

内閣府食品安全委員会事務局  
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された  
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る  
食品健康影響評価に関する調査報告書

ブチルヒドロキシアニソール

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー



## はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、ブチルヒドロキシアニソールについて、FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)と国際がん研究機構(以下「IARC」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクノロジーサーチ



## 目 次

### ブチルヒドロキシアニソール

1. 調査の目的 .....	5
2. 作業の概要 .....	5
2.1. 調査対象物質 .....	5
2.2. 評価書の翻訳 .....	7
2.2.1. 評価書 .....	7
2.3. 翻訳の整理 .....	7
3. 評価書訳 .....	7
3.1 JECFA(1973年) .....	9
3.2 JECFA(1976年) .....	21
3.3 JECFA(1980年) .....	39
3.4 JECFA(1983年) .....	57
3.5 JECFA(1986年) .....	71
3.6 JECFA(1988年) .....	95
3.7 JECFA(1999年) .....	113
3.8 IARC(1986年) .....	133



# 海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

## ブチルヒドロキシアニソール

### 1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成 15 年法律第 55 号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成 18 年 5 月 29 日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758 物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

### 2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

#### 2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちブチルヒドロキシアニソール(の調査について報告した)。

**表 1 調査対象の農薬等**

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストロール (DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質

番号	物質名	主な用途
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メトロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

## 2.2. 評価書の翻訳

### 2.2.1. 評価書

ブチルヒドロキシアニソールに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JECFA と IARC における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JECFA	1973	FAS 5/NMRS 53A-JECFA 17/148, 1973
JECFA	1976	FAS 10-JECFA 20/6, 1976
JECFA	1980	FAS 15-JECFA 24/87, 1980
JECFA	1983	FAS 18-JECFA 27/41, 1983
JECFA	1986	FAS 21-JECFA 30/3, 1986
JECFA	1988	FAS 24-JECFA 33/3, 1988
JECFA	1999	FAS 42, 1999
IARC	1986	BUTYLATED HYDROXYANISOLE (BHA), Summaries & Evaluations, vol. 40, 1986

### 2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- JMPR の評価書について、評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- JMPR 及び EFSA の評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

## 3. 評価書和解

以下に評価書の指定箇所の全和訳を、評価書ごとに掲載した。



## ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理

JECFA: 1974

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je22.htm>



ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA(1974) 目次

説明 (原文 p.1).....	13
生物学的データ (原文 p.1).....	13
生化学的側面 (原文 p.1).....	13
毒性学研究 (原文 p.2).....	14
肝臓酵素の作用についての特殊試験 (原文 p.2).....	14
脂質代謝に対する影響についての特殊試験 (原文 p.2).....	14
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.2).....	15
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.2).....	15
ブラジキニンの作用についての特殊試験 (原文 p.3).....	15
急性毒性 (原文 p.3).....	15
短期試験 (原文 p.3).....	15
ラット (原文 p.3).....	15
ウサギ (原文 p.3).....	16
イヌ (原文 p.4).....	31
長期試験 (原文 p.4).....	16
ラット (原文 p.4).....	16
イヌ (原文 p.4).....	17
ヒトでの所見 (原文 p.5).....	17
コメント: (原文 p.5).....	17
評価 (原文 p.5).....	18

## 原文 目次

原文ページ

ブチルヒドロキシアニソール	1
説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
毒性試験	2
肝臓酵素に及ぼす影響に関する特殊試験	2
脂質代謝に及ぼす影響に関する特殊試験	2
催奇形性に関する特殊試験	3
発がん性に関する特殊試験	3
ブラジキニン作用に関する特殊試験	3
急性毒性	3
短期試験	3
長期試験	4
ヒトでの所見	5
コメント	5
評価	5
引用文献	6
BUTYLATED HYDROXYANISOL	1
Explanation	1
BIOLOGICAL DATA	1
BIOCHEMICAL ASPECTS	1
TOXICOLOGICAL STUDIES	2
Special studies on the effect on liver enzymes	2
Special studies on the effect on lipid metabolism	2
Special studies on teratogenicity	3
Special studies on carcinogenicity	3
Special studies on the action of bradykinin	3
Acute toxicity	3
Short-term studies	3
Long-term studies	4
OBSERVATIONS IN MAN	5
Comments	5
EVALUATION	5
REFERENCES	6

## 固結防止剤、抗菌性物質、酸化防止剤、乳化剤及び増粘剤を含む一部食品添加物の毒性評価

### 世界保健機関(WHO)食品添加物シリーズ:5

この出版物に含まれる評価は、1973年6月25日～7月4日<sup>1)</sup>に、ジュネーブで開催されたFAO/WHO合同食品添加物専門委員会によって作成された。

世界保健機関

ジュネーブ

1974年

1) FAO/WHO合同食品添加物専門委員会の第17報:

Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., (WHO 技術報告シリーズ) 1974年、No. 539

FAO栄養会議報告シリーズ 1974年、No.53

### ブチルヒドロキシアニソール

#### 説明 (原文 p.1)

ブチルヒドロキシアニソールは、1961年のFAO/WHO合同食品添加物専門委員会により、一日摂取許容量について評価された(Annex 1、引用文献No. 6参照のこと)

過去の評価以降、追加データが利用可能になり、そして以下の論文で要約され、議論される。既刊の論文は拡充されており、以下にそのまま再現されている。

#### 生物学的データ (原文 p.1)

#### 生化学的側面 (原文 p.1)

BHAは消化管から吸収され、そしてヒトの消費(米国では、200 mg/kgの脂肪)のための脂肪中で一般に許容された値の100-500倍量の摂取は、蓄積脂肪の沈着を引き起こし、また、それによって、安定性が増したというある証拠があった(Johnson et al., 1958)。しかしながら、他の組織における累積の証拠は全くなかった(Astill et al., 1960、Bunnell et al., 1955、Hodge et al., 1964)。ウサギでは、BHAは、グルクロン酸又は硫酸と主に抱合された(Dacre et al., 1956)が、少量のBHAは、そのまま尿中に排泄された。

ラットでは、その2-tert-butyl異性体は、グルクロニドとして主に排泄され、一方、3-tert-butyl異性体はエーテル硫酸として主に排泄された(Astill et al., 1960)。このように、これらの動物は効果的にBHAを無毒化した。前記した変化は肝臓で生じた。BHAが動物生体内で、なんらかの有害な生化学的あるいは代謝作用をもたら

すことを示唆する証拠は全く見つかっていない(Dacre, 1960)。

イヌは、350 mg/kg(\*)の単回投与で、その60%を3日以内に、未変化のまま糞中排泄した。残りは、BHA、tert-ブチルヒドロキノン、及びある同定不明フェノールの硫酸抱合体として、主に尿中に排泄された。投与量のわずか5.5%のみが、グルクロニドとして尿中に排泄された(Astill et al., 1962)。トリチウム標識BHAの単回投与で、腹腔内注射されたラットでは、放射能活性の約90%が、4日以内に尿中から回収された(Golder et al., 1962)。(\*) 350 mg/kg → 350 mg/kg b.w.(体重)と思われる

0.1%BHA添加飼料を4ヶ月間与えられた豚及び0.1%BHA添加飼料を8週間与えられた若雌鳥では、筋肉、肝臓、腎臓又は貯蔵脂肪におけるBHAの蓄積はみられなかった(Francois & Pihet, 1960)。

## 毒性試験 (原文 p.2)

### 肝臓酵素に及ぼす影響に関する特殊試験 (原文 p.2)

500 mg/kg 体重/日(毎日7日間投与)のBHAを投与されたラットでは、肝臓グルコース-6-ホスファターゼ活性に、全く変化がなかった(Feuer et al., 1965)。100 mg/kg(\*)以上(毎日7日間投与)のBHAを投与した場合には、雄ラットの肝臓重量増加を引き起こしたが、雌ラットでは、200 mg/kg体重(毎日7日間投与)以上の投与量でのみ、増加した。肝臓重量は、その飼料からBHAを取り除いた14日以内に、対照群と同等になった。脂肪の変化は、全く認められなかった(Feuer, et al., 1965)。BHA(500 mg/kg体重/日)を2日間与えられたラットでは、マイクロソームプロセッシング酵素(アミノピリン脱メチル化酵素)(amino pyrrine(\*) demethylase)、ヘキサバルピチン(hexabarbitine)(\*)酸化酵素及びビトロアニソール脱メチル化酵素活性増はみられなかった(Gilbert & Golberg, 1965)。0.1、0.25、0.5%のBHAを添加した飼料を12日間与えられたラットの別の試験では、肝臓重量の増加はみられなかったが、0.5%群で、肝臓ビフェニル-4-ヒドロキシラーゼ活性の増大があった(Creaven et al., 1966)。

(\*) 100 mg/kg → 100 mg/kgb.w.(体重) (\*) amino pyrrine → aminopyrrineと思われる

(\*) hexabarbitine → hexabarbitone(ヘキサバルピトン)と思われる

### 脂質代謝に及ぼす影響に関する特殊試験 (原文 p.2)

20%のラードを添加され、そして、0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%のBHAを含む飼料を6週間ラットに投与し、飼育した。BHAは、0.1%濃度で血清総コレステロールの上昇を引き起こしたが、これ以上の濃度では、更なる上昇は起きなかった。相対的に大きな増加が、エステル型コレステロール値よりも血清フリーコレステロール値にあった。BHAは、全てのレベルで雄の副腎膨大を起こしたが、組織学的変化は認められなかった。より高い飼料中のBHAレベルでの肝臓重量の増加は、肝臓の絶対脂質含量の増加をともなった。しかしながら、BHAは、総コレステロールとエステル型コレステロールの肝臓中濃度、あるいは高度不飽和脂肪酸組成に、全く影響しなかった(Johnson & Hewgill, 1961)。

### 催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.3)

様々な系統のラットあるいはマウス群は、3種類の試験法(regimes)のうちの一つに従ってBHAを与えられた。即ち、①妊娠18日まで続いたペアリング前の7週間毎日投与、②妊娠1~20日まで毎日投与、③妊娠9、11、13日目に単回投与である。投与量は、250~1,000 mg/kg体重の範囲であった。これらの条件下で、死亡率は25%であったが、7週間と同じ期間を投与された300~500 mg/kg体重と同じ投与量では、催奇形性作用は全く観察されなかった。より高い投与量(750 mg/kg(\*))では、死亡率が75%だった(Clegg, 1965)。飼料添加で、総BHAとして0.5 gを与えられた妊娠ラットは、対照群よりも少ない再吸収(resorptions)を示した(Telford et al., 1962)。 (\* ) 750 mg/kg → 750 mg/kg体重

### 発がん性に関する特殊試験 (原文 p.3)

100匹/群のマウス(性によって均等配分した)に、トリオクタノイン(trioctanoin)中のBHA(10 mg/匹)を単回で皮下注射し、575日間、観察した。別の群には、アセトン中0.1 mgあるいは10 mgのBHAを、1週間毎に309~459日間、皮膚に塗り与えた。試験マウス皮膚の顕微鏡検査は、腫瘍の証拠を全く示さなかった(Hodge et al., 1966)。

2~6週間、一日一回、モルモットの耳にラノリン中BHAを塗布したが、皮相結合組織(superficial connective tissue)の破壊及びコラーゲンの断片化(fragmentation)を伴った基底細胞突起(basal cell pseudopods)の微小浸潤(microinvasion)を引き起こした。BHA単独では、これらの変化をもたらさなかった(Riley & Seal, 1968)。

### ブラジキニン作用に関する特殊試験 (原文 p.3)

$8 \times 10^{-10}$  mol/Lと同程度の低濃度BHAは、ブラジキニンによって引き起こされるモルモットの平滑筋収縮を阻害する(Posati & Pallanich, 1970)。

### 急性毒性 (原文 p.3)

動物	ルート	LD50 (mg/kg体重)	引用文献
マウス	経口	2,000	Bunnell et al., 1955, Lehman et al., 1951
ラット	経口	2,200~5,000	Bunnell et al., 1955, Lehman et al., 1951

### 短期試験 (原文 p.3)

#### ラット (原文 p.3)

ウサギに対する以下に記載するようなカリウム排泄に及ぼす作用は、ラットでは全く認められなかった(Dacre, 1960)。

7匹/群の離乳直後のラットが、6ヶ月間、BHAを0、0.5、1、2及び3%を含んだ飼料で飼育された。3%濃度でのラットは、体重が増加するほど十分に採食しなかったため、暫くの間、2%濃度飼料で飼育し、その後、3%濃度飼料に戻した。2%濃度でさえ、採食量は十分ではなかった。病理組織学的検査では、BHAに起因する病理学的変化は、明示されなかった(Wilder & Kraybill, 1948)。

26匹/群のラットに、32週間、パンの通常使用レベルの50倍の濃度で、BHAと二酸化塩素、プロピオン酸ナトリウム、没食子酸プロピル、あるいはポリオキシエチレン-8-ステアレートのような、他の食品添加物とを組み合わせたパンを与えた試験では、全く悪影響を及ぼさなかった。この処理されたパンは、動物飼料の75%を占めていた。BHAの摂取量は、3.3-7.0 mg/kg体重/日であった(Graham et al., 1954, Graham & Grice, 1955)。

0又は500-600 mg/kg体重(半数致死量(LD50)の1/5)相当量のBHA含有飼料で、10週間、ラットが飼育された。試験動物は、成長率の減少と血中酵素、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ及びコリンエステラーゼ活性低下を示した。試験動物の肝臓の化学分析では、対照群と比較して、リン脂質量が減少したが、脂質蓄積は全くなかった。組織及び臓器の組織学的検査は、被験物質による影響を全く示さなかった(Karplyuk, 1962)。

#### ウサギ (原文 p.4)

胃チューブによって5~6日間、1 g/日、投与されたウサギでは、ナトリウムで10倍及びカリウムで20%の尿中排泄増を引き起こした。細胞外液容積は低下し、そしてこれは、血漿ナトリウム濃度の何らかの明確な変化を防止した。処理後5日目に、血清カリウムが低下し、カリウムは筋肉細胞内ナトリウムによって置換された。心筋では、その変化は骨格筋より遅くに起こり、また、不明瞭でもあった。抗酸化剤は、腎臓に直接影響する可能性がある。例えば、副腎皮質は球状帯(zona glomerulosa)での変化を示し、ナトリウム及びカリウムの減少と関連するアルドステロンの尿中排泄増があった(Denz & Llaurodo, 1957)。

#### イヌ(原文 p.4)

BHAが、0、0.3、30及び100 mg/kg体重で1年間、イヌに給与された時、病的作用は、全く観察されなかった。腎機能や血液学的検査及び主たる組織の病理組織学的検査では正常であった。臓器重量は正常値の範囲内にあり、BHAの明白な蓄積は全くなかった。100 mg/kg体重のBHAを投与した場合でさえも、尿中には、減少物の明白な増加は含まれなかった。これらの実験の投与量毎に、3頭/群のイヌが供試された(Hodge et al., 1964)。

#### 長期試験 (原文 p.4)

#### ラット (原文 p.4)

離乳したばかりのラットの一群15匹以上にラード中の0、0.05、0.5及び1%のBHA (全飼料の0、0.003、0.03及び0.06%)を22か月間混餌投与した。全投与群において体重増加が比較可能であった。生殖は正常であり、同じ混餌投与した若いラットは正常に成長した。同腹児数、体重、体重増加及び死亡率は、前投与群において比較可能であった。試験1年後、コロニーは感染性呼吸疾患を患い、多くが死亡した。群中の死亡率に有意な

差はなかった。残りの動物は22か月後にと殺した。病理組織検査では、酸化防止剤に起因する変化は示されなかった(Wilder & Kraybill, 1948年)。

2%BHAをラード中に含む飼料(全飼料の0.12%)を投与した追加投与群に、同様の一連の試験を行った。一群17匹のラットを設定した。生存ラットは21か月後にと殺した。組織病理学検査では、対象群と比較して有意な差は示されなかった。生育期中の体重増加の割合は無変化であり、すべてのラットはあらゆる点から正常と思われた(Wilder & Kraybill, 1948)。

一群40匹のラットに2年間混餌投与試験で、高用量のBHA(飼料の0.5%)を用いたいくつかの例では、成熟時体重のわずかな減少及び相対的な肝重量の増加がみられた。しかし、次のいずれにも影響はみられなかった:生殖周期、脾臓、腎臓、肝臓又は皮膚の組織構造;全体重に対する心臓、脾臓又は腎臓の重量比率;死亡率。BHAの毒性は、脂肪摂取(dietary fat load)による影響を受けなかった(Brown et al., 1959)。

ラットに、0及び500-600 mg/kg 体重 BHA(半数致死量(LD<sub>50</sub>)の1/5)相当量を1年間混餌投与して飼育した。この試験中、ラットを連続3世代繁殖させた。2世代に6か月間混餌投与した。BHAは、同腹児数、出生時体重、門歯出現日及び眼瞼開裂を測定した限りでは、生殖能に影響を及ぼさなかった。試験終了後の親動物及び児動物の組織及び臓器の剖検及び組織学的検査では、化合物に関連する影響は全く示されなかった(Karplyuk, 1962)。

#### イヌ(原文 p.5)

4頭/群の離乳子イヌに、15ヶ月間、0、5、50及び250 mg/kg BHAを投与した。血液学的パラメータと同じく、イヌの健康状態及び体重増加は、正常範囲にあった。試験群の尿には、対照群より無機硫酸と全硫酸塩とのより高い比率とグルクロン酸塩が含まれていた。剖検時の組織や器官の顕微鏡検査では、試験中の最高用量群の動物の3/4が肝細胞変性(liver cell degeneration)と糜慢性顆粒球状浸潤(diffuse granulocytic infiltration)を有したことが示された。これらの動物の肝臓の小葉構造は正常であり、過度の結合組織の増殖はなかった(Wilder et al., 1960)。

#### ヒトでの所見 (原文 p.5)

ヒトボランティアに、0.5-0.7 mg/kg体重のBHAを投与した。24時間中に、その22~77%がグルクロニドとして尿中に排泄された。その1%以下が未変化BHAとして尿中に排泄され、脱アルキル化物又は水酸化物は全く検出されなかった(Astill et al., 1962)。別の試験では、ヒトボランティアに14C-標識BHA(約0.5 mg/kg体重)を単回投与した。放射能活性の60~70%が2日以内に尿中排泄され、また、投与後11日までに、その放射能活性の80~86.5%が尿中から回収された(Daniel et al., 1967)。

#### コメント (原文 p.6)

ヒトでの利用可能な代謝データは、吸収されたBHAが速やかに尿中排泄され、恐らく、体内には蓄積しないことを示している。ラット飼育試験で観察された肝重量の増加は、一過性の影響であり、他の影響は全く観察されていなかったため、これを有害な影響として考えるべきではない。ラットの脂質代謝に及ぼすBHAの影響の意義は知られていないが、ラットに何らかの有害影響を及ぼさずに、BHAを0.5%まで含む飼料で飼育できることを示している十分な長期飼育試験がある。イヌのBHA代謝は、ヒトの代謝と明らかに異なるので、イヌの試験結果は、評価に際しては、限定的価値となる。

## 評価（原文 p.6）

### 毒性作用を生じないレベル

ラット： 飼料中、5,000 ppm(0.5%)、250 mg/kg体重相当

### ヒトに対する一日摂取許容量の推定

0-0.5\* mg/kg 体重\*\*

追加研究又は情報

1976年までに、必要とされた事項

BHA, BHT及び没食子酸プロピルの混合物及びBHA単独の繁殖に及ぼす影響に関する試験

\* BNA(\*), BHT又は両方の合計として      (\*) BNA → BHAと思われる

\*\* 暫定的である

引用文献 …… 以下、省略

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1974)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性(経口)	ラット、マウス		原文 p.3、和文 p.13 参照のこと
6ヶ月間短期試験(飼料添加)	ラット (離乳直後)	0、0.5、1、2、3% (飼料中濃度)	3%群:飼料摂取量少なく、発育不良。 病理組織学的検査で、著変なし
32週間短期試験	ラット	パンの通常使用レベルの50倍 (3.3~7.0 mg/kg 体重/日)	他の食品添加物と組み合わせて添加したパンの給与で、 著変なし
10週間短期試験(飼料添加)	ラット	500-600 mg/kg 体重 (LD50の1/5相当)	成長率減、血中酵素、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、コリンエステラーゼ活性低下、肝臓リン脂質量減 臓組織の組織学的検査で著変なし
5~6日間の短期試験(胃チューブによる投与)	ウサギ	1 g/日	ナトリウム:10倍、カリウム:20%の尿中排泄量増、細胞外液容積の低下、処理後5日目に血清カリウム低下、副腎皮質の球状帯での変化、アルドステロン尿中排泄量増
1年間の短期試験(飼料添加?)	イヌ	0、0.3、30、100 mg/kg 体重	著変なし
22ヶ月の長期試験(飼料添加)	ラット	飼料中、0、0.003、 0.03、0.06%(追加 試験:0.12%)	著変なし
2年間の長期試験(飼料添加)	ラット	飼料中最高添加濃度: 0.5%	成熟体重の若干の減、相対的肝重量増、その他、著変なし(BHA毒性は食事性脂肪負荷による影響なし)
1年間の長期試験(飼料添加)	ラット	500-600 mg/kg 体重 (LD50の1/5相当)	3世代連続試験であったが、生殖能に著変なし、親、子供の臓組織の剖検、組織学的検査でも著変なし
15ヶ月間の長期試験(投与経路不明)	イヌ	0、5、50、250 mg/kg 体重	試験群の尿中の無機硫酸と全硫酸塩の比率高並びにグルクロン酸塩多 250 mg群:供試ラットの3/4が肝細胞変性、糜慢性顆粒球状浸潤を有するも、肝小葉構造は正常
575日間の発がん性試験(単回皮下注射)	マウス	10 mg/匹	著変なし
309~459日間の発がん性試験	マウス	0.1、10 mg(アセトン中)	試験群皮膚の鏡検で腫瘍の証拠なし

(皮膚への塗布 /1回/週)			
2~6週間の発がん性試験(耳に塗布/1回/日)	モルモット	記載なし	ラノリン中 BHA の塗布で、皮相結合組織の破壊、コラーゲンの断片化による基底細胞突起の微小浸潤あるも、BHA 単独塗布では、著変なし
2世代繁殖			上記試験(1年間の長期試験)参照のこと
催奇形性 ①妊娠 18 日までのペアリング前、7 週間、毎日投与 ②妊娠 1~20 日、毎日投与 ③妊娠 9、11、13 日目に単回投与	ラット、マウス	250~1,000 mg/kg 体重の範囲	750 mg 群の死亡率は 75% 催奇形性なし
催奇形性(飼料添加)	ラット	0.5 g(以下、不明)	対照群よりも少ない再吸収を示す
変異原性			当該試験なし
刺激性、感作性試験			当該試験なし(上記発がん性試験参照)
その他			
非毒性作用レベル	ラット		飼料中、5,000 ppm(0.5%)、250 mg/kg 体重相当
ADI	ヒト		0-0.5 mg/kg 体重(暫定推定量)

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量
ADI	Acceptable daily intake	一日摂取許容量
BHA	Butylated hydroxyanisole	ブチルヒドロキシアニソール
BHT	Butylated hydroxytoluene	ブチルヒドロキシトルエン

## ブチルヒドロキシアニソール 評価書訳と情報整理

JECFA: 1976

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v10je02.htm>



ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1976) 目次

説明 (原文 p.1) .....	26
生物学的データ (原文 p.1) .....	26
生化学的側面 (原文 p.1) .....	26
吸収、分布及び排泄 (原文 p.1) .....	26
酵素及び他の生化学的パラメーターに及ぼす影響 (原文 p.2) .....	27
毒性試験 (原文 p.3) .....	28
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.3) .....	28
変異原性に関する特殊試験 (原文 p.4) .....	28
(a) 細胞遺伝 (原文 p.4) .....	29
(b) 宿主経路試験 (原文 p.4) .....	29
(c) 優性致死試験 (原文 p.4) .....	29
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.5) .....	29
その他の特殊試験 (原文 p.5) .....	30
急性毒性 (原文 p.4) .....	30
短期試験 (原文 p.5) .....	30
ラット (原文 p.5) .....	30
ウサギ (原文 p.6) .....	31
イヌ (原文 p.6) .....	31
サル (原文 p.7) .....	32
長期試験 (原文 p.7) .....	32
ラット (原文 p.7) .....	32
ヒトでの所見 (原文 p.8) .....	33
コメント (原文 p.8) .....	33
評価 (原文 p.9) .....	33
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1976) .....	35
略称 .....	38

## 原文 目次

原文ページ

ブチルヒドロキシアニソール	1
説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
吸収、分布及び排泄	1
酵素と他の生化学パラメーターに及ぼす影響	2
毒性試験	3
発がん性に関する特殊試験	3
変異原性に関する特殊試験	4
(a)細胞遺伝	4
(b)宿主経路試験	4
(c)優性致死試験	4
催奇形性に関する試験	5
他の特殊試験	5
急性毒性	5
短期試験	5
長期試験	7
ヒトでの所見	8
コメント	8
評価	9
毒性作用を生じないレベル	9
ヒトに対する一日摂取許容量の推定	9
追加試験あるいは情報	9
引用文献	9
BUTYLATED HYDROXYANISOLE	1
Explanation	1
BIOLOGICAL DATA	1
BIOCHEMICAL ASPECTS	1
Absorption, distribution and excretion	1
Effects on enzymes and other biochemical parameters	2
TOXICOLOGICAL STUDIES	3
Special studies on carcinogenicity	3

Special studies on mutagenicity .....	4
(a) Cytogenetics .....	4
(b) Host-mediated assay .....	4
(c) Dominant lethal test .....	4
Special studies on teratogenicity .....	5
Other special studies .....	5
Acute toxicity .....	5
Short-term studies .....	5
Long-term studies .....	7
OBSERVATIONS IN MAN .....	8
Comments .....	8
EVALUATION .....	9
Level causing no toxicological effect .....	9
Estimate of acceptable daily intake for man .....	9
FURTHER WORK OR INFORMATION .....	9
REFERENCES .....	9

## 特定食品添加物の毒性評価（原文 p.1）

### 世界保健機関(WHO)食品添加物シリーズ10

この書面に含まれる評価は、1976年4月21日～29日に、ローマで開催されたFAO/WHO合同食品添加物専門委員会によって作成された\*。

国際連合食糧農業機関

世界保健機関

\*FAO/WHO合同食品添加物専門委員会の第20報、ジュネーブ、1976年  
WHO技術報告シリーズ、No.599  
FAO食物及び栄養シリーズ、No.1

ブチルヒドロキシアニソール

## 説明（原文 p.1）

ブチルヒドロキシアニソールは、1961年と1973年のFAO/WHO合同食品添加物専門委員会により、ヒトに対する一日摂取許容量が評価された(Annex 1、引用文献 No.6の p.41、No. 33の p.148参照のこと)。

過去の評価以降、追加データは利用可能になり、以下の論文中で要約され、議論されている。既刊の論文は、拡充されており、以下にそのまま再生している。

## 生物学的データ（原文 p.1）

### 生化学的側面（原文 p.1）

### 吸収、分布及び排泄（原文 p.1）

ブチルヒドロキシアニソール(BHT)\*は胃腸管から吸収され、ヒトの消費(米国では、200 mg/kgの脂肪)に関して脂肪として一般に許容されている値の100～500倍量を摂取した場合、蓄積脂肪の沈着を引き起こし、また、それにより安定性が増加するという証拠があった(Johnson et al., 1958)。しかしながら、他の組織における蓄積についての証拠は全くなかった(Astill et al., 1960、Bunnell et al., 1955、Hodge et al., 1964)。ウサギでは、BHAは、主にグルクロン酸又は硫酸と抱合された(Dacre et al., 1956)が、少量のBHAはそのまま尿中に排泄された。

\* 原文BHT は、BHAの間違いとして訳した。

ラットでは、その2-tert-butyl異性体は主にグルクロニドとして排泄される、一方、3-tert-butyl異性体はエーテル硫酸として主に排泄された(Astill et al., 1960)。このように、これらの動物は効果的にBHAを無毒化した。前記した変化は肝臓で生じた。BHAが動物生体内で、何らかの有害な生化学的あるいは代謝作用をもたらすことを示唆する証拠は全く見つかっていない(Dacre, 1960)。

イスへの350 mg/kgの単回投与では、その60%が未変化体のまま3日以内に糞中に排泄された。残りは、BHA、tert-ブチルヒドロキノン、及びある未同定フェノールの硫酸抱合体として、主に尿中に排泄された。投与のわずか5.5%のみが、グルクロニドとして尿中に排泄された(Astill et al., 1962)。トリチウム標識BHAの単回投与で、腹腔内投与したラットでは、放射能の約90%が、4日以内に尿中から回収された(Golder et al., 1962)。0.1%BHA添加飼料を4ヶ月間混餌投与した豚及び0.1%BHA添加飼料を8週間混餌投与した若雌鳥では、筋肉、肝臓、腎臓又は貯蔵脂肪中にBHAの蓄積はみられなかった(Francois & Pihet, 1960)。

### 酵素及び他の生化学的パラメーターに及ぼす影響 (原文 p.2)

500 mg/kg 体重/日(毎日7日間投与)のBHAを投与したラットでは、肝グルコース-6-ホスファターゼ活性に、全く変化がなかった。BHAの 100 mg/kg以上(毎日7日間投与)投与群では、雄ラットの肝重量増加が引き起こされたが、雌ラットでは、200 mg/kg体重(毎日7日間投与)以上投与群でのみ増加した。肝重量は、BHAを除いた飼料を投与した対照群と、14日以内に同等になった。脂肪変化は、全く認められなかった(Feuer, et al., 1965a)。BHA(500 mg/kg体重/日)を2日間与えられたラットでは、ミクロソームプロセッシング酵素(アミノピリン脱メチル化酵素)、ヘキサバルピチン(hexabarbitine)\*酸化酵素及びニトロアニソール脱メチル化酵素活性増はみられなかった(Gilbert & Golberg, 1965)。0.1、0.25、0.5%のBHAを添加した飼料を12日間投与したラットの別の試験では、肝重量の増加はみられなかったが、0.5%投与群で、肝ピフェニル-4-ヒドロキシラーゼ活性の増大がみられた(Creaven et al., 1966)。

\*hexabarbitine → hexabarbitoneと思われる

雄雌同数の一群8匹のラット(SPF Carworth系)に、落花生油に溶解したBHAを、毎日、1週間、挿管(intubation)を使って強制経口投与した。BHA投与量は0、50、100、200あるいは500 mg/kg体重相当であった。BHAは動物の成長に影響しなかった。最終投与の24時間後に動物はと殺され、肝臓標本を使って、グルコース-6-ホスファターゼ、グルコース-6-リン酸脱水素酵素、ヘキサバルピトン(hexabarbitone)酸化酵素、ニトロアニソール脱メチル化酵素及びアミノピリン脱メチル化酵素活性を測定した。その結果、BHAはこれらの酵素活性に全く影響しなかった。組織化学的検査は、BHAが肝臓中の脂肪の変化を引き起こさなかったことを示した(Feuer et al., 1965b)。

雄雌別にした、1ヶ月令の乳児あるいは性的に未成熟な若令のアカゲザル(macaca mulatta) の一群2~3頭に、4週間、500 mg/kg体重のBHAを投与した。別の若令群には、4週間、50 mg/kg体重のBHAを投与した。対照群には、同容量のコーン油を投与した。この試験の3週目に、高投与群で血清コレステロールが上昇したが4週目には正常化したことを除いて、尿と血液分析結果は正常であった。全ての試験動物の肝臓は膨大したが、他の器官では、病理学的変化は示されなかった。高用量群の幼児と年若令サルは、超微細構造的に肝臓

の滑面小胞体(hepatic smooth endoplasmic reticulum)の明白な増殖を示した。BHA(500 mg/kg)を与えた幼児と若令群は、コーン油を与えられた対照群よりも肝脂質値が低かった。BHA投与の若令群は、ニトロ・アニソール脱メチル化酵素活性増及びグルコース-6-ホスファターゼ活性減を示したが、投与幼児群では、全く影響されなかった(Allen & Engblom, 1972)。DNA、RNA及びチトクロームP450レベルでは、何の変化も観察されなかった。

これらのサルは肝臓と血漿を用いて、追加的の生化学試験を行った。BHA投与群は対照群に比べ、高い血漿中性脂肪値を示した。試験群で肝臓のコレステロールリン脂質比率が低いことと同様に、肝臓コレステロール値の有意な減少がみられた。BHA投与群では、肝臓コハク酸脱水素酵素も低かった(Branen et al., 1973)。

肝ミクロソーム標本は、0及び0.5%BHA飼料を14日間混餌投与した雌マウス(A/HcJ系)から作製された。その標本のアリル炭化水素ヒドロキシラーゼ(AHH)活性は類似していた。しかしながら、BHA給与群マウスからのミクロソーム標本は、アルファ-ナフタフルオリン(alpha-naphthafluorine)による*in vitro* AHH活性阻害にたいして、より大きな感度を示し、対照群マウスの標本と比べて体重当りのチトクロームP450の増加を持続した(Speier & Wattenberg, 1975)。

ラットに、20%ラード及び、0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%のBHAを含む飼料を6週間投与し、飼育した。BHAは、0.1%濃度で血清総コレステロールの上昇を引き起こしたが、それ以上の濃度では、更なる上昇は起きなかった。相対的に大きな増加が、エステル型コレステロール値よりも血清フリーコレステロール値にみられた。BHAは、全投与群で雄の副腎膨大を起こしたが、組織学的変化は認められなかった。より高いBHA混餌投与群での肝重量の増加は、肝臓の絶対脂質含量の増加をともなった。しかしながら、BHAは、総コレステロール及びコレステロールエステルの肝臓中濃度、あるいは高度不飽和脂肪酸組成に全く影響しなかった(Johnson & Hewgill, 1961)。

### 毒性試験 (原文 p.3)

#### 発がん性に関する特殊試験 (原文 p.3)

一群100匹のマウス(性によって均等配分した)に、トリオクタノイン(trioctanoin)中のBHA(10 mg/匹)を単回皮下注射し、575日間観察した。別の群には、アセトン中0.1 mgあるいは10 mgのBHAを、1週間毎に309～459日間、皮膚に塗り投与した。試験マウス皮膚の顕微鏡検査は、腫瘍の証拠を全く示さなかった(Hodge et al., 1966)。

2～6週間、一日一回、モルモットの耳にラノリン中のBHAを塗布したが、皮相結合組織(superficial connective tissue)の破壊及びコラーゲンの断片化(fragmentation)を伴った基底細胞突起(basal cell pseudopods)の微小浸潤(microinvasion)を引き起こした。BHA単独では、これらの変化をもたらさなかった(Riley & Seal, 1968)。

#### 変異原性に関する特殊試験 (原文 p.4)

#### (a) 細胞遺伝 (原文 p.4)

*in vitro*におけるWI-38ヒト胚の肺細胞を使用して、2.0、20.0及び200 µg/mL濃度のブチルヒドロキシアニソール(BHA)が、後期異常性試験が行われた。また、*in vivo*においては、15、150及び1,500 mg/kgのBHAを投与したラットの骨髄中期細胞の細胞遺伝学的解析によって試験された。いずれの検定においても、BHAは対照値を上回るような有意な異常性の増加は示さなかった(Fabrizio, 1974)。

#### (b) 宿主経路試験 (原文 p.4)

*in vitro*試験では、サルモネラ TA-1530とG-46が、サッカロミセス D-3と共に、使用された。10%濃度が試験された。BHAは、サルモネラ TA-1530とG-46に変異原性を起こさなかった。サッカロミセス D-3を使った試験では、組換え体の出現頻度において、生物学的に有意な増加が示された。後の試験で、この結果を再現出来なかったため、この結果は疑問であると思われた(Fabrizio, 1974)。

*in vivo*試験では、ICRスイスマウスを供試して、15、150、1,500 mg/kg(\*)のBHA投与量で試験が行われた。その際、指標細菌として、サルモネラ G-46とTA-1530及びサッカロミセス D-3を使用した。BHAは、サルモネラ菌に変異原性を示さなかったが、組換え体出現頻度には生物学的に有意な増加を起こすことが実証された。宿主経路試験は、ルーチン用としてもはや推奨されないことから、これは、変異原性作用がより高感度(検知の点から)の方法により試験されたことが示唆された。この試験では、プレート及び懸濁液試験中、代謝促進剤有無の条件で、ネズミチフス菌種 TA-1535、TA-1537及びTA-1538、並びにサッカロミセス D-4を使用してBHAが試験された。採用したBHA濃度(W/V%)は、サルモネラ用で0.00375、0.0075、0.0150及びサッカロミセス用で0.0625、0.1250及び0.2500\*であった。この調査条件下では、BHAは変異原性を起こさなかった(Fabrizio, 1974)。

\* 0.0625、0.1250及び0.2500 は、0.0625、0.1250及び0.2500 と考えられるが、原文通り記載している。

#### (c) 優性致死試験 (原文 p.4)

Sprague-Dawley C-D系の雄ラットが供試された。投与量は、15、150及び1,500 mg/kgであった。

急性試験 — 単回投与後にそれぞれ8週間の交配が行われた。BHAは、優性致死において、ランダムな統計的増加をもたらした。これらは、異常に低い負の対照値により割引された(Fabrizio, 1974)。

亜急性 — 毎日5回投与(5×15、5×150、5×1,500 mg/kg)し、続いて雄は7週間交配した。BHAは、6及び7週目に、着床前胚死亡率(pre-implantation loss)の統計的に有意な増加をもたらした。単独で生じるこの作用は、変異原性の証拠ではない(Fabrizio, 1974)。

#### 催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.5)

様々な系統のラットあるいはマウスに、3種類の試験法(regimes)のうちの一つに従ってBHAを与えた。即ち、ペアリング前から妊娠18日目まで連続7週間毎日投与、妊娠1~20日目の毎日投与、又は、妊娠9、11、13日目の単回投与である。投与量は、250~1,000 mg/kg体重の範囲であった。これらの条件下では、死亡率は25%であった。300~500 mg/kg体重の投与量で、7週間の投与期間の限りでは、催奇形性に影響は全く観察されなかった。より高用量(750 mg/kg)では、死亡率が75%であった(Clegg, 1965)。総BHAとして0.5 gを混餌投与された妊娠ラットは、再吸収が対照群と比較して少なかった(Telford et al., 1962)。

### その他の特殊試験 (原文 p.5)

$8 \times 10^{-10}$  mol/Lの低濃度BHAは、ブラジキニンによって引き起こされるモルモットの平滑筋収縮を阻害する(Posati & Pallanich, 1970)。

Swiss-Websterマウス(Mus musculus)の交配ペアに、BHA 0あるいは0.5%を含んだ飼料で混餌投与した。交配したペアの同腹児は21日で離乳し、母動物と類似の飼料で飼育された。マウスは、6週間令で行動試験を行った。BHAを投与した児動物は、対照群と比べて探索行動の増加、睡眠の減少、自己身づくろい(self-grooming)の減少、学習遅滞及び定位複合体(orientation complex)の減少を示した(Stokes & Scudder, 1974)。

ラットの*in situ*腸還流法では、2 mg/mL濃度BHAによりグルコース及びメチオニンの吸収が減退したが、酪酸の吸収は妨げられなかった(Fritsch et al., 1975a)。400 µg/mLのBHAでは、ラット盲腸細菌叢から分離した培養細菌の代謝阻害(ガス発生を指標として)を引き起こした(Fritsch et al., 1975b)。

### 急性毒性 (原文 p.4)

動物	経路	LD50 (mg/kg体重)	参考文献
マウス	経口	2,000	Bunnell et al., 1955, Lehman et al., 1951
ラット	経口	2,200~5,000	Bunnell et al., 1955, Lehman et al., 1951

### 短期試験 (原文 p.5)

#### ラット (原文 p.5)

以下に記載するようなウサギに対するカリウム排泄に及ぼす作用は、ラットの短期飼育試験では全く認められなかった(Dacre, 1960)。

離乳直後のラット一群7匹に、BHA 0、0.5、1、2及び3%を含んだ飼料により6ヶ月間混餌投与した。3%投与群のラットは、体重が増加するほど十分に採食しなかったため、暫くの間、2%濃度飼料で飼育し、その後、3%濃

度飼料に戻した。2%濃度でさえ、採食量は十分ではなかった。病理組織学的検査では、BHAに起因する病理学的変化は、明示されなかった(Wilder & Kraybill, 1948)。

ラット一群26匹に、パンの通常使用レベルの50倍の濃度で、BHAと二酸化塩素、プロピオン酸ナトリウム、没食子酸プロピル、あるいはポリオキシエチレン-8-ステアートのような、他の食品添加物と組み合わせたパンを32週間与えた試験では、全く悪影響を及ぼさなかった。この処理されたパンは、動物飼料の75%を占めていた。BHAの摂取量は、3.3~7.0 mg/kg体重/日であった(Graham et al., 1954, Graham & Grice, 1955)。

ラットに、0又は500~600 mg/kg体重(半数致死量(LD50)の1/5)相当量のBHA含有飼料を、10週間混餌投与して飼育した。試験動物は、成長率の減少と血中酵素、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ及びコリンエステラーゼ活性が低下した。試験動物の肝臓の化学分析では、対照群と比較して、リン脂質量が減少したが、脂質蓄積は全く認められなかった。組織及び臓器の組織学的検査では、被験物質による影響は全く示さなれなかった(Karplyuk, 1962)。

#### ウサギ (原文 p.6)

ウサギに、1日1 gの用量で5~6日間胃チューブにより強制投与した試験では、尿中への排泄がナトリウムは10倍、カリウムは20%増加した。細胞外液容積は低下し、これにより血漿ナトリウム濃度の何らかの明確な変化を妨げた。投与後5日目に血清カリウムが低下し、カリウムは筋肉細胞内ナトリウムに置換された。心筋では、その変化は骨格筋より遅く起こり、また、不明瞭でもあった。抗酸化剤は、腎臓に直接影響する可能性がある。例えば、副腎皮質は球状帯(zona glomerulosa)での変化を示し、ナトリウム及びカリウムの減少と関連するアルドステロンの尿中排泄に増加がみられた(Denz & Llaurodo, 1957)。

#### イヌ (原文 p.6)

イヌに、BHA 0、0.3、30及び100mg/kg体重の用量を1年間投与した時、悪影響は観察されなかった。腎機能、主な組織の血液学及び組織病理学的検査結果は正常であった。臓器重量は正常値の範囲内であり、明らかなBHAの蓄積は全くみられなかった。BHA 100mg/kg体重の投与においても、尿中での減少する物質の明らかな増加はみられなかった。試験では、一群3匹のイヌが、それぞれの投与群で用いられた(Hodge et al., 1964)。

離乳したばかりの仔イヌの一群4匹に、BHA 0、5、50及び250mg/kgを15ヶ月間投与した。血液パラメーター結果では、イヌの全般的健康及び体重増量は、正常範囲内にあった。試験群の尿には、対照群と比べて無機硫酸に対する総硫酸塩及びグルクロン酸塩がより高い比率で含まれていた。剖検時の組織及び臓器の顕微鏡検査では、試験中の最高用量群の動物の4匹中3匹が肝細胞変性(liver cell degeneration)及び慢性顆粒球状浸潤(diffuse granulocytic infiltration)を示した。これらの動物の肝臓の小葉構造は正常であり、過度の結合組織の増殖はみられなかった(Wilder et al., 1960)。

## サル (原文 p.7)

成雌アカゲザル一群6頭に、50mgBHT及び50mgのBHA/kg体重に相当するBHT及びBHAの混合物を混餌投与した。別の一群6頭の成雌アカゲザルを対象群として用いた。サルに、繁殖前の一年間混餌投与した後、165日間の妊娠期間を含み、さらに1年間混餌投与した。ヘモグロビン、ヘマトクリット、総白血球数及び白血球細胞数の差異、コレステロール、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、総タンパク質、血清GPT(glutamic pyruvic transaminase、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)、及び血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼを含む血液学的検査を、一ヶ月間隔で実施した。体重は一ヶ月間隔で測定した。月経周期は、全試験期間中記録した。

雌は、混餌投与しなかった雄アカゲザルと1年後に交配した。妊娠中には、全血球計算が妊娠40、80、120、160日、及び分娩後の30、60日に行われた。前投与群のサルから5頭、及び対象群から6頭が生まれた。血液学的評価は1、5、15、30及び60日に、投与群及び対象群の幼児サルに対して行われ、2歳まで観察を続けた。一ヶ月間のホームケージ心理学的観察(psychological home cage observation)のため、投与群及び対象群の生後3ヶ月の児サルが2頭ずつ、母動物から隔離された。試験期間、臨床異常は親動物及び子動物ともに観察されなかった。試験動物の妊娠には合併症はなく、正常な幼児が生まれた。暴露期間に生まれた幼児は、無関係の原因で死亡した幼児1頭を除き、健康であった。生後3ヶ月のホームケージ観察は、何の行動異常も示さなかった(Allen, 1974, 1976)。

## 長期試験 (原文 p.7)

### ラット (原文 p.7)

離乳したばかりのラットの一群15匹以上にラード中の0、0.05、0.5及び1%のBHA (全飼料の0、0.003、0.03及び0.06%)を22か月間混餌投与した。全投与群において体重増加が比較可能であった。生殖は正常であり、同じ混餌投与した若いラットは正常に成長した。同腹児数、体重、体重増加及び死亡率は、前投与群において比較可能であった。試験1年後、コロニーは感染性呼吸疾患を患い、多くが死亡した。群中の死亡率に有意な差はなかった。残りの動物は22か月後にと殺した。病理組織検査では、酸化防止剤に起因する変化は示されなかった(Wilder & Kraybill, 1948年)。

2%BHAをラード中に含む飼料(全飼料の0.12%)を投与した追加投与群に、同様の一連の試験を行った。一群17匹のラットを設定した。生存ラットは21か月後にと殺した。組織病理学検査では、対象群と比較して有意な差は示されなかった。生育期中の体重増加の割合は無変化であり、すべてのラットはあらゆる点から正常と思われた(Wilder & Kraybill, 1948)。

一群40匹のラットに2年間混餌投与試験で、高用量のBHA(飼料の0.5%)を用いたいくつかの例では、成熟時体重のわずかな減少及び相対的な肝重量の増加がみられた。しかし、次のいずれにも影響はみられな

った:生殖周期、脾臓、腎臓、肝臓又は皮膚の組織構造;全体重に対する心臓、脾臓又は腎臓の重量比率;死亡率。BHAの毒性は、脂肪摂取(dietary fat load)による影響を受けなかった(Brown et al., 1959)。

ラットに、0及び500-600 mg/kg体重 BHA(半数致死量(LD<sub>50</sub>)の1/5)相当量を1年間混餌投与して飼育した。この試験中、ラットを連続3世代繁殖させた。2世代に6か月間混餌投与した。BHAは、同腹児数、出生時体重、門歯出現日及び眼瞼開裂を測定した限りでは、生殖能に影響を及ぼさなかった。試験終了後の親動物及び児動物の組織及び臓器の剖検及び組織学的検査では、化合物に関連する影響は全く示されなかった(Karplyuk, 1962)。

### ヒトでの所見 (原文 p.8)

ヒトボランティアに、0.5-0.7 mg/kg体重のBHAを投与した。24時間中に、その22~77%がグルクロニドとして尿中に排泄された。その1%以下が未変化BHAとして尿中に排泄され、脱アルキル化物又は水酸化物は全く検出されなかった(Astill et al., 1962)。別の試験では、ヒトボランティアに<sup>14</sup>C-標識BHA(約0.5 mg/kg体重)を単回投与した。放射能活性の60~70%が2日以内に尿中排泄され、また、投与後11日までに、その放射能活性の80~86.5%が尿中から回収された(Daniel et al., 1967)。

### コメント (原文 p.8)

BHAを経口投与した幾つかの代謝試験は、ラット、マウス、サルについて利用可能である。ラットでは、試験した投与レベルで検討した肝酵素活性は全く変化しなかった。マウスの場合、アリル炭化水素ヒドロキシラーゼに増加はみられなかったが、チトクロームP450は増加し、また、酵素の特性変化がみられた。一方、サルでは、チトクロームP450レベルは影響されなかったが、幾つかの酵素活性は影響を受けた。この点では、乳児(infant)サルは、若齢(juveniles)サルとは反対に、これらの変化を示さなかった。BHAは肝コレステロールに低下がみられたが、血漿トリグリセリドは増加した。

雌ザルを、交配前の1年間、50 mg/kg体重の混餌投与で飼育し、BHA非投与の雄ザルと交配したところ、正常な児動物を出産した。BHAは検査したいずれの指標にも影響を与えなかった。この指標には、若齢サルの行動観察と同様に、血液学的検査と臨床生化学検査も含まれていた。

BHAの突然変異誘発性活性が、いくつかの*in vitro*と*in vivo*系で試験された。これらの試験の総合評価から、BHAには変異原性が無いことが示されている。

以前に記述した、BHA、BHT及び没食子酸プロピルの混合物が繁殖に及ぼす影響に関する試験の要求は、もはや必要でないと思われた。

### 評価 (原文 p.9)

毒性作用を生じないレベル

ラット: 飼料中、5,000 ppm(0.5%)、250 mg/kg体重相当

ヒトに対する一日摂取許容量の推定

0-0.5<sup>1)</sup> mg/kg 体重<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> BHA、BHT又は両方の合計として      <sup>2)</sup> 暫定的に

追加研究又は情報

1980年までに、必要とされた事項

多世代繁殖試験

引用文献・

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1976)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性(経口)	ラット、マウス		原文 p.3、和文 p.13 参照のこと
6 ヶ月間短期試験(飼料添加)	ラット (離乳直後)	0、0.5、1、2、3% (飼料中濃度)	3%群:飼料摂取量少なく、発育不良。 病理組織学的検査で、著変なし
32 週間短期試験	ラット	パンの通常使用レベルの 50 倍(3.3~7.0 mg/kg 体重/日)	他の食品添加物と組み合わせて添加したパンの給与で、著変なし
10 週間短期試験(飼料添加)	ラット	500-600 mg/kg 体重 (LD50 の 1/5 相当)	成長率減、血中酵素、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、コリンエステラーゼ活性低下、肝臓リン脂質量減、臓組織の組織学的検査で著変なし
5~6 日間の短期試験(胃チューブによる投与)	ウサギ	1 g/日	ナトリウム:10 倍、カリウム:20%の尿中排泄量増、細胞外液容積の低下、処理後 5 日目に血清カリウム低下、副腎皮質の球状帯での変化、アルドステロン尿中排泄量増
1 年間の短期試験(飼料添加?)	イヌ	0、0.3、30、100 mg/kg 体重	著変なし
15 ヶ月間の短期試験(*) (投与経路不明)	イヌ	0、5、50、250 mg/kg 体重	試験群の尿中の無機硫酸と全硫酸塩の比率高並びにグルクロン酸塩多 250 mg 群:供試ラットの 3/4 が肝細胞変性、糜慢性顆粒球状浸潤を有するも、肝小葉構造は正常 *JECFA:1974 では、長期試験に記載されている
2 年間(?)の短期試験(飼料添加)	サル	各々、50 mg/kg 体重の BHT と BHA 混合物	試験群の妊娠、分娩は正常 親子共に、臨床的異常を認めず 3 ヶ月令子供のホームケージ観察でも、行動上の異常を認めず
22 ヶ月の長期試験(飼料添加)	ラット	飼料中、0、0.003、0.03、0.06% (追加試験:0.12%)	著変なし
2 年間の長期試験(飼料添加)	ラット	飼料中最高添加濃度:0.5%	成熟体重の若干の減、相対的肝重量増、その他、著変なし(BHA 毒性は食事性脂肪負荷による影響なし)
1 年間の長期試験(飼料添加)	ラット	500-600 mg/kg 体重 (LD50 の 1/5 相当)	3 世代連続試験であったが、生殖能に著変なし、親、子供の臓組織の剖検、組織学的検査でも著変なし

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
575 日間の発がん性試験 (単回皮下注射)	マウス	10 mg/匹	著変なし
309~459 日間の発がん性試験 (皮膚への塗布/1回/週)	マウス	0.1、10 mg (アセトン中)	試験群皮膚の鏡検で腫瘍の証拠なし
2~6 週間の発がん性試験 (耳に塗布/1回/日)	モルモット	記載なし	ラノリン中 BHA の塗布で、皮相結合組織の破壊、コラーゲンの断片化による基底細胞突起の微小浸潤あるも、BHA 単独塗布では、著変なし
2 世代繁殖			上記試験 (1 年間の長期試験) 参照のこと
催奇形性 ①妊娠 18 日までのペアリング前、7 週間、毎日投与 ②妊娠 1~20 日、毎日投与 ③妊娠 9、11、13 日目に単回投与	ラット、マウス	250~1,000 mg/kg 体重の範囲	750 mg 群の死亡率は 75% 催奇形性なし
催奇形性 (飼料添加)	ラット	0.5 g (以下、不明)	対照群よりも少ない再吸収を示す
変異原性細胞遺伝	<u>In vitro</u> (WI-38 ヒト胚肺細胞)	2.0、20.0、200 µg/mL	対照群と比較して、異常を認めず
変異原性細胞遺伝	<u>In vivo</u> (ラット骨髄中期細胞)	15、150、1,500 mg/kg 体重	対照群と比較して、異常を認めず
変異原性宿主経路試験	<u>In vitro</u> (サルモネラ菌他)	10%濃度	<u>サルモネラ</u> TA-1530、G-46 で変異原性なし <u>サッカロミセス</u> D-3 で組換え体の有意な出現頻度増があったが、再現性なく、結果は疑問
変異原性宿主経路試験	<u>In vivo</u> (マウス)	15、150、1,500 mg/kg 体重	サルモネラ に対し、変異原性を誘発しないが、組換え体出現頻度は有意に増加、 <u>ネズミチフス菌</u> 、 <u>サッカロミセス</u> を使った試験では、代謝促進剤有無による変異原性誘発は無い

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
変異原性 優性致死試験 (急性/単回投与)	ラット	15、150、1,500 mg/kg 体重	任意の統計的有意増を示したが、対照群が異常に 低値であったため、割引く要あり
変異原性 優性致死試験 (7 週間、亜急性 試験)	ラット	15、150、1,500 mg/kg 体重を 5 回/ 日投与	6、7 週目の着床前胚損失率に統計的有意増ある も、 変異原性を証明するものではない
刺激性、感作性 試験			当該試験なし(上記発がん性試験参照)
その他			
行動試験 (期間不明) (飼料添加)	マウス	0.5%	BHA 添加飼料で飼育された交配ペアからの産 仔は、 21 日令で離乳、親と同じ飼料で飼育され、6 週令 で行動試験に供されたが、対照群と比較して、探 索行動増、睡眠減、自己身づくろい減、学習遅 滞、orientation complex 減を示した
酵素や他のパラメ ーターへの影響 (4 週間経口投 与)	サル (幼児、若 令)	50、500 mg/kg 体重	高投与試験群:3 週目に血清コレステロール上昇 するも、4 週目で正常化及び尿、血液検査結果に 異常なし 肝臓の滑面小胞体増と肝脂質値減 試験群:肝臓膨大を認めるも、他の器官で病理学 的变化なし 血漿中性脂肪増、肝コレステロール 減
非毒性作用レベ ル	ラット		飼料中、5,000 ppm(0.5%)、250 mg/kg 体重相当
ADI	ヒト		0-0.5 mg/kg 体重(暫定推定量)

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量
ADI	Acceptable daily intake	一日摂取許容量
BHA	Butylated hydroxyanisole	ブチルヒドロキシアニソール
BHT	Butylated hydroxytoluene	ブチルヒドロキシトルエン
AHH	Aryl hydrocarbon hydroxylase	アリル炭化水素ヒドロキシラーゼ

## ブチルヒドロキシアニソール評価書和訳と情報整理

JECFA: 1980

ウェブサイト:<ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-2-albendazole.pdf>

FNP 41/2-JECFA 34/1



ブチルヒドロキシアニソール評価書和訳と情報整理 JECFA (1980) 目次

説明 (原文 p.1) .....	44
生物学的データ (原文 p.1) .....	44
生化学的側面(原文 p.1) .....	44
吸収、分布及び排泄 (原文 p.1) .....	44
毒性試験 (原文 p.4) .....	47
発がん性特殊試験 (原文 p.4) .....	47
(a)細胞遺伝に関する特殊試験 (原文 p.4) .....	47
(b)ショウジョウバエにおける伴性突然変異 (原文 p.4) .....	47
(c)微生物の変異原性 (原文 p.4) .....	48
優性致死試験(原文 p.5) .....	48
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.5) .....	49
生殖と行動に関する特殊試験 (原文 p.5) .....	49
免疫学に関する特殊試験 (原文 p.6) .....	50
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.6) .....	50
急性毒性(Acute toxicity)(原文 p.7) .....	51
短期試験 (原文 p.7) .....	51
ラット (原文 p.7) .....	51
ウサギ (原文 p.8) .....	52
イヌ (原文 p.8) .....	52
サル (原文 p.9) .....	53
長期試験 (原文 p.9) .....	53
ラット (原文 p.9) .....	53
ヒトボランティアにおける試験 (原文 p.10) .....	54
コメント (原文 p.10) .....	54
評価 (原文 p.11) .....	55
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1980) .....	56
略称 .....	56

## 原文 目次

原文ページ

説明 (原文 p.1) .....	1
生物学的データ (原文 p.1) .....	1
生化学的側面(原文 p.1) .....	1
毒性試験 (原文 p.4) .....	4
発がん性特殊試験 (原文 p.4) .....	4
優性致死試験(原文 p.5) .....	4
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.5) .....	5
生殖と行動に関する特殊試験 (原文 p.5) .....	5
免疫学に関する特殊試験 (原文 p.6) .....	6
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.6) .....	6
急性毒性(Acute toxicity)(原文 p.7) .....	7
短期試験 (原文 p.7) .....	7
ラット (原文 p.7) .....	7
ウサギ (原文 p.8) .....	8
イヌ (原文 p.8) .....	8
サル (原文 p.9) .....	9
長期試験 (原文 p.9) .....	9
ラット (原文 p.9) .....	9
ヒトボランティアにおける試験 (原文 p.10) .....	10
コメント (原文 p.10) .....	10
評価 (原文 p.11) .....	11
引用文献(原文 p.12) .....	12
Explanation .....	1
BIOLOGICAL DATA .....	1
Biochemical aspects .....	1
TOXICOLOGICAL STUDIES .....	4
Special studies on carcinogenicity .....	4
Special studies on mutagenicity .....	4
Special studies on teratogenicity .....	5
Special studies on reproduction and behavior .....	5
Special studies on immunology .....	6
Special studies on carcinogenicity .....	6
Acute toxicity .....	7
Short-term studies .....	7

Long-term studies .....9  
OBSERVATION IN MAN .....10  
Comment .....10  
EVALUATION .....11  
REFERENCES .....12

## ブチルヒドロキシアニソール(BHA)

### 説明 (原文 p.1)

この物質は、1961、1965、1973、1976年にFAO/WHO合同食品添加物専門家会議によって、ヒトの一日摂取許容量(ADI)が評価された(付録I, 参照 6, 11, 32, 40)。

毒物学論文が、1961、1973、1976年に発刊された(付録I, 参照 6, 33, 41)。

前回の評価以来、追加のデータを入手して要約し、次の学術誌で議論された。以前発刊された学術論文は拡大され、その全てを下記に再構成した。

### 生物学的データ (原文 p.1)

#### 生化学的側面(原文 p.1)

#### 吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)は消化管から吸収された。また、一般的に食用(米国では、200 mg/kg 脂肪)として脂肪中に認められる濃度の100~500倍の摂取では、貯蔵脂肪中に沈着を引き起こし、貯蔵脂肪の安定性は増加した結果が報告されている(Johnson et al., 1958)。しかし、その他の組織では蓄積の形跡はみられなかった (Astill et al., 1960; Bunnei et al., 1955; Hodge et al., 1964)。

BHAは、ウサギでは、主にグルクロン酸或いは硫酸に抱合された(Dacre et al., 1956)。すなわち、少量の未変化のBHAは、尿中に排泄された。

ラットでは、3-tert-ブチル異性体(isomer)が主にエーテル硫酸として排泄されたのに対し、2-tert-ブチル異性体は、主にグルクロニドとして排泄された(Astill et al., 1960)。

従って、これらの動物は、BHAの毒性を効率的に中和した。上記で示した化学変化は、肝臓で生じた。BHAが動物体内で何かの生化学的又は代謝効果を持つことを示唆する証拠は得られなかった( Dacre, 1960)。

イヌでは、350 mg/kgの用量投与後3日以内に、糞中に投与量の60%が未変化のまま排泄された。残りは、主としてBHAの硫酸塩抱合体、tert-ブチルヒドロキノン及び未同定フェノールとして尿中に排泄された。投与量の5.5%のみがグルクロニドとして尿中に排泄された(Astill et al., 1962)。ラットに、トリチウム標識BHAを単回腹腔内投与した。放射能の約90%は、4日以内に尿中から回収された(Golder et al., 1962)。

0.1% BHAを4か月間混餌投与された豚及び0.1% BHAを8週間混餌投与された若雌鶏では、筋肉、肝臓、腎臓又は貯蔵脂肪中の蓄積はみられなかった (Francois & Pihet, 1960)。

### 酵素及びその他の生化学的パラメーターへの影響(原文 p.1)

BHAを500 mg/kg 体重(7日間用量)投与されたラットでは、肝臓でのグルコース-6-フォスファターゼ活性の変化は示されなかった。BHAを100 mg/kg 体重又はそれ以上(7日間用量)投与された雄ラット及び200 mg/kg 体重以上(7日間用量)投与された雌ラットのものに、肝重量の増加が起きた。

肝重量は、飼料から BHA を除いた14日以内に対照群と比較した。脂肪量の変化はみられなかった(Feuer et al., 1965a)。BHA(500 mg/kg/日)を2日間投与したラットは、マイクロソームプロセッシング酵素(アミノピリンデメチラーゼ(aminopyrine demethylase)、ヘキサバルビチン酸化酵素(hexabarbitone oxidase)及びニトロアニソールデメチラーゼ(nitroanisole demethylase) の活性増加は示されなかった(Gilbert & Goldberg, 1965)。別の試験では、0.1、0.25又は0.5% BHAを12日間混餌投与されたラットで、肝重量増加は示されなかったが、0.5% BHA投与群で肝臓中のビフェニル1-4-ヒドロキシラーゼ(biphenyl-4-hydroxylase)活性の増加が起こった(Creaven et al., 1966)。

雄雌等しく分けられた8匹のラット(SPF *Carworth*種)に対し、各投与群に落花生油に溶解したBHAを0, 50, 100, 200 又は 500mg/kg 体重量で1週間共生経口投与した。BHAはラットの成長に影響は及ぼさなかった。最終投与24時間後、ラットをと殺し、グルコース-6-フォスファターゼ及びグルコース-6-フォスファターゼ デヒドロゲナーゼ、ヘキサバルビトン酸化酵素(hexabarbitone oxidase)、ニトロアニソールデメチラーゼ、及びアミノピリンデメチラーゼの活性分析のため肝臓調製した。BHAは、これらの酵素活性に影響を及ぼさなかった。組織化学試験では、BHAは肝臓中の脂肪変化を引き起こさないという結果が示された(Feuer et al., 1965b)。

生後1か月又は性的に未熟な一群雄雌2~3頭の幼赤毛サル(*Macaca mulatta*)に、500 mg /kg 体重のBHAを4週間投与した。別の幼獣サル投与群には、同じ期間、BHA を50 mg/kg 体重量で投与した。対照群は、同じ量のコーンオイルを投与した。尿及び血液分析では、高用量群の3週で血清コレステロールが上昇し、4週で正常にもどった例を除いて、正常であった。全試験動物の肝臓は膨大した。他の組織では、病理学的変化はなかった。超微細構造的に、高用量投与された乳・幼サルは、肝臓の滑面小胞体の著しい増殖を示した。BHA(500 mg/ kg)を投与された乳・幼児サルはコーンオイル対照群より肝臓脂肪が低いレベルであった。ニトロアニソールデメチラーゼ(Nitro-anisole demethylase) 活性は増加し、グルコース-6-フォスファターゼ活性は、BHA 投与した幼サルでは減少したが、乳児サルでは影響はみられなかった(Allen & Engbom, 1972)。DNA、RNA及びチトクローム P<sub>450</sub>レベルの変化は、観察されなかった。

追加の生化学試験が、これらのサルの肝臓及び血漿について実施された。BHA投与群のサルでは、対照群より血漿トリグリセリド濃度が高かった。試験動物には、肝コレステロール/脂質・リン比率の低下と同様に肝コレステロール濃度の顕著な減少がみられた。BHT投与を受けた動物の肝酵素コハク酸デヒドロゲナーゼ(succinic dehydrogenase)も減少した(Branen et al., 1973)。

肝マイクロソーム調製サンプルは、0及び0.5%BHAを14日間混餌投与した雌マウス(A/HcJ種)から作製された。調製サンプルのaryl hydrocarbon hydroxylase 活性(AHH)は類似していた。しかしながら、BHA混餌投与したマウスのマイクロソーム調製サンプルは、対照群マウスの調製サンプルより、alpha-naphtha-fluorine による *in vitro* 阻害に対する高い感受性を示し、単位重量当たりチトクローム P<sub>450</sub>量が継続的に増加した

(Speier & Wattenberg, 1975)。

ラットに、0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%BHA及び20%ラードを含む飼料を6週間混餌投与した。BHAは、0.1%投与群で総血清コレステロール量の増加を引き起こした。しかし、高用量投与群で、それ以上の上昇は生じなかった。エステルコレステロールより相対的に大きな無血清コレステロール量の増加がみられた。BHAは、全投与群で雄の副腎膨大を引き起こしたが、組織学的変化は、観察されなかった。より高いBHAレベルの混餌での肝臓重量増加は、肝臓の絶対脂質含有量の増加が伴った。しかし、BHAは、肝臓中の全コレステロール及びコレステロールエステル濃度又は、ポリ不飽和脂肪酸の構成への影響を及ぼさなかった(Johnson & Hewgill, 1961)。

CD-1マウスの一群雌10匹に、0又0.75%のBHAを10日間混餌投与した後、と殺した。BHA投与群の動物の相対肝重量は、対照群の体重の5.7%に対し9.1%に増加した。複数のミクロソーム酵素、グルコース-6-リン酸脱水素酵素及びUDPグルコース脱水素酵素の活性が増加した(Cha & Bueding, 1971)。

成体雄SDラットの肝ミクロソーム調製サンプルに BHAを加えたところ、ミクロソームモノオキシゲナーゼシステムの活性が阻害された(Yang et al., 1974)。同様に雄Wisterラットから得られたミクロソーム調製サンプルの脂質過酸化反応の活性は、0.2 mM BHAにより阻害された(Uainio, 1974)。

SDラットの雄(初期体重は約150 g)に、0.5% BHAを14日間混餌投与した。その後、BHAを含まない餌を24時間投与し、と殺前の12時間絶食した。対照群のラットは、BHAを含まない餌を与えた事を除き、同様の処理を行った。0.5%のBHAを投与したラットの肝臓ミクロソーム中の エポキシド・ヒドラーゼ(epoxide hydrase)活性は、対照群と比べて著しく増加(約1、6倍)した。また電気泳動上、エポキシドヒドラーゼ(epoxide hydrase)のバンド中、タンパク質染色量が2倍近く増加した。エポキシド・ヒドラーゼ誘導は、0.5% BHT 又はエトキシキン(ethoxyquin) 混餌投与による並行実験において、より大きかった(Kahl & Wulff, 1979)。

CD-1マウスの雌に、0.75%BHAを3~12日間混餌投与した。12日後には、対照群の肝ミクロソーム\*のエポキシドヒドラーゼ活性に比べ、9倍高い値を示した。BHAを12日間投与した後、正常な飼料に変えたところ、エポキシドヒドラーゼ活性は、急速に減少し、約15日で正常値に戻った。0.17%BHAを10日間混餌投与したSDラット雄及びCD-1マウス雌の比較では、投与したラットではエポキシドヒドラーゼ活性が約5.5倍増加したのに対し、マウスでは約11倍増加した(Cha et al., 1978)。

\*原文ではmicrosomers となっているが、microsomes の間違いとして訳した。

BHA 6.70  $\mu$ mは、雄牛精囊から分離されたミクロソームによるプロスタグランジンE1合成を50%阻害し、3.08  $\mu$ g BHAは、プロスタグランジンE2合成で50%の阻害を引き起こしたと報告された。プロスタグランジン合成を50%阻害するためには、BHAより高濃度のBHTが必要であった(Boehme & Branen, 1977)。A/HeJマウスに給餌前に BHAを2週間混餌(0.5%)投与したところ、ミクロソーム抽出物によるベンゾ (a) ピレン(BP)代謝に変化を引き起こすことが報告された。BHA投与された動物においてBPの4-5エポキシド代謝は減少し、フェノール生成の増加がみられた(Luke et al., 1977)。

62.5、215又は500 mg/kg BHAの単回腹腔内投与を、成熟雄Swiss Websterマウスに行った。マウスは3日後にと殺した。BHA 投与群のマウスにおいて、肺DNA、又はメルカプト基含量、又は、スーパーオキシドジムスターゼ(super oxide dismutase)、GSHペルオキシダーゼ、GSH 還元酵素及び 肺G6PDH酵素の活性の増加はみられなかった。対照群と比べ、やや肺重量の増加がみられるため、わずかながら肺水腫が起こった可能性がある。

肺DNA、メルカプト基含量及び肺酵素活性の著しい増加は、同じようにBHT投与群のマウスでみられた(Omage et al., 1977)。

#### 毒性試験 (原文 p.4)

#### 発がん性特殊試験 (原文 p.4)

マウス一群100匹 (性別で均等に分けられた)にトリオクタノイン(trioctanoin)中のBHAを(10 mg/マウス)単回経皮投与し、575日まで観察した。別の投与群には、309-459日間、アセトン中の0.1 mg又は10 mg BHAを毎週、経皮投与した。試験マウスの皮膚の顕微鏡検査では、腫瘍の形跡はみられなかった(Hodge et al., 1966)。

モルモットの耳にラノリン(lanolin)中のBHAを一日一回、2~6週間投与した試験では、表在性結合組織の破壊及びコラーゲン分解を伴う基底細胞仮足への微生物侵入がみられた。BHAのみでは、これらの変化を引き起こさなかった(Riley&Seal, 1968年)。

#### 変異原生特殊試験 (原文 p.4)

#### (a)細胞遺伝に関する特殊試験 (原文 p.4)

チャイニーズハムスター培養細胞を用いた試験では、BHAが、染色体異常を引き起こさないことが明らかになった(Ishidate & Odashima, 1977)。染色体異常又は姉妹染色分体交換の発生への影響は、BHA処理したチャイニーズハムスター細胞系では、みられなかった(Abe & Sasaki, 1977)。

*in vitro*で WI-38ヒト胚の肺細胞を用いて、2.0、20.0及び200 µg/mL 濃度のブチルヒドロキシアニソール(BHA)による有糸分裂後期異常試験が行われた。また、15、150及び1500mg/kgの投与量において、ラット骨髄の有糸分裂中期細胞の細胞遺伝学的分析により、*in vivo*で検査した。いずれの分析でもBHAは、対象値を超える有意な増加を示さなかった(Fabrizio, 1974)。

#### (b)ショウジョウバエにおける伴性突然変異 (原文 p.4)

ショウジョウバエを用いた試験では、BHAは伴性致死突然変異を引き起こさないことが分かった。投与量

の範囲は、動物に投与した蔗糖溶液化合物により設定された(Miyagi & Goodheart, 1976)。

### (c)微生物の変異原性 (原文 p.4)

サルモネラ菌種 TA-1535、TA-1537、TA-1538、TA-98及びTA-100を用い、プレート1枚当たり10、100あるいは1000マイクログラムの濃度で行った微生物変異原性試験では、BHAが変異原性をもたないことが示された。化合物は、S9抽出物存在下及び非存在下で試験された(Joner, 1978)。

BHA投与したCD-1マウスの雌、又はSDラットの雄から調整した肝細胞質ゾルを用い、*S. typhimurium* による試験を行ったところ、尿中のベンゾ(a)ピリン代謝物の変異原性が減少した(Benson et al., 1978)

CD-1マウスに、0.75%BHA を10日間混餌投与した後、100 mg/kgのベンゾ(a)ピリンを投与した。BHAを前処理したマウスの尿の変異原性は、BHAで非処理のマウスの尿よりはるかに低かった(Batzinger, 1978)。

*in vitro* で*Salmonella* TA-1530及びG46を、*Saccharomyces* D-3と共に用い、10%濃度で試験を行った。BHAは*Salmonella* TA-1530及びG-46に対し、変異原性を示さなかった。*Saccharomyces* D-3による試験では、生物学的に組み換え体出現頻度の著しい増加が示された。この結果は、その後の試験で再現性が得られないため、誤っていると思われた(Fabrizio, 1974)。

ICR スイスマウスを用い、*Salmonella* G-46、TA-1530、及び*Saccharomyces* D-3を指標細菌として、BHA 15、150及び1500 mg/kgによる*in vivo* 試験が行われた。BHAは *Salmonella*に対する変異原性はみられなかったが、組み換え体出現頻度の著しい増加が生物学的に証明された。宿主経路試験は常用試験として推奨されていなかったため、変異原性作用はより敏感な(検知の点から)手順を用いた試験により行われた。このBHA試験では、プレート及び懸濁液の試験において、*Salmonella typhimurium* 菌種 TA-1535、TA-1537、TA-1538、及び、*Saccharomyces* D-4を用いて、代謝活性化存在下及び非存在下で行われた。用いられた濃度 (w/v)は、*Salmonella*に対し、0.00375、0.0075及び0.0150で、*Saccharomyces*に対し、0.0625、0.1250及び0.02500であった。この試験条件下では、BHAは突然変異を引き起こさなかった(Fabrizio, 1974)。

### 優性致死試験(原文 p.5)

Sprague-Dawley C-D種の雄ラットが用いられた。投与量は15、150及び1500 mg/kgであった。

**急性試験**—単回投与後に、それぞれ8週間交配した。BHAは、優性致死率のランダムな統計的増加を引き起こした。これらは、異常に低い負の対照値に起因していたため、割り引いて考えられた(Fabrizio, 1974年)。

**亜急性**—5日間毎日投与 (5 × 15、5 × 150、5 × 1500 mg/kg)した。その後、雄はそれぞれ7週間交配した。

その結果、BHAは6週及び7週の着床前死亡の統計的に有意な増加を引き起こした。この作用のみでは、変異原性を論証できなかった(Fabrizio, 1974)。

### 催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.5)

様々な系統のラットあるいはマウスに、3種類の計画(regimes)のうちの一つに従ってBHAを与えた。即ち、ペアリング前から妊娠18日目まで連続7週間毎日投与、妊娠1~20日目の毎日投与、又は、妊娠9、11、13日目の単回投与である。投与量は、250~1,000 mg/kg体重の範囲であった。これらの条件下では、死亡率は25%であった。300~500 mg/kg体重の投与量で、7週間の投与期間の限りでは、催奇形性に対する影響は全く観察されなかった。より高用量(750 mg/kg)では、死亡率が75%であった(Clegg, 1965)。総BHAとして0.5 gを混餌投与した妊娠ラットでは、対照群よりも少ない再吸収(resorptions)が示された(Telford et al., 1962)。

妊娠したNew Zealand white ウサギの群に、0、50、200又は400 mg/kg体重のBHAを妊娠7~18日目まで投与した。一群13~15匹の妊娠した雌の親動物を用いた。BHAは、プロピレングリコールを溶媒として強制投与した。胎児は28日目に取り出された。対照群との間に、体重、軟部組織の発生率又は骨格異常の発生頻度、生まれた胎児の生死数、黄体数及び着床に関する差異はみられなかった(Hansen & Meyer, 1978)。

### 生殖と行動に関する特殊試験 (原文 p.5)

SD ラットの成獣の雄及び雌に、BHA 0、0.125、0.25又は0.5%を交配前及び交配間の2週間混餌投与した。雌ラットには妊娠及び児動物の離乳まで、その飼料を継続した。その後、児ラットには試験終了までその飼料を与えた。選択された児動物は、21日目に脳のニューロン数測定のため、また、90日目に眼、局所脳重量の測定及びsomatomotor皮質の組織学的検査のためにと殺した。投与の影響は生殖能についてはみられなかった。しかしながら、0.25%及び0.5%投与群において児動物累積死亡率が対照群と比べて著しく増加した。対照群の児動物累積死亡率は4%であったが、0.25及び0.5%投与群におけるそれぞれ9%及び14%であった。高用量群の児動物の離乳期前体重に有意な減少がみられ、これは42日の離乳後期まで継続したが、0.25%投与群のラットの体重は対照群以上であった。90日目の体重においては、投与に関連する有意な影響はみられなかった。平面立ち直り(surface righting)反応、旋回運動(pivoting)、断崖回避(cliff avoidance)、負の走地性(negative geotaxis)、水泳発達(swimming development)、離乳前後期オープンフィールド、回転かご、回転棒、能動的回避、摂餌量の差(appetitive position discrimination)又は、受動的回避、膺開口についての投与の影響は示されなかった。

0.5%及び0.25%投与群では、聴覚性驚愕発達の遅延(auditory startle development)がみられた。眼又は局所脳重量又は、脳組織構造における投与に関連する影響はみられなかった。著者らは、同様の条件におけるBHT投与に比べてBHAの方が低毒性を示したことに注目した(Vorhees et al., 1979)。

スイスウェプスター・マウス(Mus musculus)の交配した群に、0又は0.5%BHAを混餌投与して飼養した。

交配したペアから生まれた同腹児は21日で交配し、引き続き親動物と同じ飼料が与えられた。6週齢のマウスに行動試験を行った。BHA投与群の児動物は、対象群に比べ、探検の増加(increased exploration)、睡眠減少(decreased sleeping)、ひとり毛づくろい(self-grooming)の減少、学習遅れ(slower learning)、配向性複合体(orientation complex)の減少を示した(Stoke & Scudder, 1974)。

#### 免疫学に関する特殊試験 (原文 p.6)

BHAの免疫機能に対する影響に関する多くの報告書が近年発表された。例えば、細胞毒性を示さない濃度のBHAは、脾臓細胞の*in vitro*免疫応答を抑制したことが報告された(Archer et al., 1977)。合計112人の接触皮膚炎の患者に、BHA及びBHTのパッチ試験が実施された。ワセリン2%溶液の化合物で試験した。両化合物について2人の患者が陽性反応を示し、一人はBHAのみ、もう一人はBHTのみに陽性であった。二人の患者は湿疹治療のために投与され、抗酸化剤無添加時には無症状であり、毎日5又は10 mg BHAの経口投与を行った際には湿疹の再発を起こした。5%BHA及び5%BHTのアルコール溶液により、合計83人の患者に試験した。全ての試験は、陰性であった。(Roed-Petersen & Hjorth, 1976)。

850 mgの投与を受けた一人の患者以外に、病因不明の鼻炎又は、ぜん息を示す7人の患者に、BHA 300-450 mgを経口投与した。数人の患者が投与後、10～45分間で眠気を示したが、投与直後の症状悪化に繋がった患者はいなかった。(Cloninger&Novey, 1974)。

#### 発がん性に関する特殊試験 (原文 p.6)

一群雄雌各15匹雄のA種マウスに8週間にわたり週3回一連で24回の腹腔内投与を行い、BHAの肺腫瘍誘発性を試験した。マウスをと殺し、最初の投与から24週間後に肺腫瘍の有無を調べた。一連の24回の投与において全投与量が1200又は6000mg/kgに達するような二つの用量を用いた。どちらの用量においても肺腫瘍発生頻度の増加はみられなかった(Stover et al., 1973)。

6～8 週齢のCD-1マウスの雌30匹の群を用いて行った試験では、あらかじめ7、12-ジメチルベンゾアントラセン(DMBA)を動物の皮膚に投与し、BHAは皮膚腫瘍を促進しなかった。アセトンに溶解した1 mgのBHAを、毛を剃ったマウスの背中に、週2回30週間投与された。その投与は、DMBAの局所投与1週間後に開始した。

SDラット一群10匹に、BHA 4.2 mmol/kg 体重に相当する用量を以て3週間混餌投与した実験では、BHAが失血死又動物のプロトロンビン指数の変化を生じないことが示された。同量のBHTを投与した動物で出血死及び顕著なプロトロンビン時間の低下が生じた(Takahshi & Hiraga, 1978)。

0.01～0.0001%のBHA濃度は、ウサギ心房(rabbit atria)から分離調製された心房収縮(atrial contractions)の頻度及び振幅の顕著な減少を引き起こした。BHA0.05～0.001%投与群では、メタコリン誘発性回腸(ileal)収縮の有意な低下が報告された(Gad et al., 1978)。

拍動している心筋細胞及び内皮様細胞の初代培養に、100 ppm (0.55 mM)BHAの添加培養したところ、細胞の形態変化なしに、拍動数(beat frequency) の顕著な減少及び細胞から培地へのLDHの放出が認められた。1000 ppm BHAによる1時間の細胞培養では、1時間以内に著しい細胞死が起きる結果となった。

ヒト、モルモット及びラットから分離した赤血球を1mM BHAと共に培養した場合、それぞれ12、70及び35%の細胞で血球破壊がみられた。ラット肝ミトコンドリアのリソソーム懸濁液(mitochondrial-lysosomal suspensions)をBHAと共に培養した場合には、ミトコンドリアのリソソーム膜(mitochondrial-lysosomal membrane)のタンパク質として、酸性ホスファターゼ(acid phosphatase) 及びグルタミン酸デヒドロゲナーゼが漏出する結果が得られた(Cumming & Walton, 1973)。

$8 \times 10^{-10}$  mol/Lの低濃度のBHAは、ブラジキニン(bradykinin)によって引き起こされるモルモットの平滑筋収縮を抑制する (Posati & Pallanich, 1970)。

ラット腸を用いた 2 mg/mL BHA の *in situ* 灌流試験では、グルコース及びメチオニンの吸収の減少を示したが、これは酪酸では示されなかった(Fritsch et al., 1975a)。400 µg/mL BHA では、ラットの糞細菌叢から分離した細菌培養の代謝(ガス発生(gas evolution)によって測定された)の抑制を引き起こした (Fritsch et al., 1975b)。

#### 急性毒性(Acute toxicity)(原文 p.7)

		LD <sub>50</sub>	
動物	経路	(mg/kg bw)	参照
マウス	経口	2000	Bunnell et al., 1955; Lehman et al., 1951
ラット	経口	2200-5000	Bunnell et al., 1955; Lehman et al., 1951

#### 短期試験 (原文 p.7)

##### ラット (原文 p.7)

下記のウサギの試験で記述されるように、ラットの短期混餌投与試験では、カリウム排泄に対する影響はみられなかった(Dacre, 1960)。

離乳したばかりの一群7匹のラットに、0、0.5、1、2及び3%BHAを6か月間混餌投与した。3%投与群のラ

ットは体重増加するほど十分量を食べなかった。しばらく2%の餌を投与した後、3%に戻した。2%投与群においても、摂餌量は最適ではなかった。病理組織検査では、BHAに起因する病理条件を明らかにできなかった(Wilder & Kraybill, 1948)。

ラットの一群26匹に、パンに添加する通常量の50倍量のBHAを食品添加物として、二酸化塩素、プロピオン酸ナトリウム、没食子酸プロピル、又はポリオキシエチレン-8-ステアレートとともに配合したパンを32週間投与した場合には、健康影響作用はみられなかった。用いたパンは、動物飼料の75%を占めた。BHAの毎日の投与量は、3.3~7.0 mg/kg体重であった(Graham et al., 1954; Graham & Grice, 1955)。

ラットに、0又は500-600mg/kg 体重の BHA(半数致死量(LD<sub>50</sub>)の1/5)相当量を10週間混餌投与した。試験動物は成長率の減少を示し、血中酵素(blood enzyme)、カタラーゼ(catalase)、ペルオキシダーゼ(oxidase)及びコリンエステラーゼ(cholinesterase)の活性が減少した。試験動物肝臓の化学分析は、対象群と比較して、リン脂質量の減少を示したが、脂質蓄積はなかった。組織と器官の組織学検査は、化合物に関連する効果を示さなかった(Karplyuk, 1962)。

### ウサギ (原文 p.8)

ウサギに、1日1 gの用量で5~6日間胃チューブにより強制投与した試験では、尿中への排泄がナトリウムは10倍、カリウムは20%増加した。細胞外液容積は低下し、これにより血漿ナトリウム濃度の何らかの明確な変化を妨げた。投与後5日目に血清カリウムが低下し、カリウムは筋肉細胞内ナトリウムに置換された。心筋では、その変化は骨格筋より遅く起こり、また、不明瞭でもあった。抗酸化剤は、腎臓に直接影響する可能性がある。例えば、副腎皮質は球状帯(zona glomerulosa)での変化を示し、ナトリウム及びカリウムの減少と関連するアルドステロンの尿中排泄に増加がみられた(Denz & Llaurodo, 1957)。

### イヌ (原文 p.8)

イヌに、BHA 0、0.3、30及び100mg/kg体重の用量を1年間投与した時、悪影響は観察されなかった。腎機能、主な組織の血液学及び組織病理学的検査結果は正常であった。臓器重量は正常値の範囲内であり、明らかなBHAの蓄積は全くみられなかった。BHA 100mg/kg体重の投与においても、尿中で減少する物質に、明らかな増加はみられなかった。試験では、一群3匹のイヌが、それぞれの投与群で用いられた(Hodge et al., 1964)。

離乳したばかりの仔イヌの一群4匹に、BHA 0、5、50及び250mg/kgを15ヶ月間投与した。血液パラメーター結果では、イヌの全般的健康及び体重増量は、正常範囲内にあった。試験群の尿には、対照群と比べて無機硫酸に対する総硫酸塩及びグルクロン酸塩がより高い比率で含まれていた。剖検時の組織及び臓器の顕微鏡検査では、試験中の最高用量群の動物の4匹中3匹が肝細胞変性(liver cell degeneration)及び慢性顆粒球状浸潤(diffuse granulocytic infiltration)を示した。これらの動物の肝臓の小葉構造は正常であり、過度の結合組織の増殖はみられなかった(Wilder et al., 1960)。

## サル (原文 p.9)

成雌アカゲザル一群6頭に、50mgBHT及び50mgのBHA/kg体重に相当するBHT及びBHAの混合物を混餌投与した。別の一群6頭の成雌アカゲザルを対象群として用いた。サルに、繁殖前の一年間混餌投与した後、165日間の妊娠期間を含み、さらに1年間混餌投与した。ヘモグロビン、ヘマトクリット、総白血球数及び白血球細胞数の差異、コレステロール、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、総タンパク質、血清GPT(glutamic pyruvic transaminase、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)、及び血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼを含む血液学的検査を、一ヶ月間隔で実施した。体重は一ヶ月間隔で測定した。月経周期は、全試験期間中記録した。

雌は、混餌投与しなかった雄アカゲザルと1年後に交配した。妊娠中には全血球計算が妊娠40、80、120、160日、及び分娩後の30、60日に行われた。前投与群のサルから5頭、及び対象群から6頭が生まれた。血液学的評価は1、5、15、30及び60日に、投与群及び対象群の幼児サルに対して行われ、2歳まで観察を続けた。一ヶ月間のホームケージ心理学的観察(psychological home cage observation)のため、投与群及び対象群の生後3ヶ月の児サルが2頭ずつ、母動物から隔離された。試験期間、臨床異常は親動物及び子動物ともに観察されなかった。試験動物の妊娠には合併症はなく、正常な幼児が生まれた。暴露期間に生まれた幼児は、無関係の原因で死亡した幼児1頭を除き、健康であった。生後3ヶ月のホームケージ観察は、何の行動異常も示さなかった(Allen, 1974, 1976)。

## 長期試験 (原文 p.9)

### ラット (原文 p.9)

離乳したばかりのラットの一群15匹以上にラード中の0、0.05、0.5及び1%のBHA (全飼料の0、0.003、0.03及び0.06%)を22か月間混餌投与した。全投与群において体重増加が同程度であった。生殖は正常であり、同じ混餌投与した若いラットは正常に成長した。同腹児数、体重、体重増加及び死亡率は、前投与群において比較可能であった。試験1年後、コロニーは感染性呼吸疾患を患い、多くが死亡した。群中の死亡率に有意な差はなかった。残りの動物は22か月後にと殺した。病理組織検査では、酸化防止剤に起因する変化は示されなかった(Wilder & Kraybill, 1948年)。

2%BHAをラード中に含む飼料(全飼料の0.12%)を投与した追加投与群に、同様の一連の試験を行った。一群17匹のラットを設定した。生存ラットは21か月後にと殺した。組織病理学検査では、対象群と比較して有意な差は示されなかった。成長期中の体重増加の割合速度は無変化であり、すべてのラットはすべての点から正常に見えた(Wilder & Kraybill, 1948)。

一群40匹のラットに2年間混餌投与試験で、高用量のBHA(飼料の0.5%)を用いたいくつかの例では、成

熟時体重のわずかな減少及び相対的な肝臓重量の増加がみられた。しかし、下記のいずれにも影響はみられなかった：生殖周期、脾臓、腎臓、肝臓又は皮膚の組織構造；全体重に対する心臓、脾臓又は腎臓の重量比率；死亡率。BHAの毒性は、脂肪摂取(dietary fat load)による影響を受けなかった(Brown et al., 1959)。

ラットに、0及び500-600 mg/kg体重 BHA(半数致死量(LD<sub>50</sub>)の1/5)相当量を1年間混餌投与した。この試験中、ラットを連続3世代繁殖させた。2世代に6か月間混餌投与した。BHA は、同腹児数、出生時体重、門歯出現日及び眼瞼開裂を測定した限りでは、生殖能に影響を及ぼさなかった。試験終了後の親動物及び児動物の組織及び臓器の剖検及び組織学的検査では、化合物に関連する影響は全く示されなかった(Karplyuk, 1962)。

#### ヒトボランティアにおける試験 (原文 p.10)

ヒトボランティアに、0.5～0.7mg/kg 体重 BHAが投与された。24時間以内に、グルクロニドとして尿中に22～77%が排泄された。尿中に未変化体BHAとして1%未満が排泄され、水酸化物の脱アルキル化は検出されなかった(Astill et al., 1962)。別の試験では、ヒトボランティアに標識<sup>14</sup>C-BHA(約0.5 mg/kg体重)を単回投与した。2日後に放射能の60～70%が尿中に排泄され、最終投与後11日まで(by day 11 post-dosing) 放射能の80～86.5%が尿中に回収された(Daniel et al., 1967)。

100 mg BHAのゼラチンカプセル単回投与された二人の健常成人男性(体重55と60 kg)の血漿中のBHA消失及び尿中の経時変化が測定された。投与後、血液サンプルを、0.5、1、2、4、6及び8時間に採取した。尿サンプルは、0～8、8～16、16～24、及び24～36時間の間隔で採取した。BHAの血中濃度の被験者間変動(inter-subjective variability)は大きかった。被験者の一人は、別の被験者が投与30分後に約220 nano g/mLのBHAピーク濃度に達したのに対し、投与2時間後に約600 nanog/mLのBHAピーク濃度が生じた。投与量の1%未満が、36時間後に尿中で排泄された。両被験者において尿中ピーク濃度(peak urinary levels)は投与後8～16時間に生じた(El-Rashidy & Niazi, 1979)。

#### コメント (原文 p.10)

ラット、マウス及びサルを用いたBHAの経口投与によるいくつかの代謝試験が行われた。試験用量では、ラットの肝酵素活性の変化はみられなかった。マウスの場合には、アリル炭化水素ヒドロキシラーゼ(arylhydrocarbon hydroxylase)の増加はみられなかったにも関わらず、シトクロムP<sub>450</sub>の増加がみられた。また、酵素の特性変化がみられた。一方、サルでは、いくつかの酵素活性が影響を受けたのに対し、シトクロムP<sub>450</sub>濃度は影響を受けなかった。この点では、乳児サルは、幼獣サルとは対照的にこれらの変化を示さなかった。BHAは血漿トリグリセリドを増加させた一方で、肝コレステロールの低下が観察された。

雌サルに、50 mg/kg体重の用量を交配前の1年間、混餌投与し、未投与の雄と交配したところ、正常な児動物を出産した。BHAは、試験項目のいずれにも影響を与えなかった。これらの試験には、若齢サルにおける行動観察と同様、血液学的検査及び臨床生化学検査も含まれていた。

BHAの突然変異誘発性活性が、いくつかの*in vitro*と*in vivo*系で試験された。これらの試験の評価は、BHAには変異原性がないことが示された。しかし、動物へのBHAの前投与は、いくつかの変異原性化合物の代謝を変化させる酵素を誘導する可能性がある。

BHAに関する新しい試験では、特に子宮内及び授乳期間中での薬物への暴露後における、新生児ラットの行動試験が利用可能となった。サルとは対照的に、ラットは暴露に起因する若干の機能障害を示した。さらに、最高用量では兎動物死亡率が増加した。

委員会は、SD ラットの多世代繁殖試験が完了するまで、暫定的一日摂取許容量(ADI)を、0～0.5 mg/kg体重に拡張した。

以前規定されたBHA、BHT及び没食子酸プロピルの混合物の生殖試験は、必要でないと考えられた。

#### 評価 (原文 p.11)

##### 無毒性量(Level causing no toxicological effect)。

ラット:250mg/kg 体重へ相当飼料中5000 ppm (0.5%)。

##### ヒトの一日摂取許容量(ADI)の評価(Estimate of acceptable daily intake for man)

0～0.5\* mg/kg 体重\*\*

追加試験又は情報

1982年までに必要

SD ラットにおける数世代繁殖摂食試験。

\*BHA、BHT、TBHQ又は3つの化合物の合計として。

\*暫定値である。

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1980）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性	ラット	15, 150, 1500 mg/kg	優勢致死率の増加、ただし異常値と考えられる。(Fabrizio, 1974)
亜急性毒性	ラット	5 x 15, 5 x 150, 5 x 1500 mg/kg	着床前喪失の有意な増加。(Fabrizio, 1974)
発がん性試験	マウス	1,200, 6,000 mg/kg	肺腫瘍発生頻度の増加無し。
	ラット	4.4 mmol/kg 体重	出血死及びプロトロンビン指数の変化無し。
2年間慢性毒性/発がん性	ラット	飼料の0.5%	体重のわずかな減少及び相対的な肝臓重量の増加。
3世代繁殖	ラット	0, 500~600 mg/kg 体重	生殖能に影響はみられず。
催奇形性	ラット	250~1000 mg/kg 体重	催奇形性なし。
	ウサギ	0, 5, 200, 400 mg/kg 体重	催奇形性なし。
変異原性： 復帰突然変異	サルモネラ菌	10, 100, 1000 µg/プレート	(+/-S9) 突然変異誘発性 陰性。
変異原性： 小核試験			該当する記載なし。
その他			暫定的 ADI は 0-0.5 mg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量

# ブチルヒドロキシアニソール 評価書訳と情報整理

JECFA 1983

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v18je06.htm>

FAS 18-JECFA 27/41, 1983



## ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1983) 目次

説明 (原文 p.1) .....	61
生物学的データ (原文 p.1) .....	61
生化学的側面 (原文 p.1) .....	61
酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響 (原文 p.1) .....	61
毒性試験 (原文 p.1) .....	61
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.1) .....	61
マウス (原文 p.1) .....	61
ラット (原文 p.2) .....	62
発がん性の強化又は抑制 (原文 p.2) .....	62
生殖及び行動試験 (原文 p.3) .....	64
甲状腺に対する BHT の影響に関する特殊試験 (原文 p.4) .....	65
出血性毒性に関する特殊試験 (原文 p.4) .....	65
コメント (原文 p.5) .....	66
評価 (原文 p.5) .....	67
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書: JMPR 1965) .....	68
略称 .....	70

## 原文 目次

原文ページ

<u>説明</u> .....	1
<u>生物学的データ</u> .....	1
<u>生化学的側面</u> .....	1
<u>酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響</u> .....	1
<u>毒性試験</u> .....	1
<u>発がん性に関する特殊試験</u> .....	1
マウス .....	1
ラット .....	2
<u>発がん性の強化又は抑制</u> .....	2
<u>生殖及び行動試験</u> .....	2
<u>甲状腺に対する BHT の影響に関する特殊試験</u> .....	4
<u>出血性毒性に関する特殊試験</u> .....	4
<u>コメント</u> .....	5
<u>評価</u> .....	5
<u>EXPLANATION</u> .....	1
<u>BIOLOGICAL DATA</u> .....	1
<u>BIOCHEMICAL ASPECTS</u> .....	1
<u>Effects on enzymes and other biochemical parameters</u> .....	1
<u>TOXICOLOGICAL STUDIES</u> .....	1
<u>Special studies on carcinogenicity</u> .....	1
Mouse .....	1
Rat .....	2
<u>Potentialiation or inhibition of carcinogenesis</u> .....	2
<u>Reproduction and behavioural studies</u> .....	2
<u>Special studies on the effect ps BHT on the thyroid</u> .....	4
<u>Special studies on haemorrhagic toxicosis</u> .....	4
<u>Comments</u> .....	5
<u>EVALUATION</u> .....	5

ブチルヒドロキシトルエン(BHT)

### 説明 (原文 p.1)

この物質は、1961年、1964年、1965年、1973年及び1980年にFAO/WHO合同食品添加物専門家会議によってヒトの一日摂取許容量(ADI)が評価された(附属書 I、文献6、8、11、32、40及び54を参照)。毒性学に関する学術論文は、1961年、1964年、1965年、1973年及び1976年、ならびに1980年に提出された(附属書 I、文献6、9、13、33、41及び55を参照)。

以前の評価以来、追加データが利用可能になっているため、次の学術論文の中で要約し、考察する。

### 生物学的データ (原文 p.1)

#### 生化学的側面 (原文 p.1)

#### 酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響 (原文 p.1)

Sprague-Dawleyラットの飼料中のBHTは、単離した肝ミクロソーム調整液のNADPH-チトクロムP-450還元酵素活性を顕著に抑制した。この影響は、BHTが*in vitro*で肝ミクロソームに添加されたときには認められなかった(Rikansら、1981年)。ラットに0.4%のBHTを混餌投与したところ、肝臓のGSH-S転移酵素活性の増加が認められたが、肺や腎臓では認められなかった。GSH還元酵素レベルは肝臓及び肺で増加した(Partridgeら、1982年)。さらに飼料中のBHTは、ラット肝ミクロソームタンパク質のプロトロンビンへの転換におけるカルボキシル化過程にも影響を与えることが示された(Takahashi & Hiraga, 1981年)。

サイクリックGMP(ジブチル又は8-ブロモの形として)をBHTに追加すると、**ミシェルダットン**※培養を抑制し、抗体産生のBHT抑制の逆転に影響した(Wess & Archer, 1982年)。

※原文はMishell-Dultonだが、Mishell-Duttonの間違いだと考えミシェルダットンと訳した

1、2-ジメチルヒドラジンを投与したラットのコロン染色質中では、腫瘍特有の抗原活性の増加が観察されたが、同時にBHTを投与することによりそれは消失した(Gabrelakら、1981年)。

### 毒性試験 (原文 p.1)

#### 発がん性に関する特殊試験 (原文 p.1)

#### マウス (原文 p.1)

マウス(B6C3F1)100匹を雌雄同数に分け、基礎飼料を6週間投与した後、0、20<sup>\*</sup>、100、又は5,000 ppm(0、0.02、0.1、又は0.5%)のBHTを96週間混餌投与した。飼料はBHTをCE-2(CLEA Japan, Inc., 東京)と混合し、適切な濃度でペレット化して作製した。試験期間終了時に生存していた動物はと殺した。完全な剖検を行った。また、主要な器官及び組織を顕微鏡検査した。試験中に死亡したマウスも剖検に供した。さらに、終末部血液サンプルは血液学的検査及び血清臨床生化学検査のために回収した。尿サンプルもまた検査した。試験中、摂餌量は投与群と対照群で同様であった。1,000及び5,000 ppm(0.1及び0.5%)投与群の雌の体重は対照群に比べて低く、それは5,000 ppm(0.5%)投与群の雄も同様であった。高用量群においていくつかの器官の絶対重量に小さな変化がみられた(唾液腺、心臓及び腎臓)。5,000 ppm(0.5%)投与群の雄では血清GOT及びGPTレベルが対照群よりも高かった。血液学的分析、血清及び尿分析で、他の化合物関連の影響は認められなかった。試験群及び対照群の双方でマウスの腫瘍性病変が報告された。最も発生頻度が高かった腫瘍は肺腺腫、肝臓の過形成結節と肝細胞癌、及び悪性リンパ腫であった。しかしながら、いかなるタイプの腫瘍の発生頻度に対しても、BHT投与群と対照群の間に統計学的に有意な差異はみられなかった(Shiraiら、1982年)。

※原文では200となっているが、20の間違いだと考え20と訳した。

## ラット (原文 p.2)

一群雄雌各57匹のWistarラット(7週齢)に、2,500又は10,000 ppm(0.25又は1%)のBHTを104週間混餌投与した。対照群は両性36匹から成っていた。試験期間終了時に生存していた動物はと殺し、完全な剖検を行った。主要な臓器及び組織は顕微鏡検査した。終末部血液サンプルが血液学的検査及び血清臨床生化学のために回収された。摂餌量は試験群及び対照群で類似していたが、高用量群では雌雄双方において体重増加は抑制された。肝臓の相対重量増加が全試験動物で観察され、雌では脾臓の重量が減少した。総血中コレステロールは全試験動物で上昇し、雌において赤血球数の増加が観察された。BHTを投与したラットは対照群に比べて腫瘍の全発生頻度がわずかに高かったが、有意な値ではなかった。雌のラットの過形成結節と脾臓癌の発生頻度、及び試験動物の下垂体腺腫と腺癌の発生頻度は対照群よりも高かった。しかしながら、低用量群の雌における下垂体腺腫の発生頻度を例外として、その違いは対照群と有意な差ではなかった。この影響が用量依存的ではなかったため、この試験条件下においては、BHTに発がん性はないと結論づけられた(Hirose,1980年)。

## 発がん性の強化又は抑制 (原文 p.2)

Swiss マウスの群に、1,000、250、又は50 mg/kgのウレタン又は0.9%のNaClを投与した。7日後、ウレタン投与した動物の半数及び対照動物の半数に300 mg/kgのBHTを腹腔内投与し、残りの動物はコーン油のみを投与した。13週間投与した。最初のウレタン投与から14～24週後に認められた肺当たりの腫瘍の数は、BHT投与した動物では有意に増加した。別の試験で、ウレタン注射と最初のBHT投与の間隔を6週間遅らせると、BHT投与に起因する腫瘍数は増加した。ウレタン注射の1週間後に始まるBHT投与の回数を13回から4回に減らすと、13回投与試験のときと同様、腫瘍<sup>\*</sup>発生の有意な増加が観察された。

しかしながら、1～2回のBHT投与は何ら有意な影響は与えなかった。マウスに13回のBHT前投与を行い、1週間後にウレタンを投与したところ腫瘍発生強化はなかった。BHTとウレタンを同時に注射したところ、ウレタンのみを投与した動物と比べて腫瘍<sup>※</sup>数は少ない結果となった。

肺腺腫の発生頻度がもともと低いマウス種(C57BL,C3H 及び BALB/C)にウレタンを投与した後BHTを多数回注射したところ、BHTの投与は、腫瘍<sup>※</sup>の発生頻度又は肺あたりの平均腫瘍数を有意に増加しなかった(Witschi & Lock, 1979年)。雄のA品種マウスに500 mg/kgのウレタンを腹腔内投与した1週間後、300 mg/kgのBHT又はBHA、500mg/kg、又はビタミンE、1,000 mg/kg<sup>※</sup>全てコーン油に溶解して、反復(週に1回、8週間)投与した。試験終了時にはBHTのみが腫瘍<sup>※</sup>の発生を有意に増加させることがわかった。BHA投与により発生する腫瘍<sup>※</sup>数は通常時より多かったが、統計学的に有意ではなかった。3-メチルコラントレンあるいはジメチルニトロソアミンを投与し、BHTを腹腔内投与したA/Jマウスでは、腫瘍<sup>※</sup>発生が増加した(Witscheら、1981年)。別の試験で、雄のA/Jマウスにウレタンを単回腹腔内注射し、その後8週間、0.75%BHT又はBHA又はエトキシキンを飼料に混合して週に1度又は継続的に投与した。ウレタン投与の4ヶ月後に肺腫瘍<sup>※</sup>発生を評価した。いずれの試験の条件下においても、飼料中のBHTは肺腫瘍<sup>※</sup>形成を強化したが、BHAやエトキシキンではその限りではなかった。ウレタン投与に先立つ2週間、マウスにBHA又はBHTのいずれかを含む飼料を投与し、その後4ヶ月従来通りの研究室飼料で維持した。BHT飼料は腫瘍<sup>※</sup>発生に何ら影響はなかったが、BHA投与は平均腫瘍<sup>※</sup>数を有意に減少させた(Witschi, 1981年)。

※原文ではrumourとなっているが、tumourの間違いだと考え「腫瘍」と訳した。

※either 300 mg/kg BHT, or BHA, 500 mg/kg, or Vitamin E, 1000 mg/kg, all dissolved in corn oil.(原文の物質と量単位の区切りが不明瞭)

別の試験では、A/JマウスにBHTを単回腹腔内投与した(400 mg/kg)が、それは急性肺障害を引き起こし、6～7日間肺細胞を増殖するのに十分な量であった。ウレタンはこの期間に注入されたミニポンプにより連続的に投与した。細胞分裂期間中、ウレタンが連続的に存在することによって腫瘍<sup>※</sup>数が増大するという結果にはならなかった。ウレタンを注射したマウスに、SKF525A(2-diethylaminoethyl-2-, 2-di-phenylvalerate塩酸塩)及びBHT(SKfは通常BHT投与の後みられる肺細胞分裂を抑制する)、又はBHTのみのいずれかを腹腔内投与した場合、その両投与群において、ウレタンを投与した対照群と比較して明らかに有意な肺腫瘍発生増加がみられた(Witschi & Kehrer, 1982年)。

他の処理(例えば95-100%の酸素)によって引き起こされた頻回の肺細胞分裂は腫瘍発生を強化しないことも示された(Witschi & Kehrer,1982年)。

Sprague-Dawley ラットの雌の群に 7-12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) あるいは nitrosomethylurea (NMU)を投与し、その後 0又は0.3%BHTを加えた飼料により30週間混餌投与した。DMBAを投与して対照食で維持されたラットでは、27週までの腫瘍の発生頻度(乳腺)は100%であった。一方、BHTを添加した飼料で維持されたラットでの発生頻度は試験終了時まで54%であった。NMU投与に誘発される腫瘍<sup>※</sup>発生頻度に対し、飼料中のBHTには何ら影響はみられなかった(King, McCay & Kosanke, 1981年)。

※原文ではrumourとなっているが、tumourの間違いだと考え「腫瘍」と訳した

### 生殖及び行動試験 (原文 p.3)

生後6週のラット(Wistar outbred, SPF)一群各46匹に、0又は0.5～0.9%のBHTを混餌投与した。試験期間中のBHT飼料摂取が500 mg/kg相当になるように調製した。19週で、F<sub>0</sub>世代を交配させた。F<sub>1</sub>世代出産の24時間後、同腹児数を8匹まで減らし、その半分を児動物交換した(cross-fostered)。試験期間中、F<sub>0</sub>世代ラットの生殖能力に加え、親動物と児動物の体重、及び児動物の発生事象をモニターした。F<sub>1</sub>世代に対して聴覚視覚機能と運動調整試験(locomotive coordination)を実施した。F<sub>1</sub>動物は生後25日で剖検し、脳の組織学的検査を行った。試験動物の体重及び体重増加は対照群に比べると減少し、これは妊娠期間を通して続いた。妊娠期間、平均体重及び同腹児数は投与群及び対照動物で類似していた。F<sub>1</sub>児動物の平均体重及び体重増加は投与を受けた母動物に育てられた児動物では有意に減少していた。子宮内でBHTに暴露された児動物は、非投与の母動物と育てられた場合に、対照動物と比べると比較的発達が遅いこともわかった。子宮内、及び(又は)、母乳を通じてBHTに暴露された児動物は、平均脳死細胞数が高くなることに加え、検査した行動様式においても変化を示した(Meyer & Hansen,1980年)。

詳細なコメントは、生殖と催奇形性に対するBHTの影響の試験に関して化学製造業者協会(CMA)(1983)によって提出された。その主なコメントはMeyer&Hansen(1980年)による試験と同様に、前回1980年にFAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)によって調査されたBrunnerらの試験(1978年)及びVorheesらの試験(1981年)に関係があった。

Brunnerら、そしてVorheesらの試験では、試験結果から、0.125%のBHTを混餌投与した母ラットに育てられた児動物の生存率や発達は通常通りであると示されたと結論づけられた。0.25%のBHTを混餌投与した母動物に育てられた児動物において、離乳後の発達は通常であったと観察されたが、0.25%及び0.5%を混餌投与した母動物に育てられた児動物では、離乳後の死亡率増加が起こり、0.5%群の児動物では発達遅延が生じた。Meyer & Hansenの試験(1980年)の場合は、0.5%のBHTを含む飼料を与えた母ラットに育てられたラットで、発達遅延がみられた。0.25%及び0.5%のレベルでは、その影響はBHTが母ラットに与えた有毒影響が原因かもしれないし、あるいは、授乳による直接的毒性が原因かもしれない。BrunnerやVorheesの試験内容に関し、多くの疑問点も挙げられた。疑問点とは：

[1] 児動物選択;8匹未満の生存児動物の同腹児は廃棄した。[2] 超過死亡率は影響を受けた同腹児でなく児動物計算の観点から報告された。この試験データは米国食品医薬品局(FDA)(1983)によって監査された。生データは中間用量及び高用量のBHT児動物の死亡率増加という著者の観察を裏付けるものであると結論された。しかしながら、超過死亡率は限られた数の同腹児で起きた。例えば、0.5%投与群では、19腹で報告された60の死亡例のうち、49例は5つの同腹で起こった。42の死亡例のうち、21例は2つの同腹で起こった。そして0.125%のレベルでは12の死亡例のうち、11例は1つの同腹で起こった。高用量群においても、8又はそれ以下の児動物数が増加し、12児動物以上の同腹はみられなかった。その他の用量群では同腹児数は対照群と同等であった。

Meyer & Hansen試験(1980年)の場合は、CMAコメントとして「試験で使用されたBHT濃度が母動物に毒性を引き起こし、それが直接的あるいは間接的に児動物に影響を与えた」との言及がある。いくつかの種のマウスやラットにおける催奇形性試験及び(又は)1世代生殖試験に関する報告書も、ラットの3世代生殖試験とともにコメントの中で提起され、それは飼料中の0.1%BHTが「無影響」であることを支持するものであった。

#### 甲状腺に対するBHTの影響に関する特殊試験 (原文 p.4)

雄のMOL/WIST SPFラット、非近交系種(およそ200g)を試験に用いた。ヨウ素含有を約12 µg/100 gに調製した半人工飼料にBHTを加えた(ラット用栄養所要は15 µg/100 g)。1つの試験で、ラットに0、500、又は5,000 ppm(0、0.05、又は0.5%)のBHTを8、26、及び90日間混餌投与し、甲状腺における<sup>125</sup>Iの取り込みを測定した。飼料中のBHTの存在は、全試験期間中で甲状腺による<sup>125</sup>Iの取り込みを著しく増加させる結果となった。ラットに様々な量のヨウ素(12、150、又は300 µg/100 g)を含む飼料にBHTを混合して30日間投与したところ、BHT投与群では対照群と比べ甲状腺の重量が有意に増加した。ラットの飼料中のBHTは、5,000 ppm(0.5%)投与群では肝臓及び甲状腺重量を増加させたが、500 ppm(0.05%)では甲状腺のみの重量が増加した。BHTは血液中のT<sub>3</sub>及びT<sub>4</sub>の濃度を変化させなかった。BHT含有飼料を与えて13日後ではチロシンの生物学的半減期は増加したが、75日後には元に戻った。28日間飼料中でBHT(5,000 ppm(0.5%))を投与されたラットの甲状腺腺を電子顕微鏡検査した結果、濾胞細胞数の増加が観察された(Sondergaard & Olsen, 1982年)。

#### 出血性毒性に関する特殊試験 (原文 p.4)

BHTに関する半数致死量(LD<sub>50</sub>)(腹腔内投与)は、近交系及び非近交系の雄ラットの種により大きな違いを示した。

品種	LD <sub>50</sub>	(mg/kg)
DBA/2N(近交系)		138
BALB/cNnN(近交系)		1,739
C57BL/6N(近交系)		917
ICR-JCL(非近交系)		1,243

全投与群で、BHT投与後4~6日に死亡が起こり、肺の重い浮腫及び出血を伴った(Kawanoら、1981年)。

ラット(Sprague-Dawley)の雄にBHT 0又は1.2%を1週間混餌投与した。BHTを投与したラットは大半の臓器において出血を示した。エバンスブルーの精巣上体への漏出は有意に増加した。さらに、ADPの抑制は血小板凝集を誘発し、血小板因子3の可溶性の減少が観察された。血漿プロトロンビン因子は減少したが線維

素溶解活性(fibrinolytic ※activity)は変化しなかった(Takahashi & Hiraga, 1981年)。

※原文ではfibrinolyticとなっていたが、fibrinolyticの間違いと考え、線維素溶解と訳した。

もう1つの試験では、多くの種のラット(Sprague-Dawley、Wistar、DonryuそしてFischer)、マウス(ICR、ddY、DBA/c、C3H/He、BALB/CaAnそしてC57BL/6)、New Zealand White-Satウサギ、ビーグル犬及び日本ウズラに、BHTを混餌投与し(ラットとマウスには飼料中1.2%、ウズラには1%、ウサギには170又は700 mg/kg体重、イヌには173、400、又は760 mg/kg体重を14～17日間)、出血反応が試験された。全品種の雄ラット及びFischer種の雌ラットで出血性死亡が起こった。Donryu及びSprague-Dawley種の雌ラットでは明確な出血はみられなかった。ウサギ及びイヌでは出血性の影響は認められなかった(Takahashiら、1980年)。

## コメント (原文 p.5)

最近のマウスにおける生涯試験及びラットにおける104週間試験は、その試験条件下では、BHTに発がん性がないことを示した。

マウスの感受性種を用いた、化学物質による肺腫瘍発生の強化におけるBHTの役割に関する追加試験が利用可能である。また、試験動物に多環式炭化水素又はニトロソアミンのいずれかを投与したとき、BHTはこのアッセイ系における促進物質として有効であることも示された。ウレタン誘導の肺腫瘍の促進物質として作用するBHTの最低用量は確立されていない。化学的発がん物質によって引き起こされる肝臓の発がんを促進する可能性に関する追加的試験は利用可能ではない。BHTは化学的発がん物質を与えた後に投与した場合のみ、促進物質として作用するが、投与前ではその作用はみられない。BHTはまた、ある種の化学的発がん物質の作用を阻害することも明らかになった。その防護効果は、BHTが原因で生じる酵素誘導に起因する発がん物質の代謝変化と関連づけられる可能性がある。BHTの毒性学的評価の有用な根拠となる以前にこれらの試験を解釈する手がかりを得るためには、BHTの化学的発がん物質に対する阻害又は促進作用のメカニズム同様、その条件に関するさらに多くの情報が必要である。

授乳中に子宮内でBHTに暴露したラットに対してBHTが与える行動的発達の影響に関する最近の試験の結果、BHTは児動物と親動物双方の体重増加を有意に抑制する原因となることがわかった。児動物の脳の病変だけでなく、行動パターンの変化も認められた。しかしながら、この試験では1つの用量(飼料中0.5%のBHT)だけが使用され、また、この用量は母動物に対して有毒であった。Vorheesらの試験(1981年)から得られたデータの詳細な分析によると、中用量及び高用量群(0.5%及び0.25%)の両方で、超過死亡率は同腹効果を反映している可能性がある。データから、BHTが誘発する生殖影響に関し、「無影響」なレベルは、ラットの飼料中0.1%であると示されている。一世代生殖試験を含むラットの生涯混餌試験が進行中である。この試験で得られるデータから、ラットの生殖試験におけるBHTの「無影響レベル」の裏付けとなる追加的情報が提供される予定である。

ある種のマウスでみられたが、イヌやある種のラットではみられなかったBHTの大量投与の出血性副作用は、ビタミンKの代謝を阻害する能力と関係がある可能性がある。

ラットに500又は5,000 ppm(飼料中0.05又は0.5%のBHT)を投与したところ、ヨウ素を取り込む甲状腺の機能とともに、甲状腺の重量も有意な増加を示した。しかしながら、10,000 ppm(1%)までBHTを含んだ飼料で維持したラットの生涯試験では甲状腺への有害影響はみられなかった。

以前報告されたマイクロソーム酵素の誘導、生殖及び行動への影響に関する試験により、「無影響量」決定の根拠が示されている。

## 評価 (原文 p.5)

### 毒性上の無影響量

マウス: 飼料中 5,000 ppm(0.5%) 250 mg/kg相当

ラット: 飼料中 1,000 ppm(0.1%) 50 mg/kg相当

### ヒトの暫定一日摂取許容量の推定

0~0.5\* mg/kg 体重

### 1986年までに必要な今後の試験あるいは情報

進行中と報告されている一世代生殖試験を含む生涯混餌試験の提出

\*一日摂取許容量(ADD):BHA、BHT及びTBHQとして、単独にあるいは組み合わせ中で。

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1983)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
96週間発がん性に関する特殊試験	マウス	0、20、100、又は 5,000 ppm(0、0.02、0.1、又は0.5%)	1,000及び5,000 ppm(0.1及び0.5%)投与群の雌、5,000 ppm(0.5%)投与群の雄の体重は対照群に比べ低かった。高用量群で臓器の絶対重量に微小変化(唾液腺、心臓及び腎臓)。5,000 ppm(0.5%)投与群雄で血清 GOT 及び GPT レベルが対照群よりも高かった。試験群及び対照群の動物双方で腫瘍性病変。最も発生頻度が高かった腫瘍は肺の腺腫、肝臓の過形成結節と肝細胞癌、そして悪性リンパ腫であった。
104週間発がん性に関する特殊試験	ラット	2,500 又は 10,000 ppm(0.25 又は 1%)	雌:過形成結節と膀胱癌の発生頻度、及び試験動物の下垂体腺腫と腺癌の発生頻度は対照群よりも高かったが、低用量では下垂体腺腫の発生頻度を例外として、その違いは対照群と有意な差ではなかった。この影響が用量依存的なものではなかったため、この試験の条件下においては、BHT に発がん性はないと結論づけられた。
発がん性の強化又は抑制(腹腔内)	Swiss マウス	300 mg/kg	1,000、250、又は 50 mg/kg のウレタン又は 0.9% の NaCl を投与し、7日後、ウレタン投与した動物の半数及び対照動物の半数に BHT を 13 週間投与。残りはコーン油のみ投与。最初のウレタン投与から 14~24 週後の肺当たりの腫瘍数が有意に増加。ウレタン注射と最初の BHT 投与の間隔を 6 週間遅らせると BHT 投与が原因となる腫瘍数増加。ウレタン投与の 1 週間後に始まる BHT 注射の数を 13 回から 4 回に減らすと、13 回投与試験のときと同様、腫瘍発生の有意な増加。 1~2 回の BHT 投与では影響なし。13 回 BHT 前投与 1 週間後にウレタン投与では、腫瘍産生の強化はなし。BHT とウレタンを同時に投与したところ、ウレタンのみを投与した動物と比べて腫瘍数は少ない結果となった。
発がん性の強化又は抑制(腹腔内)	マウス(C57BL,C3H 及び BALB/C)	記載なし	ウレタン投与後 BHT を多数回注射で、腫瘍発生頻度又は肺あたりの平均腫瘍数の有意な増加なし。
発がん性の強化又は抑制(腹腔内)	A 種マウス雄	300 mg/kg	ウレタン 500 mg/kg 腹腔内投与の 1 週間後、繰り返し(週に 1 回、8 週間)BHT 又は BHA(500mg/kg)、又はビタミン E、1,000 mg/kg を、コーン油に溶解させて投与。BHT のみが腫瘍発生を有意に増加。 BHA:腫瘍の数は通常より多かったが、統計学的に有意ではない。3-メチルコラントレンあるいはジメチルニトロソアミンを投与され、BHT を腹腔内投与された A/J マウスは腫瘍発生増加。
発がん性の強化又は抑制(経口)	A/J マウス雄	0.75%	・ウレタンを単回腹腔内投与後 8 週間、BHT 又は BHA 又はエトキシキンを週 1 度又は継続的に投与。 BHT:肺腫瘍発生強化、BHA やエトキシキン:強化しない。 ・ウレタン投与に先立つ 2 週間、BHA 又は BHT を与え、その後 4ヶ月従来飼料で維持。BHT:腫瘍発生への影響なし、BHA:平均腫瘍数を有意に減少。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
発がん性の強化又は抑制(経口)	A/J マウス	400 mg/kg	単回腹腔内投与:急性肺障害(6~7 日間肺細胞増殖)。ウレタン(ミニポンプ連続的投与):腫瘍数増大なし。ウレタン及び、SKF525A 及び BHT、又は BHT のみ(腹腔内投与):両方において、ウレタン投与対照群と比較して明らかに有意な肺腫瘍発生の増加。
発がん性の強化又は抑制(経口)	記載なし	記載なし	他の処理(例えば 95-100%の酸素)によって引き起こされた頻回の肺の細胞分裂は腫瘍発生を強化しない
発がん性の強化又は抑制(経口)	Sprague-Dawley ラット雌	0 又は 0.3%	(DMBA)あるいは (NMU)を投与後 BHT を 30 週間投与。DMBA を投与して対照食で維持:27 週までに腫瘍発生頻度(乳腺)は 100%。 BHT:試験終了時まで 54%。 NMU 誘発腫瘍の発生頻度に影響なし。
生殖及び行動試験(経口)	ラット(Wistar outbred, SPF)	0 又は 0.5 ~ 0.9% ( 500 mg/kg 相当)	体重及び体重増加の減少(F0 妊娠期間中)。平均体重及び 1 腹胎児数は試験動物と対照動物で類似。F1 児動物の平均体重及び体重増加は投与を受けた母動物に育てられた児動物では有意に減少。子宮内で BHT に暴露した児動物は、非投与の母動物と育てられた場合に、対照動物と比べると比較的発達が遅い。子宮内、及び(又は)、母乳を通じて BHT 暴露児動物は、脳の死細胞平均数が高く、行動様式も変化。0.5%の BHT を含む飼料を与えた母ラットに育てられたラットで、発達遅延がみられた。0.25%及び 0.5%のレベルでは、その影響は BHT が母ラットに与えた有毒影響が原因かもしれないし、あるいは、授乳による直接的毒性が原因かもしれない。いくつかの種のマウスやラットにおける催奇形性試験及び(又は)1世代生殖試験報告書も、ラットの 3 世代生殖試験とともにコメントの中で提出され、飼料中の 0.1%BHT が「無影響」であることを支持するものであった。(Mayer & Hansen)
生殖及び行動試験(経口)	ラット	0.125%、0.25%、0.5%	0.125%BHT 飼料を与えた母ラットに育てられた児動物の生存率や発達は通常通り。0.25%BHT 飼料を与えた母動物に育てられた児動物は、離乳後の発達は通常、0.25%及び 0.5%飼料を与えた母動物に育てられた児動物は離乳後の死亡率増加、0.5%群の児動物では発達の遅れが生じた。多くの疑問点も挙げられたが、生データは中間用量及び高用量の BHT 児動物の死亡率増加という著者の観察を裏付けるものだと結論が下された。しかしながら、超過死亡率は限られた数の同腹児で起きた。(Brunner & Vorhees)
甲状腺に対する BHT の影響に関する特殊試験(経口)	MOL/WIST SPF ラット雄非近交系品種(およそ 200g)	0、500、又は 5,000 ppm(0、0.05、又は 0.5%)	全試験期間中で甲状腺による 125I の取り込みを著しく増加。甲状腺の重量が有意に増加。5,000 ppm(0.5%)では肝臓と甲状腺の重量を増加。500 ppm(0.05%)では甲状腺のみの重量増加。血液中の T3 及び T4 の濃度変化なし。投与 13 日後ではチロシンの生物学的半減期は増加、75 日後には元に戻った。28 日間 5,000 ppm(0.5%)で甲状腺腺の濾胞細胞数の増加。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
出血性毒性に関する特殊試験(腹腔内投与)	ラット	記載なし	LD50 は、近交系及び非近交系の雄ラットの品種により相当な違いを示した。すべてのケースで、BHT 投与後 4~6 日で死亡が起こり、肺の重い浮腫及び出血を伴った。出血性毒性に関する特殊試験(原文 p.4)の表参照
出血性毒性に関する特殊試験	ラット雄 (Sprague-Dawley)	0 又は 1.2%、1 週間	雄: 大半の臓器で出血。エバンスブルーの精巣上体への漏出の有意な増加。ADP 抑制による血小板凝集誘発、血小板因子 3 の可溶性減少。血漿プロトロンビン因子は減少したが線維素溶解活性は未変化
出血反応試験(経口)	ラット (Sprague-Dawley、Wistar、Donryu、Fischer)	1.2%、14~17 日間	全品種の雄のラット及び Fischer 種の雌ラットで出血性死亡が起こった。Donryu 及び Sprague-Dawley 種の雌ラットでは明確な出血はなかった。
出血反応試験(経口)	マウス(ICR、ddY、DBA/c、C3H/He、BALB/CaAn、C57 BL/6)	1.2%、14~17 日間	記載なし
出血反応試験(経口)	New Zealand White-Sat ウサギ	170、700 mg/kg 体重、14~17日間	影響なし
出血反応試験(経口)	ビーグル犬	173、400、760 mg/kg 体重、14~17日間	影響なし
出血反応試験(経口)	日本ウズラ	1%、14~17 日間	記載なし
その他			ADI: 0-0.5 mg/kg 体重 毒性的無影響量: マウス 5,000 ppm(0.5%) (250 mg/kg に相当) ラット 1,000 ppm(0.1%) (50 mg/kg に相当)

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量

# ブチルヒドロキシアニソール 評価書訳と情報整理

JECFA 1986

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v21je02.htm>

FAS 21-JECFA 30/3, 1986



## ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1986) 目次

説明 (原文 p.1) .....	76
生物学的データ (原文 p.1) .....	76
生化学的側面 (原文 p.1) .....	76
酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響 (原文 p.1) .....	76
毒性試験 (原文 p.2) .....	77
胃に対する BHA の影響に関する特殊試験 (原文 p.2) .....	77
ラット (原文 p.2) .....	77
変異原性に関する特殊試験 (原文 p.2) .....	78
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (原文 p.3) .....	79
結腸 (原文 p.3) .....	79
前胃と膀胱 (原文 p.3) .....	79
胃の腫瘍 (原文 p.3) .....	80
肝臓 (原文 p.3) .....	80
肝臓と膀胱 (原文 p.4) .....	80
肺 (原文 p.4) .....	80
乳腺腫瘍 (原文 p.4) .....	81
膵臓 (原文 p.4) .....	81
分娩時の影響 (原文 p.4) .....	81
ラットの前胃に対する BHA の影響の可逆性に関する特殊試験 (原文 p.4) .....	81
種差に関する特殊試験 (原文 p.6) .....	83
マウス (原文 p.6) .....	83
ハムスター (原文 p.6) .....	83
モルモット (原文 p.6) .....	83
イヌ (原文 p.6) .....	83
豚 (原文 p.7) .....	84
サル (原文 p.7) .....	84
ラットの前胃に対する構造関連物質の影響に関する特殊試験 (原文 p.7) .....	84
ヒトの試験 (原文 p.7) .....	85
代謝 (原文 p.7) .....	85
コメント (原文 p.7) .....	85
評価 (原文 p.8) .....	86
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書: JECFA 1986) .....	87
略称 .....	93

## 原文 目次

原文ページ

説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響	1
毒性試験	2
胃に対する BHA の影響に関する特殊試験	2
ラット	2
変異原性に関する特殊試験	2
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験	3
結腸	3
前胃と膀胱	3
胃の腫瘍	3
肝臓	3
肝臓と膀胱	4
肺	4
乳腺腫瘍	4
膵臓	4
分娩時の影響	4
ラットの前胃に対する BHA の影響の可逆性に関する特殊試験	4
種差に関する特殊試験	6
マウス	6
ハムスター	6
モルモット	6
イヌ	6
豚	7
サル	7
ラットの前胃に対する構造関連物質の影響に関する特殊試験	7
ヒトの試験	7
代謝	7
コメント	7
評価	8
EXPRANATION	1
BIOLOGICAL DATA	1
Biochemical aspects	1

Effects on enzymes and other biochemical parameters .....	1
Toxicological studies .....	2
Special studies on the effect of BHA on the stomach .....	2
Rats .....	2
Special studies on mutagenicity .....	2
Special studies on potentiation or inhibition of carcinogenicity .....	3
Colon .....	3
Forestomach and bladder .....	3
Gastric tumours .....	3
Liver .....	3
Liver and bladder .....	4
Lung .....	4
Mammary tumours .....	4
Pancreas .....	4
Perinatal effects .....	4
Special studies on reversibility of the effect of BHA on the rat forestomach .....	4
Special studies on species differences .....	6
Mice .....	6
Hamsters .....	6
Guinea pigs .....	6
Dogs .....	6
Pigs .....	7
Monkeys .....	7
Special studies on the effect of structurally-related substances on the forestomach of the rat .....	7
Human studies .....	7
Metabolism .....	7
Comments .....	7
EVALUATION .....	8

## ブチルヒドロキシアニソール(BHA)

### 説明 (原文 p.1)

この物質は、FAO/WHO合同食品添加物専門家会議の第6回、9回、17回、20回、24回、26回、及び27回会議で、ヒトの一日摂取許容量が評価された(附属書1、文献6、11、32、41、53、59、及び62参照)。毒性学的研究論文又は研究論文追補が第6回、17回、20回、24回、及び27回会議の後発行された(附属書1、文献6、33、42、54、及び63参照)。

委員会の第27回会議(附属書1、文献62参照)で、暫定一日摂取許容量(ADI)0~0.5 mg/kg体重(BHT及びTBHQのグループADI)が継続されたが、BHAがラットやハムスターの前胃における過形成、乳頭腫、及び腫瘍を引き起こすことが、BHAのヒトに対する安全性評価に適切かどうかを判断するに十分な試験は、まだこれからである。特に要求されたことは、BHAの前胃における影響に関わるメカニズムを決定する試験とともに、イヌ、豚、サルのような前胃を持たない種の胃で過形成が誘発されるかどうかを示す試験の提出である。多世代生殖試験も要求された。

前の評価以来、第27回委員会によって要求された試験のうちのいくつかの結果を含む追加データが利用可能になっており、次の研究論文追補で要約され、議論される。

### 生物学的データ (原文 p.1)

#### 生化学的側面 (原文 p.1)

#### 酵素及び他の生化学的パラメーターに対する影響 (原文 p.1)

0.75%のBHAを混餌投与したマウスでは、肝臓のシトクロムP-450レベル、アミノピリン脱メチル化酵素活性、あるいはベンゾ(a)ピレン単酸化酵素活性に変化はみられなかった。しかしながら、他のミクロソームの混合機能酸化酵素(NADPHシトクロム還元酵素及びアニリン水酸化酵素)及び他の酵素活性(グルタチオン・レダクターゼ及び肝臓の細胞質ゾルグルタチオンS転移酵素)に有意な増加がみられた。さらに、肝臓、肺、腎臓及び小腸の非タンパク質性チオール類のレベルで著しい増加があった(Chaら、1983年)。

BHAで飼育したラット由来の肝ミクロソーム調製液は仔牛胸腺DNAに結合するベンゾ(a)ピレンからの反応生成物の形成率の増加を示さなかったが、その増加は他の抗酸化剤を投与したラット由来のミクロソーム調製液では観察された(Dockら、1982年a、Kahl&Kahl,1983年)。

マウスのBHA混餌投与により、肝臓核中の単酸素添加酵素系の成分が変化し、BHAを混餌投与したマウスからの肝臓核とのインキュベーションでは、ベンゾ(a)ピレン代謝物と核高分子との結合が阻害された。しかしながら、DNAを追加したベンゾ(a)ピレンをBHA飼育マウスの肝ミクロソームとインキュベートした場合は、ベンゾ

(a)ピレン代謝物と核高分子との結合阻害は起こらなかった(Hennigら、1983年)。

マウスの飼料中へのBHA(14日間、7.5 g/kg体重)の混餌投与により、主な肝グルタチオンS転移酵素の濃度を12倍増加させる結果となった。その合成の割合及びタンパク質合成に関するmRNAもまた増加した(Pearsonら、1983年)。

肝ミクロソーム酵素とベンゾ(a)ピレン代謝に対する飼料中BHAの影響を、マウスの雄雌で比較する試験において、両性ともBHA投与に対して類似の反応を示すと考えられた(Dockら、1982年b)。

0.5%のBHAを混餌投与した雌のマウス由来の肺ミクロソーム調製液では、ベンゾ(a)ピレン代謝の減少が示され、他の代謝物の比率が変化した(Sydorら、1984年)。

マウスにおいて、飼料中の、又は局所的に塗布したBHAは、12-1-テトラデック・アノイルフォルボール-13-アセテート(12-1-tetradec-anoylphorbol-13-acetate)によって誘発された表皮のオルニチン脱炭酸酵素活性の抑制を引き起こした(Kozumboら、1983年)。

BHAはグアニル酸サイクラーゼ機能を阻害することによりマウスの*in vitro*免疫応答を抑制する。その抑制は、培養物に外来性ジブチリルサイクリックGMPあるいはCa<sup>+2</sup>のいずれかを追加することにより消失した(Wess & Archer, 1982年)。

## 毒性試験 (原文 p.2)

### 胃に対するBHAの影響に関する特殊試験 (原文 p.2)

### ラット (原文 p.2)

チャールズリバー・ジャパン社の6週齢のF344ラットの雄一群50匹を、0、0.125、0.25、0.5、1、又は2%のBHAを含む粉末飼料で飼育した。104週後、生き残っていた動物をと殺した。これらの動物及び試験中に死亡した他の全動物を剖検した。すべての動物からの食道及び胃を組織学的に検査した。

投与に関連した臨床症状は試験期間中に観察されなかった。BHAを投与したラットの体重増加の抑制は用量依存的であった。試験動物及び陽性対照の動物の平均摂餌量は同等であった。BHAは生存性に影響しなかった。組織学的に、前胃で観察された上皮の病変は3つのカテゴリー、過形成、乳頭腫及び扁平上皮細胞癌に分類された。転移は報告されなかった。次の表で要約されるように、前胃の増殖性(proliferative)、腫瘍性(neoplastic)病変の発生頻度は用量依存的であった(Itoら、1986年):

飼料中BHA%	ラットの有効数 <sup>a</sup>	過形成	前胃に変化を生じたラット数(%)	
			乳頭腫	扁平上皮細胞癌
0	50	0(0)	0(0)	0(0)
0.125	50	1(2)	0(0)	0(0)
0.25	50	7(14) <sup>b</sup>	0(0)	0(0)
0.5	50	16(32) <sup>c</sup>	0(0)	0(0)
1.0	50	44(88) <sup>c</sup>	10(20) <sup>b</sup>	0(0)
2.0	50	50(100) <sup>c</sup>	50(100) <sup>c</sup>	11(22) <sup>c</sup>

a 50週以上の生残ラット (Rats surviving to > 50 weeks)

b p<0.01で対照群と有意差あり (Significantly different from control group at p < 0.01)

c p<0.001で対照群と有意差あり (Significantly different from control group at p < 0.001)

### 変異原性に関する特殊試験 (原文 p.2)

BHAは黄色ブドウ球菌株W46に対して遺伝子変異を引き起こすことが示された。その変異体は黄色ブドウ球菌株W46のインキュベーション後に得られたが、溶血特性、スタフィロキナーゼ生産、及びバシトラシンの感受性<sup>\*</sup>に基づいて特徴づけられている (Degre & Saheb, 1982年)。

<sup>\*</sup>原文ではsensitivityとなっているが、sensitivityの間違いと考え、「感受性」と訳した。

BHAは、V79チャイニーズハムスターの肺細胞について、0.3 mMまでの濃度では、肝細胞存在下の活性化の有無に関わらず遺伝毒性の証拠を示さなかった (Rogersら、1985年)。

BHAの遺伝毒性を4つの *in vitro* システムで試験した:

- (1) サルモネラ/マイクロソーム突然変異試験; 用量0.01~10 mg/プレート、5つの試験株を用い、S-9画分存在又は非存在下。
- (2) 肝細胞初代培養/DNA修復; 10<sup>-5</sup>から1 mg/mLの範囲の10用量。
- (3) 成体ラットの肝臓上皮細胞/ヒポキサンチン/グアニン/ホスホリボシル転移酵素変異原性試験 (ラット肝臓ライン 18 rat liver line 18); 0.05~0.1 mg/mLの範囲の6用量。
- (4) チャイニーズハムスター卵巣/姉妹染色体交換 (SCE) 試験; 1~10<sup>-3</sup> mg/mLの範囲の4用量。

BHAはいずれの試験系においても変異原性はみられなかった (Williamsら、1984年)。

大腸菌 (*E.coli*) H/r30R株にBHAを前投与した際、紫外線に引き起こされた突然変異生成に対し、何ら抗変異原性作用はみられなかった (Kawazoe & Kato, 1982年)。

プレート当たり25~500 µgのBHAの添加はサルモネラ菌株TA98及びTA100において3, 2'-ジメチル-4-アミノビフェニルが引き起こす変異原性を抑制することが示された(Reddyら、1983年)。

BHAは、ハムスター肝S-9調製液で活性化したサルモネラ菌株TA98においてベンジジンが引き起こす突然変異生成で、復帰突然変異株の産生を用量依存的に減少させた(Josephyら、1985年)。

BHAは、サルモネラ菌株TA98及びTA100の中のアフラトキシン-B<sub>1</sub>が誘発する突然変異生成を実質的に増加させた(Shelef&Chin、1980年)。

加熱する(broiling)前の牛肉パテ(beef patties)へのBHAの添加は、ネズミチフス菌TA98によって検出可能な変異原形成を有意に減少させる結果となった(Wangら、1982年)。

### 発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (原文 p.3)

#### 結腸 (原文 p.3)

雌マウスに、NIH-07オープン製剤(open formula)飼料あるいはAIN-76A半精製飼料を供給し、飼料中のBHTがメチルアゾキシメタノール酢酸により誘発される発がん性に与える影響を試験した。肺腫瘍の発生頻度はNIH-07飼料を供給したマウスの方が、AIN-76A飼料を供給したマウスよりも低かったが、一方、結腸腫瘍の発生頻度及び腫瘍多様性はNIH-07飼料を供給した動物の方が、AIN-76A飼料を供給した動物よりも高かった。BHAはメチルアゾキシメタノールが誘発する結腸癌及び肺腫瘍を用量依存的に抑制した。AIN-76A飼料に加えBHAを投与したマウスは、NIH-07飼料に加えBHAを投与したマウスよりも大腸腺癌発生頻度は低かった(Reddyら、1983年a、Reddy & Maeura, 1984年)。

1,2-ジメチルヒドラジンを投与した雄のF344ラットで、結腸腫瘍発生のポストイニシエーションフェーズ後に投与した飼料中のBHAは、腫瘍発達を緩和しなかった(Shiraiら、1985年)。

マウスの試験では、1,2-ジメチルヒドラジンが誘発する結腸癌の発生頻度及び多様性をBHAが減少させた(Jonesら、1984年)。

#### 前胃と膀胱 (原文 p.3)

ラットにメチルニトロソ尿素メチルニトロソウレア (MNU)を4週間投与し、その後32週間はBHAを0又は2%含む飼料で維持した。飼料中のBHAは、1ラットあたりの乳頭腫及び膀胱の乳頭状及び結節性過形成数、及び1ラットあたりの腫瘍の数を有意に増加させる結果となった。さらに、MNUに誘導されたラットの前胃において腫瘍と乳頭腫の発生頻度の有意な増加もみられた(Imaidaら、1984年)。

### 胃の腫瘍 (原文 p.3)

BHA及びBHAにNaClを添加した場合、N-メチル-N'-ニトロN-ニトロソグアニジンが誘発するラット前胃の発がん性促進作用を及ぼした。その促進はBHAにNaClを添加した群でより顕著であり、それは腫瘍促進に対し相乗作用があること示唆している(Shiraiら、1984年)。

### 肝臓 (原文 p.3)

ラットへのN-エチル-N-ヒドトキシエチルニトロサミン投与後にBHAを5週間供給すると、前腫瘍(preneoplastic)及び腫瘍性病変の誘発を阻害する結果となった(Itoら、1983年b)。

ジメチルニトロソアミンを投与したラットにおいて、BHAの連続投与は、肝腫瘍を用量依存的に抑制する結果となった。(肝細胞の変化した病巣数のマーカーとして $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ及び胎盤型グルタチオンS転移酵素によって測定された通り。)(Thamavitら、1985年)。

ラットに、アプロフィブレート(aprofibrate)のみを含むか、あるいはBHAと組み合わせて含む飼料を投与した。5mmを越える肝腫瘍数に有意な減少がみられたが総腫瘍数ではみられなかった。アプロフィブレートのみ、あるいはBHAと共に投与したラット肝臓の非腫瘍部分の肝細胞でペルオキシソームの増加がみとめられた(Raoら、1984年)。

### 肝臓と膀胱 (原文 p.4)

ラットにN-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミンを4週間投与し、次の32週間 2%のBHAを飼料に混ぜて投与した場合は、腫瘍と乳頭腫の発生頻度、乳頭腫の平均数、及び膀胱の乳頭状あるいは結節性過形成の有意な増加が示された。別の試験では、飼料中のBHAは、ジエチルニトロソアミンを投与したラットの肝臓において、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ陽性病巣の誘導を有意に抑制した(Imaidaら、1983年)。

### 肺 (原文 p.4)

ヒドラジン硫酸塩を投与したマウスに、BHAを飼料に混ぜて投与したところ、肺腫物の誘発に何ら影響はなかった。しかしながら、BHAは、イソニアジドを投与したマウスの肺腫瘍の生成を阻害した(Maru & Bhide, 1982年)。

BHAは、ウレタン、3-メチルコラントレンあるいはジメチルニトロソアミンを投与したマウスにおいて誘導された肺腫瘍の多様性を有意に増加させなかった(Witschiら、1981年)。

別の試験では、飼料中のBHAは、ウレタン、ベンゾ(a)ピレンあるいはジメチルニトロソアミンを投与したA/J

マウス中の肺腫瘍の産生を増強しなかった。ウレタン又はベンゾ(a)ピレン投与に先立ってBHAを含む飼料をあらかじめ投与したマウスは、腫瘍発生頻度に影響しなかったが、腫瘍多様性の著しい減少を引き起こした。3-BHA及び2-BHAはいずれも、マウス肺細胞の増殖を刺激しなかった(Witschi&Doherty、1954年)。

#### 乳腺腫瘍 (原文 p.4)

7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)がラット内で誘発する乳腺腫瘍の発生頻度は、飼料中の多価不飽和脂肪の濃度を増すと増加することが示された。BHA混餌投与は、DMBAが誘発する腫瘍の抑制に有効ではなかった。しかしながら、別の試験では、DMBA投与に先立って1週間まで、及び投与後1週間でも、BHA混餌投与はラットの乳腺腫瘍の発生頻度の減少に有効であった(King & McCay、1983年;McCormickら、1984年)。

#### 脾臓 (原文 p.4)

0.45%のBHAの混餌投与で飼育したラットに、30 mgのアザセリンを週に1回3週間にわたりそれぞれ腹腔内投与した。投与後4ヶ月の脾臓の評価の結果、飼料中のBHAは1脾臓あたりの好酸性病巣(acidophilic foci)数が42%減少したが、病巣の大きさには影響がなかった(Roebuckら、1984年)。

#### 分娩時の影響 (原文 p.4)

12-ジメチルベンズ(a)アントラセンを単回投与した妊娠マウスにBHAを分娩時投与したところ、F<sub>1</sub>、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代の腫瘍発生頻度の大幅な縮小に帰着した(ラオ、1982年)。

#### ラットの前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験 (原文 p.4)

雄のF344ラットに、BHA(食品用銘柄)を、乾燥状態で粉末飼料に混合し、あるいはコーン油状物の飼料に混合して、あるいはペレット飼料に添加して、0又は2%、9又は27日間投与した。9及び27日での、基底部上皮に隣接する前胃部分における<sup>3</sup>Hチミジン標識インデックス(<sup>3</sup>H-thymidine labelling index)(胃の上皮の扁平上皮細胞のメチル-<sup>3</sup>Hチミジンラベリングの標準化された基準)増加は、粉末及びペレット飼料のBHAに匹敵し、その一方で、より大きな増加はコーン油状物の中のBHAで、27日より9日で観察された。BHAが原因の胃粘膜(stomach lining)の厚さ増大は9日より27日で顕著に高かった。BHAを乾燥して0、0.1、0.25、0.5、1、又は2%の用量で粉末飼料に加えて9日間ラットに供給した場合、細胞増殖作用に関する無影響量は、<sup>3</sup>Hチミジン標識インデックスで測定すると、0.25%であった(Neraら、1984年)。

雄のF344ラットに、0、0.1、0.25、0.5あるいは2%のBHAを13週間混餌投与したが、それは粉末飼料に乾燥状態で混合したものであった。2%のBHAで飼育したラットは他の投与群及び対照群のラットより摂餌量と体重増加が低下した。試験期間の終了時に、増殖性病変が2%群の前胃で認められたが、他の試験群では認

められなかった。<sup>3</sup>H-チミジン標識インデックスの高さは、用量依存的な反応を示し、飼料中BHAの無影響量は0.25%であった。2%群のみが前胃の組織学的変化を示した。13週後に飼料からBHAを除去し対照飼料で維持したところ、標識インデックスは急速に低下し、1週間後には全試験群で対照群と同程度になった。対照飼料にして9週間後には2%投与群の粘膜はほぼ正常に戻っていた(Iversonら、1985年)。

Wistar Han/BGAラットの雌雄に、2%BHAを含む飼料を1、2、又は4週間投与した。対照群はBHA非含有飼料でペアで飼育した。1週間後、前胃の粘膜で、上皮の損傷、軽度の(mild)\*過形成、過角化が報告された。過形成と過角化は2週間と4週間の投与群で重篤度が増したが、その時までにはその他の上皮の変化は減少していた。過形成的変化は境界縁(limiting ridge)の部分で生じた。BHA非含有飼料による4週間の回復期後、1週間の試験食で維持したラットにおいて引き起こされた上皮の変化及び軽度の過形成は完全に消失しており、細胞数のわずかな増加と境界縁の好塩基性染色のみが認められた。2及び4週間試験飼料で維持した群で観察されたより重度の過形成性変化は、4週間の回復期間中に部分的にのみ退縮した。他の試験では、雄ラットに1、2、4、8、16、及び32日間、1 g BHA/kg体重/日相当の用量を落花生油(5 mL/kg体重)に溶解して毎日強制経口投与した。前胃の変化は主に境界縁から離れた領域で生じた。1回の投与後、軽度の炎症、軽微な上皮欠損、及び有糸分裂活性(mitotic activity)の増加が前胃で観察された。2日後には軽度の過形成と過角化は、有糸分裂活性の顕著な増加とともに明らかであった。上皮過形成は4及び8日間の連日挿管でより顕著になったが、4日投与後顕著に増加した有糸分裂活性は8日投与後は目立たなくなった。16あるいは32日間の連日挿管の後、前胃の過形成病変部は退縮したようであった(Altmannら、1985年)。

※原文ではmilとなっているが、mildの間違いだと考えて「軽度の」と訳した。

Wistarラットの群に0、0.125、0.5、又は2%のBHAを結晶形態で含む餌を90日間投与した。最高用量群で前胃の顕著な変化がみられ、その特徴として、過角化と巨大な(massive)乳頭状過形成が基底部分の上皮変化とともにみられた。低用量群ではもう少し目立たない影響が観察された。別の群のラットに2%のBHAを含む餌を90日間投与し、その後4週間BHAの入っていない餌で維持した。回復期間終了後前胃の軽度な過角化と中程度の過形成のみが観察された。別の試験では、Wistarラットの群に落花生油に溶解したBHAを0、0.125、0.5、又は2%含む飼料を90日間混餌投与した。最高用量群の前胃で顕著な過形成及び、数例では乳頭状過形成が観察された。BHAを結晶形態で飼料に混合した試験とは対照的に、病変部は境界縁に限定されていた。より低用量群では前胃の変化は観察されなかった。ラットに2%のBHAを90日間混餌投与し、その後4週間あるいは8週間BHA非含有飼料で維持した場合、1/10のラットのみが前胃に何らかの影響(軽度の過形成)を示し、この影響が8週の回復期の後も持続したのは2/10のラットであった。この試験において食道に何らかの変化を示したラットは皆無であった(Altmann,1986年)。

別の混餌投与試験では、落花生油に2%のBHAを溶解させた飼料で6、12、又は15ヶ月間ラットを維持し、その後2又は7ヶ月BHA非含有飼料を投与した場合と投与しない場合を設定した。組織学的試験が、[1] 噴門近くの食道、[2] 境界縁に隣接するより大きな湾曲部(curvature)の前胃と腺胃、[3] 食道入り口近くの前胃と腺胃に関して実行された。過角化と不全角化を伴う一般的過形成が、特に境界縁付近で観察された。12ヶ月の暴露後BHAは3/10のラットで前胃上皮の局所的(focal)形成異常、及び4/10のラットで前胃上皮の一般的形成異常を引き起こした。病変部の種類と範囲は前胃の異なった部位で類似していた。12ヶ月の試験飼料及び2ヶ

月の回復期の後、より大きな湾曲部の病変はほぼ完全に退縮していたが、食道入り口付近の胃における病変はなお存在していた。15ヶ月の試験食期間に引き続き7ヶ月の回復期を経た後、広範囲の過形成、乳頭腫、形成異常性変化、及び湿潤性増殖(この試験条件下で粘膜筋に達して悪性になってはいなかった)を含む前胃の変化はほぼ完全に退縮していた(Altmann, 1986年)。

## 種差に関する特殊試験 (原文 p.6)

### マウス (原文 p.6)

NMRIマウスに、0又は1,000 mg BHA/kg体重/日相当用量を落花生油に溶解して28日間毎日強制経口投与した。肉眼検査では、可視病変部が前胃で観察され、それはラットでみられた過角化と類似していた(Altmann, 1986年)。

### ハムスター (原文 p.6)

雄のシリアンゴールデンハムスターに、0又は2%のBHA(ペレット)あるいは1%のBHA(粉末)を24週間混餌投与した。前胃の腫瘍が投与群の全てのハムスターで観察された。対照群又は他の検査対象器官では腫瘍は報告されなかった(Itoら, 1982年)。

別の試験では、シリアンゴールデンハムスターの群に、0%のBHA、又は1%の「粗製BHA」(98%の3-tert異性体と2%の2-tert異性体)、3-tertBHA、又は2-tertBHAを1~4週間混餌投与した。前胃の過形成は2-tertBHAで飼育したハムスターよりも3-tertBHA又は「粗製BHA」で飼育したハムスターの方が進行的かつ重症であることがわかった(Itoら, 1984年)。

ハムスターの群に0又は2%のBHAを90日間混餌投与した。前胃の変化はラットやマウスでの観察結果と異なり、肉眼での検査で過角化はみられなかった。組織学的検査では、軽度の上皮過形成及び過角化がみられた。その影響は雌においてより顕著であった(Altmann, 198b\*) ※原文の年号が不完全

### モルモット (原文 p.6)

試験動物に、0又は1,000mgのBHA/kg体重/日相当用量を落花生油に溶解して28日間毎日強制経口投与した。胃では肉眼的変化(gross changes)は観察されなかった。(注: モルモットは前胃がないげっ歯動物類である。)(Altmann, 1986年)

### イヌ (原文 p.6)

ビーグル犬に0、1.0あるいは1.3%のBHAを含む飼料を180日間投与した。剖検では、飼料中のBHAの存在に起因する可能性のある胃の肉眼的顕微鏡的な病変は認められなかった。過形成も細胞増殖も観察され

なかった。食道(胃の上、及びcardio-oesophageal結合部)、噴門領域、及び胃の本体の電子顕微鏡検査では、試験動物と対照動物からの組織の間で超微細構造の違いは認められなかった。肝臓の組織の酵素分析では、BHAを投与した動物において、混合機能(mixed-function)の酸化酵素、UDP グルクロン酸転移酵素、グルタチオン-S転移酵素及びエポキシドhydrarase活性の有意な増加が認められた(Ikedaら、1986年)。

3匹又は4匹の雌雄のビーグル犬の群を、0、0.25、0.5、又は1%のBHAを含む飼料で6ヶ月維持した。用量依存性のある発達遅延がみられた。1、3、及び6ヶ月目で行われた血清の生化学的分析では、高用量群においてアルブミン含量のわずかな減少とアルカリフォスファターゼ及びロイシンアミノペプチダーゼ活性の増加がみられた。剖検では、試験群において肝臓重量が増加していたが、組織学的変化は報告されなかった。病理組織学的及びhistometrical試験では試験動物の胃(胃底と幽門領域)、食道、又は十二指腸における有意な粘膜変化はみとめられなかった。食道の滴下部分(distal part)の扁平上皮の基底層では、有糸分裂指数は試験群と対照群では類似していた(Tobeら、1986年)。

### 豚 (原文 p.7)

妊娠した豚(Danish landacre)に、0、0.5、1.9、又は3.7%のBHAを含む飼料を16週間投与した。剖検では、胃の食道部分の上皮の変化は試験群と対照群で類似していた。胃の腺部では乳頭腫も変化も報告されなかった。線形の黄褐色の粗い上皮が中間及び高用量群の数匹の豚の食道全長でみられた。これらの組織を顕微鏡検査すると上皮の増殖的パラ角化がみられた。その食道の変化は低用量群あるいは対照群ではみられず背景的データでも観察されなかった(Wurtzen & Olsen, 1986年)。

### サル(原文 p.7)

サル(カニクイザルMacaca fascicularis)に、0、125、又は500 mg BHA/kg体重/日をコーン油に溶解して20日間週5回強制経口投与し、その後、高用量は半分にした。85日後、試験は終了した。胃の病理組織学的には投与関連性のある影響はみられなかった。しかしながら、高用量群において、遠位(distal)食道の扁平上皮細胞内層(squamous epithelial cell lining)の有糸分裂指数に有意な増加がみられた(Iversonら、1985年b)。

### ラットの前胃に対する構造関連物質の影響に関する特殊試験 (原文 p.7)

5～10匹の雌雄のラットの群に2%のBHA、tert-ブチルヒドロキノン(TBHQ)、1,4-ジメキシベンゼン、ヒドロキノン、4-メキシフェノール、3-メキシフェノール、2-メキシフェノール、アニソール、ロークレゾール、又はフェノール又は1%のBHTを含む飼料を28日間投与した。BHTは前胃の病変を引き起こさなかった。TBHQを投与した動物で、基底細胞の過形成の局所的増加とともに前胃の粘膜に軽度の過形成がみられた。4-メキシフェノールは、境界縁に平行した環状の深い潰瘍と、隣接した粘膜で過形成及び軽度の過角化を引き起こした。

3-メキシフェノール、2-メキシフェノール、1,4-ジメキシ-ベンゼンは前胃にはまったく影響を与えず、ロー・クレーゾール及びフェノールも、前胃の上皮に全く影響を与えなかった(Altmann,1986年)

離乳したての雄のF344ラットを、次のフェノール類あるいは酸のうちの1つを含む飼料で9日~27日間維持した:2%の3-BHA、4%の4-ヒドロキシ安息香酸、4%のメチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%のエチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%のn-プロピル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%のn-ブチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、2%の4-メキシフェノール、4%のプロピオン酸、あるいは0.5%のアセチルサリチル酸。試験期間の終了時に、これら化合物の投与が前胃のメチル-<sup>3</sup>H-チミジン標識インデックスと組織学的な外見に及ぼす影響を決めるための試験を実施した。

3-BHAが、prefundic領域での細胞増殖誘発に関して食品グレードBHAと同様な影響があった。メチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステルは、組織のprefundic領域あるいは本体の前胃の上皮におけるチミジン標識インデックスを増加させなかった。しかしながら、このシステムにおいて、prefundic領域のチミジン標識インデックスはエチルからn-ブチルへ行くにつれ次第に増加し、4%のn-ブチルエステルは、2%BHAと同じぐらいの活性をもった。プロピオン酸は9日後には無影響であったが、27日後には前胃の上皮本体の標識インデックスを倍増させた。アセチルサリチル酸単独ではラットの胃のprefundic又は中間領域のどちらのチミジン標識にも影響を与えなかった。しかしながら、2%のBHAと0.5%のアセチルサリチル酸を同時に投与すると、prefundic領域におけるBHAの細胞増殖作用を顕著に(43%)抑制する結果となり、前胃の中間領域を保護するように思われた。病理組織学的変化はチミジン標識インデックス試験から得られた結果と類似していた(Rodriguesら、1986年)。

## ヒトの試験 (原文 p.7)

## 代謝 (原文 p.7)

男性2人に100mgのBHAを投与した。主としてグルクロニドとしての、及びそれより少量のO硫酸塩(O-sulphate)としての抱合と排泄に先立ち、BHAからTBHQ(0-demethylation)への有意な転換がみられた(El-Rashidy&Niazi、1983年)。

## コメント (原文 p.7)

BHAを投与したラットの前胃で観察される増殖変化、及び、前胃を持たない動物種の胃及び食道に与えるBHAの影響に関する追加的情報を提供する試験が実施された。そのデータから、ラットの前胃における過形成誘発は用量依存的であり、BHAを飼料から除くと消失する可能性があることが示されている。前胃を持たない種の1つ、イヌでは、ラットの前胃に影響を引き起こしたBHA濃度では胃、食道いずれに対しても影響を与えなかった。しかしながら、サルと豚の試験ではBHAは食道に影響を引き起こしたという証拠が認められた。サルの場合は有糸分裂率<sup>\*</sup>の増加が報告されており、豚の場合は大部分が肉眼的に診断された過角化が報告された。

<sup>\*</sup>原文ではmytoticとなっているが、mitoticの間違いだと考え有糸分裂と訳した。

委員会は、これら両方のケースで、試験を繰り返すべきだと考える。特にBHAを混餌投与したサルでの試験を実施すべきである(サルに関しては強制経口投与データのみが現在利用可能である)。

バクテリア及び哺乳類細胞を含むBHAの遺伝毒性に関するいくつかの試験の結果は、BHAが変異原性でないことが示された*in vitro*及び*in vivo*系でのいくつかの試験の前の評価を、追加的に支持するものである。

多世代生殖試験への要求を満たす新しいデータは提出されなかった。現在の評価は、ラットはBHAを0.125%まで含む飼料で有意な有害影響なしに維持できることを示す長期混餌試験の結果に基づいている(「BHAが胃に与える影響に関する特殊試験」の要約)。

## 評価 (原文 p.8)

### 毒性学的影響を引き起こさないレベル

ラット: 飼料中 1,250 ppm(0.125%)、62.5 mg/kg 体重/日 相当

### ヒトのための一時的な一日摂取許容量の推定

0~0.3 mg/kg 体重

### 今後の研究又は情報

#### 必要事項(1988年までに)

1. BHA が豚及びサルの種で食道の過形成を引き起こす可能性を調査する試験。これらの試験は飼料の BHA で実行すべきである。委員会は、飼料をサルが拒絶する可能性があるためサルでこの試験を実施する技術的困難さを認識しているが、試みる必要があることを強調する。

2. **多世代\***生殖試験

※原文では **mutigeneration** となっているが **multigeneration** の間違いだと考え“多世代”と訳した

#### 要望事項

前胃に対するBHAの影響に関するメカニズムを決定する試験

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 1986）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
104 週間胃への影響に関する特殊試験	ラット	0、0.125、0.25、0.5、1、又は2%	重量増加の抑制が用量依存的にみられた。前胃上皮の組織学的病変は、過形成、乳頭腫及び扁平上皮細胞癌に分類された。転移は報告されなかった。前胃の増殖性、腫瘍性病変の発生頻度は用量依存的であった。ラット（原文 p.2）の表参照
変異原性に関する特殊試験	黄色ブドウ球菌株 W46		遺伝子変異を引き起こした。その変異体は黄色ブドウ球菌株 W46 とのインキュベーション後に得られた。
変異原性に関する特殊試験	V79 チャイニーズハムスターの肺細胞		0.3 mM までの濃度では、肝細胞による活性化の有無に関わらず遺伝毒性は陰性。
変異原性に関する特殊試験:ミクロソーム突然変異試験	サルモネラ	0.01~10 mg/プレート	陰性
変異原性に関する特殊試験:DNA 修復	肝細胞初代培養	10 <sup>-5</sup> から 1 mg/mL の範囲の 10 用量	陰性
変異原性に関する特殊試験:ヒポキサンチングアニンホスホリボシル転移酵素変異原性試験	成体ラットの肝臓上皮細胞	0.05~0.1 mg/mL の範囲の 6 用量	陰性
変異原性に関する特殊試験:姉妹染色体交換(SCE)試験	チャイニーズハムスター卵巣	1~10 <sup>-3</sup> mg/mL の範囲の 4 用量	陰性
変異原性に関する特殊試験:抗変異原性作用	大腸菌 H/r30R 株		陰性
変異原性に関する特殊試験:3,2'-ジメチル-4-アミノビフェニルの変異原性	サルモネラ菌株 TA98 及びTA100	プレート当たり 25~500 µg	抑制
変異原性に関する特殊試験:ベンジジンが引き起こす突然変異	サルモネラ菌株 TA98	ハムスター肝 S-9 調製液で活性化	復帰突然変異株の生成を用量依存的に減少
変異原性に関する特殊試験:アフラトキシン-B 1 誘発突然変異	サルモネラ菌株 TA98 及びTA100		実質的に増加
変異原性に関する特殊試験:変異原性	ネズミチフス菌 TA98		加熱前の牛肉パテへの添加は、有意に減少させる
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験(結腸)	マウス		メチルアゾキシメタノール酢酸が誘発する結腸癌及び肺腫瘍を用量依存的に抑制。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験(結腸)	ラット		1,2-ジメチルヒドラジン投与による結腸腫瘍発達のポストイニシエーション作用後の投与は、腫瘍発達を緩和しなかった。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (結腸)	マウス		1,2-ジメチルヒドラジンが誘発する結腸癌の発生頻度及び多様性を減少した。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (前胃及び膀胱)	ラット	0 又は 2%混餌	1ラット当たりの乳頭腫及び膀胱の乳頭状及び結節性過形成の数、及び1ラット当たりの腫瘍数を有意に増加した。 MNUに誘導されたラットの前胃において腫瘍と乳頭腫の発生頻度の有意な増加。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (胃の腫瘍)	ラット		N-メチル-N'-ニトロ N-ニトロソグアニジン誘発前胃発がん性を促進。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肝臓)	ラット		N-エチル-N-hydroxyethylnitrosamine 投与による前腫瘍及び腫瘍性病変の誘発を阻害する
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肝臓)	ラット		ジメチルニトロソアミン投与による肝腫瘍を用量依存的に抑制
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肝臓)	ラット		Aprofibrate 投与による肝腫瘍の数を有意に減少。 apofibrate 投与の肝臓の非腫瘍部分の肝細胞でペルオキシソームの増殖。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肝臓と膀胱)	ラット		N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミンによる腫瘍と乳頭腫の発生頻度、乳頭腫の平均数、及び膀胱の乳頭状あるいは結節性過形成の有意な増加。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肝臓と膀胱)	ラット		ジエチルニトロソアミン投与の肝臓のガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ陽性病巣の誘導を有意に抑制
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肺)	マウス		ヒドラジン硫酸塩投与による肺腫瘍の誘発に影響なし。 イソニアジド投与による肺腫瘍の生成を阻害。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肺)	マウス		ウレタン、3-メチルコラントレンあるいはジメチルニトロソアミン投与誘導肺腫瘍の多様性を有意には増加させない。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (肺)	マウス		ウレタン、ベンゾ(a)ピレンあるいはジメチルニトロソアミン投与による肺腫瘍生成を増強しない。これらの投与前の混餌投与により腫瘍多様性を著しく減少。3-BHA 及び 2-BHA はマウス肺細胞の増殖を刺激しない。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (乳腺腫瘍)	ラット		7,12-dimethylbenz(a)アントラセン(DMBA)が誘発する腫瘍を抑制しない。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験(乳腺腫瘍)	ラット		DMBA 投与前の投与は乳腺腫瘍の発生頻度を下げる。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (膵臓)	ラット	0.45%	アザセリン投与による膵臓の好酸性病巣の数を42%減少させた。病巣の大きさには影響なし。
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (分娩時の影響)	マウス		12-dimethylbenz(a)アントラセン投与による腫瘍発生頻度の大幅な減少。
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	0又は2%	基底部上皮に隣接する前胃部分における3Hチミジン標識インデックス増加。胃粘膜の厚さ増大。
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	0、0.1、0.25、0.5、1、又は2%	胞増殖作用に関する無影響量=0.25%(3Hチミジン標識インデックス測定)
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	0、0.1、0.25、0.5又は2%	を示し無影響量=0.25%(3H-チミジン標識インデックスの用量依存的な増加) 2%群で前胃の組織学的変化。 13週後の対照飼料投与により、標識インデックスは急速に低下し、1週間後には全試験群で対照群と同程度になった。9週間後には2%投与群の粘膜はほぼ正常に戻った。
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	2%	前胃の粘膜で、上皮の損傷、軽度の過形成、過角化。 BHA非添加飼料での4週間の回復期後、投与1週間後の上皮の変化及び軽度の過形成は完全に消失。2及び4週間投与のより重度の過形成性変化は4週間の回復期間中に部分的に減少。
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	1g BHA/kg体重/日相当	前胃の変化は主に境界縁から離れた領域で生じた。1回の投与後、軽度の炎症、軽微な上皮欠損、及び有糸分裂活性(mitotic activity)の増加が前胃で観察された。2日後には軽度の過形成と過角化は、有糸分裂活性の顕著な増加とともに明らかであった。上皮過形成は4及び8日間の連日挿管でより顕著になったが、4日投与後顕著に増加した有糸分裂活性は8日投与後は目立たなくなった。16あるいは32日間の連日挿管の後、前胃の過形成病変部は退縮した。
前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	0、0.125、0.5、又は2%	最高用量群で前胃の過角化と巨大乳頭状過形成がみられた。投与後4週間BHA非添加飼料では、回復期間終了後前胃の軽微な過角化と中程度の過形成のみが観察された。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
前胃に対する BHA の影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	0、0.125、0.5、又は 2%	最高用量群の前胃で顕著な過形成、数例では乳頭状過形成。ラットを 2% の BHA で 90 日間維持し、その後 4 週間あるいは 8 週間 BHA の入っていない飼料で維持した場合、1/10 のラットのみが前胃に軽度の過形成を示し、8 週の回復期の後も持続したのは 2/10 のラットであった。
前胃に対する BHA の影響の可逆性に関する特殊試験	ラット	2%	過角化と不全角化を伴う一般的過形成が、特に境界縁付近で観察された。12 ヶ月の試験食と 2 ヶ月の回復期の後、より大きな湾曲部の病変はほぼ完全に退縮し、食道入り口付近の胃における病変はなお存在していた。15 ヶ月の試験食期間に引き続き 7 ヶ月の回復期を経た後、広範囲の過形成、乳頭腫、形成異常性変化、及び湿潤性増殖を含む前胃の変化はほぼ完全に退縮。
種差に関する特殊試験	マウス	0 又は 1,000 mg BHA/kg 体重/日相当用量	前胃可視病変部はラットでみられた過角化に類似。
種差に関する特殊試験	ハムスター	0 又は 2%	前胃の腫瘍が投与群の全てで観察された。
種差に関する特殊試験	ハムスター	1% の「粗製 BHA」(98% の 3-tert 異性体と 2% の 2-tert 異性体)	前胃の過形成は 2-tertBHA よりも 3-tertBHA 又は「粗製 BHA」で進行的かつ重症であった。
種差に関する特殊試験	ハムスター	0 又は 2%	前胃の変化はラットやマウスで観察されたものとは異なり、肉眼での検査で過角化はみられなかった。
種差に関する特殊試験	モルモット	0 又は 1,000mg の BHA/kg 体重/日相当	胃で肉眼的変化は観察されなかった。(注: モルモットは前胃がないげっ歯動物類である。)
180 日間種差に関する特殊試験	イヌ	0、1.0 あるいは 1.3%	BHA に起因する胃の肉眼的顕微鏡的な病変はなかった。過形成も細胞増殖もなし。肝組織の酵素分析では、混合機能酸化酵素、UDP グルクロン酸転移酵素、グルタチオン-S 転移酵素及びエポキシドヒドラーゼ活性の有意な増加。
6 ヶ月種差に関する特殊試験	イヌ	0、0.25、0.5、又は 1%	用量依存性のある発達遅延がみられた。高用量群においてアルブミン含量のわずかな減少とアルカリフォスファターゼ及びロイシンアミノペプチダーゼ活性の増加がみられた。剖検では、試験群において肝臓重量が増加していたが、組織学的変化は報告されなかった。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
16週間種差に関する特殊試験	豚	0、0.5、1.9、又は3.7%	胃の食道部分の上皮の変化は試験群と対照群で類似。胃の腺部では乳頭腫も変化も報告されなかった。線形の黄褐色の粗い上皮が中間及び高用量群の数匹の豚の食道全長でみられた。これらの組織を顕微鏡検査すると上皮の増殖的パラ角化がみられた。
20日間種差に関する特殊試験	サル	0、125、又は500 mg BHA/kg 体重/日	胃の病理組織学的には投与関連性のある影響はみられなかった。高用量群で遠位(distal)食道の扁平上皮細胞内層の有糸分裂指数に有意な増加。
28日間前胃に対する構造関連物質の影響に関する特殊試験	ラット	2%の BHA、tert-ブチルヒドロキノン (TBHQ)、1,4-ジメチキシベンゼン、ヒドロキノン、4-メキシフェノール、3-メキシフェノール※、2-メキシフェノール、アニソール、ロークレゾール、又はフェノール又は1%の BHT	BHTは前胃の病変を引き起こさなかった。TBHQで、基底細胞の過形成の局所的増加と前胃の粘膜に軽度の過形成がみられた。4-メキシフェノールは、境界縁に平行した環状の深い潰瘍と、隣接した粘膜で過形成及び軽度の過角化を引き起こした。3-メキシフェノール、2-メキシフェノール、1,4-ジメチキシベンゼンは前胃にはまったく影響を与えず、ロークレゾール及びフェノールも、前胃の上皮に何ら影響を与えることはなかった

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
27日間前胃に対する構造関連物質の影響に関する特殊試験	ラット	2%の 3-BHA、4%の 4-ヒドロキシ安息香酸、4%のメチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%のエチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%の n-プロピル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、4%の n-ブチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステル、2%の 4-メキシフェノール、4%のプロピオン酸、あるいは 0.5%のアセチルサリチル酸	化合物の投与が前胃のメチル-3H-チミジン標識インデックスと組織学的外見に及ぼす影響。 3-BHA が、prefundic 領域での細胞増殖誘発に関して食品等級(food grade)BHA と同様な影響があった。メチル-4-ヒドロキシ安息香酸エステルは、組織の prefundic な領域あるいは本体の前胃の上皮におけるチミジン標識インデックスを増加させなかった。しかしながら、このシステムにおいて、prefundic 領域のチミジン標識インデックスはエチルから n-ブチルへ行くにつれ次第に増加し、4%の n-ブチルエステルは、2%BHA と同じぐらいの活性をもった。プロピオン酸は 9 日後には無影響であったが、27 日後には前胃の上皮本体の標識インデックスを倍増させた。アセチルサリチル酸単独ではラットの胃の prefundic 又は中間領域のどちらのチミジンラベリングにも影響を与えなかった。しかしながら、2%の BHA と 0.5%のアセチルサリチル酸を同時に投与すると、prefundic 領域における BHA の細胞増殖作用を顕著に(43%)抑制する結果となり、前胃の中間領域を保護するように思われた。病理組織学的変化はチミジン標識インデックス試験から得られた結果と並行的であった
ヒトの試験 (代謝)	男性	100mg	glucoronide としての、及びそれより少量の O 硫酸塩抱合と排泄に先立ち、BHA から TBHQ への有意な転換があった。
その他			ADI: 0~0.3 mg/kg 体重  毒性学的影響を引き起こさないレベル(ラット): 1,250 ppm(0.125%)(62.5 mg/kg 体重/日に相当)

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量



# ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理

JECFA 1988

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je02.htm>

FAS 24-JECFA 33/3, 1988



ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1988) 目次

説明 (原文 p.1).....	99
生物学的データ (原文 p.1).....	99
生化学的側面* (原文 p.1).....	99
高分子への共有結合 (原文 p.1).....	99
排泄 (原文 p.2).....	100
毒性試験(原文 p.2).....	100
胃に対する BHA の影響に関する特殊試験 (原文 p.2).....	100
マウス (原文 p.2).....	100
ラット (原文 p.2).....	101
ハムスター (原文 p.6).....	104
モルモット (原文 p.7).....	105
イヌ (原文 p.7).....	105
豚 (原文 p.7).....	106
サル (原文 p.8).....	106
分子構造における影響に関する特殊試験 (原文 p.8).....	106
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (原文 p.8).....	107
コメント (原文 p.8).....	107
評価 (原文 p.9).....	107
要望される今後の試験又は情報 (原文 p.9).....	108
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1988).....	109
略称.....	112

## 原文 目次

原文ページ

説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
高分子への共有結合	1
排泄	1
毒性試験	2
胃に対する BHA の影響に関する特殊試験	2
マウス	2
ラット	2
ハムスター	6
モルモット	7
イヌ	7
豚	7
サル	7
分子構造における影響に関する特殊試験	8
発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験	8
コメント	8
評価	9
要望される今後の試験又は情報	9
EXPRANATION	1
BIOLOGICAL DATA	1
Biochemical	1
Covalent binding to macromolecules	1
Excretion	1
Toxicological studies	2
Special studies on the effect of BHA on the stomach	2
Mice	2
Rats	2
Hamsters	6
Guinea pigs	7
Dogs	7
Pigs	7
Monkeys	7
Special studies on the effect of molecular structure	8
Special studies on potentiation or inhibition of carcinogenicity	8
COMMENTS	8
EVALUATION	9

## ブチルヒドロキシアニソール(BHA)

### 説明 (原文 p.1)

BHAは1961年、1965年、1973年、1976年、1980年、1982年、1986年にFAO/WHO合同食品添加物専門家会議 (JECFA)によってヒトの一日摂取許容量(ADI)が評価された(付録1、参照6、11、32、41、53、59、62及び73)。毒性学的研究論文は1961年、1973年、1976年、1980年、1983年及び1986年に発行された(付録1参照6、33、42、54、63及び74)。FAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)の第30回会議(付録1、参照73)で、0~0.3mg/kg体重の暫定一日摂取許容量(ADI)が定められたが、BHAが食道の過形成を引き起こす可能性を調査するための、豚やサルを用いた適切な試験はまだこれからである。多世代生殖試験も要求された。前回評価以来、新しいデータが利用可能になっており、以下のモノグラフの中で要約され、議論される。さらに、そのモノグラフでは、実験動物の胃に対するBHAの影響に関する特殊試験も検討する。

### 生物学的データ (原文 p.1)

#### 生化学的側面※ (原文 p.1)

※aspect という語が抜けていると思われる

### 高分子への共有結合 (原文 p.1)

タンパク質に不可逆的に結合する代謝物が、肝臓ミクロソーム+NADPH、肝臓ミクロソーム+クメン・ヒドロペルオキシド、羊精囊ミクロソーム+アラキドン酸あるいは西洋ワサビペルオキシダーゼ+過酸化水素を含む *in vitro* 試験で認められた(Newberneら、1986)。

別の *in vitro* 試験(Cummingsら、1985)では、3-tert-ブチルヒドロキシアニソール(3-BHA)代謝は、タンパク質に共有結合する物質を生成することがわかった。もっとも、これら生成物は利用出来るグルタチオン量に直接的に比例して減少した。

しかしながら、第三の試験(Hiroseら、1987a)では、NADPHの存在下又は非存在下で3-BHAとインキュベートした前胃上皮由来の9,000gの上清画分で、高分子への共有結合はみられなかった。放射能標識3-BHAを胃に注入した雄のF344ラットを観察すると、投与6時間後の前胃又は腺胃上皮中では、代謝物は薄層クロマトグラフィーに検出はされなかった。著者らは、2-及び3-BHAの高分子への結合を評価したところ、前胃、腺胃、肝臓、又は腎臓DNAやRNAへの結合はなかったと報告したが、その4つの場所でタンパク質への結合は類似していた。彼らはBHAの活性はBHAの共有結合特性とは関係がないという結論を出した。

これと対照的に、deStafneyら(1986)は、3-BHAは *in vitro* では肝ミクロソームタンパク質と結合したと報告した。 *in vivo* では、3-BHAと前胃のミクロソームタンパク質との結合は、腺胃のミクロソームタンパク質の14倍、肝臓ミクロソームタンパク質の12倍多かった。この研究者たちは、HPLC試験で、他の試料にはなかったピ

ークが前胃の試料にあったと示した。著者らは、BHAの影響はそのチオール類に対する分解作用に因るものであり(その影響の顕著な閾値を説明している)、組織タンパク質あるいは反応性BHA代謝物(おそらく、キノンとヒドロキノンの酸化還元サイクルに起因する酸素ラジカル)への結合によると推測した。

## 排泄 (原文 p.2)

F344ラットの雄を用いてBHAの排泄試験を行った(Hiroseら、1987b)。BHA注入から48時間以内に、BHAの87~96%が尿、糞、又は呼気中に排泄されたことがわかった。メキシあるいはtert-ブチル標識異性体2-BHA及び3-BHAを使用し、3-BHA及び2-BHAそれぞれに対し、尿中には63.7%と69.0%、糞中には28.8%及び18.1%のtert-ブチル標識体が検出された(これらのアイソトープに対する呼気の検査はしなかった)。3-BHA及び2-BHAそれぞれに対し、尿中には49.8%及び46.5%、糞中には28.3%及び29.6%のメキシ標識体が検出されたが、呼気中には8.3%及び13.7%であった。

第二の試験(Ansari&Hendrix, 1985)では、Sprague-Dawleyラットへの強制経口投与の48時間後、メキシ標識3-BHAの41%が尿中に、53%が糞中に検出された。

ビーグル犬においては、メキシ標識3-BHAの腹腔内<sup>\*</sup>注入48時間以内に、標識体の50~80%が尿中に、15~30%が糞中に検出された(Takizawaら、1985)。

※原文ではJ.p.となっていたが、i.p.の間違いと考え腹腔内と訳した

## 毒性試験(原文 p.2)

### 胃に対するBHAの影響に関する特殊試験 (原文 p.2)

#### マウス (原文 p.2)

一群10匹のNMRIマウスの雄に、0又は1,000 mg/kg体重のBHAを落花生油に溶解して28日間毎日挿管で強制経口投与した。この期間の終了時、マウスの前胃に肉眼で見える病変が認められ、それはラットの病変と類似していた(Altmannら、1986)。

B6C3F1マウスの雄に、粉末飼料に混合した0.5あるいは1%のBHAを104週間混餌投与し、10匹の群を8週の間隔で調べた。64週後、BHAの最高用量群の動物の30%に最初に前胃の過形成がみられた。80週目には、両濃度投与群のマウスで乳頭腫がみられ、その後は動物の10~40%で認められた。88週目から腫瘍が認められたが、その数には並行対象群と有意な差はみられなかった(全低用量群で全1例、全高用量群で全2例)。検出された腫瘍はすべて高分化型(well-differentiated)であった。著者は、腫瘍の数は背景データ(マウス244匹中腫瘍0匹)と比較すると有意であると述べている(Masuiら、1986b; Itoら、1986b; Ito & Hirose, 1987)。

## ラット (原文 p.2)

フィッシャー344(F344)ラットの雄の一群5匹に、0、0.1、0.25、0.5、1又は2%のBHAを含む餌(コーン油状、ペレット状、又は粉末)を投与した。9又は27日後、ラットをと殺し、前胃の扁平上皮の増殖的变化を組織学的に検査した(Claysonら、1986)。同じ混餌投与による一群5~15匹のラットに放射能標識チミジンを、と殺直前に投与し、前胃の扁平上皮の標識体取り込みを調べた(標識インデックス)。チミジンは複製細胞DNA(replicating cellular DNA)に取り込まれ、その存在は細胞増殖の誘導の指標となる。0.25%又はそれ以下のBHAを9日間投与したラットでは、標識インデックスへの影響はみられなかった。病理組織学的には、0.5%及びそれ以上のBHAを投与したラットでのみ過形成が観察され、影響がみられた前胃領域の大きさは用量依存的であった。2%のBHAをペレットで投与した9日後、前胃の小彎(the lesser curvature)に沿って粘膜が局所的に4倍肥厚しているのが認められた。乳頭突起及び不規則な間隔に並んだ乳頭間隆起、表皮肥厚及び角化症が観察された。多くの有糸分裂像(mitotic figures)が、その他は正常な外見の基底層(basal layers)でみられた。下層(underlying layers)では急性の炎症性細胞湿潤もみられた。27日後には、さらに肥厚は6倍に広がっており、前胃-胃底の結合部隣接部で最も顕著に見ることができた。2%のBHAを含むペレット混餌投与後9及び27日後には、標識インデックスは前基底部領域でおよそ8倍に増加していた。コーン油を介してBHAを投与すると、27日後の標識インデックスは4倍に増加したにすぎなかったが、前基底部領域での肥厚は12倍以上に増加していた。胃の中間部では、コーン油vsペレット飼料のBHA標識インデックスに投与の影響は類似(2倍)していたが、肥厚はコーン油飼料の方が目立たなかった(4倍vs9倍)。ペレット飼料と粉末飼料のBHA投与の影響に有意な差はなかった。

別の試験(Hiroseら、1987c)では、雄F344ラット5匹の群に、2%のBHAを粉末飼料で4週間投与した。重度の過形成が、主として食道の開口部付近の胃の前基底部で観察された。前胃では、食道開口部と前胃の境界縁あたりの上皮の白色の肥厚がみられ、一方、中央部では巣状の色むら(focal patchiness)がみられた。また有意な体重増加抑制がこれらの動物で観察されたが、肝臓重量は対象動物と比較すると有意に増加した。

第三の試験(Claysonら、1986)では、雄F344ラットの一群5匹に、0、0.1、0.25、0.5あるいは2%BHA(粉末)を13週間投与した。2%BHA投与群の動物で著しい体重増加の減少がみられた。増殖性病変が、2%投与群の前胃上皮でのみ生じた。これらの動物では、扁平上皮の肥厚及び基底細胞の下方増殖があった。角化症と同様に乳頭突起及び乳頭間突起(rete pegs)も観察された。しかしながら、前胃の筋肉層は正常であった。0.5%BHA投与群の動物では標識体インデックスは増加し、9日後には通常の2.5倍(2.5x)、2%BHA投与群の動物では91日後に5.3倍(5.3x)であった。1週間後、全投与群に関して動物は正常に戻ったが、粘膜の病変はより緩慢に戻り、投与停止9週後も依然として認められた。

Claysonら(1986)は、追跡試験として、ラットに2%BHAを3ヶ月投与した後に基本食を12ヶ月投与し、あるいはラットにBHAを6ヶ月投与した後に基本食を9ヶ月投与して、前胃を検査した。これら両群の前胃は組織学的にほぼ正常で、6ヶ月投与群は外見的には正常な上皮からの下方への突起が少数みられた。しかし、2%BHAを12ヶ月投与した後に3ヶ月基本食を投与したラット2匹は、前胃の扁平上皮細胞腫瘍が認められ、その他のラットは高い増殖率を示す乳頭状増殖(papillary growths)がチミジン標識体により示された。

別の試験(Masuiら、1986a; Ito&Hirose、1987年)では、雄F344ラット10匹に、2%BHAをペレット飼料で24週間混餌投与した。別の20匹は、24週は同じ飼料を投与し、動物をBHA暴露から離す影響を評価するため、その後BHAの入っていない飼料を72週間投与した。BHAを24週間投与したラットの前胃は、特に境界縁において上皮の肥厚を示した。しかしながら、BHAを24週間投与し、その後72週間は暴露から取り除いた動物の境界縁付近でも、ごくわずかな肥厚がみられた。24週間BHAを投与したラットは前胃で過形成及び乳頭腫を生じた。

これらの変化は、しばしば間質増殖を伴う重層(stratified)扁平上皮の肥厚を伴う上方への増殖、及び長方形の縁を形成する基底細胞の下方への増殖を含んでいた。粘膜固有層(lamina propria)や粘膜下層(submucosa)中の急性炎症反応もみられた。投与を中止した動物において、過形成や乳頭腫の上方への増殖は完全に消失していた。しかしながら、基底細胞の下方への増殖は全ラットにおいて継続しており、検査したラット中3匹で乳頭腫が観察された。しかしながらこの群において炎症はみられず、基底細胞における形成異常的变化や腫瘍は観察されなかった。

同様の試験(Itoら、1986a; Tamanoら、1986年)で、他の研究者は以下のように報告している。F344ラットの雄の一群50匹に、0、0.125、0.25、0.5、1、あるいは2%のBHAを粉末飼料で投与した104週後、観察期間の体重増加は用量依存的に減少し、少なくとも0.5%BHA以上投与したラットにおいて統計的に有意であった。もともと、いずれの投与群においても摂餌や外部の臨床症状に有意な差はなかったが、BHAを投与した動物において、陽性対照と比較して有意な病態は前胃上皮以外のどの場所でもみられなかった。また、有意な前胃の損傷は0.5%以上のBHAを投与した動物のみにみられた。この損傷は広範囲の隆起(raised)病変の形をとり、用量依存的に発現し、最も深刻な影響部位は境界縁であった。104週間の投与期間の終了時に、2%BHA投与群の動物の100%に前胃の肉眼で見える過形成、100%に乳頭腫がみられ、22%は扁平上皮癌も認められた。これらの腫瘍は高分化(well differentiated)しており、ケラチン化(keratinisation)を示していた。しかしながら転移はみられなかった。1%BHA投与群の動物は、88%が過形成、20%が乳頭腫を示したが、腫瘍はみられなかった。0.5%、0.25%、及び0.125%のBHA投与群のラットに対しては、それぞれ32%、14%、及び2%の過形成が可視的であったが、それ以上の重度病変は報告されなかった。

この試験の確認試験として、F344ラットの雄に1又は2%のBHAを粉末飼料で104週間投与し、試験過程で一群10匹を8週毎にと殺した(Matsuiら、1986b; Itoら、1986b)。前胃の過形成が最初の観察時、つまり投与開始から8週後に両投与群の数匹で観察された。高用量群では投与16週以降、低用量群では投与40週以降、ほぼ全ての検査した動物で、過形成が認められた。高用量群で、乳頭腫は最初に8週でみられ、32週ではこの群の事実上全ての検査動物にみられた。低用量群では、乳頭腫は最初の48週ではみられなかったが、56週後には検査した全動物の80~90%でみられた。扁平上皮細胞癌が生成した動物は、2%BHAを投与した動物群のみにみられ、48週で最初に観察され、80週で2例目が認められた。発生頻度はその後ゆっくりと増加し、104週までには、検査した14%の動物でこの病変が示された。いかなる投与群のいかなる動物でも、いかなる種類の腺胃の変化もみられなかった。

F344ラットの雌雄に0.5又は2%のペレット状BHAを104週間投与した試験も報告された(Itoら、1982; Itoら、1983; Itoら、1985; Ito&Hirose、1987)。ラットは投与群に一群約50匹とした。2%BHA投与群の動物で、両性の平均体重増加は減少し、同じ飼料で16週混餌投与した後にその差は有意となった。投与期間終了時、2%BHA投与した雄の100%及び雌の98%が前胃で過形成を示した。対照的に0.5%BHA投与した雄では26%、雌では20%が過形成を示したに過ぎなかった。乳頭腫に関しては、2%のBHAを投与した雄の100%、雌の96%がこの種の病変を示した一方、0.5%のBHAを投与した両性の動物でこの所見は2%であった。扁平上皮細胞癌は2%BHA投与群の動物のみにみられ、この用量群の雄35%、雌30%\*で肉眼的に観察された大半の腫瘍は前胃の境界縁の部分でみられた。腫瘍には灰白色で結節がみられた。組織学的に、扁平上皮細胞癌は高分化型の場合もあり、そうでない場合もあった。高分化型のは角質化しており、核異型と多くの有糸分裂像が存在した。筋肉層及び脂肪組織への湿潤がみられた。3例の転移がみられた。いずれの群においても、他の器官での腫瘍の有意な発生頻度はみられなかった。これらの診断も独立して確認された(Moch、1986)。

※原文は、35% of the males and 30% at that dose levelとなっており、femalesという単語が抜け落ちていると思われる。

Wistarラットの一部雌雄5~10匹に、2%BHAを粉末飼料で1、2又は4週間投与した(Altmannら、1985; Altmannら、1986)。1週間後、軽度の過形成及び角化症を伴う上皮の損傷、及び血液で満ちた嚢胞性腫大が前胃でみられ、肝臓は顕著に増大した。2週間後には過形成と角化症の進行がみられた。またBHAを供給した動物の体重は有意に減少した。4週では、前胃粘膜で重篤なびまん性過形成、表皮肥厚、角化症がみられ、最も顕著な病変は境界縁の部分であった。しかしながら、BHA無しの追加の4週間後には、その観察された影響は、体重差も含めほぼ完全に消失した。第二の実験では、雄ラットの一部3匹に1、2、4、8、16、又は32日間1g/kg体重/日のBHAを落花生油状物で挿管投与した。わずか1日後に、有糸分裂活動が増加し、2日後には軽度の過形成が前胃でみられた。しかしながら、炎症反応や表層の影響は顕著でなく、著者は扁平上皮の過形成が初期損傷とその後の再生活動に起因しないとしている。第4回の挿管後、前胃の全壁は肥厚し、しわが寄り、腫れていた。8日後には、過形成的変化は退行した。落花生油状物の強制投与により、病変部は境界縁から離れたところに出現した。BHAの挿管中止の4週間後には、前胃はほぼ完全に元に戻り、軽度の過形成のみが残った。これらの試験期間中、腺胃や食道で何らかの変化がみられた時期はなく、性差もみられなかった。

90日混餌試験(Altmannら、1986)では、Wistarラットの一部雄雌各10匹に、0、0.125、0.5あるいは2%のBHAを結晶質の形で投与した。最高濃度は前胃の基底部分で上皮の形成障害を伴う顕著な角化症と過形成が生じた。やや顕著でない病変が0.5%投与群でみられ、軽度病変のみが0.125%投与群でみられた。第二の試験では、0、0.025、0.125あるいは2%のBHAを一群雄雌各20匹ラットに落花生油に溶解して投与した。この場合も、高用量群で前胃に顕著な過形成がみられた。低用量群で影響があった動物はなかった。そのラットのうち1匹のみ食道に影響を受けた。BHAの損傷の可逆性に関する試験では、BHAを6、12、又は15ヶ月投与した5匹の雄と5匹の雌Wistarラットの群に7ヶ月BHAを投与しないしていると前胃の重篤な病変はほぼ完全に元通りになった。

別の試験(Takahashiら、1986)では、雄のWistarラット(一群当たり10匹)に、1あるいは2%のBHA(粉末)を32週間投与した。それらのBHAを投与した動物では、前胃の扁平上皮粘膜肥厚と扁平上皮乳頭腫の存在が体重増加の遅れと同様報告された。2%のBHAを投与した動物では新生物(Neoplasmas)が前胃の大部

分を占有していた。これらの病変部は絨毛性結節で色は灰白色であった。表面上皮は、表層の壊死と扁平上皮膜組織の長い突起(long processes of squamous cell epithelium)を伴う角化症を示した。乳頭腫の発生頻度はこの群で100%であった。4例(発生頻度20%)で粘膜下層への下方成長(downward growth)もみられた。1%BHA投与群の動物には前胃に単一あるいは複数のポリープ様腫瘍がみられ、乳頭腫の発生頻度は40%であった。どの投与群にも腺胃あるいは十二指腸の病変はみられなかった。

10匹のWistarラットの群に2/3の部分的肝臓切除術を施し、その後粉末飼料で2%のBHAを投与した場合、前胃の病変部成長は有意に速やかであることがわかった(Abrahamら、1986)。この条件下では、腫瘍は3ヶ月後で初めてみられた。しかし、この試験で体重増加の抑制は報告されなかった。BHAのみを投与した後の動物の前胃において、わずかな過形成がみられたのみであったが、部分的肝臓切除術の後BHAを投与した動物では前胃に肉眼で見える腫瘍を示した。これら後者の動物では、前胃粘膜は肥厚し白色で、密集した(confluent)結節性(nodular)腫瘤(masses)がみられた。部分的肝臓切除の後、2%のBHAを投与した動物10匹の全てが過形成を示し、顕著な角化症とともに乳頭腫もみられた。動物の半数は腫瘍もまた示した。その腫瘍は高分化しており、異型変化、核異型、及び有糸分裂活性を伴った。筋肉層及び脂肪組織への腫瘍の浸潤もみられた。顆粒細胞、リンパ細胞、及びマクロファージの粘膜下層への浸潤も報告された。他の全ての器官は外見上正常であった。

30匹の雄のSprague-Dawleyラットの群に1%のBHAを3か月投与した(Newberneら、1986)。この投与期間の終わりに、動物の66%は、前胃の過形成がみられ、26%はさらに乳頭腫を示し、6%はさらに腫瘍が認められた。BHAを投与した動物において、活発なDNA合成を受けている前胃の細胞を示す標識インデックスは対照動物の11倍以上の高い値であった。個別の実験では、BHAを強制経口投与した動物は飼料中にBHAを投与した動物よりもはるかに深刻な影響を受けたことがわかった。前者の群では12/18の動物が腫瘍を持つことがわかったが、後者ではわずか2/20が同様の問題を持っていたにすぎなかった。

## ハムスター (原文 p.6)

Syrianゴールデンハムスターの一群に2%のBHAの餌を28日間投与した(Altmannら、1986)。この期間の終了時、ハムスターの前胃での肉眼的病変がみられたが、ラットやマウスの病変とは異なっていると報告された。角化症は、ハムスターで肉眼的にはみられなかったが、粘膜はそれほど弾力的でなく、時々厚くなり、しわが寄った。肉眼的に軽度の過形成及び角化症が観察された。これらは雌でより顕著であった。

別の試験(Hiroseら、1986d; Itoら、1986b)では、Syrianゴールデンハムスターの雄の一群およそ30匹に、1%のBHAを粉末飼料で1日又は3日、あるいは1、2、3、4、16週間混餌投与し、その後(標識インデックスを確認できるように)放射能チミジンを注入し、と殺して検査した。BHAを投与した動物は対照動物と比較すると体重減少を示したが、肝臓重量は増加した。少なくとも1週間BHAを投与したハムスターにおいて、前胃上皮の巣状(focal)肥厚が潰瘍とともに、又は潰瘍無しでみられ、時には密なケラチン状の灰白色物質で覆われていた。検査した他の器官では異常はなかった。過形成の重症度は暴露時間とともに次第に増した。乳頭腫は4週目から観察され始めた。好中球浸潤もまた観察された。標識インデックスの増加は観察された病変の重症度に比例

した。

同様の試験(Hiroseら、1986b)では、15匹のハムスターに1%のBHAを含む粉末飼料を20週間混餌投与し、そのうち3匹は標識インデックス決定のため、と殺直前に放射能チミジンを注入した。この場合も、BHAを投与した動物で体重増加の抑制がみられた。白色のケラチン状物質を伴う前胃上皮の肥厚もまた観察された。全ての動物が重度の過形成を示し、60%はさらに乳頭腫の病変も示した。前胃の標識インデックスは対照動物のほぼ3倍であった。検査された他の器官では変化はみられなかった。

これらの観察は、次の試験(Masuiら、1986b; Ito & Hirose、1987)で1%又は2%のBHA104週間の投与に延長した。雄ハムスター10匹の群を8週の間隔で観察した。これらの動物においては、前胃の過形成が投与8週目からの両投与群の全ての動物で観察された。乳頭腫も同様に、8週目からの高用量群、16週目からの低用量群のほぼ全ての動物でみられた。角化症及び粘膜下層への腫瘍の下方成長はしばしば観察された。扁平上皮細胞癌は64週目から両投与群で観察された。それらは高分化しており、肝臓への浸潤が1例でみられた。投与104週後には過形成は2%投与群で100%、1%投与群で96%、対照群で17%であった。同様に、乳頭腫を示したのは、2%群で95%、1%群で98%、対照群で0%であり、腫瘍を示したのは、2%群で10%、1%群で7%、対照群で0%であった。

#### モルモット (原文 p.7)

モルモットに、1%のBHAを含む20ヶ月間混餌投与した試験では、胃の肉眼的変化は示されなかった(Ito&Hirose、1987)。

#### イヌ (原文 p.7)

29匹の雄と30匹の雌のビーグル犬(前胃を欠いている)の群に0、1.0、又は1.3%のBHAを180日間投与した(Ikedaら、1986; Moch、1986)。最高用量のBHAを投与した動物において摂餌量と体重増加は抑制され、どの用量のBHAを投与した動物においても肝臓重量は増加した。BHAを投与した動物の肝臓を超微細構造検査すると、滑面小胞体及び肝細胞の細胞質のmyelinoid bodiesの増殖を示した。胃と下部食道を光学電子検査すると、増殖性又は過形成的病変も細胞数の変化もみとめられなかった。

第二の試験で、0.25、0.5あるいは1.0%のBHAを、6ヶ月間3~4匹の雄あるいは雌のビーグル犬の群に投与した(Tobeら、1986)。用量依存的に発達遅延が報告された。肝臓重量は増えたが、その臓器で病理組織学的変化はみられなかった。胃粘膜に変化はなく、遠位食道の扁平上皮の有糸分裂指数において変化は引き起こされなかった。

第三の報告では、ビーグル犬の成体に0~100 mg/kg体重/日のBHAを含む飼料を1年間投与したところ、検査したどの組織においても病理組織学的変化はみられなかった(Ito & Hirose、1987)。

## 豚 (原文 p.7)

妊娠した若い成体のSPF(特定病原体フリー)Danish Landrace giltsに関して、3つの異なる試験が実施された(Olsen、1983; Wurtzen & Olsen、1986; Moch、1987)。3つの試験のデータを総合すると、豚の一群9~13匹に、0、0.5%、1.9%あるいは3.7%のBHA(それぞれ0、50、200、あるいは400 mg/kg体重/日のBHA)を妊娠最初の110日間ペレット投与した。胃の食道部分の上皮変化は、試験群と対照群で類似していた。胃の食道部分に乳頭腫や変化が無いことは、試験群と対照群で類似していた。胃の腺部に乳頭腫や変化が無いことが報告された。中間及び高用量群の数匹で、線形の黄褐色の粗い上皮が食道全長でみられた。3試験中の第一の試験では中間用量群の3匹中1匹、高用量群の3匹中2匹で、肉眼的剖検により食道の病変が認められた。これらの3匹は全て肉眼的剖検でみられた食道の病変部の病理組織学的検査を受け、食道の過形成が認められると診断された。さらに、中間用量群の別の1匹が、肉眼的剖検時には病変がみられなかったが、顕微鏡検査では食道の過形成がみとめられた。第二の試験では、高用量群の3匹中1匹が肉眼的剖検で食道の病変がみとめられた\*。しかしながら、この動物の組織学的検査は実施しなかった。第三の試験では、中間用量の7匹中1匹及び高用量群の4匹中1匹が、肉眼的剖検により食道の病変がみとめられた。これらの動物で報告された病変の組織学的検査を受けた動物はなかった。著者らは、第一の試験における中間用量群の豚1匹、高用量群の豚2匹を根拠として、BHAは食道上皮に影響を与える可能性があると結論した。

※原文は同一文章重複。

## サル (原文 p.8)

カニクイザルの一群雌8匹に、0、125あるいは500 mg/kg体重/日のBHAを20日間、週5回コーン油状物で強制経口投与し、その後用量を半分に減らして全部で85日間続けた(Iversonら、1986; Ito & Hirose、1987)。投与初期には血液の臨床値に一時的な用量関連性変化があったが、正常範囲と異なる値ではなく、投与期間中、ファイバースコープ\*では何ら異常な所見は得られなかった。投与期間終了時の病理組織学的検査では投与関連の影響はみられなかったが、遠位食道の扁平上皮の基底細胞層における有糸分裂指数は1.9倍に上昇していた。BHAを投与した動物においては、肝臓重量もまた用量依存的に増加した。

※原文fibroscopicとなっているが、fiberscopicの間違いだと考えファイバースコープと訳した。

## 分子構造における影響に関する特殊試験 (原文 p.8)

Syrianゴールデンハムスター(Hiroseら、1986d)では、3-tert-ブチルヒドロキシアニソール(3-BHA)は2-tert-ブチルヒドロキシアニソール(2-BHA)よりも、その酸化防止剤としての相対的能力と比例して、生物学的損傷を引き起こす可能性が有意に高いことがわかった。しかしながら、F344ラットで放射能標識体を使用すると、2-BHAは3-BHAの約2倍のレベルで投与1週間後の前胃の細胞に取り込まれることがわかった(Hiroseら、1987b)。食品用銘柄BHAは、主として3-BHAからなる。

3つの論文が、BHAの化学構造のどの部分が作用に重要であるかを確認する試験について報告した。20週の投与後に13の構造上関連するフェノール化合物がSyrianゴールデンハムスターの前胃で病変を引き

起こす能力を比較することにより、1つの報告書(Hiroseら、1986b)は以下のように結論を下した。前胃の腫瘍を引き起こす強力な活性を持つには、フェノール化合物は少なくとも1つのヒドロキシ及びちようど1つのtert-ブチル置換基の両方を含んでいなければならない。他の構造的変異(structural variations)は生物学的重要性を持つ独自のスペクトル(spectra)を生成する(Ito&Hirose、1987)。この主題に関し、その他2つの論文(Altmannら、1985; Altmannら、1986)では、WistarラットにBHAに関連する12の化学物質の1つ、あるいはBHAそのものを投与し、BHA構造の重要な部分はメキシ基であるとの結論が出された。

#### 発がん性の強化あるいは抑制に関する特殊試験 (原文 p.8)

BHAと既知の発がん性物質との相互作用について広範囲に研究された(Lindenschmidtら、1987; Hiroseら、1986c; Itoら、1986b; Tsudaら、1987; Fukushima、1987; Hiroseら、1986a; Tsudaら、1984; Newberneら、1986; Takahashiら、1986; Mooreら、1986; Itoら、1985; Williamsら、1986; Masuiら、1986c; 及び Chungら、1986)。数系統のラット及びマウス(雌雄)に、様々な濃度のBHAを数種類の発がん性物質(多様な経路、濃度、時間の長さで)投与の前後あるいは前、期間中及び後、のいずれかの様々な期間に投与した。BHAに発がん物質を追加した真の影響を13の器官で検査した。試験される当該化学物質と試験が実施される環境により、BHAは、発がん物質が活性化する能力を強化するか、阻害する、又は無影響であることが明らかになった。

#### コメント (原文 p.8)

BHAを投与したラットの前胃で観察される増殖性変化に関して追加的情報を提供する試験が実施された。豚やサルのような前胃を持たない種の胃と食道に対するBHAの影響に関する新しい試験は実施されなかった。データによれば、ラットの前胃に、2%BHAを6~12ヶ月連続的に混餌投与することにより扁平上皮細胞癌が発生する。さらに、軽度の過形成誘発は0.125%BHAの混餌投与で起こる可能性があるが、0.1%のBHAでは起こらないということも、データから示されている。豚におけるデータを再評価した後、BHAが豚の食道で過形成を生成するという証拠は疑念があると結論づけられた。さらに、これらの推定される影響は、ラットの前胃で確認された影響を与えたBHA濃度よりも有意に高いBHA濃度で起こることが報告された。2つのイヌの試験で有意な有害影響が無いことを考慮すると、前胃を持たない動物におけるこれ以上の調査は不要であると結論づけられた。ラットの試験のヒトへの関連づけは、ラットの標的組織の相当物がヒトにはないので本質的に疑わしいとしても、容易に無視することはできない。ラットで発生した病変の用量依存性と可逆性に基づき、また前回1986年の研究論文(付録1、参照74)で検討され、それ以降最近の試験で確認されたことにより、ADI(一日摂取許容量)は確立できるとの結論が出された。

#### 評価 (原文 p.9)

毒性学的影響を引き起こさないレベル

ラット:飼料中0.1%(50.0 mg/kg体重/日相当)

ヒトのための推定一日摂取許容量

0~0.5 mg/kg 体重

**要望される今後の試験又は情報 (原文 p.9)**

進行中の生殖試験の結果提出

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1988)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
28 日間胃に関する特殊試験	マウス	0 又は 1,000 mg/kg 体重	マウスの前胃に肉眼で見える病変がみとめられ、それはラットの病変と類似していた。
104 週間胃に関する特殊試験	マウス	0.5 あるいは 1%	64 週後、BHA の最高用量群 30% で前胃の過形成。両濃度で 80 週目で乳頭腫がみられ、その後 10~40% でみとめられた。腫瘍は 88 週目から検出されたが、その数は対照群と有意差なし。腫瘍の数は背景データ(244 マウス中腫瘍 0)と比較すると有意。
27 日間胃に関する特殊試験	ラット	0、0.1、0.25、0.5、1 又は 2%	9 日間 0.25% 以下投与で、標識インデックスへの影響なし。病理組織学的には、0.5% 以上投与群でのみ過形成が観察され、前胃領域の大きさは用量依存的。2% 投与 9 日後、前胃の小彎に沿って粘膜が局所的に 4 倍肥厚。乳頭突起及び不規則な間隔に並んだ乳頭間隆起、表皮肥厚及び角化症が観察された。27 日後には、肥厚は 6 倍に広がっており、前胃-胃底の結合部隣接部で最も顕著に見ることができた。2% 投与後 9 及び 27 日後には、標識インデックスは前基底部領域でおよそ 8 倍に増加。
4 週間胃に関する特殊試験	ラット	2%	主として食道の開口部付近の胃の前基底部で重度の過形成が観察された。前胃で食道開口部と前胃の境界縁あたりの上皮の白色の肥厚がみられ、一方、中央部では巣状の色むらがみられた。有意な体重増加抑制が観察されたが、肝臓重量は対象動物と比較すると有意に増加した。
13 週間胃に関する特殊試験	ラット	0、0.1、0.25、0.5 あるいは 2%	2% 投与で体重増加の著しい抑制。2% 群の前胃上皮でのみ増殖性病変が生じ、扁平上皮の肥厚及び基底細胞の下方増殖があった。角化症と同様に乳頭突起及び乳頭間突起も観察された。0.5% 投与で標識インデックス増加し、9 日後には通常の 2.5 倍(2.5x)、2% 投与では 91 日後に 5.3 倍(5.3x)。1 週間後、全投与群は正常に戻ったが、粘膜の病変は投与停止 9 週後でも認められた。
15 ヶ月間胃に関する特殊試験	ラット	2%	2% を 12 ヶ月投与した後に 3 ヶ月基本食を投与した 2 匹のラットに前胃の扁平上皮細胞癌がみられ、その他は高い増殖率を示す乳頭状増殖を示した。
24 週間胃に関する特殊試験	ラット	2%	24 週間投与の前胃は、特に境界縁において上皮の肥厚を示した。24 週間投与は前胃で過形成及び乳頭腫を生じた。
104 週胃に関する特殊試験	ラット	0、0.125、0.25、0.5、1 あるいは 2%	観察期間の体重増加は用量依存的に減少し、0.5% BHA 以上投与で統計的に有意。0.5% 以上投与で有意な前胃の損傷がみられた。104 週間終了時に、2% 投与 100% が前胃過形成と乳頭腫の発生がみられ、22% は扁平上皮癌も示した。1% 投与は 88% が過形成、20% が乳頭腫を示したが、腫瘍はみられなかった。0.5%、0.25%、及び 0.125% 投与は、それぞれ 32%、14%、及び 2% の過形成がみられた。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
104 週間胃に関する特殊試験	ラット	2%	2%投与、両性の平均体重増加減少、16 週後に有意となった。投与期間終了時、2%投与雄 100%及び雌 98%、0.5%投与雄では 26%、雌では 20%が前胃過形成を示した。2%投与した雄の 100%、雌の 96%が乳頭腫を示し、0.5%の投与の両性では 2%。2%BHA 投与のみで雄の 35%、雌の 30%に扁平上皮細胞癌がみられた。他の腫瘍の有意な発生はみられなかった。
4 週間胃に関する特殊試験	ラット	2%	1 週間後、軽度の過形成及び角化症を伴う上皮の損傷、嚢胞性腫大が前胃でみられ、肝臓は顕著に増大した。2 週間後には過形成と角化症の進行がみられた。体重は有意に減少。投与中止 4 週間後、観察された影響はほぼ完全に消失。
胃に関する特殊試験	ラット	1 g/kg 体重/日	1日後に、有糸分裂活動が増加し、2 日後に前胃で軽度の過形成がみられた。炎症反応や表層の影響は顕著でない。挿管中止の 4 週間後には、前胃はほぼ完全に元に戻り、軽度の過形成のみが残った。
90 日胃に関する特殊試験	ラット	0、0.125、0.5 あるいは 2%	最高濃度で前胃の基底部分で上皮の形成障害を伴う顕著な角化症と過形成を生じた。やや顕著でない病変が 0.5%群でみられ、軽度病変のみが 0.125%群でみられた。
胃に関する特殊試験	ラット	0、0.025、0.125 あるいは 2%	高用量群で前胃に顕著な過形成がみられた。低用量群で影響はなかった。損傷の可逆性に関する試験では、6、12、又は 15ヶ月投与した後 7ヶ月投与しないしていると前胃の重篤な病変はほぼ完全に元通りになった。
32 週間胃に関する特殊試験	ラット	1 あるいは 2%	投与動物で、前胃の扁平上皮粘膜肥厚と扁平上皮乳頭腫、体重増加の遅れ。2%投与で新生物が前胃の大部分を占有。1%投与では前胃に単一あるいは複数のポリープ様腫瘍がみられ、乳頭腫の発生頻度は 40%。腺胃あるいは十二指腸の病変なし。
3 ヶ月胃に関する特殊試験	ラット	2%	2/3 の部分的肝臓切除術後粉末投与。3 ヶ月後に腫瘍は初めてみられた。体重増加の抑制はなし。投与のみでは前胃にわずかな過形成がみられたのみだが、部分的肝臓切除術の後では前胃に肉眼で見える腫瘍を示した。
3 か月胃に関する特殊試験	ラット	1%	投与終わりに 66%で前胃の過形成、26%でさらに乳頭腫を示し、6%でさらに腫瘍が観察された。活発な DNA 合成を受けている前胃細胞を示す標識インデックスは対照動物の 11 倍以上。
28 日間胃に関する特殊試験	ハムスター	2%	期間終了時、前胃の肉眼的病変がみられたが、ラットやマウスの病変とは異なっていた。
16 週間胃に関する特殊試験	ハムスター	1%	投与動物は体重減少を示した、肝臓重量は増加。1 週間投与で、前胃上皮の巣状(focal)肥厚が潰瘍とともに、又は潰瘍無しでみられた。過形成の重症度は暴露時間とともに増加。乳頭腫は 4 週目から、好中球浸潤も観察された。標識インデックス増加は病変の重症度に比例。他の器官では変化なし。

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
20 週間胃に関する特殊試験	ハムスター	1%	投与動物で体重増加の抑制。白色のケラチン状物質を伴う前胃上皮の肥厚も観察された。全動物が重度の過形成、60%はさらに乳頭腫の病変も示した。前胃の標識グインデックスは対照動物のほぼ 3 倍。他の器官では変化なし。
104 週間胃に関する特殊試験	ハムスター	1%又は 2%	投与 8 週目から前胃の過形成が両投与群の全動物で観察された。乳頭腫も同様に、8 週目からの高用量群、16 週目からの低用量群のほぼ全動物でみられた。角化症及び粘膜下層への腫瘍の下方成長はしばしば観察された。扁平上皮細胞癌は 64 週目から両投与群で観察された。肝臓への浸潤が 1 例でみられた。投与 104 週後には過形成は 2% 投与群で 100%、1% 投与群で 96%、対照群で 17%。乳頭腫は、2% 群で 95%、1% 群で 98%、対照群で 0% であり、腫瘍は、2% 群で 10%、1% 群で 7%、対照群で 0%。
20 ヶ月間胃に関する特殊試験	モルモット	1%	胃の肉眼的変化なし。
180 日間胃に関する特殊試験	イヌ	0、1.0、又は 1.3%	最高用量投与で摂餌量と体重増加の抑制、全用量で肝臓重量増加。
6 ヶ月間胃に関する特殊試験	イヌ	0.25、0.5 あるいは 1.0%	用量依存的に発達遅延。肝臓重量増加したが、病理組織学的変化なし。
1 年間胃に関する特殊試験	イヌ	0~100 mg/kg 体重/日	病理組織学的変化なし。
110 日間胃に関する特殊試験	豚	0、0.5%、1.9%あるいは 3.7%(それぞれ 0、50、200、あるいは 400 mg/kg 体重/日の BHA)	中間及び高用量群の数匹で、線形の黄褐色の粗い上皮が食道全長でみられた。
85 日間胃に関する特殊試験	サル	0、125 あるいは 500 mg/kg 体重/日	投与期間終了時、遠位食道の扁平上皮の基底細胞層における有糸分裂指数は 1.9 倍に上昇していた。投与群で、肝臓重量が用量依存的に増加。
分子構造に関する特殊試験	ハムスター		3-tert-ブチルヒドロキシアニソール(3-BHA)は 2-tert-ブチルヒドロキシアニソール(2-BHA)より、生物学的損傷を引き起こす可能性が有意に高い。
分子構造に関する特殊試験	ラット		投与 1 週間後 2-BHA は 3-BHA の約 2 倍、前胃細胞に取り込まれる。
20 週分子構造に関する特殊試験	ハムスター		前胃腫瘍の誘導活性には、フェノール化合物は少なくとも 1 つのヒドロキシ及びちょうど 1 つの tert-ブチル置換基の両方が必要。
発がん性に関する特殊試験	ラット、マウス		試験物質と試験環境により、発がん物質の活性化の強化、阻害、又は無影響がみられた。
その他			ADI: 0~0.5 mg/kg 体重  毒性学的影響を引き起こさないレベル(ラット): 0.1%(50.0 mg/kg 体重/日に相当)

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量

# ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理

JECFA 1999

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je23.htm>

FAS 42, 1999



## ブチルヒドロキシアニソール 評価書和訳と情報整理 JECFA (1999) 目次

ブチルヒドロキシアニソール(BHA) 摂取のナショナルアセスメント評価 (原文 p.1).....	117
1. 緒言 (原文 p.1) .....	117
2. 収支法によるブチルヒドロキシアニソールのスクリーニング (原文 p.2).....	118
3. ブチルヒドロキシアニソールの摂取評価 (原文 p.2) .....	119
3.1 1 ポンド当たりの手数料(消失(disappearance))データに基づく評価(原文 p.2) .....	119
3.2 食品バランスシート及び家庭経済調査データに基づく評価 (原文 p.3) .....	120
3.3 モデル食事に基づく評価 (原文 p.3).....	120
4. ブチルヒドロキシアニソールの推定摂取量の評価 (原文 p.6) .....	125
5. 結論と提言 (原文 p.8) .....	129
5.1 食品添加物一般基準で指定された最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量 (原文 p.8) .....	129
5.2 国あるいは欧州連合の最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量(原文 p.8) ...	129
5.3 食品添加物と汚染物質に関するコーデックス委員会への提言 (原文 p.8).....	130
6. 引用文献(原文 p.9) ... 以下、省略.....	130
ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1999).....	131
略称.....	131

## 原文 目次

原文ページ

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)摂取のナショナルアセスメントの評価	1
1. 緒言	1
2. 収支法によるブチルヒドロキシアニソールのスクリーニング	2
3. ブチルヒドロキシアニソールの摂取アセスメント	2
3.1 手数料(消失)に関するデータに基づくアセスメント	2
3.2 食品のバランスシートと家庭経済調査データに基づくアセスメント	3
3.3 モデル食事にに基づくアセスメント	3
3.4 個々の食事記録に基づくアセスメント	6
4. ブチルヒドロキシアニソール推定摂取量の評価	6
5. 結論と提言	8
5.1 食品添加物一般基準で指定された最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量	8
5.2 国あるいは欧州連合の最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量	8
5.3 食品添加物と汚染物質に関するコーデックス委員会への提言	8
6. 引用文献	9

EVALUATION OF NATIONAL ASSESSMENTS OF INTAKE OF BUTYLATED HYDROXYANISOLE(BHA)	1
1. INTRODUCTION	1
2. SCREENING OF BUTYLATED HYDROXYANISOLE BY THE BUDGET METHOD	2
3. ASSESSMENTS OF INTAKE OF BUTYLATED HYDROXYANISOLE	2
3.1 Assessments based on data on poundage(disappearance)	2
3.2 Assessments based on data from food balance and household economic surveys	3
3.3 Assessments based on model diets	3
3.4 Assessments based on individual dietary records	6
4. EVALUATION OF ESTIMATES OF INTAKE OF BUTYLATED HYDROXYANISOLE	6
5. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	8
5.1 National estimates of intake of butylated hydroxyanisole based on maximum limits specified in the General Standard for Food Additives	8
5.2 National estimates of intake of butylated hydroxysnisole based on national or European Union maximum limits	8
5.3 Recommendations to the Codex Committee on Food Additives and Contaminants	8
6. BIBLIOGRAPHY	9

化学物質の安全性に関する国際プログラム

世界保健機関

## 食品添加物の安全性評価

世界保健機関(WHO)食品添加物シリーズ:42

食品添加物に関するFAO/WHO合同専門委員会(JECFA)の第51回会合によって作成された。

世界保健機関、ジュネーブ、1999年

IPCS -化学物質の安全性に関する国際プログラム

ブチルヒドロキシアニソール(BHA) 摂取のナショナルアセスメント評価 (原文 p.1)

Janis Bainesによって作成された第1ドラフト

オーストラリア・ニュージーランド食品局、キャンベラ、オーストラリア

### 1. 緒言 (原文 p.1)

本委員会は、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の摂取を評価し、この化合物について、広範囲の固形食品、及び水性で、味付けされており、アルコールを含まない飲料水における最大限界値を食品添加物と汚染物質に関するコーデックス委員会(CCFAC) によって作成されている食品添加物一般基準(GSFA)草案において提案した。BHAの一日摂取許容量(ADI)は、0~0.5 mg/kg体重とされた(付録1. 引用文献 83)。

BHAは、脂肪又は油を含んでいる製品中の酸化防止剤として一般的に使用される食品添加物であり、酸化防止剤の相乗効果のために、ブチルヒドロキシルエン、tert-ブチルヒドロキノン及び没食子酸プロピルと組み合わせて使われることがある。

情報は10ヶ国から提供された。その10ヶ国とは、オーストラリア、ブラジル、中国、フィンランド、フランス、日本、ニュージーランド、スペイン、英国及び米国である。共同アセスメントは、オーストラリアとニュージーランド(Aus-NZ)によって提供された。アセスメントは、手数料、家庭経済調査あるいは販売データ、モデル食事からの情報及び/又は個々の食事記録などのデータに基づいたものである。提出されたデータの要約を表1に記載した。

表1 ブチルヒドロキシアニソールに関する提出データ要約

国	収支法	手数料データ	FBS/HES/販売データ	モデル食事	個々の食事記録
オーストラリア					
ニュージーランド	X			X	X
ブラジル	X		X		
中国	X	X		X	
フィンランド		X			
フランス			X		X
日本				X	
スペイン	X	X	X		
英国		X		X	X
米国		X		X	

FBS:食品バランスシート(food balance sheet)、HES:家庭経済調査(household economic survey)、販売:小売店

## 2. 収支法によるブチルヒドロキシアニソールのスクリーニング (原文 p.2)

コーデックスGSFA(食品添加物一般標準)は、広範囲の固形食品及び水性の味をつけた飲料水中へのBHAの使用を許可することを提案する。表2に、各国における収支法によって作られた計算値を要約する。これは、BHAの許可された使用パターンやBHAを含む可能性がある固形食品と飲料水の割合、BHAの許容最大値やその国の収支法によって算出された理論最大値の比較を含む。

固形食品中で使用されるBHAの理論最大値は、データを提出した4ヶ国の許容最大値より低く、更に、GSFA値の1,000 mg/kgよりも低かった。英国からの報告には、収支法(budget method)による以前のBHA摂取評価では詳細な摂取評価が必要であるとCCFACに対して指摘されたことが注記されていた。

スペイン及び米国のみが飲料水中へのBHA使用認可を報告した。固形食品に関しては、収支法によって算出された理論最大値は、スペイン、あるいはGSFAの使用許容値より低かった。米国は詳細な収支計算を提出しなかった。しかし、スペインと同様に、米国の人口の少なくとも15%は、BHAを含む飲料水を消費している可能性がある。従って、理論最高濃度は17 mg/kgになると考えられるが、それは米国国内の混合飲料水中で許可された90 mg/kgよりも低い値である。

詳細な摂取アセスメントが、固形食品と飲料水中のBHA使用のために必要である。

### 3. ブチルヒドロキシアニソールの摂取評価 (原文 p.2)

#### 3.1 1ポンド当たりの手数料(消失 (disappearance))データに基づく評価 (原文 p.2)

5ヶ国における一人当たりのBHA利用可能量の手数料データに基づく推定量を、表3に示す。その推定量は、スペインのデータ意外は全てが一日摂取許容量(ADI)以下にあり、中国での0.01 mg/kg体重/日(ADIの1%)から、スペインでの0.48 mg/kg体重/日(ADIの100%)まで広範囲である。BHAの一人当たりの平均摂取量は、フィンランドにおける1980年と1995年の比較で、0.03 から0.01 mg/kg体重/日(ADIの6から2%へ)へ減少したように見えるが、米国における1987年と1995年の比較では、0.01から0.07 mg/kg体重/日(ADIの2から10%へ)へ増加したように見える。

スペインにおけるADI 100%という推定摂取量は、他の国々よりも高く、高い消費者を抱える米国(1995年の90パーセントイル値に位置する消費者のADIは、0.14 mg/kg体重/日)より高い。これらの違いは、スペインでは固形食品と飲料水の両方でBHA使用が報告されていることによると思われる。更に、飲料水中の最大許容値(200 mg/kg)は、他の全ての国々の値(90 mg/kg)より高い。欧州連合が、飲料水中のBHA使用を許可していないことに注目すべきである。このヨーロッパ指令が合意される前に、スペインのデータは照合されていた可能性がある。

表2 収支法によるブチルヒドロキシアニソール(BHA)の理論最大値の推定

国	BHA を含む食品 又は飲料水供給%	国別最大値 (mg/kg)	GSFA 最大値 a (mg/kg)	理論最大値 (mg/kg)
オーストラリア -ニュージーランド	50% 固形食品	200	1,000 固形食品	40
ブラジル	25% 固形食品	200	1,000 固形食品	80
中国	20% 固形食品	200	1,000 固形食品	100
スペイン b	5% 固形食品 15% 飲料水	400 固形食品 200 飲料水	1,000 固形食品 90 飲料水	200 固形食品 17 飲料水

GSFA: 食品添加物一般基準(General Standard for Food Additives)

a 提案された最大使用値は次のとおりである: 9.2.1(冷凍魚、魚の切り身及び軟体動物、甲殻類及び棘皮動物を含む魚加工品)に対し、1,000 mg/kg

14.1.4.3(水をベースにした、風味付け飲料水に対する濃縮物(液体又は固体))に対し、90 mg/kg

b BHA の 50%が固形食品、50%が飲料水に使用されると仮定。現在の欧州連合指令は、飲料水中の BHA 使

用を許可していない。

### 3.2 食品バランスシート及び家庭経済調査データに基づく評価 (原文 p.3)

BHA摂取量を評価するために食品バランスシートからのデータ使用を報告した国はなかった。英国の報告には、そのようなデータは一次産品として表示されており、加工されて添加物を含んでいると思われる商品のパーセントは通常分からないことが注記されている。

4ヶ国が世帯調査あるいは販売データに基づくデータを提出したが、そこでは、使用最大値が推定されている。データを表4に要約する。高消費者は、一般的には家庭経済調査や販売データから識別できないが、フランスからの提出資料は、高消費者世帯のデータに基づく90及び95パーセンタイル値に位置する消費者の潜在的推定摂取量が含まれていた。

家庭経済調査及び販売データに基づくBHA推定摂取量は、フランスの0.02 mg/kg体重/日(ADIの3%)からスペインの0.25 mg/kg体重/日(ADIの50%)までの範囲であり、潜在的摂取量が全てADI以下であることを示している。スペインの推定量がより高いことは、固形食品と飲料水の両方でのBHA使用を反映している可能性がある。一方、フランスとブラジルでは固形食品のみにその使用が許可されている。

### 3.3 モデル食事に基づく評価 (原文 p.3)

6ヶ国が、モデル食事に基づいたデータを提出した。表5に、それらの詳細を要約する。モデル食事で作られた推定量解釈のためには、各モデル食事を構築する際に設定した前提を記すことが不可欠である。その結果は、設定された前提が異なるので、直接比較はできない。オーストラリア・ニュージーランド(Aus-NZ)と英国で使用されたモデル食事は、高消費者の摂取量を推定するために、最大添加物濃度を想定して構築された。米国で使用されたモデル食事は、長期消費者の摂取量を予想するために、アメリカ市場調査会社(MRCA: the Market Research Corporation of America)の1982~88年の食品摂取頻度表(food frequency tables)をもとにした食品消費、及び米国農務省によって1987~88年に行なわれた3日間全米食糧消費調査の平均の一人前量(average portion size)に関するデータを用いて構築された。最大添加物濃度が推定された。日本のモデル食事には、平均的消費者の実際のBHA摂取推定量を導き出すために、国民食糧消費データによる食品添加物濃度の分析値が使用されたという点で、異なる。

表5にモデル食事に基づく推定量を要約する。オーストラリア・ニュージーランド及び英国の高消費者モデルに基づく推定量は、両者ともにADIを超えている。すなわち、英国の成人摂取量は、2 mg/kg体重/日(ADIの400%)、及びオーストラリア・ニュージーランドでは、1.8 mg/kg体重/日(ADIの360%)であった。子供用に英国で使用されたモデルは、以下のとおりである。すなわち、幼児のBHA摂取量は、5.4 mg/kg体重/日(ADIの1,000%)であり、体重に対する食物消費率が高いため、成人摂取量より高い傾向にある。4.8 mg/kg体重/日(ADIの950%)という類似の推定量は、中国から提出された高消費者に対する値である。しかしながら、5つの食品グループの高消費値は総BHA摂取量を得るために合計されているため、高い消費者といっても、これは過大

値である。

一般的に、オーストラリア・ニュージーランド、中国、及び英国における推定摂取量は、作られた前提から予測されるように、米国の長期消費者モデルからのものより高い。米国モデルでは、その推定摂取量は、平均的消費者に対して0.38 mg/kg体重/日(ADIの76%)であり、そして90パーセントイル消費者に対して0.76 mg/kg体重/日(ADIの150%)である。もし、BHAのGSFAレベルを想定するならば、BHAの平均並びに高い消費者両者のBHA摂取量は、ADIを超過する。

全食事調査に由来する日本のBHA推定摂取量は、他のモデル食事からの結果に比べ、はるかに低い値(0.003 mg/kg体重/日、あるいはADIの1%)であったが、これはBHA濃度が実測値(例えば、冷凍魚や油脂類で0、干物で12 mg/kg、塩魚で1 mg/kg)であり、冷凍魚、干物、塩魚及び油脂類に対して200 mg/kgとしたGSFA許容最大値よりもはるかに低かった。日本の許容使用濃度に関する情報の欠如から、日本のBHA摂取量は、最大GSFAレベルを想定することと、報告された日本の食品消費データ(チューインガム中の750 mg/kgを除き、全ての調査された食品に対し、200 mg/kgと仮定したモデル)によって推量された。日本の改訂推定摂取量は、0.11 mg/kg体重/日(ADIの20%)であった。

オーストラリア・ニュージーランド及び英国の高い消費者モデルの有用な一面は、高い消費がADIを超過しそうな対象となる個々の食品あるいは食品グループを識別できるところにある。国の添加物使用レベルを前提としているオーストラリア・ニュージーランドモデルでは、食用脂肪やその乳剤の高い消費者は、そのADI(ADIの260%)を超過するBHAを摂取しているかもしれない。乾燥粉末ポテトの高い消費者は、そのADI(100%)でBHAを摂取しているかもしれない。英国モデルでは、スープ、加工野菜及び細切れ肉の高い消費者は、そのADI(それぞれ、ADIの150、140及び130%)を超過しているかもしれない。しかしながら、このモデル食事は、美味しいパン製品中の最高濃度が200 mg/kgであると仮定しており、美味しい混合パン製品に現実的に適応するレベルであった。もし、25 mg/kgの正確なレベルが使用されれば、美味しいパン製品は識別されなかっただろう。もし、BHAの提案GSFAレベルが、使用が認められる食品の範囲のモデル中の国使用レベルに代用される場合、高い消費が、そのADIを超過するBHA摂取結果につながるかもしれないことから、食品の追加リストが識別される。オーストラリア・ニュージーランドモデルでは、そのような追加食品には、ココアやチョコレート製品、加工ひき肉、鮮魚、及び冷凍魚、食事用補助食品、並びにスープを含む製品がある。BHA濃度がGSFAレベルであって、欧州連合レベルでない追加食品情報は、英国モデル用として不適當であった。

表3 手数料データに基づいたブチルヒドロキシアニソール(BHA)の推定摂取量

国	日付 (年)	前提	BHA の推定摂取量 (mg/kg 体重/日)	% ADI a	コメント
中国	?	人口、12億人で、70% が BHA を消費	0.005	1	固形食品中でのみ使用
フィンランド	1980	人口、490 万人	0.03	6	75%はマーガリン、25%は油 中で使用
	1994	人口、510 万人	0.01	2	ドレッシングのみ
スペイン	?	人口の 15%は未使 用<3 年	0.48	100	固形食品と飲料水中使用
英国	1984-86	人口、5,600 万人	0.007	1	限定固形食品のみ使用
アメリカ	1987	人口、2.4 億人	中間値 0.01	2	固形食品と混合飲料水使用
			90 パーセントイル 消費者 0.02	5	
	1995	人口、2.6 億人	中間値 0.07	10	
		人口の 100%が BHA を消費する 90 パーセントイル 消費者の摂取量は、 中間値の 2 倍	90 パーセントイル 消費者 0.14	30	

a JECFA ADI : 0 - 0.5 mg/kg 体重/日

表4 家庭経済調査と売上高データに基づくブチルヒドロキシアニソール(BHA)の推定摂取量

国	日付	調査	前提	BHA の推定 摂取量 (mg/kg 体重/日)	% ADI a
ブラジル	1992-96	AC Nielsan	チューインガム b 以外の全ての食品に対する 最大の国使用値	0.08	20
			ブラジル; 販売データ	GSFA レベルでチューインガムを含む最大の 国使用値 人口、1.6 億人	0.13
	1984-94	データマーク; 主として メーカーから	チューインガム b 以外の全ての食物に対する 最大の国使用値	0.09	20
			GSFA レベルでチューインガムを含む最大の 国使用値	0.14	30
フランス	?	販売データ	最大の欧州連合使用値; 仏では BHA を含ま ない食品 (油脂類) に対する修正中間値	0.02 (修正)	3
			外食に対する調整値;	0.08 (未修正)	20
			90 パーセンタイル消費者	0.16 (未修正)	30
			95 パーセンタイル消費者	0.2 (未修正)	40
スペイン	1993	世帯調査(*)	許可グループ中の全食品が BHA を含む 家庭内外での消費 下位グループあるいは田舎/都市グループの 区別はない	0.25	50

(\*) household survey(世帯調査) → household economic survey(家庭経済調査)

a JECFA ADI : 0-0.5 mg/kg 体重(\*)      (\*) mg/kg bw → mg/kg b.w./day

b ココナッツ及びチューインガムの最終製品中の想定最大値は、たとえ、ココナッツ中の使用レベルが 60%の脂肪含有量に、また、チューインガム中のそれが、20%のガム含有量に基づいていたとしても、BHA 摂取量を過大評価する結果となる

表5 モデル食事に基づくブチルヒドロキシアニソール(BHA)の推定摂取量

国	日付 (年)	調査	前提	モデルタイプ	BHA 推定 摂取量 (mg/kg 体重/日)	% ADI <sup>a</sup>
オーストラリア・ ニュージー ランド	1983	全国;24 時間回収 成人:25 - 64 歳 サンプル;6,254 体重;71 kg	2 つのモデル:Aus-NZ/GSFA --最大レベル(Aus-NZ 又は GSFA) --95 パーセント高消費レベル --変更した GSFA 分類システム --予備混合物/飲物ベースの修正	高い消費者 b Aus-NZ 許可 GSFA 許可	1.78 6.77	360 1,400
中国	1992	全国世帯調査;24 時間 回収、30 省 サンプル;91,818 体重;60 kg	1 つのモデル --最大 GSFA レベル	中間消費者 高い消費者	0.69 4.77	140 950
日本	1994	全食事/国民 栄養摂取調査 体重;60 kg	1 つのモデル:日本 食品添加物濃度分析値 (未検出の場合はゼロとした)	中間消費者 GSFA 許可 (選択された食 品のみ)	0.003 0.11	1 20
英国	1986- 87	全国、7 日間 計量記録、 成人;16-64 歳 体重;60 kg	3 つのモデル:英国の大人/子供、 --最大添加物レベル(EU) --単位量食事 (GSFA レベルのコーデックス英国許可/成人 クスモデル)	高い消費者 b	2.02	400
	1992	全国、7 日間 計量記録、 子供;1.5-4.5 歳 体重;14.5kg	--97.5 パーセント高消費レベル (英国成人/子供モデル) --GSFA 分類システム	英国許可/子供 単位量、食事/ GSFA 許可	5.38 5.83	1,100 1,200

米国	1982-88	USDA/NFCS (1987-88)からの 比例割合で結合した MRCA 食品出現 頻度データ (1982-87)から得た 14 日間メニュー、 2 年以上 体重;60 kg	2 つのモデル/米国及び GSFA	長期的消費者		
			--最大添加物レベル(米国又は GSFA)	米国許可/中間	0.38	80
			-- 90 パーセントイル高消費値		0.76	150
			中間消費値の 2 倍	米国許可/90	0.94	190
			--全ての回答者は消費者である	パーセントイル 1.88		380
			--GSFA 分類システム(FSDU を除く)	GSFA 許可/中		
		--予備混合物/飲み物ベースの修正	間			
			GSFA 許可/90			
			パーセントイル			

Aus-NZ(オーストラリア-ニュージーランド)、GSFA(食品添加物一般基準)、EU(欧州連合)、MRCA(アメリカ市場調査会社)、USDA/NFCS(米国農務省/国立食料消費調査)、FSDU(特別食用食品)

a JECFA ADI:0-0.5 mg/kg 体重/日

b 97.5 パーセントイル値(英国)あるいは 95 パーセントイル値(オーストラリア-ニュージーランド)での 2 つの主な食品グループからの潜在的な最大 BHA 摂取量を持った 1 つの食品及び全ての回答者に対する中間値での他の主な食品グループの各々からの潜在的な最大 BHA 摂取量を持った 1 つの食品を(\*)消費すると仮定した。

(\*) and from one food with → from は不要と思われる

### 3.4 個々の食事記録に基づくアセスメント (原文 p.6)

個々の食事記録に基づくBHA摂取量の推定は、3ヶ国によって提出された。オーストラリア-ニュージーランド及びフランスは、個々の体重に対して調整した個々の推定量から、中間値とパーセントイル摂取値を引き出したが、英国はそうしなかった。これらの推定量やBHA推定摂取量を導出した前提は、表6に要約されている。

個々の食事記録及び国の使用レベルに基づくBHAの平均摂取量の推定量は、0.03~0.39 mg/kg体重/日の範囲にあり、そしてその数値は、全ての国々の中間消費者に対するADIやフランスと英国における高い消費者に対するADIよりも低い。フランスにおいて報告された低い摂取量(0.03 mg/kg体重/日)は、多分、その推定に際してのカテゴリー2(食用油脂類)の除外によるのかもしれない。BHA摂取値が0.91 mg/kg体重/日(ADIの130%(\*))であるオーストラリア-ニュージーランドの高い消費者に対する関係が原因となることがあるかもしれない。GSFAレベル並びにオーストラリア-ニュージーランドで使用が許容されている食品の範囲に基づくBHA推定摂取量は、国の使用レベルに基づく値より高く、中間と高い消費者の両方に対するADIを超過する。 (\*)

130% → 180%(表6参照)と思われる

### 4. ブチルヒドロキシアニソールの推定摂取量の評価 (原文 p.6)

収支法による添加物のスクリーニングでは、CCFACは、BHCを詳細なアセスメントを必要とする添加物として識別している。収支法によるスクリーニングにおいて、BHAを含む可能性がある食品と飲料水の国の比率を含

めることは、この決定を変更しなかった。

BHA推定摂取量は、10ヶ国から提出された。手数料に基づくものを除いた全てのアプローチは、国の最大許容レベルが、実際の添加物レベルを代表していると言う仮定に基づいている。但し、分析データを使用した日本は除く。最大許容添加物レベルに基づく推定は、添加物の実際の摂取量を過大評価する結果を招来する。

人口一人当たりのBHA推定摂取量は、手数料や世帯調査(\*)あるいは販売データに基づいているが、これは、モデル食事や個々の食事記録のような、実際の消費に基づいたものより低い摂取量を予測することが予想されるだろう。一般に、これはそのケースであることが示された。スペインは、手数料と家庭の両方、あるいは販売データに基づく推定摂取量を提出した唯一の国であり、そして前項目のADI(ADIの100%)は、販売データのADI(ADIの50%)より、2倍高かった。その違いは、多分、輸出された(\*)食品中の添加物、非食品用途及び消耗等による損失が、手数料アプローチの中で考慮されないという事実によるのかもしれない。(\*) household survey(世帯調査) → household economic survey(家庭経済調査)

(\*) exported foods(輸出食品) → imported foods(輸入食品) ではないか?

高い消費者モデル食事と個々の食事記録に基づくBHA推定摂取量は、オーストラリア・ニュージーランドと英国によって提出された。どちらの場合も、その推定量は、高い消費者(オーストラリア・ニュージーランドで95パーセントイル値、英国で97.5パーセントイル値)の個々の食事記録に基づく値より、2~3倍高かった。これらの2報告から、個々の食事記録に基づく推定量が、最も正確であると考えられた。

表6 個々の記録に基づくブチルヒドロキシアニソール(BHA)の推定摂取量

国	日付 (年)	調査	前提	モデルタイプ	BHA 摂取量 (mg/kg 体重/日)	%ADI a
オーストラリア	1983	全国調査; 24 時間回収	-- 最大添加物レベル(Aus-NZ あるいは Aus-NZ 中間値は GSFA)		0.39	80
ニュージーランド		成人:25-64 歳 サンプル:6,254	--変更された GSFA 分類システム -- いずれか 1 つのグループ内最大GSFA 中間値 添加物レベル		0.91	180
			--予備混合物/飲物ベースの修正 --95 パーセンタイル消費報告 --個々の体重による調整摂取量 --全ての回答者は消費者である	Aus-NZ 95 パーセンタイル値 GSFA 95 パーセンタイル値	1.3 2.51	260 500
フランス	1993-94	5-75 歳 サンプル:1,116	--最大添加物レベル(仏では BHA を EU 中間値 含まない食品(油脂類)修正値)	EU 修正中間値	0.07 0.03	14 6
			--外食に対する調整値 --個々の体重による調整摂取量 --90 と 95 パーセンタイル消費報告 --年齢グループによる報告	EU90 パーセンタイル値 EU85 (*) パーセンタイル値	0.14 0.16	30 30
(*) EU85 → EU95 とと思われる						
英国	1986-87	全国調査、 7 日間計量記録、 成人:16-64 歳	-- 最大添加物水準(EU) --97.5 パーセンタイル報告値 --GSFA 分類システム --平均体重 60 kg と仮定	EU 中間値 EU97.5 パーセンタイル値	0.19 0.45	40 90

Aus-NZ(オーストラリア・ニュージーランド)、GSFA(食品添加物一般基準)、欧州連合(EU)、  
a JECFA ADI:0-0.5 mg/kg体重/日

オーストラリア・ニュージーランドにおける個々の記録に基づく推定量は、英国値より高く、そしてこの両方の値は、フランスの推定量より高かった。オーストラリア・ニュージーランドの計算では、いくつかのGSFA食品カテゴリーが合わさっており、そして最大許容レベルは、より広範囲の食品グループに当てはめられた。これは、摂取

量を過大評価する傾向がある。オーストラリア・ニュージーランド推定量も24時間回収データに基づいたものであるが、これは、英国で使われた7日間記録法と比較して、摂取量を過大評価しがちである。何故なら、報告された1日の食品消費レベルが、広くなる傾向にあるからである。しかしながら、食品消費量におけるいくつかの重要な相違点は、英国(中間:23 g/日、97.5パーセンタイル値:58 g/日)よりもオーストラリア・ニュージーランド(中間:130 g/日、95パーセンタイル値:450 g/日)で報告された、はるかに高い油脂類消費にみられた。これらの違いは、多分、様々な油脂類分類中のBHA濃度に関する異なった仮定を使ったことによるのであろう。例えば、オーストラリア・ニュージーランドモデルは、全ての油脂類(全て、GSFAカテゴリー2食品)を含んでおり、混合食品中の成分や脂肪と油類の両方を消費したとしている。英国モデルでは、多分、BHAはより特定の油脂類のグループ中、例えば、乳化された脂肪のみで使用されると仮定しているのであろう。

中国と米国のモデル食事からの平均国民推定摂取量は、オーストラリア・ニュージーランドや英国における個々の食事記録に基づいたものと同じ範囲にあった。モデル食事に基づく日本、及び個々の記録に基づいたフランスの推定平均摂取量は、他の国々より低かった。国民のBHA平均推定摂取量の全ては、モデル食事や個々の食事記録のいずれに基づいても、そのADIより低かった。

オーストラリア・ニュージーランドの個々の記録と米国のモデル食事からの推定摂取量は、全ての食事の高い消費者は、ADIを超過する可能性があることを示している。更に加えて、個々の国々での最大許容添加物レベルを考慮すると、個々の食品の高い消費者は、ADIを超過するかもしれない。

CCFACに提出されたいずれかの食品カテゴリーを使った最大値の採用により、GSFAは一般的に編纂されるので、GSFA添加物値の使用による推定量は、いずれの国の実際の摂取量を、大略、過大評価することになる。GSFA中で指定された使用範囲は、また、国家基準のそれよりもはるかに広い。それが許容される食品の範囲内のGSFA値やモデル食事あるいは個々の記録に基づく計算値を提出した国々からの最良の推定量は、表7に要約される。オーストラリア・ニュージーランドにおけるBHAの中間摂取量(0.91 mg/kg体重/日)と米国のそれ(0.94 mg/kg体重/日)は類似している。オーストラリア・ニュージーランドの95パーセンタイル消費者の推定量は、オーストラリア・ニュージーランドの中間摂取量より、ほぼ3倍高く、また、米国の2つの平均摂取量を乗じることに由来する米国の90パーセンタイル摂取量よりも高い。中間と90並びに95パーセンタイル摂取量間のこれらの関係は、一般に認識されている(UNEP/FAO/WHO、1987年)。

表7 食品添加物一般基準内許容添加物レベルに基づくブチルヒドロキシアニソール(BHA)推定摂取量の要約

国	モデル	BHA 摂取量 % (mg/kg 体重/日) ADI a	
オーストラリア・ ニュージーランド	個々の記録: 中間の BHA 摂取量 (全ての回答者は消費者である)	0.91	180
	個々の記録: 95 パーセンタイル BHA 消費者	2.51	500
米国	モデル食事: 中間の BHA 摂取量 (全ての回答者は消費者である)	0.94	190
	モデル食事: 90 パーセンタイル BHA 消費者	1.88	380

a JECFA ADI: 0-0.5 mg/kg 体重/日

GSFA最大値と許容BHA使用内食品範囲に基づく推定摂取量は、オーストラリア・ニュージーランドと米国におけるBHAの中間及び高い消費者が、ADIを超過するかもしれないことを示す。

## 5. 結論と提言 (原文 p.8)

### 5.1 食品添加物一般基準で指定された最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量 (原文 p.8)

GSFA中の最大限度と指定された食物範囲に基づく国民の中間推定摂取量は、2ヶ国のみ、利用可能であった。即ち、これらの国において、その平均推定摂取量はADIを超過した(オーストラリア・ニュージーランド:ADIの180%、米国:ADIの190%)。

### 5.2 国あるいは欧州連合の最大限度に基づくブチルヒドロキシアニソールの国民推定摂取量(原文 p.8)

BHA消費者による国民の平均推定摂取量の全ては、0-0.5 mg/kg体重/日のADIより低かった: オーストラリア・ニュージーランドと米国のADIの80%に対して、日本はADIの1%であった。これらの推定量は、以下の6ヶ国(オーストラリア・ニュージーランド、中国、フランス、日本、英国及び米国)によって提出されたモデル食事あるいは個々の食事記録のいずれかに基づいたものであった。国家基準の食品添加物レベルに基づくBHAの高い消費者の推定摂取量は、ある場合にはADIを超過する(仏:ADIの30%、オーストラリア・ニュージーランド:ADIの260%)。しかしながら、その利用可能なデータは、高い消費者数あるいはある期間を通じてADIを上回るレベルでの摂取量や摂取期間を推定するには不十分である。

日本は例外として、その推定量の全ては、BHAが使用を許可された食品中の唯一の酸化防止剤であり、そしてそのような食品の全てが最大許容レベルでその添加物を含むという前提に基づき、従って、BHAの実際の摂取量を過大評価する傾向にある。BHAの実際の摂取量は、BHAやブチルヒドロキントルエンあるいはtert-ブチルヒドロキノン、及び食品中で使用されている他の酸化防止剤の相対的な割合に依存し、また、GMP(good manufacturing practice)に準じた実際の使用レベルやその添加物を含む何らかのカテゴリー中の食品割合に依存する。

### 5.3 食品添加物と汚染物質に関するコーデックス委員会への提言（原文 p.8）

本委員会は、BHAの高い摂取の潜在的な一因となるであろう食品や食品グループを識別した。コーデックス委員会は、カテゴリー2(食用油脂類)、カテゴリー4.2.2.2(乾燥野菜)、カテゴリー4.1.3(ココア製品)、カテゴリー8.3.1(加工ひき肉)、カテゴリー9.2.1(冷凍魚、切り身魚と製品類)、カテゴリー12.5.1(簡易スープとブイヨン)、及びカテゴリー13.6(補助食品)に対するGSFA中の適切なBHAレベルをレビューしたいであろう。

本委員会は、BHAの国の最大使用レベルに基づく推定摂取量は、そのADIを下回るが、GSFA中で指定された食品の最大限度と範囲に基づく推定摂取量は、それを超過することを示した。この差異は、GSFA中で指定された食品の範囲がより広く、そして指定された食品カテゴリー中で提案された使用レベルが、国家基準よりも一般に高いために発生する。

### 6. 引用文献(原文 p.9) …… 以下、省略

ブチルヒドロキシアニソールの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1999）

該当する毒性試験なし

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会
IPCS	International Programme on Chemical Safety	化学物質の安全性に関する国際プログラム
AUS-NZ	Australia-New Zealand	オーストラリア・ニュージーランド
FBS	food balance sheet	食品のバランスシート
HES	household economic survey	家計調査
GSFA	General Standard for Food Additives	食品添加物一般基準
EU	European Union	欧州連合
MRCA	Market Research Corporation of America	米国市場調査会社
USDA	United State Department of Agriculture	米国農務省
NFCS	National Food Consumption Survey	国民食品消費調査
FSDU	food for special diet use	特別食用食品
CCFAC	The Codex Committee on Food Additives and Contaminants	食品添加物と汚染物質に関するコーデックス委員会
UNEP	United Nations Environment Programme	国連環境プログラム
ADI	Acceptable Daily Intake	一日許容摂取量



## ブチルヒドロキシアニソール(BHA) 評価書和訳と情報整理

IARC: 1986

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol40/butylatedhydroxyanisole.html>



ブチルヒドロキシアニソール(BHA) 評価書和訳と情報整理 IARC (1986) 目次

5. 報告されたデータの概要と評価 (原文 p.1) .....	137
5.1 暴露 (原文 p.1) .....	137
5.2 実験データ (原文 p.1) .....	137
5.3 ヒトのデータ (原文 p.1) .....	138

## 原文 目次

原文ページ

ブチルヒドロキシアニソール(BHA) .....	1
5. 報告されたデータの概要と評価 .....	1
5.1 暴露 .....	1
5.2 実験データ .....	1
5.3 ヒトのデータ .....	1
5.4 評価 .....	2
BUTYLATED HYDROXYANISOLE (BHA) .....	1
5. Summary of Data Reported and Evaluation .....	1
5.1 Exposure .....	1
5.2 Experimental data .....	1
5.3 Human data .....	1
5.4 Evaluation .....	2

国際がん研究機関 (IARC) – 概要及び評価

ブチルヒドロキシアニソール (BHA)

VOL.: 40(1986)(p.123)

CAS No.: 25013-16-5

Chem. Abstr. Name: (1,1-ジメチルエチル)-4-メトキシフェノール

## 5. 報告されたデータの概要と評価 (原文 p.1)

### 5.1 暴露 (原文 p.1)

ブチルヒドロキシアニソール (BHA) は、1947年以來、食用油脂、肉、穀類加工品、ポテト製品、焼き菓子、焼き食品、ナッツ、スナック食品、チューインガム及び飲料水を含む多くの食品に、抗酸化剤として使用されてきた。また、化粧品、特に口紅及びアイシャドーにも広く使用されている。ヒトは、摂取及び皮膚適用により、広範囲に及び本化合物の暴露がある。

### 5.2 実験データ (原文 p.1)

ブチルヒドロキシアニソールの発がん性試験が、ラットにおいて2件、ハムスターにおいて2件実施された。飼料中での投与により、噴門洞 (forestomach) の良性及び悪性腫瘍が誘発された。

マウス及びラットを用いて、ブチルヒドロキシアニソールが、選択された薬剤の発がん性を改変する能力について、試験が実施された。既知の発がん性物質と共に投与した際、ブチルヒドロキシアニソールは、発がん性を強化も、阻害もせず、なんら影響を及ぼさなかった。

ラットを用い、妊娠期間中又は妊娠前、妊娠期間中及び妊娠後、母体毒性及び時には致死量のブチルヒドロキシアニソールを投与したところ、わずかな胎児毒性を誘発したが、明確な催奇形性の兆候はみられなかった。ウサギ、豚又はアカゲザルに一切影響はみられなかった。

ラットへの飼料によるブチルヒドロキシアニソールの摂取は、噴門洞の扁平上皮の表層壊死、潰瘍及び過形成を引き起こした。噴門洞の過形成は、ハムスターにも生じた。サルへのブチルヒドロキシアニソール強制経口投与は、食道下部の扁平上皮の有糸分裂指数の上昇に関連した。

ブチルヒドロキシアニソールは *in vitro* でネズミチフス菌、キイロショウジョウバエ、又はチャイニーズハムスター細胞に対し、変異原性でなかった。キイロショウジョウバエ又はチャイニーズハムスターの培養細胞の染色体に影響を及ぼさなかった。

他の化学物質(通常既知の変異原性物質又は発がん性物質)との組み合わせで試験した際、ブチルヒドロキシアニソールは、しばしばそれらの物質のDNA損傷活性、変異原性及び染色体異常誘発活性を改変させた。ほとんどの試験で、ブチルヒドロキシアニソールは、間接的に作用する変異原性物質/発がん性物質の活性を低下させた。

### 5.3 ヒトのデータ (原文 p.1)

ヒトに対するブチルヒドロキシアニソールの発がん性を評価するデータは得られなかった。

### 5.4 評価(原文 p.1)

実験動物へのブチルヒドロキシアニソールの発がん性については十分な証拠(*sufficient evidence*)がある。

ヒトに対するブチルヒドロキシアニソールの発がん性についてのデータは得られなかった。

イタリック体を使用された用語の定義については、Preamble Evaluation参照。

次の評価: Suppl. 7(1987)(p.59: グループ 2B)

別名 (原文 p.2)

- a Antioxyne B
- b Antrancine 12
- c ブチルヒドロキシアニソール
- d tert-Butylhydroxyanisole
- e tert-Butyl-para-hydroxyanisole
- f tert-Butyl-4-hydroxyanisole
- g 2(3)-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソール
- h Embanox
- i プロテックス
- j Sustan 1F
- k Sustane 1F
- l Tenox BHA
- m

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の毒性試験と結果の概要 (評価書:IARC 1986)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性			該当する試験なし
亜急性経口毒性			該当する試験なし
発がん性試験(経口)	ラット	記載なし	噴門洞の良性及び悪性腫瘍の誘発
発がん性試験(経口)	ラット	記載なし	噴門洞の良性及び悪性腫瘍の誘発
発がん性試験(経口)	マウス	記載なし	噴門洞の良性及び悪性腫瘍の誘発
発がん性試験(経口)	マウス	記載なし	噴門洞の良性及び悪性腫瘍の誘発
毒性試験(経口)	ラット	記載なし	噴門洞の扁平上皮の表層壊死、潰瘍及び過形成を誘発
毒性試験	ハムスター	記載なし	噴門洞の過形成を誘発
毒性試験(経口)	サル	記載なし	食道下部の扁平上皮の有糸分裂指数上昇
慢性毒性/発がん性			該当する試験なし
繁殖			該当する試験なし
催奇形性	ラット	記載なし	わずかな胎児毒性誘発 明確な催奇形性なし
催奇形性	ウサギ	記載なし	影響なし
催奇形性	豚	記載なし	影響なし
催奇形性	アカゲザル	記載なし	影響なし
変異原性 ( <i>in vitro</i> )	ネズミチフス菌	記載なし	変異原性なし
変異原性 ( <i>in vitro</i> )	キイロシヨウジョウバエ	記載なし	変異原性なし
変異原性 ( <i>in vitro</i> )	チャイニーズハムスター	記載なし	変異原性なし
変異原性	キイロシ	記載なし	染色体への影響なし

	ヨウジョウ バエ培 養細胞		
変異原性	チャイニ ーズハム スター培 養細胞	記載なし	染色体への影響なし
その他	マウス	記載なし	既知発がん性物質の発がん性への影響なし
その他	ラット	記載なし	既知発がん性物質の発がん性への影響なし
その他	記載なし	記載なし	既知変異原性物質又は発がん性物質との組み合わせに おいて、それらの物質の DNA 損傷活性、変異原性及び 染色体異常誘発活性を改変させた。ほとんどの試験 で、その活性を低下させた。
			ADI について記載なし

#### 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関