

コウジ酸の in vivo コメットアッセイおよび再生肝小核試験

平成14年9月12日

八戸工業高等専門学校

物質工学科

佐々木 有

実験方法

動物 マウス： ddY 雄 8 週齢（日本エスエルシー）
 ラット： Wistar 雄 8 週齢（日本エスエルシー）

投与

コメットアッセイ（一回投与実験、マウスとラット）

コウジ酸を 0.5%CMC-Na に懸濁し、10 ml/kg の容量で経口投与。2000 mg/kg ではマウス、ラットのいずれも投与後 3 時間以内に前例死亡のため、1000 mg/kg を最高用量とした。投与 3、24 時間後に腺胃、結腸、肝、腎、膀胱、肺、脳、骨髄の 8 臓器についてコメットアッセイの標本作製した。

コメットアッセイ（混餌投与実験、マウス）

粉餌にコウジ酸を 1.5、3% で混合し、1-10 日間自由摂取させた。この投与用量は、p53 マウスを用いた発癌試験の投与用量に従ったものである。投与開始後の 1、2、4、6、10 日目に腺胃、結腸、肝、腎、膀胱、肺、脳、骨髄の 8 臓器についてコメットアッセイの標本作製した。

再生肝小核試験（一回投与実験、マウス）

コウジ酸を 0.5%CMC-Na に懸濁し、10 ml/kg の容量で経口投与。1000 mg/kg を最高用量とした。投与 24 時間後に肝の 2/3 を切除、その 4 日後にコラゲナーゼ灌流によって再生肝の細胞を分散した。ホルマリンで固定、アクリジンオレンジで染色した。

結果

コメットアッセイ

一回投与実験ではマウスとラットのいずれでも肝と腺胃に DNA 損傷がみられた。ラットでは肺と骨髄でも陽性であった。マウスの混餌投与実験では投与開始 4 日目以降に肝で DNA 損傷がみられた。その他、腺胃と結腸でも投与開始 6 日目に散発的に陽性結果がみられた。

再生肝小核試験

コウジ酸の用量に依存して小核の誘発がみられた。

Table 1. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Kojic acid (mg/kg)	Sampling time (h)	Migration (μm , Mean \pm SEM of 4 animals)							
			Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow
Mouse	0	3	6.01 \pm 1.09	6.27 \pm 1.27	2.17 \pm 0.93	2.40 \pm 0.30	5.11 \pm 0.77	2.58 \pm 0.47	1.34 \pm 0.55	1.96 \pm 0.61
	500	3	8.00 \pm 0.76	5.83 \pm 0.64	4.00 \pm 1.32	1.71 \pm 0.33	4.29 \pm 0.28	1.09 \pm 0.12	0.54 \pm 0.33	0.60 \pm 0.34
	1000	3	14.6 \pm 2.89*	8.15 \pm 0.56	16.3 \pm 1.55*	1.50 \pm 0.39	6.22 \pm 0.94	2.68 \pm 0.64	2.20 \pm 0.43	1.29 \pm 0.90
	0	24	5.60 \pm 1.42	4.73 \pm 1.40	1.20 \pm 0.54	1.47 \pm 0.15	5.37 \pm 0.55	1.37 \pm 0.60	0.88 \pm 0.55	1.34 \pm 0.86
	500	24	9.47 \pm 0.68	4.44 \pm 0.78	5.65 \pm 1.84*	1.50 \pm 0.56	4.96 \pm 0.97	2.89 \pm 0.56	1.55 \pm 0.68	0.72 \pm 0.42
	1000	24	12.3 \pm 1.83*	7.87 \pm 0.75	15.8 \pm 2.03*	0.93 \pm 0.38	5.91 \pm 1.21	1.73 \pm 0.69	1.19 \pm 0.25	0.85 \pm 0.50
Rat	0	3	7.57 \pm 0.32	3.82 \pm 0.19	0.69 \pm 0.26	1.14 \pm 0.15	7.16 \pm 0.67	1.38 \pm 0.34	0.93 \pm 0.38	0.42 \pm 0.28
	1000	3	28.7 \pm 1.55*	5.73 \pm 0.37	2.87 \pm 0.97	1.70 \pm 0.21	7.15 \pm 1.62	6.30 \pm 0.47*	1.78 \pm 0.41	6.74 \pm 0.27*
	0	24	8.33 \pm 0.55	4.18 \pm 0.37	1.03 \pm 0.43	2.37 \pm 0.56	5.45 \pm 0.60	2.06 \pm 0.31	2.40 \pm 0.50	1.19 \pm 0.48
	1000	24	10.7 \pm 1.12	4.62 \pm 0.43	5.16 \pm 0.86*	2.89 \pm 0.45	6.27 \pm 0.33	2.19 \pm 1.29	1.55 \pm 0.53	5.32 \pm 0.72*

Table 2. Migration of nuclear DNA from organs of mice treated with Kojic acid by feeding.

Species	Dose (%)	Feeding period (day)	Migration (μm , Mean \pm SEM of 4 animals)							
			Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow
Mouse	0	1	5.63 \pm 0.61	4.03 \pm 0.91	1.47 \pm 0.40	1.27 \pm 0.49	3.57 \pm 0.49	1.73 \pm 0.21	0.83 \pm 0.48	0.77 \pm 0.45
	1.5	1	6.09 \pm 1.00	5.86 \pm 1.12	1.94 \pm 0.43	0.88 \pm 0.53	5.01 \pm 0.47	1.83 \pm 0.72	1.45 \pm 0.61	0.98 \pm 0.20
	3	1	10.1 \pm 1.04	6.66 \pm 0.93	3.51 \pm 1.48	1.60 \pm 0.42	4.42 \pm 0.64	2.22 \pm 0.38	1.34 \pm 0.63	0.47 \pm 0.27
	0	2	6.12 \pm 1.08	5.14 \pm 0.92	1.73 \pm 0.23	0.93 \pm 0.38	4.13 \pm 0.84	1.73 \pm 0.47	1.57 \pm 0.48	2.33 \pm 0.83
	1.5	2	7.12 \pm 1.01	9.60 \pm 2.82	5.32 \pm 2.02	1.86 \pm 0.77	5.11 \pm 0.88	1.58 \pm 0.81	1.27 \pm 0.49	0.88 \pm 0.59
	3	2	8.47 \pm 1.61	3.87 \pm 0.48	1.63 \pm 0.45	3.02 \pm 1.25	4.00 \pm 0.87	2.45 \pm 0.66	1.24 \pm 0.44	0.88 \pm 0.51
	0	4	5.58 \pm 1.01	4.49 \pm 1.12	1.01 \pm 0.35	1.53 \pm 0.45	4.67 \pm 0.63	1.50 \pm 0.16	0.67 \pm 0.23	0.80 \pm 0.50
	1.5	4	6.09 \pm 0.42	3.69 \pm 0.27	4.91 \pm 1.64	0.85 \pm 0.36	3.00 \pm 0.68	1.76 \pm 0.70	0.75 \pm 0.46	0.54 \pm 0.32
	3	4	9.65 \pm 1.90	9.73 \pm 2.92	8.96 \pm 2.36*	1.08 \pm 0.44	3.67 \pm 0.41	2.61 \pm 1.62	0.70 \pm 0.49	0.93 \pm 0.56
	0	6	6.53 \pm 0.80	4.18 \pm 0.44	1.83 \pm 0.89	2.58 \pm 0.53	4.87 \pm 0.28	2.38 \pm 0.60	2.45 \pm 0.99	0.90 \pm 0.55
	1.5	6	6.12 \pm 1.21	4.72 \pm 0.45	5.86 \pm 0.34	1.14 \pm 0.54	4.75 \pm 0.36	1.76 \pm 0.48	1.16 \pm 0.80	0.85 \pm 0.50
	3	6	15.4 \pm 0.58*	12.7 \pm 0.85*	12.8 \pm 2.29*	1.22 \pm 0.13	4.77 \pm 0.87	2.02 \pm 0.92	1.21 \pm 0.53	0.88 \pm 0.51
	0	10	5.19 \pm 0.45	4.31 \pm 0.63	0.80 \pm 0.52	1.01 \pm 0.37	4.31 \pm 0.38	1.24 \pm 0.49	1.19 \pm 0.25	0.98 \pm 0.42
	1.5	10	5.19 \pm 0.88	3.88 \pm 0.37	6.66 \pm 0.40*	3.67 \pm 0.40	4.15 \pm 0.78	1.63 \pm 0.23	0.85 \pm 0.50	0.31 \pm 0.31
	3	10	8.10 \pm 0.80	6.04 \pm 0.71	12.7 \pm 1.84*	0.88 \pm 0.32	5.58 \pm 0.42	2.43 \pm 0.41	1.65 \pm 0.32	1.16 \pm 1.16

Table 3. Micronucleus test with Kojic acid using re-generating mouse liver

Kojic acid (mg/kg)	MNHPC / 1000 HPC (Mean \pm SEM of 3 or 4 animals)
0	2.33 \pm 0.33
500	5.00 \pm 1.00
1000	10.3 \pm 1.45*

Appendix 1. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Animal No.	Migration (μm of 50 nuclei)									
				Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow		
Mouse	0	3	1	5.06	7.43	0.00	2.68	3.10	2.06	1.05	2.06		
			2	7.02	7.85	3.61	1.96	5.57	3.72	1.75	1.45		
			3	8.46	7.33	1.24	1.86	4.95	1.55	0.00	3.61		
			4	3.51	2.48	3.82	3.10	6.81	2.17	2.58	0.72		
			Mean	6.01	6.27	2.17	2.40	5.11	2.38	1.34	1.96		
			SEM	1.09	1.27	0.93	0.30	0.77	0.47	0.55	0.61		
			500	3	1	6.19	4.65	4.44	1.55	3.92	0.93	1.34	0.00
					2	7.43	7.43	3.72	2.27	3.82	1.24	0.83	1.14
	3	9.70			6.30	7.12	0.83	4.34	1.34	0.00	0.00		
	4	8.67			4.95	0.72	2.17	5.06	0.83	0.00	1.24		
	Mean	8.00			5.83	4.00	1.71	4.29	1.09	0.54	0.60		
	SEM	0.76			0.64	1.32	0.53	0.28	0.12	0.33	0.34		
	1000	3			1	20.75	8.46	16.21	1.75	7.74	2.99	3.10	3.82
					2	9.50	6.71	17.45	0.41	7.12	2.58	2.48	0.00
			3	18.27	9.39	12.08	1.55	6.50	4.13	1.03	0.00		
			4	9.81	8.05	19.41	2.27	3.51	1.03	2.17	1.34		
			Mean	14.58	8.15	16.29	1.50	6.22	2.68	2.20	1.29		
			SEM	2.89	0.56	1.55	0.39	0.94	0.64	0.43	0.90		
			0	24	1	8.46	7.33	1.24	1.86	4.95	1.55	0.00	3.61
					2	7.54	6.40	1.55	1.24	6.71	2.89	0.00	0.00
3	3.82	1.06			2.06	1.55	4.13	0.00	2.27	0.00			
4	2.58	4.13			0.00	1.24	5.68	1.03	1.24	1.75			
Mean	5.60	4.73			1.20	1.47	5.37	1.37	0.88	1.34			
SEM	1.42	1.40			0.54	0.15	0.55	0.60	0.55	0.86			
500	24	1			11.35	6.71	7.54	1.45	7.33	1.34	2.68	0.00	
		2			8.57	4.23	2.89	3.10	2.99	4.03	2.68	1.55	
		3	9.60	3.41	9.91	0.72	3.82	3.20	0.00	0.00			
		4	8.36	3.41	2.27	0.72	5.68	2.99	0.83	1.34			
		Mean	9.47	4.44	5.65	1.50	4.96	2.89	1.55	0.72			
		SEM	0.68	0.78	1.84	0.56	0.97	0.56	0.68	0.42			
		1000	24	1	17.34	7.12	13.33	0.93	3.61	1.24	0.93	0.00	
				2	12.49	7.02	14.25	0.00	4.03	2.79	0.72	1.86	
3	10.74			10.12	13.83	0.93	7.74	0.00	1.24	0.00			
4	8.77			7.23	21.88	1.86	8.26	2.89	1.86	1.55			
Mean	12.3			7.87	15.82	0.93	5.91	1.73	1.19	0.85			
SEM	1.83			0.75	2.03	0.38	1.21	0.69	0.25	0.50			
Rat	0			3	1	7.54	3.92	0.83	1.24	5.47	2.27	1.86	0.52
					2	8.36	3.30	1.24	1.45	8.77	1.24	0.93	0.00
		3	6.81		4.23	0.00	0.72	7.23	0.62	0.00	0.00		
		4	7.57		3.82	0.69	1.14	7.16	1.38	0.93	1.17		
		Mean	7.57		3.82	0.69	1.14	7.16	1.38	0.93	0.42		
		SEM	0.32		0.19	0.26	0.15	0.67	0.34	0.38	0.28		
		1000	3		1	24.57	5.88	2.17	1.34	10.94	7.12	1.24	7.33
					2	30.86	5.06	4.95	1.96	3.72	5.06	2.27	7.02
	3			27.97	6.71	3.82	1.34	8.57	6.92	2.68	6.50		
	4			31.28	5.26	0.52	2.17	5.37	6.09	0.93	6.09		
	Mean			28.67	5.73	2.87	1.70	7.15	6.30	1.78	6.74		
	SEM			1.55	0.37	0.97	0.21	1.62	0.47	0.41	0.27		
	0			24	1	7.84	4.34	2.06	1.65	4.95	1.96	2.06	0.93
					2	9.91	3.51	1.24	3.61	7.23	1.24	1.24	2.27
		3	7.43		3.72	0.00	1.24	4.65	2.37	2.68	0.00		
		4	8.15		5.16	0.83	2.99	4.95	2.68	3.61	1.55		
		Mean	8.33		4.18	1.03	2.37	5.45	2.06	2.40	1.19		
		SEM	0.55		0.37	0.43	0.56	0.60	0.31	0.50	0.48		
		1000	24		1	13.11	4.44	7.33	2.48	6.81	3.82	1.75	4.65
					2	12.08	3.61	3.10	4.13	6.19	0.00	2.27	6.40
3	9.19			4.75	5.16	2.06	6.71	4.95	0.00	3.61			
4	8.46			5.68	5.06	2.89	5.37	0.00	2.17	6.61			
Mean	10.71			4.62	5.16	2.89	6.27	2.19	1.55	5.32			
SEM	1.12			0.43	0.86	0.45	0.33	1.29	0.53	0.72			

Appendix 2. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Dose (%)	Exposure period (day)	Animal No.	Migration (μm of 50 nuclei)								
				Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow	
Mouse	0	1	1	6.61	6.30	0.93	0.00	4.34	1.24	0.00	1.34	
			2	4.34	1.86	1.75	1.86	2.99	1.75	1.55	1.75	
			3	6.71	4.13	0.72	1.03	4.47	2.27	0.00	0.00	
			4	4.85	3.82	2.48	2.17	2.48	1.65	1.75	0.00	
			Mean	5.63	4.03	1.47	1.27	3.57	1.73	0.83	0.77	
				SEM	0.61	0.91	0.40	0.49	0.49	0.21	0.48	0.45
		1.5	1	1	8.57	2.79	2.79	0.00	5.06	0.83	2.99	1.24
	2			4.85	6.71	2.58	2.17	5.26	1.96	1.55	1.24	
	3			4.13	8.05	1.14	1.34	3.72	0.72	1.24	1.03	
	4			6.81	5.88	1.24	0.00	5.99	3.82	0.00	0.41	
	Mean			6.09	5.86	1.94	0.88	5.01	1.83	1.45	0.98	
				SEM	1.00	1.12	0.43	0.53	0.47	0.72	0.61	0.20
		3	1	1	9.81	5.26	7.85	1.65	3.82	1.86	0.83	0.83
	2			8.46	4.95	1.24	1.65	3.10	2.99	2.99	1.03	
	3			13.11	8.77	2.48	2.58	6.09	2.68	0.00	0.00	
	4			9.08	7.64	2.48	0.52	4.65	1.34	1.55	0.00	
	Mean			10.1	6.66	3.51	1.60	4.42	2.22	1.34	0.47	
				SEM	1.04	0.93	1.48	0.42	0.64	0.38	0.63	0.27
		0	2	1	5.78	4.34	2.27	0.83	4.34	2.89	1.03	2.27
	2			9.19	3.72	1.14	1.03	1.75	1.14	1.02	3.51	
3	5.37			4.65	1.75	0.00	5.68	2.06	1.24	0.00		
4	4.13			7.85	1.75	1.86	4.75	0.83	2.99	3.54		
Mean	6.12			5.14	1.73	0.93	4.13	1.73	1.57	2.33		
			SEM	1.08	0.92	0.23	0.38	0.84	0.47	0.48	0.83	
	1.5	2	1	9.81	14.97	2.99	3.20	5.26	0.52	1.45	0.00	
2			7.43	8.05	9.60	3.20	3.82	2.27	1.24	2.48		
3			6.09	13.01	0.93	0.52	3.82	3.51	2.37	0.00		
4			5.16	2.37	7.74	0.52	7.54	0.00	0.00	1.03		
Mean			7.12	9.60	5.32	1.86	5.11	1.58	1.27	0.88		
			SEM	1.01	2.82	2.02	0.77	0.88	0.81	0.49	0.59	
	3	2	1	12.28	3.10	1.03	6.71	2.79	4.34	1.24	0.00	
2			8.26	4.65	1.86	1.96	5.88	2.27	1.96	0.00		
3			4.44	2.99	2.79	1.24	5.06	1.34	1.75	1.96		
4			8.88	4.75	0.83	2.17	2.27	1.86	0.00	1.55		
Mean			8.47	3.87	1.63	3.02	4.00	2.45	1.24	0.88		
			SEM	1.61	0.48	0.45	1.25	0.87	0.66	0.44	0.51	
	0	4	1	3.82	4.13	1.65	1.14	4.13	1.34	0.83	2.06	
2			8.36	3.30	1.24	1.45	3.77	1.24	0.93	0.00		
3			4.44	2.79	0.00	2.79	4.23	1.96	0.00	1.14		
4			5.68	7.74	1.14	0.72	6.54	1.45	0.93	0.00		
Mean			5.38	4.49	1.01	1.53	4.67	1.50	0.67	0.80		
			SEM	1.01	1.12	0.35	0.45	0.63	0.16	0.23	0.50	
	1.5	4	1	7.11	4.03	6.71	0.93	2.68	3.20	1.14	0.93	
2			5.05	2.89	1.55	1.75	2.17	1.34	1.86	0.00		
3			6.19	3.82	8.57	0.72	5.26	0.00	0.00	0.00		
4			5.99	4.03	2.79	0.00	3.00	2.48	0.00	1.24		
Mean			6.09	3.69	4.91	0.85	3.00	1.76	0.75	0.54		
			SEM	0.42	0.27	1.64	0.36	0.68	0.70	0.46	0.32	
	3	4	1	4.75	14.04	12.28	0.00	3.72	1.24	0.72	0.00	
2			9.70	5.06	5.06	1.75	2.79	7.43	2.06	2.27		
3			14.04	15.48	13.73	0.72	4.75	0.41	0.00	0.00		
4			10.12	4.34	4.75	1.86	3.41	1.34	0.00	1.45		
Mean			9.65	9.73	8.96	1.08	3.67	2.61	0.70	0.93		
			SEM	1.90	2.92	2.36	0.44	0.41	1.62	0.49	0.56	

Appendix 2 (continued). Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Dose (%)	Exposure period (day)	Animal No.	Migration (μm of 50 nuclei)									
				Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow		
Mouse	0	6	1	4.75	5.47	4.23	3.20	5.57	4.03	5.16	1.34		
			2	5.68	3.51	1.24	3.61	4.23	1.24	1.24	2.27		
			3	8.26	4.03	1.86	2.27	5.01	1.86	0.72	0.00		
			4	7.43	3.72	0.00	1.24	4.65	2.37	2.68	0.00		
			Mean	6.53	4.38	1.83	2.58	4.87	2.38	2.45	0.90		
			SEM	0.80	0.44	0.89	0.53	0.28	0.60	0.99	0.55		
			1.5	6	1	7.02	4.65	5.78	0.72	5.57	0.72	3.41	1.86
					2	8.98	3.51	6.19	2.58	5.57	2.17	0.00	0.00
	3	3.41			5.57	6.50	0.00	4.03	1.24	1.24	0.00		
	4	5.06			5.16	4.95	1.24	4.23	2.89	0.00	1.55		
	Mean	6.12			4.72	5.86	1.14	4.75	1.76	1.16	0.85		
	SEM	1.21			0.45	0.34	0.54	0.36	0.48	0.80	0.50		
	3	6			1	14.55	13.01	15.69	0.93	5.57	0.93	1.24	1.55
					2	16.83	11.15	10.84	1.55	2.37	0.00	2.58	1.96
			3	14.35	14.97	17.34	1.14	6.50	3.72	0.00	0.00		
			4	15.79	11.66	7.35	1.24	4.85	3.41	1.03	0.00		
			Mean	15.38	12.70	12.80	1.22	4.77	2.02	1.21	0.88		
			SEM	0.58	0.85	2.29	0.13	0.87	0.92	0.53	0.51		
			0	10	1	4.03	5.16	0.00	1.03	4.64	1.24	1.45	0.83
					2	5.16	5.57	1.03	0.00	4.23	1.34	1.75	1.03
	3	5.37			3.51	0.00	1.24	3.29	0.00	0.72	0.00		
	4	6.19			2.99	2.17	1.75	5.06	2.37	0.83	2.06		
	Mean	5.19			4.31	0.80	1.01	4.31	1.24	1.19	0.98		
	SEM	0.45			0.63	0.52	0.37	0.38	0.49	0.25	0.42		
1.5	10	1			6.50	3.03	6.40	3.72	5.06	1.86	0.00	0.00	
		2			5.78	4.34	6.30	2.68	2.68	1.24	1.45	1.24	
		3	2.58	3.51	6.09	3.61	2.99	1.24	1.96	0.00			
		4	6.09	4.65	7.85	4.65	5.88	2.17	0.00	0.00			
		Mean	5.19	3.88	6.66	3.67	4.15	1.63	0.85	0.31			
		SEM	0.88	0.37	0.40	0.40	0.78	0.23	0.50	0.31			
		3	10	1	5.99	4.34	11.25	1.45	5.99	2.99	2.17	0.00	
				2	9.29	5.68	13.52	0.83	4.34	2.99	0.72	4.65	
3	9.39			7.74	8.67	0.00	6.19	1.24	1.96	0.00			
4	7.74			6.40	17.34	1.24	5.78	2.48	1.75	0.00			
Mean	8.10			6.04	12.70	0.88	5.58	2.43	1.65	1.16			
SEM	0.80			0.71	1.84	0.32	0.42	0.41	0.32	1.16			

Appendix 3. Micronucleus test with Kojic acid using re-generating mouse liver.

Species	Dose (mg/kg)	Animal No.	MN/HPC/1000HPC	
Mouse	0	1	3.00	
		2	2.00	
		3	2.00	
		Mean	2.33	
		SEM	0.33	
		500	10	1
	2			6.00
	3			3.00
	4			2.00
	Mean	5.00		
	SEM	1.00		
	1000	10	1	13.00
2			10.00	
3			8.00	
Mean			10.33	
SEM			1.45	

コウジ酸の *in vivo* 遺伝毒性

2002年11月10日

八戸工業高等専門学校物質工学科

佐々木 有

実験方法

動物

マウス： ddY 雄 8 週齢（日本エスエルシー）

ラット： Wistar 雄 8 週齢（日本エスエルシー）

投与

コメットアッセイ（一回投与実験、マウスとラット）

コウジ酸を 0.5%CMC-Na に懸濁し、10 ml/kg の容量で経口投与。2000 mg/kg ではマウス、ラットのいずれも投与後 3 時間以内に前例死亡のため、1000 mg/kg を最高用量とした。投与 3、24 時間後に腺胃、結腸、肝、腎、膀胱、肺、脳、骨髄の 8 臓器についてコメットアッセイの標本を作製した。

結果

コメットアッセイ

一回投与実験ではマウスとラットのいずれでも肝と腺胃に DNA 損傷がみられた。ラットでは肺と骨髄でも陽性であった。マウスにおいて DNA 損傷が見られた最低用量は 500 mg/kg であった。

Table 1. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Kojic acid (mg/kg)	Sampling time (h)	Migration (μm , Mean \pm SEM of 4 animals)							
			Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow
Mouse	0	3	6.01 \pm 1.09	6.27 \pm 1.27	2.17 \pm 0.93	2.40 \pm 0.30	5.11 \pm 0.77	2.58 \pm 0.47	1.34 \pm 0.55	1.96 \pm 0.61
	125	3	5.63 \pm 0.46	4.83 \pm 0.07	1.50 \pm 0.67	1.81 \pm 0.51	3.82 \pm 0.46	1.94 \pm 0.72	2.17 \pm 0.21	0.65 \pm 0.23
	250	3	4.21 \pm 0.73	3.23 \pm 0.53	2.40 \pm 0.40	0.90 \pm 0.15	3.92 \pm 0.59	1.37 \pm 0.28	0.70 \pm 0.51	0.70 \pm 0.41
	500	3	8.00 \pm 0.76	5.83 \pm 0.64	4.00 \pm 1.32	1.71 \pm 0.33	4.29 \pm 0.28	1.09 \pm 0.12	0.54 \pm 0.33	0.60 \pm 0.34
	1000	3	14.6 \pm 2.89*	8.15 \pm 0.56	16.3 \pm 1.55*	1.50 \pm 0.39	6.22 \pm 0.94	2.68 \pm 0.64	2.20 \pm 0.43	1.29 \pm 0.90
	0	24	5.60 \pm 1.42	4.73 \pm 1.40	1.20 \pm 0.54	1.47 \pm 0.15	5.37 \pm 0.55	1.37 \pm 0.60	0.88 \pm 0.55	1.34 \pm 0.86
	125	24	5.37 \pm 1.27	3.74 \pm 0.59	2.15 \pm 0.84	1.71 \pm 0.62	4.72 \pm 0.69	3.10 \pm 0.35	0.96 \pm 0.37	0.65 \pm 0.39
	250	24	4.85 \pm 0.38	4.08 \pm 0.49	2.32 \pm 0.62	1.91 \pm 1.12	3.82 \pm 0.40	1.86 \pm 0.69	1.32 \pm 0.47	1.14 \pm 0.44
	500	24	9.47 \pm 0.68	4.44 \pm 0.78	5.65 \pm 1.84*	1.50 \pm 0.56	4.96 \pm 0.97	2.89 \pm 0.56	1.55 \pm 0.68	0.72 \pm 0.42
	1000	24	12.3 \pm 1.83*	7.87 \pm 0.75	15.8 \pm 2.03*	0.93 \pm 0.38	5.91 \pm 1.21	1.73 \pm 0.69	1.19 \pm 0.25	0.85 \pm 0.50
Rat	0	3	7.57 \pm 0.32	3.82 \pm 0.19	0.69 \pm 0.26	1.14 \pm 0.15	7.16 \pm 0.67	1.38 \pm 0.34	0.93 \pm 0.38	0.42 \pm 0.28
	500	3	22.0 \pm 4.07	7.92 \pm 1.43	3.59 \pm 0.27	3.95 \pm 1.14	8.98 \pm 2.10	6.48 \pm 0.59	1.29 \pm 0.43	4.31 \pm 0.86
	1000	3	28.7 \pm 1.55*	5.73 \pm 0.37	2.87 \pm 0.97	1.70 \pm 0.21	7.15 \pm 1.62	6.30 \pm 0.47*	1.78 \pm 0.41	6.74 \pm 0.27*
	0	24	8.33 \pm 0.55	4.18 \pm 0.37	1.03 \pm 0.43	2.37 \pm 0.56	5.45 \pm 0.60	2.06 \pm 0.31	2.40 \pm 0.50	1.19 \pm 0.48
	500	24	9.42 \pm 1.56	3.92 \pm 0.77	1.60 \pm 0.71	1.42 \pm 0.52	7.10 \pm 0.41	2.76 \pm 0.16	0.72 \pm 0.43	2.12 \pm 1.28
	1000	24	10.7 \pm 1.12	4.62 \pm 0.43	5.16 \pm 0.86*	2.89 \pm 0.45	6.27 \pm 0.33	2.19 \pm 1.29	1.55 \pm 0.53	5.32 \pm 0.72*

Appendix 1-1. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	No.	Anima Migration (μm of 50 nuclei)								
				Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow	
Mouse	0	3	1	5.06	7.43	0.00	2.68	3.10	2.06	1.03	2.06	
			2	7.02	7.85	3.61	1.96	5.57	3.72	1.75	1.45	
			3	8.46	7.33	1.24	1.86	4.95	1.55	0.00	3.61	
			4	3.51	2.48	3.82	3.10	6.81	2.17	2.58	0.72	
		Mean	6.01	6.27	2.17	2.40	5.11	2.38	1.34	1.96		
		SEM	1.09	1.27	0.93	0.30	0.77	0.47	0.55	0.61		
		125	3	1	4.75	4.95	1.75	2.58	2.89	0.00	2.68	0.62
	2			5.06	4.75	3.20	1.03	3.20	2.06	2.17	1.03	
	3			6.81	4.65	0.00	0.83	4.75	2.17	2.17	0.00	
	4			5.88	4.95	1.03	2.79	4.44	3.51	1.65	0.93	
		Mean	5.63	4.83	1.50	1.81	3.82	1.94	2.17	0.65		
		SEM	0.46	0.07	0.67	0.51	0.46	0.72	0.21	0.23		
		250	3	1	5.26	3.20	1.96	0.72	3.82	2.17	0.00	0.00
	2			2.37	1.75	1.96	0.83	3.82	1.24	2.17	1.55	
	3			5.47	3.82	2.06	0.72	2.58	0.83	0.62	0.00	
	4			3.72	4.13	3.61	1.34	5.47	1.24	0.00	1.24	
	Mean	4.21	3.23	2.40	0.90	3.92	1.37	0.70	0.70			
	SEM	0.73	0.53	0.40	0.15	0.59	0.28	0.51	0.41			
	500	3	1	6.19	4.65	4.44	1.55	3.92	0.93	1.34	0.00	
2			7.43	7.43	3.72	2.27	3.82	1.24	0.83	1.14		
3			9.70	6.30	7.12	0.83	4.34	1.34	0.00	0.00		
4			8.67	4.95	0.72	2.17	5.06	0.83	0.00	1.24		
	Mean	8.00	5.83	4.00	1.71	4.29	1.09	0.54	0.60			
	SEM	0.76	0.64	1.32	0.33	0.28	0.12	0.33	0.34			
	1000	3	1	20.75	8.46	16.21	1.75	7.74	2.99	3.10	3.82	
2			9.50	6.71	17.45	0.41	7.12	2.58	2.48	0.00		
3			18.27	9.39	12.08	1.55	6.50	4.13	1.03	0.00		
4			9.81	8.05	19.41	2.27	3.51	1.03	2.17	1.34		
	Mean	14.58	8.15	16.29	1.50	6.22	2.68	2.20	1.29			
	SEM	2.89	0.56	1.55	0.39	0.94	0.64	0.43	0.90			
	0	24	1	8.46	7.33	1.24	1.86	4.95	1.55	0.00	3.61	
2			7.54	6.40	1.55	1.24	6.71	2.89	0.00	0.00		
3			3.82	1.06	2.06	1.55	4.13	0.00	2.27	0.00		
4			2.58	4.13	0.00	1.24	5.68	1.03	1.24	1.75		
	Mean	5.60	4.73	1.20	1.47	5.37	1.37	0.88	1.34			
	SEM	1.42	1.40	0.54	0.15	0.55	0.60	0.55	0.86			
	125	24	1	8.88	4.54	1.24	0.52	2.99	3.10	1.55	1.03	
2			3.10	4.75	4.65	3.41	5.88	4.03	1.55	1.55		
3			4.03	3.51	1.14	1.14	5.78	2.37	0.00	0.00		
4			5.47	2.17	1.55	1.75	4.23	2.89	0.72	0.00		
	Mean	5.37	3.74	2.15	1.71	4.72	3.10	0.96	0.65			
	SEM	1.27	0.59	0.84	0.62	0.69	0.35	0.37	0.39			
	250	24	1	5.88	4.13	2.99	5.16	3.51	1.14	2.06	2.06	
2			4.44	5.37	1.55	0.00	4.13	1.24	1.24	0.93		
3			4.95	2.99	3.72	1.24	2.89	3.92	0.00	1.55		
4			4.13	3.82	1.03	1.24	4.75	1.14	1.96	0.00		
	Mean	4.85	4.08	2.32	1.91	3.82	1.86	1.32	1.14			
	SEM	0.38	0.49	0.62	1.12	0.40	0.69	0.47	0.44			
	500	24	1	11.35	6.71	7.54	1.45	7.33	1.34	2.68	0.00	
2			8.57	4.23	2.89	3.10	2.99	4.03	2.68	1.55		
3			9.60	3.41	9.91	0.72	3.82	3.20	0.00	0.00		
4			8.36	3.41	2.27	0.72	5.68	2.99	0.83	1.34		
	Mean	9.47	4.44	5.65	1.50	4.96	2.89	1.55	0.72			
	SEM	0.68	0.78	1.84	0.56	0.97	0.56	0.68	0.42			
	1000	24	1	17.34	7.12	13.33	0.93	3.61	1.24	0.93	0.00	
2			12.49	7.02	14.25	0.00	4.03	2.79	0.72	1.86		
3			10.74	10.12	13.83	0.93	7.74	0.00	1.24	0.00		
4			8.77	7.23	21.88	1.86	8.26	2.89	1.86	1.55		
	Mean	12.3	7.87	15.82	0.93	5.91	1.73	1.19	0.85			
	SEM	1.83	0.75	2.03	0.38	1.21	0.69	0.25	0.50			

Appendix 1-2. Migration of nuclear DNA from organs of rodents treated with Kojic acid by single gavage dosing.

Species	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Animals No.	Migration (μm of 50 nuclei)							
				Stomach	Colon	Liver	Kidney	Bladder	Lung	Brain	Bone marrow
Rat	0	3	1	7.54	3.92	0.83	1.24	5.47	2.27	1.86	0.52
			2	8.36	3.30	1.24	1.45	8.77	1.24	0.93	0.00
			3	6.81	4.23	0.00	0.72	7.23	0.62	0.00	0.00
			4	7.57	3.82	0.69	1.14	7.16	1.38	0.93	1.17
			Mean	7.57	3.82	0.69	1.14	7.16	1.38	0.93	0.42
	SEM	0.32	0.19	0.26	0.15	0.67	0.34	0.38	0.28		
	500	3	1	28.70	7.64	3.30	3.92	9.39	6.71	1.55	3.51
			2	15.79	4.85	3.92	7.12	9.50	7.12	0.00	5.06
			3	29.32	7.43	2.99	1.86	13.63	4.75	1.86	2.37
			4	14.14	11.77	4.13	2.89	3.41	7.33	1.75	6.30
			Mean	21.99	7.92	3.59	3.95	8.98	6.48	1.29	4.31
	SEM	4.07	1.43	0.27	1.14	2.10	0.59	0.43	0.86		
	1000	3	1	24.57	5.88	2.17	1.34	10.94	7.12	1.24	7.33
			2	30.86	5.06	4.95	1.96	3.72	5.06	2.27	7.02
			3	27.97	6.71	3.82	1.34	8.57	6.92	2.68	6.50
			4	31.28	5.26	0.52	2.17	5.37	6.09	0.93	6.09
			Mean	28.67	5.73	2.87	1.70	7.15	6.30	1.78	6.74
	SEM	1.55	0.37	0.97	0.21	1.62	0.47	0.41	0.27		
	0	24	1	7.84	4.34	2.06	1.65	4.95	1.96	2.06	0.93
			2	9.91	3.51	1.24	3.61	7.23	1.24	1.24	2.27
3			7.43	3.72	0.00	1.24	4.65	2.37	2.68	0.00	
4			8.15	5.16	0.83	2.99	4.95	2.68	3.61	1.55	
Mean			8.33	4.18	1.03	2.37	5.45	2.06	2.40	1.19	
SEM	0.55	0.37	0.43	0.56	0.60	0.31	0.50	0.48			
500	24	1	6.09	2.17	0.00	1.65	7.85	3.10	1.24	0.52	
		2	13.63	5.26	3.20	0.72	6.50	2.48	0.00	2.27	
		3	9.08	3.10	0.93	0.52	6.30	2.99	1.65	0.00	
		4	8.88	5.16	2.27	2.79	7.74	2.48	0.00	5.68	
		Mean	9.42	3.92	1.60	1.42	7.10	2.76	0.72	2.12	
SEM	1.56	0.77	0.71	0.52	0.41	0.16	0.43	1.28			
1000	24	1	13.11	4.44	7.33	2.48	6.81	3.82	1.75	4.65	
		2	12.08	3.61	3.10	4.13	6.19	0.00	2.27	6.40	
		3	9.19	4.75	5.16	2.06	6.71	4.95	0.00	3.61	
		4	8.46	5.68	5.06	2.89	5.37	0.00	2.17	6.61	
		Mean	10.71	4.62	5.16	2.89	6.27	2.19	1.55	5.32	
SEM	1.12	0.43	0.86	0.45	0.33	1.29	0.53	0.72			