

天然添加物フェルラ酸のF344ラットによる亜慢性毒性試験

多田幸恵*, 池田虎雄*, 高橋博*, 矢野範男*
湯澤勝廣*, 長澤明道*, 坂本義光*, 福森信隆*
田山邦昭*, 小縣昭夫*

Subchronic Toxicity Test of Ferulic Acid, Natural Food Additive, in F344 Rats

Yukie TADA*, Torao IKEDA*, Hiroshi TAKAHASHI*, Norio YANO*
Katsuhiko YUZAWA*, Akemichi NAGASAWA*, Yoshimitsu SAKAMOTO*, Nobutaka FUKUMORI*
Kuniaki TAYAMA* and Akio OGATA*

Male and female F344 rats were administered ferulic acid in the diet at levels of 0 (control), 0.32, 0.8, 2.0 and 5.0% for 13 weeks. Alopecia was observed in the 5.0% group of both sexes during the study period from 3 to 7 weeks. The mean body weights, food consumption and water intake of the high dose groups were significantly lower than those of the controls. Serum ALB, ALP and AMY in the male and female rats of the 5.0% group were significantly increased. Histopathological findings showed a slight atrophy of the acinar cells in the parotid gland, decreases in the metaphyseal trabecular bone and in the thickness of the diaphyseal cortical bone of the femur, and atrophy or degeneration of the germinal epithelium in the testes of male and female rats of the 5.0% group. These changes were not dose-dependent.

Keywords: フェルラ酸 ferulic acid, 亜慢性毒性試験 subchronic toxicity test, F344ラット F344 rat, 天然添加物 natural food additive, 酸化防止剤 antioxidant

緒言

天然添加物は消費者の自然・天然指向を背景にしてその開発及び利用が進み、一般食品及び健康食品に広範に利用されている。しかしながら天然添加物は、各品目ごとに安全性のチェックがなされているものではなく、広く消費者等からその安全性の確認が求められている。

フェルラ酸 (4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid) はイネ科植物の細胞壁に多く含まれ¹⁾、抗酸化作用を有することから²⁻⁴⁾、酸化防止剤として食品に利用される。その生体影響に関しては抗変異原作用⁵⁾、腫瘍発生の抑制効果⁶⁻⁷⁾、放射線障害の防護効果⁸⁾、染色体異常の誘発⁹⁾、生殖機能の阻害¹⁰⁾などの報告がある。フェルラ酸の急性、亜慢性及び慢性毒性はこれまで報告されていなかったが、著者らは前回、フェルラ酸の急性毒性をラットを用いて検討し、雄で2445 mg/kg B.W., 雌で2113 mg/kg B.W. のLD50値 (半数致死量) を得た¹¹⁾。今回、フェルラ酸を添加した飼料を13週間ラットに摂取させ、その亜慢性毒性を検討した。

実験方法

実験試料: 米糠原油より抽出、精製したフェルラ酸

(trans型; Lot No. F02124, 純度99.9%) を製造メ - カ - より入手し、日本クレア(株)の粉末飼料CE-2に予め混和した後(プレミックス)、適正濃度となるようCE-2に添加し、固形飼料とした。投与濃度は、フェルラ酸のLD50値が比較的高い値を示したことから、栄養学的に添加可能な5.0%を最高濃度とし、2.0, 0.8, 0.32, 及び0% (対照群) の5段階とした。

実験動物及び投与方法: 雌雄のF344/DuCrjラットを日本チャ-ルスリバ(株)より4週齢で購入し、1週間馴化飼育後実験に用いた。馴化及び試験期間中、ラットを自動給水装置付きベルト式飼育棚のステンレス製懸垂式ケ-ジに1匹ずつ収容し、室温22~24℃、湿度50~60%、照明12時間、換気回数毎時10回のバリア-飼育室にて飼育した。5週齢時に雌雄のラットを体重測定し、ランダム方式により各群10匹の5群に分け、飼料及び水道水(細菌ろ過器を経由)を13週間自由に摂取させた。

一般症状の観察及び体重・摂餌量・摂水量の測定: 試験期間中、一般症状の観察を毎日、体重、摂餌量及び摂水量の測定を1週間毎に行った。摂餌量は受け皿に落下した餌の量を給餌量から差し引いて求めた。

血液検査: 投与期間終了後、エ-テル軽麻酔下で頸静脈よ

* 東京都立衛生研究所毒性部病理研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

り注射器を用いて採血し、多項目自動血球計数装置（東亜医用電子E-4000）を用いて血液検査を行った。

血清生化学検査：エ-テル軽麻酔下で、大腿動脈及び大腿静脈切開により採血し、3000 rpm 10分間遠心分離して得られた血清で、日立自動分析装置Automatic Analyzer 7150を用い生化学検査を行った。

病理検査：ラットを解剖、肉眼観察した後、Table 5に示した器官の摘出及び重量測定を行い、体重100 gあたりの体重比重量を算出した。その他、下垂体、甲状腺、リンパ節、胸腺、顎下腺、舌下腺、耳下腺、外涙腺、舌、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、精巣上体、精囊、包皮腺、陰核腺、乳腺、皮膚、筋肉及び大腿骨を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、定法に従いパラフィン包埋し、薄切後H&E染色し、光学顕微鏡で観察した。

統計学的分析：測定値の統計学的分析は、Scheffeの多重比較検定¹²⁾を用いて行った。

実験結果

一般症状：投与期間中、雌雄とも全群で死亡例は認められなかった。投与を開始して3週目から、5%群雄の10例中5例、5%群雌の10例中4例に、ふけを伴った脱毛が観察された。投与7週目以降は脱毛が回復し、対照群と変わ

ない被毛となったが、雌の1例は試験終了時も被毛が薄い状態であった。

体重・摂餌量・摂水量：平均体重をFig. 1, 摂餌量をTable 1, 摂水量をTable 2に示した。平均体重は2%群雄で6, 7及び12~17週齢時に、また5%群雌雄で6~17週齢時に対照群と比較し有意に低い値を示した。5%群雄の最終体重は対照群雄の65%, 5%群雌の最終体重は対照群雌の80%であった。摂餌量は、5%群雌雄で投与1週目に対照群の1/4以下の低い値を示し、その後徐々に増加したが、2%群雌雄で投与1週に、5%群雄で投与1~8及び10~13週に、5%群雌で投与1~4週に対照群と比較し有意に低い値を示した。受け皿への餌のこぼし量は、高濃度群雌雄で投与1あるいは2週に、対照群と比較し有意に高い値を示した。体重増加量(g)/摂餌量(g)×100で求めた飼料効率は0, 0.32, 0.8, 2及び5%群それぞれの雄で15.7, 15.9, 15.8, 16.3及び10.1, それぞれの雌で9.1, 9.2, 8.7, 8.8及び6.0であった。摂水量は、5%群雄で投与1~3及び6~8週に、5%群雌で投与1~3, 9及び12週に対照群と比較し有意に低い値を示した。

血液検査：血液検査の結果をTable 3に示した。対照群と比較し、0.8%群雄でMCVが、2%群雄でHgb, PCV及びMCVが有意に高い値を示した。5%群雄でRBCが有意に低く、Hgb, MCV及びMCHが有意に高い値を示した。Pltの有意的な低下が2%群雌及び5%群雌雄で認められた。

血清生化学検査：生化学検査の結果をTable 4に示した。対照群と比較し、2%群雌でALBが、5%群雌雄でALB, ALP及びAMYが、2%及び5%群雌でCHOが有意に高い値を示した。

病理検査：最終体重及び器官重量をTable 5に示した。絶対重量は、2%群雄で副腎、5%群雌雄で測定した全器官（雌の肝臓及び腎臓を除く）が対照群と比較し有意に低い値を示した。5%群雌の肝臓は有意に高い値を示した。相対重量は、2%群雄で肝臓及び腎臓、5%群雄で肺、肝臓、腎臓、副腎及び脳、5%群雌で肝臓、腎臓及び脳が対照群と比較し有意に高い値を示した。また5%群雄で胸腺及び前立腺、5%群雌で胸腺、心臓、卵巣及び子宮が対照群と比較し有意に低い値を示した。

解剖時の肉眼検索では、肝臓の暗赤色調化及び腺胃における点状出血が5%群雌雄に認められた。顕微鏡による組織検索では、投与群の肝臓で、小葉中心性の好酸化を伴った肝細胞の肥大が認められ、用量相関性に増加した。雄と比較し雌では肝細胞肥大が軽度であった。腎臓では、対照群の雄に多く見られた尿細管の好塩基変性、対照群の雌に多く見られた皮髄境界部の石灰沈着が高濃度群でそれぞれ減少した。また5%群雄に精巣の精上皮の変性剥離、精巣上体での精子の減少が、5%群雌雄に、耳下腺腺房細胞の軽度萎縮、大腿骨骨端部の骨梁の減少、大腿骨骨幹皮質骨の厚さの減少が認められた。

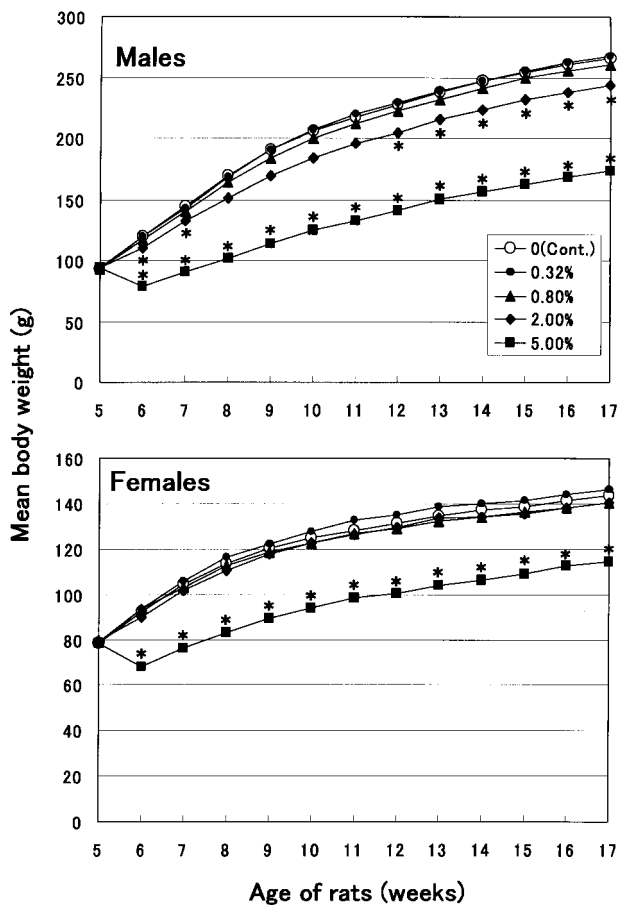


Fig. 1. Mean Body Weights of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks. Those marked with asterisks differ significantly (Scheffe's test) from the corresponding control values (* $p < 0.05$).

Table 1. Food Consumption of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks

Dose level (%)	0(cont.)	0.32	0.8	2.0	5.0
Males					
No. of rats	10	10	10	10	10
1 ^{a)}	10.6 ± 0.8 ^{b)}	11.3 ± 0.8	10.0 ± 0.7	7.1 ± 0.4*	2.2 ± 0.4*
2	11.5 ± 1.1	11.4 ± 1.3	11.2 ± 0.5	10.9 ± 0.8	6.2 ± 0.8*
3	12.5 ± 1.5	12.4 ± 1.0	12.0 ± 0.8	11.4 ± 1.0	7.2 ± 0.7*
4	13.0 ± 1.7	12.9 ± 0.9	12.6 ± 1.0	11.9 ± 1.3	8.7 ± 0.4*
5	13.2 ± 2.0	13.2 ± 0.9	12.5 ± 1.3	12.0 ± 1.7	9.3 ± 0.6*
6	11.9 ± 1.5	11.7 ± 0.8	11.6 ± 0.9	11.5 ± 1.5	9.2 ± 0.9*
7	12.5 ± 1.3	12.1 ± 0.6	12.1 ± 1.2	11.8 ± 1.5	10.0 ± 0.6*
8	12.3 ± 1.4	12.1 ± 0.8	11.9 ± 1.1	11.5 ± 1.3	9.5 ± 1.0*
9	11.8 ± 1.2	11.2 ± 1.5	11.3 ± 1.3	11.1 ± 1.4	11.0 ± 4.6
10	11.9 ± 1.6	11.2 ± 0.8	11.9 ± 1.2	11.5 ± 1.3	9.7 ± 1.4*
11	12.0 ± 1.2	11.8 ± 0.8	11.5 ± 0.7	10.9 ± 1.0	10.1 ± 1.6*
12	12.0 ± 1.4	12.2 ± 0.4	11.8 ± 1.1	11.8 ± 0.9	10.4 ± 1.3*
13	11.9 ± 1.6	11.6 ± 0.9	11.2 ± 1.2	10.6 ± 1.3	9.0 ± 2.0*
Females					
No. of rats	10	10	10	10	10
1	8.4 ± 0.4	9.3 ± 0.5*	7.8 ± 0.8	5.8 ± 0.5*	1.9 ± 0.4*
2	8.9 ± 0.5	9.1 ± 0.5	9.0 ± 0.6	8.7 ± 0.6	5.5 ± 0.6*
3	8.6 ± 0.6	9.2 ± 0.9	8.7 ± 0.5	8.5 ± 0.5	6.5 ± 0.6*
4	8.3 ± 0.9	8.7 ± 0.9	8.5 ± 0.8	8.2 ± 0.8	7.3 ± 0.5*
5	8.2 ± 1.1	8.4 ± 1.0	7.9 ± 0.9	8.7 ± 0.8	7.3 ± 0.8
6	7.2 ± 1.0	7.6 ± 0.6	7.0 ± 1.1	7.3 ± 0.7	6.8 ± 1.2
7	7.8 ± 1.1	8.1 ± 0.8	7.7 ± 0.7	7.9 ± 0.8	7.9 ± 1.3
8	7.6 ± 1.0	7.5 ± 1.1	7.6 ± 0.8	8.0 ± 0.7	6.8 ± 1.4
9	7.1 ± 1.2	7.0 ± 1.0	6.9 ± 1.0	6.5 ± 0.8	6.6 ± 1.2
10	7.1 ± 0.9	7.2 ± 0.8	7.1 ± 0.7	7.4 ± 0.8	7.4 ± 1.6
11	7.2 ± 0.6	7.5 ± 0.5	7.2 ± 0.8	6.9 ± 0.8	7.2 ± 1.5
12	7.7 ± 1.0	8.0 ± 0.7	7.5 ± 0.7	7.4 ± 0.8	7.5 ± 1.3
13	7.4 ± 0.6	7.5 ± 0.5	7.2 ± 1.0	7.0 ± 0.7	6.9 ± 1.5

Values are means ± SD. *p<0.05 vs. controls(Scheffe's test).

a)Period of administration(weeks), b)Food consumption(g/rat/day)

考 察

フェルラ酸高濃度群ではラットが添加飼料を忌避し、添加飼料に切り換えた直後に摂餌量が顕著に減少し、受け皿への餌のこぼし量が増加した。その後添加飼料に慣れ摂餌量は徐々に増加したが、5%群では投与終了時まで摂餌量が対照群と比較し有意に低かった。5%群雌雄の平均体重の有意な低下は摂餌量の減少に起因すると思われるが、飼料効率が対照群と比較し低値であったことを考慮すると、フェルラ酸投与の影響も考えられる。

5%群雌雄のラットの半数に投与3週から脱毛が観察され、投与7週までに脱毛は回復した。種々の疾患に続発して栄養障害、代謝障害が生じた場合脱毛となりうる事が知られており、今回、5%群で投与初期に認められた顕著な摂餌量の減少は、一時的な栄養状態の低下、あるいは摂餌量減少によるストレスを招き脱毛の原因となった可能性が考えられる。

血清生化学検査の結果、2%群雌でALBの有意な増加、5%群雌雄でALB、ALP及びAMYの有意な増加が認められた。ALPは肝障害、骨疾患等で上昇する酵素であり、血中アマラーゼはそのほとんどが膵臓と唾液腺由来とされる。またAMYは飢餓時にも上昇するとされている。ALP及びAMYの上昇は病理検査で観察された大腿骨及び耳下腺での組織変化、摂餌量の低下に関連した変動であると思われる。ALBは食事制限あるいは飢餓の際には低値を示すが¹³⁾、今回の実験では5%群雌雄で摂餌量の低下が顕著であったにもかかわらずALBの上昇が認められた。血清TP及び血液検査におけるPCVの上昇が5%群で認められなかったことから血漿の濃縮は考えにくい。ALBの上昇は肝臓におけるALBの合成亢進が原因ではないかと思われる。

フェルラ酸の亜慢性及び慢性毒性はこれまで報告されていないが、日本におけるカシンベック病の研究において、

Table 2. Water Consumption of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks

Dose level (%)	0 (cont.)	0.32	0.8	2.0	5.0
Males					
No. of rats	10	10	10	10	10
1 ^{a)}	15.7 ± 1.5 ^{b)}	15.0 ± 1.4	15.3 ± 1.0	13.4 ± 1.9	9.2 ± 2.7*
2	15.8 ± 1.3	15.0 ± 1.9	15.7 ± 1.5	15.3 ± 1.6	10.7 ± 1.6*
3	16.6 ± 2.1	16.5 ± 1.0	16.0 ± 1.4	15.8 ± 2.1	11.9 ± 2.0*
4	18.1 ± 2.1	17.4 ± 1.2	16.8 ± 1.3	16.7 ± 2.3	16.3 ± 4.0
5	17.0 ± 2.4	17.5 ± 1.0	17.5 ± 2.4	16.8 ± 2.7	17.0 ± 4.7
6	17.5 ± 2.1	17.3 ± 1.4	16.9 ± 1.8	16.5 ± 2.8	14.9 ± 1.8*
7	17.0 ± 2.4	17.3 ± 1.4	17.1 ± 2.2	16.1 ± 3.0	14.4 ± 1.7*
8	17.3 ± 1.7	16.4 ± 1.2	16.6 ± 2.1	15.9 ± 2.0	14.4 ± 2.1*
9	16.0 ± 1.7	16.0 ± 1.0	16.7 ± 1.8	15.5 ± 2.6	14.2 ± 2.1
10	15.8 ± 1.6	15.5 ± 1.3	15.9 ± 2.1	15.7 ± 2.3	14.3 ± 2.5
11	17.2 ± 4.0	16.6 ± 1.4	15.5 ± 1.4	15.1 ± 2.2	14.8 ± 2.6
12	16.0 ± 3.0	14.9 ± 1.1	15.4 ± 2.0	15.5 ± 1.9	14.0 ± 2.0
13	15.6 ± 2.1	15.2 ± 0.9	14.8 ± 1.6	14.5 ± 2.3	12.6 ± 3.2
Females					
No. of rats	10	10	10	10	10
1	13.3 ± 1.0	14.1 ± 0.9	13.1 ± 1.4	12.7 ± 1.4	8.6 ± 3.2*
2	13.7 ± 1.3	13.4 ± 0.9	13.7 ± 1.4	13.6 ± 1.5	9.6 ± 1.4*
3	13.0 ± 1.0	14.0 ± 1.4	12.8 ± 1.1	13.1 ± 1.2	10.3 ± 2.2*
4	13.8 ± 1.7	14.6 ± 1.3	13.4 ± 1.3	13.2 ± 1.4	13.0 ± 3.8
5	13.5 ± 2.4	13.8 ± 1.2	12.9 ± 1.5	13.5 ± 2.0	12.7 ± 3.9
6	13.3 ± 2.8	13.7 ± 1.0	12.0 ± 1.6	12.7 ± 1.5	11.4 ± 3.4
7	12.6 ± 2.1	13.9 ± 1.4	12.4 ± 1.3	13.3 ± 2.8	11.3 ± 3.6
8	12.2 ± 2.5	13.1 ± 1.3	12.3 ± 1.9	12.7 ± 2.2	10.8 ± 3.0
9	12.7 ± 2.4	12.8 ± 1.2	11.6 ± 1.0	11.7 ± 1.5	10.2 ± 3.6*
10	12.0 ± 2.4	12.7 ± 2.0	11.5 ± 1.5	11.2 ± 1.4	10.7 ± 3.5
11	12.0 ± 1.6	12.9 ± 0.8	11.7 ± 1.6	12.2 ± 2.0	11.3 ± 3.4
12	12.9 ± 1.4	12.7 ± 1.5	11.8 ± 1.3	12.1 ± 1.6	10.7 ± 3.5*
13	12.7 ± 2.4	12.8 ± 1.9	11.2 ± 1.7	11.9 ± 1.8	10.5 ± 3.6

Values are means ± SD. *p<0.05 vs. controls(Scheffe's test).

a)Period of administration(weeks), b)Water consumption(g/rat/day)

滝沢らはフェルラ酸の投与実験を行っている¹⁴⁾。カシンベック (Kaschin-Beck) 病は植物性有機物を含む飲料水を飲むことにより発生し、成長期において骨端軟骨の破壊や唾液腺内分泌障害を引き起こす疾病とされている。カシンベック病の病因物質は、飲料水中に溶けている植物性リグニンの腐敗分解成分中のフェルラ酸とパラヒドロキシ桂皮酸であるとされている。滝沢らはフェルラ酸の0.1 M溶液を白ネズミに毎日25cc, 10ヶ月間飲用させることにより、カシンベック病に特有な所見を確認した。また滝沢らは、フェルラ酸 1 μM溶液をラットに 1日0.5 cc, 10日間皮下注射した実験においても、カシンベック病特有の所見が現れることを確認した¹⁴⁾。0.1 M溶液25ccの飲用はフェルラ酸0.486 g/ラット/日の投与であり、今回の5%群雄における平均薬物摂取量0.43g/ラット/日に比較的近い投与量である。今回、5%群雌雄のラットにおいても耳下腺腺房細胞の軽度萎縮、大腿骨骨端部の骨梁の減少及び大腿骨骨幹皮質骨の厚さの減少が観察された。しかしながらカシンベ

ック病に特有な骨端軟骨の変性崩壊、耳下腺線条部上皮細胞の崩壊、骨多孔症及び大動脈中膜の弾力繊維の新生阻害等の所見は観察されなかった。また骨梁の減少等の変化も2%群以下の投与群では観察されず、用量相関性を示さなかった。今回の実験では、5%群における総摂取量が雄で対照群の71.6%、雌で対照群の84.3%であった。また5%群雄の最終体重は対照群の65%、雌は対照群の80%であった。摂取量と骨の成長には密接な関連があり、摂取量減少の結果として、体重増加率が20%あるいはそれ以上抑制された場合、顕著な骨形成障害が生じる。骨は一般的に小さくなり、骨梁の消失が起こり、破骨細胞の活性化はほとんど見られない¹⁵⁾。フェルラ酸5%群で観察された大腿骨の組織学的な変化は摂取量の減少により発現した可能性も考えられる。

文 献

1) 西澤知恵子, 太田剛雄, 江頭祐嘉合, 他: 日本食品科

Table 3. Hematological Findings of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks

Dose level (%)	0 (cont.)	0.32	0.8	2.0	5.0
Males					
No. of rats	10	10	10	10	10
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	9.82 \pm 0.22	9.85 \pm 0.16	9.88 \pm 0.25	10.00 \pm 0.21	9.55 \pm 0.16*
Hgb(g/dL)	16.7 \pm 0.4	16.8 \pm 0.2	16.9 \pm 0.4	17.1 \pm 0.3*	17.1 \pm 0.3*
PCV(%)	48.9 \pm 1.0	49.3 \pm 0.6	50.0 \pm 1.3	50.7 \pm 0.9*	50.1 \pm 1.0
MCV(fL)	49.9 \pm 0.4	50.0 \pm 0.4	50.6 \pm 0.5*	50.7 \pm 0.7*	52.5 \pm 0.6*
MCH(pg)	17.0 \pm 0.2	17.0 \pm 0.2	17.1 \pm 0.3	17.1 \pm 0.2	17.9 \pm 0.3*
MCHC(g/dL)	34.0 \pm 0.3	34.0 \pm 0.2	33.8 \pm 0.4	33.7 \pm 0.4	34.2 \pm 0.5
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6.4 \pm 0.7	6.6 \pm 0.8	5.9 \pm 0.8	5.8 \pm 0.8	5.9 \pm 0.7
Plt ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	620 \pm 54	662 \pm 45	610 \pm 58	601 \pm 32	553 \pm 33*
Females					
No. of rats	10	10	10	10	10
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	9.24 \pm 0.21	9.21 \pm 0.10	9.29 \pm 0.31	9.41 \pm 0.30	9.25 \pm 0.40
Hgb (g/dL)	16.6 \pm 0.4	16.6 \pm 0.3	16.6 \pm 0.5	16.8 \pm 0.4	16.9 \pm 0.7
PCV (%)	48.5 \pm 1.1	48.4 \pm 0.6	48.6 \pm 1.6	49.3 \pm 1.2	48.4 \pm 1.4
MCV (fL)	52.6 \pm 0.3	52.6 \pm 0.3	52.4 \pm 0.6	52.4 \pm 0.5	52.4 \pm 1.6
MCH (pg)	18.0 \pm 0.3	18.1 \pm 0.3	17.9 \pm 0.2	17.9 \pm 0.3	18.3 \pm 0.7
MCHC (g/dL)	34.2 \pm 0.4	34.4 \pm 0.6	34.2 \pm 0.3	34.1 \pm 0.4	34.8 \pm 1.0
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.6 \pm 1.0	5.8 \pm 1.1	5.3 \pm 1.2	5.1 \pm 0.9	5.9 \pm 1.4
Plt ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	657 \pm 30	646 \pm 33	629 \pm 37	598 \pm 40*	501 \pm 16*

Abbreviations : RBC=red blood cells ; Hgb=hemoglobin ; PCV=packed cell volume ; MCV=mean corpuscular volume ; MCH=mean corpuscular hemoglobin ; MCHC=mean corpuscular hemoglobin concentration ; WBC=white blood cells ; Plt=platelets.

Values are means \pm SD. * p<0.05 vs. controls (Scheffe's test).

学工学誌 , 45, 499-503, 1998.

- 2) Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 324-325, 1992 .
- 3) Chen, J. H. and Ho, C. T.: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2374-2378, 1997.
- 4) Uchida, M., Nakajin, S., Toyoshima, S., et al.: *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 623-626, 1996 .
- 5) Yamada, J. and Tomita, Y.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 328-329, 1996.
- 6) Tanaka, T., Kojima, T., Kawamori, T., et al.: *Carcinogenesis*, **14**, 1321-1325, 1993 .
- 7) Lesca, P.: *Carcinogenesis*, **4**, 1651-1653, 1983.
- 8) 太田節子 , 古川真知子 , 篠田雅人 : 薬学雑誌 , **104**, 793-797, 1984.
- 9) Stich, H. F., Rosin, M.P., Wu, C. H., et al.: *Cancer Lett.*, **14**, 251-260, 1981 .
- 10) Berger, P. J., Sanders, E. H., Gardner, P. D., et al.: *Science*, **195**, 575-577, 1977.
- 11) 多田幸恵 , 田山邦昭 , 青木直人 : 東京衛研年報 , **50**, 311-313, 1999.
- 12) Gad, S. C. and Weil, C. S.: *Principles and Methods of Toxicology*, 273-320, 1982, Raven Press, New York .
- 13) Imai, K., Yoshimura, S., Yamaguchi, K., et al. : *J.Toxicol.Pathol.*, **3**, 209-221, 1990.
- 14) 滝沢延次郎 : 日本におけるカシンベック病の研究 , 56-86, 1970 , 緒方書店 , 東京.
- 15) Leininger, J. R. and Riley, M. G. I : Bones, Joints, and Synovia, Boorman, G. A., Eustis, S. L., Elwell, M.R. et al. (Eds), *Pathology of the Fischer Rat*, 209-226, 1990, Academic Press, San Diego.

Table 4. Serum Chemistry of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks

Dose level (%)	0 (cont.)	0.32	0.8	2.0	5.0
Males					
No. of rats	10	10	10	10	10
ALB(g/dL)	2.6 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.9 ± 0.1 ^{**}
ALP(IU/L)	506 ± 38	480 ± 29	505 ± 38	540 ± 40	798 ± 169 ^{**}
AMY(IU/L)	1588 ± 109	1666 ± 176	1498 ± 76	1589 ± 74	2149 ± 393 ^{**}
ALT(IU/L)	46 ± 11	40 ± 4	41 ± 4	44 ± 5	52 ± 13
AST(IU/L)	83 ± 15	79 ± 12	76 ± 8	80 ± 17	81 ± 16
CHO(mg/dL)	58 ± 4	58 ± 3	59 ± 3	62 ± 3	61 ± 4
CRE(mg/dL)	0.48 ± 0.04	0.48 ± 0.04	0.47 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.47 ± 0.05
TP(g/dL)	6.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2	6.1 ± 0.2	6.1 ± 0.3
UN(mg/dL)	22.0 ± 2.0	21.5 ± 1.4	21.4 ± 1.2	21.3 ± 1.5	22.0 ± 1.2
Cl(mEq/L)	99.3 ± 1.3	98.5 ± 2.9	99.4 ± 2.0	100.2 ± 1.5	101.2 ± 1.9
K(mEq/L)	4.81 ± 0.20	4.80 ± 0.32	4.80 ± 0.30	4.86 ± 0.14	4.54 ± 0.32
Na(mEq/L)	138.1 ± 1.3	138.1 ± 3.0	138.3 ± 2.0	138.2 ± 1.4	138.9 ± 1.6
Females					
No. of rats	10	10	10	10	10
ALB(g/dL)	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.2	2.7 ± 0.1 ^{**}	2.8 ± 0.1 ^{**}
ALP(IU/L)	430 ± 36	405 ± 38	422 ± 57	439 ± 56	677 ± 237 ^{**}
AMY(IU/L)	1005 ± 60	1042 ± 52	975 ± 116	1032 ± 78	2052 ± 638 ^{**}
ALT(IU/L)	41 ± 5	43 ± 6	43 ± 5	41 ± 4	46 ± 18
AST(IU/L)	86 ± 13	89 ± 17	88 ± 11	86 ± 23	85 ± 20
CHO(mg/dL)	68 ± 5	67 ± 5	67 ± 6	75 ± 5 [*]	75 ± 7 [*]
CRE(mg/dL)	0.47 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.04
TP(g/dL)	5.6 ± 0.1	5.7 ± 0.2	5.6 ± 0.1	5.8 ± 0.1	5.7 ± 0.2
UN(mg/dL)	22.4 ± 1.7	21.4 ± 1.3	22.4 ± 2.0	21.2 ± 2.4	22.5 ± 3.8
Cl(mEq/L)	103.0 ± 2.1	103.4 ± 1.6	103.9 ± 2.3	103.9 ± 2.0	105.2 ± 1.6
K(mEq/L)	4.60 ± 0.26	4.57 ± 0.25	4.61 ± 0.32	4.57 ± 0.38	4.63 ± 0.25
Na(mEq/L)	139.9 ± 0.9	140.1 ± 1.1	139.5 ± 1.4	139.2 ± 1.8	139.5 ± 1.0

Abbreviations : ALB=albumin ; ALP=alkalinephosphatase ; AMY=amylase ; ALT=L-alanine : 2-oxoglutarate aminotransferase ; AST=L-aspartate : 2-oxoglutarate aminotransferase ; CHO=cholesterol ; CRE=creatinine ; TP=total protein ; UN=urea nitrogen ; Cl=chlorine ; K=kalium ; Na=natrium. Values are means ± SD. *p<0.05 ; **p<0.01 vs. controls (Scheffe's test).

Table 5. Final Body and Organ Weights of F344 Rats given Ferulic Acid in Diet for 13 Weeks

Dose level(%)	0(cont.)	0.32	0.8	2.0	5.0
Males					
No. of rats	10	10	10	10	10
Final body weight (g)	268 ± 29	269 ± 14	263 ± 19	247 ± 19	176 ± 15*
Absolute organ weights					
Thymus (mg)	158 ± 19	161 ± 21	143 ± 16	142 ± 19	81 ± 11*
Spleen (mg)	540 ± 55	553 ± 26	531 ± 43	511 ± 50	372 ± 31*
Heart (mg)	748 ± 55	752 ± 55	725 ± 57	691 ± 69	484 ± 42*
Lung (mg)	794 ± 73	794 ± 33	783 ± 49	752 ± 64	569 ± 52*
Liver (g)	8.69 ± 1.05	8.66 ± 0.56	8.73 ± 1.05	8.99 ± 0.91	7.51 ± 0.93*
Kidneys (mg)	1681 ± 155	1746 ± 106	1675 ± 116	1671 ± 160	1415 ± 134*
Testes (mg)	2907 ± 111	2952 ± 115	2863 ± 121	2826 ± 101	2035 ± 425*
Prostate gl. (mg)	259 ± 67	244 ± 47	250 ± 58	212 ± 51	101 ± 34*
Adrenal gl. (mg)	35 ± 3	35 ± 2	34 ± 2	31 ± 3*	28 ± 2*
Brain (mg)	1937 ± 43	1939 ± 35	1939 ± 29	1917 ± 30	1808 ± 40*
Relative organ weights (/100g body weight)					
Thymus (mg)	59 ± 5	60 ± 6	55 ± 6	58 ± 7	46 ± 8*
Spleen (mg)	202 ± 9	206 ± 18	202 ± 7	207 ± 7	212 ± 14
Heart (mg)	280 ± 13	280 ± 14	276 ± 11	280 ± 12	275 ± 12
Lung (mg)	297 ± 14	296 ± 16	299 ± 18	305 ± 15	323 ± 13*
Liver (g)	3.24 ± 0.14	3.22 ± 0.14	3.32 ± 0.28	3.64 ± 0.14*	4.25 ± 0.24*
Kidneys (mg)	629 ± 24	635 ± 20	638 ± 12	677 ± 29*	802 ± 23*
Testes (mg)	1095 ± 101	1099 ± 36	1095 ± 73	1050 ± 66	1101 ± 178
Prostate gl. (mg)	96 ± 19	91 ± 19	95 ± 20	85 ± 16	56 ± 17*
Adrenal gl. (mg)	13 ± 1	13 ± 1	13 ± 1	13 ± 1	16 ± 1*
Brain (mg)	729 ± 63	723 ± 34	742 ± 46	781 ± 58	1032 ± 76*
Females					
No. of rats	10	10	10	10	10
Final body weight (g)	144 ± 7	146 ± 10	140 ± 9	140 ± 9	116 ± 15*
Absolute organ weights					
Thymus (mg)	129 ± 11	124 ± 14	121 ± 13	119 ± 13	81 ± 18*
Spleen (mg)	334 ± 23	340 ± 28	336 ± 53	329 ± 31	286 ± 33*
Heart (mg)	468 ± 23	471 ± 26	446 ± 38	444 ± 18	358 ± 26*
Lung (mg)	582 ± 35	569 ± 31	567 ± 28	557 ± 47	447 ± 46*
Liver (g)	4.28 ± 0.45	4.41 ± 0.39	4.36 ± 0.57	4.62 ± 0.63	5.10 ± 0.58*
Kidneys (mg)	1027 ± 63	1043 ± 76	1003 ± 66	1012 ± 38	1042 ± 73
Ovaries (mg)	49 ± 5	51 ± 5	47 ± 6	45 ± 6	33 ± 8*
Uterus (mg)	373 ± 105	368 ± 71	338 ± 70	387 ± 113	142 ± 63*
Adrenal gl. (mg)	38 ± 4	37 ± 4	37 ± 4	33 ± 4	28 ± 3*
Brain (mg)	1753 ± 32	1765 ± 29	1785 ± 30	1759 ± 49	1689 ± 57*
Relative organ weights (/100g body weight)					
Thymus (mg)	90 ± 6	85 ± 10	87 ± 12	85 ± 5	69 ± 12*
Spleen (mg)	232 ± 10	232 ± 12	239 ± 38	236 ± 14	248 ± 23
Heart (mg)	326 ± 13	322 ± 13	318 ± 16	320 ± 21	312 ± 44*
Lung (mg)	405 ± 21	390 ± 18	405 ± 29	401 ± 46	387 ± 30
Liver (g)	2.98 ± 0.27	3.02 ± 0.23	3.10 ± 0.30	3.32 ± 0.45	4.44 ± 0.66*
Kidneys (mg)	715 ± 48	735 ± 62	715 ± 33	728 ± 57	912 ± 152*
Ovaries (mg)	34 ± 4	35 ± 3	33 ± 5	32 ± 4	28 ± 5*
Uterus (mg)	258 ± 64	251 ± 40	241 ± 46	278 ± 79	120 ± 43*
Adrenal gl. (mg)	27 ± 2	25 ± 2	26 ± 3	24 ± 3	25 ± 5
Brain(mg)	1221 ± 47	1210 ± 59	1276 ± 81	1265 ± 76	1475 ± 189*

Values are means ± SD. *p<0.05 vs. controls (Scheffe's test).