心静脈血中の亜酸化窒素分配は約 10 分でほぼ平衡に達した³⁶⁾。

妊娠ヒツジ及びヤギへの亜酸化窒素と酸素の混合気体の吸入試験では、臍帯静脈と子宮静脈中の亜酸化窒素濃度はほぼ等しく、投与後 25 分には平衡に達した。母動物と臍帯動脈の亜酸化窒素濃度の平衡は大きく遅延した³⁷⁾。

代謝

ヒト及びラットの腸内容物並びにラット腸管壁による¹⁵N 標識亜酸化窒素(0、5、10 及び 20%酸素条件)の代謝を *in vitro* で検討した結果、腸内容物により亜酸化窒素は窒素に還元された。この活性は、酸素濃度を上げると抑制されること、抗生物質等により阻害されること、洗浄腸管壁による代謝はわずかであることから、この亜酸化窒素代謝は腸内微生物叢によるとされている³⁸⁾。

排泄

75%亜酸化窒素の 60 分間吸入とそれに続く 45 分間の排泄段階において、肺と血液の分圧は排泄が始まるとすぐに非常に低い(非麻酔の)レベルに下がった。脳への血流量は多いため、麻酔ガスの脳における分圧は急激に下がるが、筋肉のような低血流の組織ではかなり長く残り、血流が非常に少ない脂肪ではさらに長時間残るとされている²⁸⁾。

7) ヒトにおける使用経験等

臨床における使用経験

我が国において、亜酸化窒素は、古くから、単独では歯科治療及び分娩第 1 期の鎮痛目的で吸入麻酔薬として使用されており、その副作用として、造血機能障害(顆粒球や血小板の減少等)や嘔気・嘔吐及び末梢神経障害が挙げられているが、その頻度は不明である³⁹⁾。

デンマークにおいて、歯科領域における鎮痛薬として 30 ~ 35%の亜酸化窒素を吸入した約 300 万例について調査が実施され、特筆すべき副作用はみられなかったと報告されている⁴⁰⁾。

乱用に関する報告

亜酸化窒素の乱用に関し、死亡例も海外で報告されているが、乱用による死亡は窒息によるものが多く、それらの事例は亜酸化窒素ガスボンベ及びホイップクリーム用チャージャーを用いたものであり、市販ホイップクリーム缶による乱用の事例の報告は見当たらないとのことである⁴¹⁾。

6 国際機関等における評価

1) JECFA における評価⁵⁾

第 29 回の JECFA においては、亜酸化窒素の毒性影響について広範囲にわたり研究されているが、影響が認められる用量(濃度)は、エアゾール噴射剤により食品に分散する量(濃度)よりはるかに大きいとされ、亜酸化窒素の噴射剤としての食品への使用は「Acceptable」と評価されている。

2) 米国 FDA における評価⁴²⁾

米国 FDA は、1982 年の Federal Register において以下のように評価している。

亜酸化窒素は比較的安定な気体であり、ほ乳動物において代謝されることを示す証拠はほとんどない。亜酸化窒素に曝露された食物を摂餌させる試験がなく、吸入投与によって実施されたものだけである。これらの曝露はヒトの食品を介する摂取とは程遠く、食品に添加した亜酸化窒素の摂取量に外挿することは困難である。吸入による亜酸化窒素の毒性所見はあるが、その用量は曝露された食品由来の推定摂取量と比べるとはるかに大きい。

ほとんどの気体は食品として噴射調理される間、又は噴射後、おそらく拡散する。歯科医や口腔外科医を対象とした疫学調査では、週 3 時間以上麻酔時に曝露された場合、有害作用を示したが、特異な作用は亜酸化窒素の使用に起因したものではなかった。

亜酸化窒素が現在使用されている含量又は将来予測される含量で、加圧容器中の乳脂肪等の噴射剤として使用される場合、消費者への危険を疑わせる合理的な根拠を示唆する入手可能な情報はない。

亜酸化窒素に関する全ての入手可能な情報を評価した結果、現行の GRAS 指定に変更はない。

7 一日摂取量の推計等

米国における亜酸化窒素含有ホイップクリーム（ホイップクリーム缶）の年間総生産量は 2003 年に 43,389 t であり⁴³⁾、米国における一人当たりのホイップクリーム缶中クリームの一日本摂取量は 6.8 mg/kg 体重/日と算出される。亜酸化窒素のホイップクリーム中含量は 2.76 ~ 5.63 mg/g とされている^{44), 45), 46)} ことから、米国における亜酸化窒素の一日本摂取量は 0.02 ~ 0.04 mg/kg 体重/日と推定されている。

また、正確には指定後の追跡調査による確認が必要と考えるが、米国及び我が国におけるクリーム生産量（2003 年）に基づく摂取量の差を考慮すると、我が国における亜酸化窒素含有ホイップクリームの摂取量は、米国の約 30% より少ないものと推定される^{43), 47)} ことから、我が国におけるホイップクリーム由来の亜酸化窒素の一日本摂取量は、0.006 ~ 0.01 mg/kg 体重/日を超えないと想定される。

缶から吐出したクリーム中に含まれている亜酸化窒素は、時間と共に徐々に大気中に拡散していくため、実際の摂取量はより少なくなると考えられる。ただし、缶中クリームが残り少なくなると、吐出された液状クリーム中の亜酸化窒素濃度が高くなることから、当該クリームを摂取するようなケースでは、上記推定より実際の摂取量が多くなる可能性もあるが、例外的な状況であると思われる。

8 評価結果

亜酸化窒素について、得られた毒性試験成績等は吸入曝露によるものがほとんどであり、経口投与によるものは限られているが、経口で摂取した場合、消化管を通して生体内に吸収されることはほとんどないものと考えられ、ラットを用いた 28 日間反復経口投与試験の結果においても、安全性を懸念するような特段の毒性影響は認められていない。また、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、吸入曝露による試験において発がん性も認められていない。ヒトにおいては、医薬品分野において、吸入麻酔薬として古くから単独で歯科治療と分娩第 1 期に鎮痛目的で間欠的に用いられ、また他薬との併用で全身麻酔に広く用いられており、歯科領域での使用経験においても特筆すべき副作用は認められていないとの報告がある。

本物質の現在想定されている使用方法に基づく推定摂取量は非常に僅かであり、吸入曝露による動物試験成績及びヒトにおける医薬品分野での使用経験等において影響が認められる投与（曝露）量とは大きく乖離している。

JECFA では、第 29 回の会合において、影響が認められる用量（濃度）は、エアゾール噴射剤により食品に分散する量（濃度）よりはるかに多いとされ、本物質の噴射剤としての食品への使用は「Acceptable」と評価されている。

以上から、亜酸化窒素を乳脂肪及び / 又は植物性脂肪のエアゾール缶入り加工食品（ホイップクリーム缶）に添加物として適切に使用する限りにおいては、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を設定する必要がないと評価した。

なお、亜酸化窒素の薬理作用を考慮すると、通常の使用方法によらない本物質の直接摂取等、本物質の過剰な摂取には注意が必要と考える。

【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch. I (4-1-2001 Edition) Food and Drug Administration, §184.1545, §173.345, §173.360.
- 2) Official Journal of the European Communities 1995 L61 Volume 38.
- 3) 第十四改正日本薬局方 財団法人日本公定書協会編 2001年 p.209-210.
- 4) WHO 1978. Evaluation of certain food additives and contaminants; WHO Technical Report Series 631 Twenty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- 5) WHO 1986. Evaluation of certain food additives and contaminants; WHO Technical Report Series 733 Twenty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- 6) Joint FAO/WHO expert committee on food additives 2000, 55th meeting, Summary and conclusions.

- 7) 株式会社大雄会医科学研究所 亜酸化窒素のラットを用いた5日間反復投与毒性試験(試験番号0029) 最終報告書 2000年9月
- 8) 株式会社大雄会医科学研究所 亜酸化窒素のラットを用いた28日間反復投与毒性試験(試験番号0109) 最終報告書 2001年8月
- 9) Lewis SC, Lynch JR, Nikiforov AI. A new approach to deriving community exposure guideline from “no-observed-adverse-effect-levels”. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* (1990) 11: 314-330.
- 10) Roberts MW, Mathiesen KA, Ho HS, Wolfe BM. Cardiopulmonary responses to intravenous infusion of soluble and relatively insoluble gases. *Surg. Endosc.* (1997) 11: 341-346.
- 11) Parbrook GD. Leucopenic effects of prolonged nitrous oxide treatment. *Brit. J. Anaesth.* (1967) 39: 119-127.
- 12) Healy CE, Drown DB, Sharma RP. Short term toxicity of nitrous oxide on the immune, hemopoietic, and endocrine systems in CD-1 mice. *Toxicol. Ind. Health.* (1990) 6: 57-70.
- 13) Mazze RI, Wilson AI, Rice SA, Baden JM. Reproduction and fetal development in mice chronically exposed to nitrous oxide. *Teratology* (1982) 26: 11-16.
- 14) Kripke BJ, Kelman AD, Shah NK, Balogh K, Handler AH. Testicular reaction to prolonged exposure to nitrous oxide. *Anesthesiology* (1976) 44: 104-113.
- 15) Kripke BJ, Sherwin RP. Nitrogen dioxide exposure - Influence on rat testes. *Anesth. Analg.* (1984) 63: 526-528.
- 16) Shepard TH, Fink BR. Teratogenic activity of nitrous oxide in rats. *Toxicity Anesth. Proc. Res. Symp.* (1967) 308-323.
- 17) Mazze RI, Wilson AI, Rice SA, Baden JM. Reproduction and fetal development in rats exposed to nitrous oxide. *Teratology.* (1984) 30: 259-265.
- 18) Vieira E, Cleaton-Jones P, Moyes D. Effects of low intermittent concentrations of nitrous oxide on the developing rat fetus. *Br. J. Anaesth.* (1983) 55: 67-69.
- 19) Vieira E, Cleaton-Jones P, Austin JC, Moyes DG, Shaw R. Effects of low concentrations of nitrous oxide on rat fetuses. *Anesth. Analg.* (1980) 59: 175-177.
- 20) Vieira E. Effect of the chronic administration of nitrous oxide 0.5% to gravid rats. *Br. J. Anaesth.* (1979) 51: 283-287.
- 21) Vieira E, Cleaton-Jones PE, Austin J, Fatti PL. Intermittent exposure of gravid rats to 1% nitrous oxide and the effect on the postnatal growth of their offspring. *S. Afr. Med. J.* (1978) 53: 106-108.
- 22) Baden JM, Kundomal YR, Luttrupp ME Jr, Mazze RI, Kosek JC. Carcinogen bioassay of nitrous oxide in mice. *Anesthesiology* (1986) 64: 747-750.
- 23) Baden JM, Monk SJ. Mutagenicity and toxicity studies with high pressure nitrous oxide. *Toxicol. Lett.* (1981) 7: 259-262.

- 24) White AE, Takehisa S, Eger EI 2nd, Wolff S, Stevens WC. Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetics. *Anesthesiology* (1979) 50: 426-430.
- 25) Sturrock J. Lack of mutagenic effect of halothane or chloroform on cultured cells using the azaguanine test system. *Br. J. Anaesth.* (1977) 49: 207-210.
- 26) Yoshida H, Takaori M. Halothane induced chromosome aberration of human lymphocyte. *Kawasaki Med. J.* (1979) 5: 171-176.
- 27) Szeles A. Effect of nitrous oxide on plant cell division the cytological side effect of nitrous oxide treatment. *Acta Biol. Szeged.* (1983) 29: 23-32.
- 28) グッドマン・ギルマン薬理書 薬物治療の基礎と臨床 第9版
- 29) Green CD, Eastwood DW. Effect of nitrous oxide inhalation on hemopoiesis in rats. *Anesthesiology* (1963) 24: 341-345.
- 30) Eastwood DW, Green CD, Lambdin MA, Gardner R. Effect of nitrous oxide on the white-cell count in leukemia. *New Engl. J. Med.* (1963) 268: 297-299.
- 31) Bloch M. Some systemic effects of nitrous oxide. *Brit. J. Anaesthesia* (1963) 35: 631-639.
- 32) Eisele JH, Smith NT. Cardiovascular effects of 40 percent nitrous oxide in man. *Anesth. Analg.* (1972) 51: 956-963.
- 33) Green CD. The effect of N₂O on ribonucleic and deoxyribonucleic acid content of rat bone marrow and thymus. *Toxicity Anesth., Proc. Res. Symp.* (1968) 1967: 114-122.
- 34) 上久保康夫. 亜酸化窒素による吸入麻酔についての基礎的研究. *麻酔* (1958) 7: 273-277.
- 35) 上塚昭逸. 笑気の吸収と低流量による笑気麻酔についての研究. *熊本医学会雑誌* (1959) 33: 1522-1528.
- 36) Kety SS, Harmel MH, Broomell HT, Rhode CB. The solubility of nitrous oxide in blood and brain. *J. Biol. Chem.* (1948) 173: 487-496.
- 37) Blechner JN, Makowski EL, Cotter JR, Meschia G, Barron DH. Nitrous oxide transfer from mother to fetus in sheep and goats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* (1969) 105: 368-373.
- 38) Hong K, Trudell JR, O'Neil JR, Cohen EN. Metabolism of nitrous oxide by human and rat intestinal contents. *Anesthesiology* (1980) 52: 16-19.
- 39) 住友精化株式会社 全身麻酔剤・笑気ガス 添付文書
- 40) Ruben H. Nitrous oxide analgesia in dentistry: its use during 15 years in Denmark. *Br. Dent. J.* (1972) 132: 195-196.
- 41) Wagner SA, Clark MA, Wesche DL, Doedens DJ, Lloyd AW. Asphyxial deaths from the recreational use of nitrous oxide. *J. Forensic. Sci.* (1992) 37: 1008-1015.
- 42) Federal Register / Vol.47, No.191 / Friday, October 1, 1982 / Proposed Rules
- 43) 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 米国におけるホイップクリーム缶およびクリーム摂取量の推定 (社内資料)

- 44) GAS DATA BOOK 6th Edition, Matheson Gas Products (1980) 550-555.
- 45) キョーワ工業株式会社 社内報告書 ホイップクリームを射出した際に空气中に拡散する亜酸化窒素量及び射出されたホイップクリーム中に含有される亜酸化窒素量の実測 2003年7月
- 46) キョーワ工業株式会社 社内報告書 ホイップクリーム使用時に放出される亜酸化窒素について(2004年5月12日)
- 47) 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 日本におけるクリーム摂取量の推定(社内資料)

亜酸化窒素 (N₂O) の安全性に関する試験結果 その1

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数 / 群	投与濃度 換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ^{*2}	試験結果	文献 No.
急性 毒性	5日間	ラット	経口 ^{*1}	4	0、5、10、15 g/kg (ホイップクリーム 重量) 0、29.8、 59.6、89.4	15 g/kg 投与群で、投与直後、口腔内 へのクリームの逆流がみられた。5 g/kg 投与群以上においてそれぞれ 1、3、3 例にガス貯留による胃の膨 張がみられた。病理学的検査では影 響はみられなかった。	7
	30分間	ブタ	静脈内投 与	6	0.1 mL/kg/min	死亡例はなく、血液 pH、血中 CO ₂ 分圧、心拍数、平均動脈圧、終末呼 気 CO ₂ 濃度に有意な変化はみられな かった。	10
反 復 投 与 毒 性	28日間	ラット	経口 ^{*1}	6	0、2.5、5、10 g/kg (ホイップクリーム 重量) 0、16.8、 22.6、67.1	摂餌量、摂水量、尿検査及び血液生 化学的検査においてみられた変化 は、クリームの影響と推察され、 N ₂ O によると考えられる影響は認め られなかった。 NOAEL : 67.1 mg/kg 体重/日	8
	14日間	ラット	吸入	12	25%、60%N ₂ O (1、2週間) 25% : 約 40,000	N ₂ O 曝露により、用量に相関して白 血球数が有意に減少した。	11
	2又は13週 間	雄マウス	吸入	6	50、500、5,000 ppm N ₂ O、6時 間/日、5日/週 500 ppm : 231	5,000 ppm の2週間曝露及び13週間 曝露で、肝重量の減少、白血球減少 等が認められた。	12
生 殖 発 生 毒 性	雌 : 妊娠 6-15日 雄 : 交配前 9週間	マウス	吸入	生存児 : 761	0.5、5.0、50% N ₂ O、4時間/日 50% : 216,000	雄の受精能、同腹児数、胎児重量に 影響はみられなかった。	13
	最長35日間	雄ラット	吸入	4-5	20%N ₂ O、 20%O ₂ 、60%N ₂ 108,000	精細管の精子形成細胞の傷害、精子 数の減少がみられた。	14 15
	妊娠中 2-6日間	雌ラット	吸入	生存児 : 105	50%N ₂ O 2 L/min 592,457	胎児死亡、胎児の内臓・骨格異常が 観察された。	16
	妊娠5-11日 のうち1日			生存児 : 108 (妊 娠9日目 投与)	70%N ₂ O、30%O ₂ 24時間 165,888	妊娠9日の曝露で、生存児108例中 54例に何らかの異常があり、この54 例中51例は椎体の完全分離であっ た。	17
	妊娠9日	ラット	吸入	総数323	0.75、7.5、25、 75%N ₂ O 24時間 0.75% : 1,777	75%で初期及び後期の吸収胚の増 加、催奇形性がみられたが、25%で は有害影響は認められなかった。	17
	妊娠中 3週間	ラット	吸入	12	0.025、0.05、 0.1、0.5%N ₂ O、 6時間/日、5日/ 週	0.5%で平均胎児数が減少した。吸収 胚や骨格奇形の増加の兆候はなかつ た。	18

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数 / 群	投与濃度 換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ^{*2}	試験結果	文献 No.
生殖発生毒性	妊娠中 19日間	ラット	吸入	12	0.025、0.05、 0.1%N ₂ O	0.1%で胎児数の減少、吸収胚の増加等が認められた。	19
	妊娠中 19日間	ラット	吸入	12	0.5%N ₂ O	胎児数の減少、吸収胚の増加、骨格異常、胎児重量の減少等が認められた。	20
	妊娠第1週、第1～2週、第1～3週	ラット	吸入	8	1%、6時間/日、 5日/週	平均胎児数の減少、全亜酸化窒素曝露群を合計して対照群と比較したとき出生児の体重減少等が認められた。	21
発がん性	78週間	マウス	吸入	75-91	10、40%N ₂ O 4時間/日、5日/週 30,857	40%群で、5%程度の体重増加抑制がみられた他は、投与の影響はみられなかった。腫瘍の発生数に有意な差は認められていない。	22
遺伝毒性	インキュベーション 40時間	カビ細菌 TA98、 TA100	インキュベーション	/	N ₂ O分圧 ; 0.5-6気圧	いずれの分圧においても変異原性は示さなかった。	23
	インキュベーション 1、24時間	チャイニーズハムスター卵巣細胞	インキュベーション	/	75%N ₂ O	姉妹染色分体交換 (SCE) の有意な誘発はみられなかった。	24
	インキュベーション 24時間	チャイニーズハムスター培養線維芽細胞	インキュベーション	/	75%N ₂ O	変異原性は示さなかった。	25
	48時間曝露	ヒトリンパ球	曝露	/	ハロタン : N ₂ O : O ₂ = 1 : 74 : 25、 N ₂ O : O ₂ = 75 : 25、 ハロタン : 空気 = 99 : 1、空気	染色体異常の誘発は認められなかった。	26
薬理作用		ヒト	吸入			20%で鎮痛作用。30%で意識喪失する例があるが、大半は30～80%で鎮静状態。心血管系への作用は軽微、中枢系への副作用はなく、80%で骨格筋は弛緩しない。術後15%患者に悪心、嘔吐。ビタミンB ₁₂ 不活性化による造血機能障害等が知られている。	28
	2、4、6日間	ラット	吸入	対照 : 33 投与 : 24	80%N ₂ O、20%O ₂	5日目に生存していた動物の半数が6日目に死亡。投与群では、酩酊状態を呈し、睡眠時間延長等、白血球数の減少、大腿骨骨髓標本における進行性の形成不全等がみられた。	29
	6日間	ラット	吸入	対照 : 32 投与 : 25	80%N ₂ O、20%O ₂	白血球数が急激に減少し、急性骨髄形成不全を示し、細胞有糸分裂や再生が停止した。	30
	不明	白血病患者	吸入	2例	N ₂ O治療	白血球数が減少した。	
	不明	健常成人	吸入	25-30例	72%N ₂ O : 5 L/min、 28%O ₂ : 2 L/min	低濃度のハロタン、メトキシフルランと併用投与したとき、徐脈、血圧低下、筋の緊張の低下がみられた。	31

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数 / 群	投与濃度 換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ^{*2}	試験結果	文献 No.
薬理作用	21-28 日間以上	健常成人	吸入	10 例	40%N ₂ O (または 40% N ₂)、 60%O ₂ 、30 ~ 45 分間/日	心拍数低下、BCG (心機能評価) 低下、尿中カテコールアミンが有意ではないが上昇。	32
				6 例		心拍数低下、BCG 低下、総末梢抵抗増加、前腕血流量低下、中心静脈圧の上昇、血漿ノルエピネフリンが有意ではないが上昇。	
使用経験	不明	ヒト	吸入	約 300 万例	鎮痛薬として 30-35%N ₂ O	15 年間にわたる調査において、吸入による合併症の発症なし。	40
その他	8 日間	ラット (SD、 Long- Evans)	吸入	SD : 対照 17、投与 13 Long -Evans : 対照 14、投与 18	70%N ₂ O (8 日間)	DNA 含量は両系統とも著しく減少し、Long-Evans 系では胸腺で RNA 含量が著しく上昇した。	33

*1 N₂O 含有ホイップクリームの強制経口投与

*2 吸入による試験に関しては、Lewis らの論文⁹⁾に基づく事務局換算

亜酸化窒素 (N₂O) の安全性に関する試験結果 その 2

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数 / 群	投与濃度	試験結果	文献 No.
吸 収	20-45 分間	ヒト (健常 人)	吸入	5 例	80%N ₂ O、20%O ₂	吸入直後は大量に吸収され、個体飽和量の 50%は吸入開始後 5 分以内に吸収。吸収量に個体差が大きい。	34
	15-240 分間	ヒト (手術患 者)	吸入	14 例	75%N ₂ O	吸入開始直後から急速に吸収され、吸収量は開始から早くても 5 分、遅くても 20 分までに吸収は低下した。	35
分 布	2 時間	イヌ、 ヒト (<i>in vitro</i>)	吸入	7	40%N ₂ O、60%O ₂	イヌにおいて、脳と中心静脈血中の N ₂ O 分圧は 10 分の吸入で平衡に達した。	36
	20-30 分間	妊娠ヒツ ジ、妊娠 ヤギ	吸入 (芥 -テルを気 管内に挿 入)	ヒツジ : 5、 ヤギ : 2	40、50%N ₂ O	速やかに母動物から胎児に移行して、子宮静脈及び臍帯静脈中の N ₂ O 濃度はほぼ等しく、投与後 25 分で平衡に達した。	37
代 謝	16 時間	ヒト及び ラット腸 内容物、 ラット腸 管壁 (<i>in vitro</i>)	曝露		[¹⁵ N]N ₂ O、 0、5、10、20% O ₂	ヒト及びラットにおいて、腸内微生物叢により N ₂ O は N ₂ に還元された。この還元活性は、O ₂ 濃度を上げると抑制され、抗生物質等によって阻害された。	38
排 泄	60 分間		吸入		75%N ₂ O	排泄が始まると直ちに肺と血液中の分圧は非常に低い (非麻酔の) レベルに下がる。脳への血流量は多いので脳における分圧も急激に下がる。	28