

資料 2

(案)

飼料添加物

ブチルヒドロキシアニソール

2017年3月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

## 目 次

	頁
○ 審議の経緯 .....	3
○ 食品安全委員会委員名簿 .....	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿 .....	3
○ 要 約 .....	4
I . 評価対象飼料添加物の概要 .....	5
1. 用途 .....	5
2. 有効成分の一般名 .....	5
3. 化学名 .....	5
4. 分子式 .....	5
5. 分子量 .....	5
6. 構造式 .....	5
7. 使用目的及び使用状況 .....	6
II . 安全性に係る知見の概要 .....	7
1. 体内動態試験 .....	7
(1) マウス .....	7
(2) ラット .....	8
(3) イヌ .....	11
(4) ヒト .....	12
(5) 代謝物 TBHQ の体内動態試験 .....	13
2. 残留試験 .....	18
(1) 豚 .....	18
(2) 鶏 .....	19
(3) 鶏卵 .....	20
(4) にじます、こい及びあゆ .....	20
3. 遺伝毒性試験 .....	21
4. 急性毒性試験 .....	41
(1) BHA に関する試験 .....	41
(2) TBHQ に関する試験 .....	41
5. 亜急性毒性試験 .....	42
(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) .....	42
(2) 180 日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料> .....	42
(3) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) .....	43
(4) 110 日間亜急性毒性試験 (豚) .....	43
(5) TBHQ に関する亜急性毒性試験 .....	43
6. 慢性毒性及び発がん性試験 .....	46
(1) 104 週間発がん性試験 (マウス) .....	46

1	(2) 104 週間発がん性試験（マウス） .....	47
2	(3) 96 週間発がん性試験（ラット） .....	48
3	(4) 104 週間慢性毒性及び発がん性試験（ラット） .....	48
4	(5) 104 週間発がん性試験（ラット） .....	50
5	(6) 104 週間発がん性試験（ラット） .....	50
6	(7) 104 週間発がん性試験（ラット） .....	51
7	(8) 104 週間発がん性試験（ラット） .....	52
8	(9) 104 週間発がん性試験（ラット） .....	52
9	(10) 104 週間発がん性試験（ハムスター） .....	53
10	(11) 104 週間発がん性試験（ハムスター） .....	53
11	(12) TBHQ に関する慢性毒性及び発がん性試験 .....	54
12	7. 生殖発生毒性試験.....	59
13	(1) 生殖毒性試験（ラット） .....	59
14	(2) 3 世代生殖毒性試験（ラット） <参考資料> .....	59
15	(3) 児動物の一般行動試験（マウス） <参考資料> .....	60
16	(4) 発生毒性試験（ウサギ） .....	60
17	(5) 発生毒性試験（豚） <参考資料> .....	60
18	(6) 発生毒性試験（サル） <参考資料> .....	61
19	(7) TBHQ に関する生殖発生毒性試験.....	61
20	8. その他の毒性試験.....	63
21	(1) 胃に対する BHA の影響に関する試験 .....	63
22	(2) ラットの前胃に対する BHA の影響の可逆性に関する試験 .....	69
23	(3) 胃に対する TBHQ の影響に関する試験 .....	71
24	(4) 発がん性に関する促進作用又は抑制作用 .....	72
25		
26	III. 国際機関等における評価（P） .....	78
27		
28	IV. 食品健康影響評価（P） .....	78
29		
30	▪ 別紙 1 : 検査値等略称.....	79
31	▪ 別紙 2 : 代謝物略称.....	81
32	▪ 参照 .....	83
33		
34		

1 〈審議の経緯〉

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1） [厚労告示]

2012年 8月 21日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0821第16号）、関係資料の接受

2012年 8月 27日 第444回食品安全委員会（要請事項説明）

2017年 2月 24日 第119回肥料・飼料等専門調査会

2017年 3月 24日 第120回肥料・飼料等専門調査会

2

3 〈食品安全委員会委員名簿〉

(2015年6月30日まで) (2017年1月7日から)

熊谷 進 (委員長) 佐藤 洋 (委員長)

佐藤 洋 (委員長代理\*) 山添 康 (委員長代理)

山添 康 (委員長代理\*) 吉田 緑

三森 国敏 (委員長代理\*) 山本 茂貴

石井 克枝 石井 克枝

上安平 利子 堀口 逸子

村田 容常 村田 容常

\* : 2012年7月2日から

4

5 〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2016年10月1日から)

今井 俊夫 (座長)

山中 典子 (座長代理)

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 戸塚 恒一

川本 恵子 中山 裕之

桑形 麻樹子 宮島 敦子

小林 健一 宮本 亨

佐々木 一昭 山田 雅巳

下位 香代子 吉田 敏則

6

7 〈第119回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

8 唐木 英明

9

10 〈第120回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

11 唐木 英明

12

13

1 要 約  
2

3 飼料添加物である「ブチルヒドロキシアニソール」(CAS No.25013-16-5)について、  
4 JECFA の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

5 [以降は審議後に記載。]  
6  
7  
8

1 I. 評価対象飼料添加物の概要

2 1. 用途

3 抗酸化剤

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：ブチルヒドロキシアニソール

7 英名：Butylated Hydroxyanisole

9 3. 化学名

10 IUPAC

11 英名 : 4-Methoxy-3-(2-methyl-2-propanyl)phenol – 4-methoxy-2-(2-methyl-2-  
12 propanyl)phenol (1:1)

14 CAS (No. 25013-16-5)

15 英名 : (1,1-Dimethylethyl)-4-methoxyphenol (参照 2) [Merck Index]

17 4. 分子式

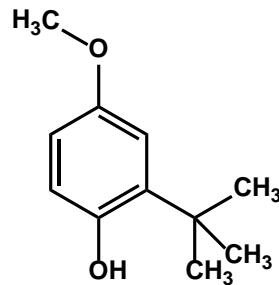
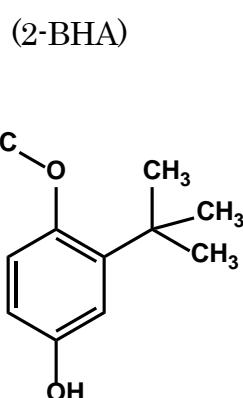
18 C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> (参照 2) [Merck Index]

20 5. 分子量

21 180.25 (参照 2) [Merck Index]

23 6. 構造式

24 ブチルヒドロキシアニソール (BHA) は、2-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (2-BHA)  
25 と 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (3-BHA)の混合物である。



30 (参照 2、3) [Merck Index] [EFSA 2011, 2.1]

31

32

33

1   7. 使用目的及び使用状況

2   ブチルヒドロキシアニソール (BHA) は、1949 年に初めて合成された抗酸化剤である。BHA は、2-BHA と 3-BHA の混合物である。

3   BHA は、油脂を含む食品に風味や香りの悪化を遅らせる目的で食品添加物として使  
4   用される。この他に、動物用飼料、化粧品並びにゴム及び石油製品に対して、抗酸化剤  
5   又は防腐剤として使用されるが、主に動物用飼料中のビタミン A 及び E、カロチン並  
6   びに動物油脂等の酸化を遅くする目的で使用される。

7   海外では、EU、米国、カナダ等において食品添加物又は飼料添加物として広く使  
8   用されている。

9   日本では、1954 年に食品添加物に指定されている。また、飼料添加物として指定さ  
10   れており、飼料中含有量は飼料 1t 当たり 150 g 以下<sup>1</sup>と規定されている。（参照 3～  
11   9） [EFSA 2011, 1.Introduction] [Canada, p6] [EC Regulation] [FAS 42] [試験抄録,  
12   p1] [食品衛生法施行規則] [飼料添加物省令]

13   また、BHA の代謝物である TBHQ (*tert*-ブチルヒドロキノン) は、海外では食品添  
14   加物として使用されている。（参照 10、11） [EFSA 2004,p2] [FAS 42 TBHQ]

15   なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>2</sup>が設定されている。（参照 1）

16   [厚労告示]

---

1 BHA、ジブチルヒドロキシトルエン及びエトキシキンの合計量

2 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値（参照 1）

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA、EFSA の評価書等を基に、BHA の毒性に関する主な知見を整理した。また、BHA の代謝物である TBHQ についても主な知見を整理した。

### 1. 体内動態試験

#### (1) マウス

マウス (Slc:ddy 系、4 週齢、雄 4~6 匹/群) に BHA を単回経口投与 (50 又は 500 mg) し、体内動態試験が実施された。投与 48 時間後までの肝臓、腎臓、胃及び腸管、血液並びに排泄物中 BHA 及び代謝物 (グルクロン酸及び硫酸抱合体) を HPLC によって測定した (検出限界不明)。排泄物は、500 mg/kg 体重投与群のみ測定した。

血液、肝臓及び腎臓中 BHA、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体濃度を表 1 に示した。500 mg/kg 投与群では、投与 30 分後の肝臓、腎臓及び血液に高濃度の BHA が検出されたが、投与 8 時間後には検出されなかった。投与 30 分後の肝臓では硫酸抱合体がグルクロン酸抱合体より多かったが、投与 1~3 時間後には逆転した。

胃及び腸管から回収された BHA の投与量に対する割合を表 2 に示した。胃及び腸管には BHA が長時間残留し、抱合体は検出されなかった。

投与後 8 時間の尿から投与量の 52%が回収され、48 時間では約 76% (BHA 0.3±0.1%、グルクロン酸抱合体 72.3±7.6%、硫酸抱合体 3.0±2.4%) が回収された。糞からは投与量の 2.3%しか回収されなかった。(参照 3、12) [EFSA 2011, 3.1.2] [Jpn J Toxicol Environ Health 1992] (Hashizume et al., 1992)

表 1 マウスにおける BHA 単回経口投与後の血液、肝臓及び腎臓中 BHA、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体濃度 ( $\mu\text{g/g(BHA として)}$ )

組織	投与量 (mg/kg)	測定対象物 質	投与後時間 (h)				
			0.5	1	3	8	24
血液	50	BHA	2.9±0.9	1.1±0.8	ND	ND	—
		グルクロン 酸抱合体	5.8±2.4	3.5±0.7	ND	ND	—
		硫酸抱合体	0.3±0.2	0.6±0.4	ND	ND	—
	500	BHA	27.5±2.5	27.2± 23.6	15.6±12.6	ND	ND
		グルクロン 酸抱合体	29.9±6.7	25.1±9.9	22.8±8.9	2.7± 2.2	ND
		硫酸抱合体	4.5±2.5	0.8±1.5	0.2±0.5	0.3± 0.5	ND
肝臓	50	BHA	5.3±3.6	3.3±3.4	ND	ND	—
		グルクロン 酸抱合体	7.8±3.3	4.7±1.7	ND	ND	—
		硫酸抱合体	1.3±1.1	1.7±1.4	ND	ND	—
	500	BHA	76.6±36.0	32.0± 19.6	27.1±25.6	ND	ND
		グルクロン 酸抱合体	20.2±2.6	52.3±9.3	50.7±28.2	3.3± 2.7	ND

		硫酸抱合体	30.3 ± 16.6	3.5 ± 3.1	4.1 ± 4.9	ND	ND
腎臓	50	BHA	1.5 ± 2.6	ND	ND	ND	—
		グルクロン酸抱合体	38.8 ± 17.9	36.9 ± 22.0	2.5 ± 4.3	ND	—
		硫酸抱合体	4.5 ± 1.9	5.8 ± 3.0	6.0 ± 4.8	ND	—
	500	BHA	45.6 ± 4.6	37.4 ± 26.4	40.2 ± 32.1	ND	ND
		グルクロン酸抱合体	92.1 ± 34.3	126.1 ± 50.2	132.6 ± 74.4	28.7 ± 16.4	14.0 ± 24.3
		硫酸抱合体	11.7 ± 15.1	22.8 ± 21.4	29.3 ± 27.8	2.9 ± 0.9	1.6 ± 2.7

1 n=4~6 平均値 ± 標準偏差 ND : 検出限界未満 — : 試料採取せず

2  
3 表2 マウスにおけるBHA単回経口投与後の胃及び腸管から回収されたBHAの投与量  
4 に対する割合(%)

組織	投与量 (mg/kg)	投与後時間(h)					
		0.5	1	3	8	24	48
胃	50	32.0 ± 4.3	42.3 ± 16.8	22.1 ± 5.6	13.0 ± 4.5	—	—
	500	66.9 ± 6.9	60.5 ± 10.3	49.9 ± 8.8	24.8 ± 5.3	4.5 ± 3.3	0.3 ± 0.2
腸管	50	40.9 ± 11.6	18.0 ± 12.9	7.9 ± 2.6	1.0 ± 1.4	—	—
	500	8.6 ± 1.9	5.2 ± 2.4	3.9 ± 1.3	0.6 ± 0.4	0.2 ± 0.1	ND

5 n=4~6 平均値 ± 標準偏差 ND : 0.1%未満 — : 測定せず

## (2) ラット

ラット(SD系、雄39匹)に[methyl-<sup>14</sup>C]標識BHAを単回強制経口投与(1.5mmol/kg体重(270mg/kg体重))し、体内動態試験が実施された。尿、糞便、血液及び主な組織を投与0.5、1、3、6、12、16、17、18、24、48、72、168及び240時間後に採取した。

多くの組織において総放射活性は、時間の経過とともに指數関数的に増加し、投与後10~24時間で最大となり、その後指數関数的に減少した。

投与48時間後までにほぼすべての被験物質が排泄され、尿には投与量の41%、糞便には53%が排泄された。(参照3、13) [EFSA 2011, 3.1.1] [Drug Metab Dispos 1985] (Ansari and Hendrix, 1985)

ラット(F344系、雄3匹/群)に<sup>14</sup>C標識BHAを単回強制経口投与(1g/kg体重)し、体内動態試験が実施された。動物にはメトキシ基又はtertブチル基のいずれかを標識した2-BHA又は3-BHAの4種類の薬物のうちいずれかを投与した。

尿、糞便又は呼気への排泄率を表3に示した。投与後48時間で、投与量の87~96%が尿、糞便及び呼気に排出された。(参照3) [EFSA 2011, 3.1.1] (Hirose et al., 1987b)

1 表 3 ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識 BHA 単回強制経口投与後の尿、糞便又は呼気中排泄率  
 2 (%)

投与物質	$^{14}\text{C}$ 標識部位	尿	糞	呼気	合計 a
2-BHA	メトキシ基	46.5	29.6	8.3	84.4
	<i>tert</i> ブチル基	69.0	18.1		87.1
3-BHA	メトキシ基	49.8	28.3	13.7	91.8
	<i>tert</i> ブチル基	63.7	28.8		92.5

3 n=3

4 a : 合計は、参照 3 のデータから算出した。

5  
 6 ラット (F344 系、6 週齢、雄 3 匹/群) に  $^{14}\text{C}$  標識 BHA を単回強制経口投与 (1  
 7 g/kg 体重) し、体内動態試験が実施された。動物には、メチル基又は *tert*ブチル基  
 8 のいずれかを  $^{14}\text{C}$  標識した 2-BHA 又は 3-BHA の 4 種類の薬物のうちいずれかを投  
 9 与した。

10 投与後 2 日間プールした尿及び糞便中代謝物を TLC によって同定し、さらに酵素  
 11 での加水分解によるさらなる性状解析と同定を実施した。標準品の確認は、陽子核磁  
 12 気共鳴分光法及び電子衝撃イオン化質量分析によって行った。

13 尿及び糞から回収した放射活性の投与量に対する割合を表 4 に示した。 $[\text{butyl-}^{14}\text{C}]$   
 14 標識 2-又は 3-BHA の排泄物中の総放射活性回収率は約 92% であった。

15 2-BHA 及び 3-BHA の代謝物の多くは、抱合体 (2-BHA 66%、3-BHA 53%) であ  
 16 った。3-BHA を投与した動物の尿の主な代謝物は、3-BHA のグルクロン酸抱合体で  
 17 あった。糞便には、未変化体の 3-BHA とグルクロン酸抱合体の他に、少量の *tert*-ブ  
 18 チルヒドロキノン硫酸抱合体がみられた。

19 2-BHA を投与した動物の尿における主な代謝物は、2-BHA の硫酸抱合体及びグル  
 20 クロン酸抱合体並びに 4-*tert*ブチル-5-メトキシ-1,2-ベンゾキノンであった。糞便  
 21 には未変化体の 2-BHA がみられた。(参照 3、14) [EFSA 2011, 3.1.1] [Toxicology  
 22 1988] (Hirose et al., 1988)

23  
 24 表 4 ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識 BHA 単回強制経口投与後の尿及び糞便中排泄  
 25 率 (%) a

投与物質	$^{14}\text{C}$ 標識部位	尿	糞	合計
2-BHA	メチル基	$52.2 \pm 8.1^b$	$20.7 \pm 6.9^b$	$73.0 \pm 6.9$
	<i>tert</i> ブチル基	$72.2 \pm 7.1$	$19.3 \pm 2.5$	$91.5 \pm 4.6$
3-BHA	メチル基	$45.6 \pm 3.9$	$35.8 \pm 3.8$	$81.3 \pm 1.5$
	<i>tert</i> ブチル基	$54.0 \pm 0.7^b$	$38.2 \pm 4.6$	$92.2 \pm 5.5$

26 n=3 平均  $\pm$  標準偏差

27 a : 投与量に対する割合

28 b : 参照 14 の表 3 及び 4 の数値を記載

29  
 30 ラットにおける 2-BHA 及び 3-BHA の代謝について、前胃及び組織中巨大分子へ

の結合の点から検討した。

ラット (F344 系、雄 3 匹/群) に [butyl-<sup>14</sup>C] 又は [methyl-<sup>14</sup>C] 標識 3-BHA を単回強制経口投与 (1 g/kg 体重) し、投与 6 時間後に採取した前胃、腺胃及び胃内容物を TLC で比較した。前胃及び腺胃の上皮に有意な量の代謝物はみられなかった。

また、結合試験として、ラット (F344 系、雄 3 匹/群) に [butyl-<sup>14</sup>C] 又は [methyl-<sup>14</sup>C] 標識 3-BHA、[butyl-<sup>14</sup>C] 標識 2-BHA を単回強制経口投与 (1 g/kg 体重) した。それぞれの群はさらに、被験物質の投与前に非標識の 3-BHA を 6 日間混餌投与 (1%) した群と投与しなかった群に分けた。結果から、BHA は代謝活性化することなく前胃の上皮に作用し、その作用は DNA 又は RNA への結合と関係ないことが示唆された。(参照 3) [EFSA 2011, 3.1.1] (Hirose et al., 1987a)

ラット (F344 系、雄、匹数不明) に <sup>14</sup>C 標識 3-BHA を経口投与 (0.01、0.1、1 又は 2%) し、前胃への結合を調べた。<sup>14</sup>C 標識 3-BHA の 0.01% は、約 2.25 mg/kg 体重に相当した。

投与 6 時間後の前胃の放射活性は、腺胃、肝臓、腎臓及び血漿より高かった。

0.1% 投与群の前胃のタンパク質への共有結合率は低かったが、1 及び 2% 投与群では高かった。3-BHA の経口投与後の前胃への結合率は、静脈内投与と比較して、54 倍高かった。(参照 3) [EFSA 2011, 3.1.1] (Morimoto et al., 1992)

ラット (Wistar 系、雌 7 匹/群) に 3-BHA を妊娠 6~15 日に強制経口投与 (200、400 又は 800 mg/kg 体重/日) し、最終投与 3 時間後の母動物の肝臓及び血清並びに胎児について、HPLC によって 3-BHA の未変化体及び抱合体を測定した (定量限界 : 肝臓 0.10 µg/g、血清 0.03 µg/g、胎児 0.05 µg/g)。

結果を表 5 に示した。全投与群の胎児に 3-BHA が検出されたが、その濃度は肝臓及び血清中濃度より低かった。また、全投与群の肝臓、血清及び胎児において、抱合体と未変化体の比率 (抱合体/未変化体) は、おおよそ一定であった (肝臓約 12、血清約 60、胎児約 1.3~1.8)。(参照 3、15) [EFSA 2011, 3.1.1] [Jpn J Toxicol Environ Health 1993] (Yamada et al., 1993)

表 5 ラットにおける 3-BHA 反復経口投与後の母動物の肝臓及び血清並びに胎児中 3-BHA の未変化体及び総 3-BHA<sup>a</sup> 濃度 (µg/g)

組織	測定物質	投与群 (mg/kg 体重/日)		
		200	400	800
肝臓	未変化体	1.61 ± 0.75	2.66 ± 2.33	1.90 ± 1.07
	総 3-BHA	19.6 ± 6.1	33.1 ± 22.3	21.7 ± 11.2
血清	未変化体	0.15 ± 0.05	0.52 ± 0.36	0.83 ± 0.40
	総 3-BHA	9.54 ± 2.17	30.8 ± 19.2	50.8 ± 33.0
胎児	未変化体	0.17 ± 0.05	0.57 ± 0.40	0.80 ± 0.20
	総 3-BHA	0.25 ± 0.09	0.72 ± 0.47	1.47 ± 0.51

n=7 平均値 ± 標準偏差 定量限界 : 肝臓 0.10 µg/g、血清 0.03 µg/g、胎児 0.05 µg/g

a : 総 3-BHA は、未変化体及び抱合体の合計量

1  
2 ラット体内における 3-BHA の推定代謝経路を図 1 に示した。(参照 16)  
3 [Carcinogenesis 1991, Figure 1]

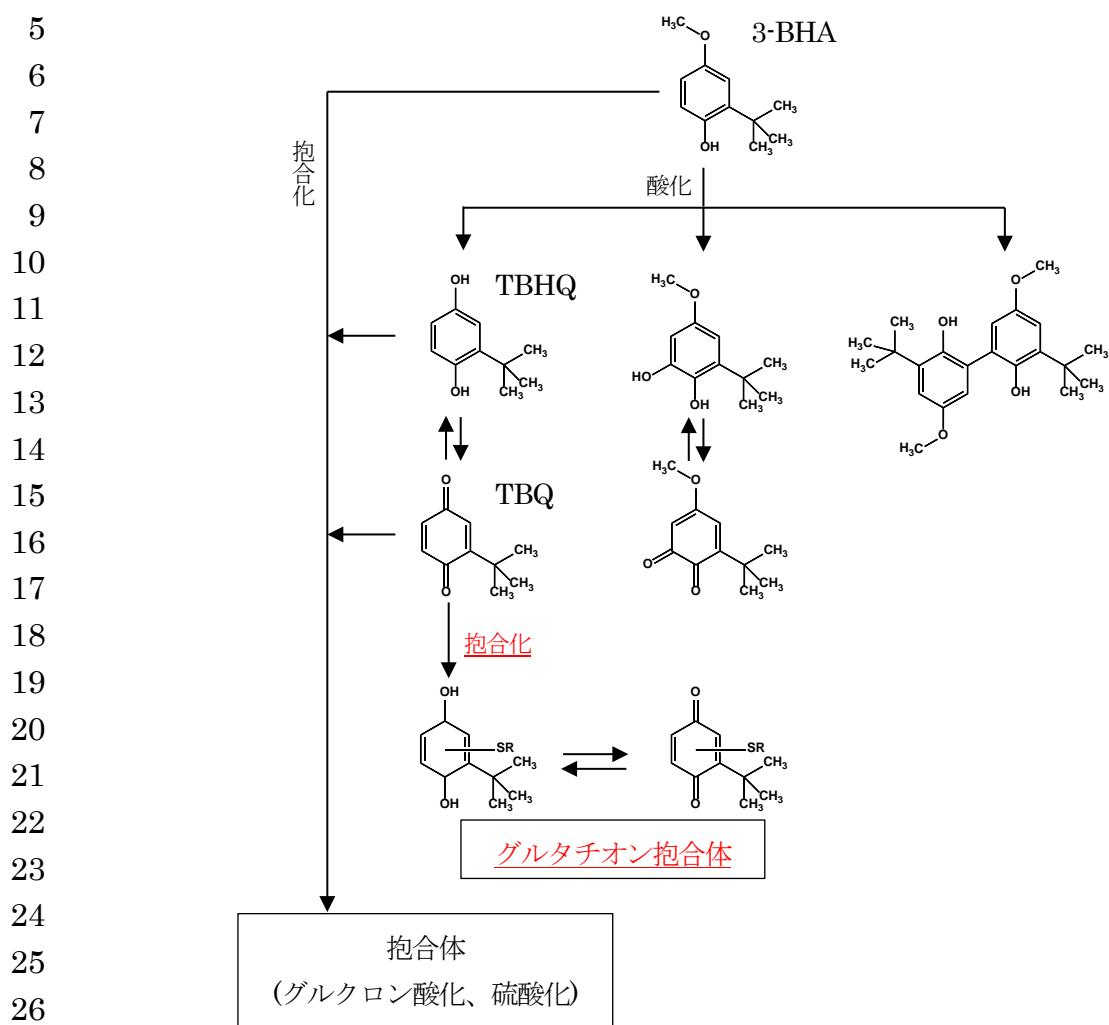


図 1 ラット体内における 3-BHA の推定代謝経路 (参照 16 の改変)

### (3) イヌ

イヌ (ビーグル種、5か月齢、雄 3 頭/群) に BHA を 7 日間混餌投与 (0.03 又は 3%) し、その後[methyl-<sup>14</sup>C]標識 BHA を単回腹腔内投与注射 宮島専門委員修文 (5 mg eq/kg 体重用法不明) し、全身、血液、尿、糞便及び数種類の組織 (胃の異なる部位を含む) の放射活性を測定した。

最終投与後 48 時間までに、投与した放射標識 BHA の 50~80%が尿に、15~30%が糞便から回収された。

投与 7 日後の胃、肝臓及びその他の組織から回収された放射活性の投与量に対する割合は、それぞれ 0.16~0.19、0.3~1.7 及び 0.02%/g であった。

放射標識した BHA の用量非依存的な分布及び排泄は、イヌに前胃がないためと推察された。宮島・佐々木専門委員修文 (参照 3、29) [EFSA 2011, 3.1.3] [Toxicol

1 Lett 1985]

2

【宮島専門委員コメント】

(「放射標識した…推察された。」について)

これまでに報告されているラットにおける結果と今回の結果の相違についての考察ですでの、評価書案には不要と思います。

【佐々木専門委員コメント】

宮島先生と同様に、不要と考えます。

3

【宮島専門委員コメント】

投与方法は「i.p.」との記載があります。また、<sup>14</sup>C 標識 BHA の投与量についても算出可能と思われます。

【事務局より】

参照 29 から、投与量を以下のとおり算出しました。

[<sup>14</sup>C]標識 BHA : 1.08 mCi/mmol

投与量 : 30 µCi/kg 体重

BHA の分子量 : 180.25

$$30 \div (1.08 \times 1,000) = 5 \text{ mg eq/kg 体重}$$

4

5 (4) ヒト

6 健常なヒト（男性、23±5 歳、8 名）に BHA を 10 日間経口投与（0.5 mg/kg 体  
7 重/日）し、体内動態試験が実施された。血液は投与 1 及び 8 日の投与 4 時間後まで  
8 採血し、尿は投与開始 1 日、4 及び 8 日に投与後 24 時間採取し、動態パラメーター  
9 及び関連物質の尿中排泄<sup>3</sup>について調べられた。

10 また、BHA の投与前及び投与期間中にアンチピリン及びパラセタモールを経口投  
11 与（それぞれ 500 mg/ヒト）し、唾液及び尿を採取し、肝臓の代謝の第 I 及び II 相  
12 における代謝能力について検討した。

13 BHA の血漿中動態パラメーターは、投与開始直後（1 日）及び 8 日後に測定した。

14 血液、唾液又は尿の BHA 及びその代謝物は、HPLC によって測定した。

15 BHA 経口投与時の動態パラメーターを表 6 に示した。

16 尿中から BHA の回収率は、投与 1 日後では 52±16%、投与 8 日後では 75±12%  
17 であった。TBHQ の回収率は、投与 1、4 及び 8 日後でそれぞれ、7.4±1.8、10.5±  
18 3.1% 及び 13.0 ± 3.9% であった。BHA 及び TBHQ とともに、投与 1 日後より 4 又は

<sup>3</sup> 以前実施された別のヒトを用いた試験（BHA 0.5 mg/kg 体重を経口投与）において、投与後の尿に BHA 及び TBHQ の未変化体がみられなかったことから、本試験では抱合体の総量のみを測定した。

1 8日の尿に有意に多く検出された。

2 このことは、ヒトにおける第I又はII相における代謝酵素の誘導又は阻害による  
3 か、又は体内におけるBHAとその代謝物の蓄積によるものと考えられた。(参照3、  
4 17) [EFSA 2011, 3.1.4] [Hum Toxicol 1989] (Verhagen et al., 1989b)

5

6 表6 ヒトにおけるBHA10日間経口投与時の動態パラメーター

パラメーター	投与日(日) <sup>a</sup>	
	1	8
T <sub>1/2</sub> (min)	61±9	56±4
AUC <sub>0~4h</sub> (ng·h/mL)	161±44	103±49
C <sub>max</sub> (ng/mL)	141±25	111±48
T <sub>max</sub> (min)	58±33	80±22
CL (mL/min/kg)	47±11	61±34
Vd (L)	309±139	434±169

7 n=6(1名は採血試験に参加せず、もう1名は分析上の問題のためデータを削除した。)

8 平均±標準偏差

9 a:各投与日の投与後に血液を採取した。

10

11 (5) 代謝物TBHQの体内動態試験

12 ①ラット

13 ラット(系統、性別及び匹数不明)に<sup>14</sup>C標識TBHQを単回投与<sup>4</sup>(15、48、  
14 92、383、380又は400mg/kg体重)した。糞及び尿を毎日採取した。試験期間の  
15 終わりに、血液、脳、腎臓、肝臓、消化管並びに腎臓周囲、大網及び皮下脂肪を採  
16 取した。

17 投与後24時間の尿から投与量の55~82.7%に相当する放射活性が回収され、最  
18 終的な総回収率は投与量の78~88%に相当する放射活性であった。回収された放  
19 射活性の70~76%がO-硫酸抱合体に相当し、1~2%がO-グルクロン酸抱合体に  
20 相当した。糞には、投与量の2~6%に相当する放射活性が検出された。

21 92mg/kg体重投与群の組織にごく僅かの放射活性が検出されたが、92mg/kg体  
22 重超の投与群では検出されなかった。(参照18) [FAS 40, 2.1.1.1の1つ目の試験]  
23 (Astill et al., 1967a)

24

25 ラット(系統、性別及び匹数不明)に<sup>14</sup>C標識TBHQを17日間混餌投与  
26 (0.029%(5.7mg eq/kg体重/日相当))し、最終投与後に肝臓、腎臓、脳及び脂肪  
27 を採取した。

28 肝臓、腎臓、脳及び脂肪中濃度はそれぞれ0.06~0.34、0.09~0.38、0.06~0.56、  
29 0.06~0.37mg eq/g(湿重量)であった。(参照10、18) [EFSAJ 2004, p8の2段落  
30 目] [FAS 40, 2.1.1.1の2つ目の試験] (Astill et al., 1967a)

31

32 ラット(系統及び匹数不明、雌雄)にTBHQを単回強制経口投与(100、200、

<sup>4</sup> 経口投与と推察される。

300 又は 400 mg/kg 体重) し、尿を投与前 3 日間及び投与後 6 日間採取した。

400 mg/kg 体重投与群において、投与後に運動失調がみられたが、2~3 時間後に回復した。

全投与群において、投与後 3~4 日間で関連物質の排泄が終了したようであった。投与量の 66%が *O*-硫酸抱合体として、10%未満が *O*-グルクロン酸抱合体として回収された。100 mg/kg 体重投与群では、尿中排泄量がほぼ投与量に相当した。200 mg/kg 体重以上投与群では、投与量の約 33%が尿ではなく、糞から回収された。

100 mg/kg 体重投与群では、TBHQ の未変化体の排泄は投与量の約 12%であったが、より高用量では低下し、400 mg/kg 体重投与群では 2%であった。

他に主要な代謝物はみられなかった。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 3 つ目の試験] (Astill et al., 1968)

ラット(系統、性別及び匹数不明)に TBHQ を長期間混餌投与(0.16 又は 0.5%)した。投与 12 及び 20 か月後に 2 匹から尿を採取した。また、血清を投与 6、12、20 か月後及び剖検時に 5 匹から採取した。また、剖検時に腎臓周囲、大網及び皮下脂肪を採取し、性別及び用量ごとにプールした。

投与 12 か月後では、両投与群の雄の尿には、ほぼ等量の *O*-硫酸抱合体及び *O*-グルクロン酸抱合体が検出された。雌では、検出された関連物質のうち約 3 分の 2 が *O*-硫酸抱合体で、残りが *O*-グルクロン酸抱合体であった。

投与 20 か月後では、雌雄ともに排泄された抱合体のほとんどが *O*-硫酸抱合体であり、*O*-グルクロン酸抱合体はほぼみられなかった。

ごく微量の TBHQ が血清及び脂肪に検出された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 4 つ目の試験] (Astill et al., 1968)

妊娠ラット (SD 系、48 週齢、匹数不明)<sup>5</sup>に帝王切開の前日、<sup>14</sup>C 標識 TBHQ を単回経口投与 (40 mg/kg 体重) し、糞及び尿を帝王切開時 (投与後 7.6~16.7 時間) まで採取し、また胎児、子宮、羊水、消化管、肝臓、腎臓、脳及び脂肪を採取し、放射活性を測定した。

投与後 16.7 時間の尿で投与量の放射活性の約 74%が回収された。

投与後 7.6 時間の消化管から投与量の放射活性の 10%が回収され、16.7 時間後では 8.5%であった。

糞中放射活性は、投与後 7.6 及び 16.7 時間ではそれぞれ投与量の 0.2 及び 0.02% であった。子宮、羊水及び他の臓器でも、同様に低量の放射活性が検出された。

本試験の結果に基いて、ヒトへのばく露の可能性を考えた場合、考えられる最高量 (0.1 mg/kg 体重/日) を摂取すると、胎児は TBHQ として 1 日摂取量の 1%に暴露され、またより高濃度の抱合体にばく露されることになると推測された。(参

<sup>5</sup> 生殖発生毒性試験の F<sub>2</sub>母動物の第 3 産から選択した動物を用いた。離乳以降、TBHQ を混餌投与 (0.5%) されている。

1 照 10、18) [EFSAJ 2004, p8 の 2 段落目] [FAS 40, 2.1.1.1 の 6 つ目の試験] (Astill  
2 and Walton, 1968)

3 ラット (F344 系、雄、匹数不明) に BHA を経口投与 (0.01、0.1 又は 1.0% 溶  
4 液、4 mL) した。投与 3 時間後の 0.01、0.1 及び 1.0% 投与群の前胃粘膜に TBQ  
5 がそれぞれ 0.00453、0.04504 及び 0.05520 µg/匹検出され、BHA は 1.77、18.84  
6 及び 216.28 µg/匹検出された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 7 つ目の試験]  
7 (Morimoto et al., 1991)

8 ラット (F344 系、雄) に <sup>14</sup>C 標識 BHA を経口投与 (0.01~2.0%、4mL) した  
9 ところ、前胃粘膜のホモジネートには TBHQ が検出されなかったことから、前胃  
10 粘膜のホモジネートをドデシル硫酸 Na で処理後、TBQ を TBHQ に還元する  
11 ことで、より容易に検出できるようになった。

12 前胃粘膜のホモジネートの TBHQ 量は、BHA の投与量に比例していた。前胃  
13 の <sup>14</sup>C の共有結合の総量に対する TBHQ の総組織中残留量の割合は、BHA を 0.01  
14 ~0.03% 経口投与した場合では 0.1~2.0% であった。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1  
15 の 8 つ目の試験] (Morimoto et al., 1992)

## 16 ②イヌ

17 イヌ (ビーグル種、体重約 11 kg、雄) に TBHQ を単回経口投与 (100 mg/kg  
18 体重、ひき肉とともに投与) し、尿を投与前 3 日間及び投与後 6 日間採取した。

19 尿への排泄は、投与 48 時間後までにほぼ終了した。

20 主な尿中排泄物は *O*-硫酸抱合体及び *O*-グルクロン酸抱合体であり、少量の  
21 TBHQ が検出された。

22 尿の総回収率は 77~98% であり、そのうち約 3 分の 2 が *O*-硫酸抱合体で、約 3  
23 分の 1 が *O*-グルクロン酸抱合体であった。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.2 の 1 つ目  
24 の試験] (Astill et al., 1967b)

25 イヌ (品種不明、雌雄 26 匹) に TBHQ を長期間混餌投与 (0.05、0.1 又は 0.5%)  
26 した。血清及び尿を投与前 9 日、投与前日並びに投与開始 3、6、12、12 及び 24  
27 か月後に採取した。血清は、投与後 23 時間採取した。投与開始 12 か月後では各  
28 投与群の雌雄各 1 例から、投与開始 24 か月後には残りの動物から、腎臓周囲、大  
29 網及び皮下脂肪を採取した。

30 TBHQ 全投与群の尿に *O*-硫酸抱合体及び *O*-グルクロン酸抱合体が検出された。  
31 雄では *O*-硫酸抱合体及び *O*-グルクロン酸抱合体の比率が 2 : 1 であったが、雌では  
32 ほとんどが *O*-硫酸抱合体であった。

33 ごく少量の TBHQ が脂肪 (最高濃度は雄で 7 µg/g、雌で 17 µg/g であったが、  
34 ほとんどの動物で検出限界未満) 及び血清 (0.7 µg/mL まで) に検出された。(参  
35 照 18) [FAS 40, 2.1.1.2 の 2 つ目の試験] (Astill et al., 1967b)

1           ③ヒト

2       ヒト（男性、年齢及び人数不明）に TBHQ を次の 4 つの方法で経口投与した。  
3       ①TBHQ 150 mg を含むゼラチンカプセル、②2% TBHQ を含有するコーン油と  
4       グラハムクラッカー混合物（TBHQ として 125 mg 相当）、③綿実油に溶解した  
5       TBHQ 100 mg を含有するゼラチンカプセル、④グラハムクラッカーと TBHQ、  
6       2%綿実油及び 2%粉砂糖の混合物 20g（TBHQ 投与量は 20~70 mg）。①～③では  
7       投与物の摂取直後にミルクを摂取し、④ではドーナツ及びコーヒーを摂取し  
8       た。血液を投与 3、5 及び 24 時間後に、尿を投与前 24 時間から投与後 72 時間ま  
9       で採取し、血清中の TBHQ 濃度及び尿中代謝物濃度を測定した。

10      TBHQ は尿に全く検出されず、O-硫酸抱合体及び O-グルクロン酸抱合体として  
11     排泄（比率 3 : 1）された。これらの代謝物は投与後 24 時間に多く検出された。

12      TBHQ の投与方法が、尿における回収率に大きく影響した。①及び③では、尿  
13     からは僅か 4~22% しか回収されなかった。②では 90~100% 回収された。全投与  
14     方法の尿に同じ代謝物が検出された。

15      投与 3 時間後の血清中 TBHQ 濃度は、①及び③では 4~12 µg/mL であったが、  
16     ②では 31~37 µg/mL であった。投与 24 時間後には、①及び③では 2~12 µg/mL、  
17     ②では 15 µg/mL に低下した。（参照 18） [FAS 40, 2.1.1.3] (Astill et al., 1967c)

19           ④代謝試験

20      ラット（Wistar 系）に BHA 400 mg/kg 体重又は TBHQ 200 mg/kg 体重を腹腔  
21     内投与し、尿を GC-MS で分析したところ、2 種類の合硫代謝物、3-*tert*ブチル-5-  
22     メチルチオヒドロキノン及び 3-*tert*ブチル-6-メチルチオヒドロキノンが検出され  
23     た。これらの代謝物は、TBHQ のキノン又はセミキノン体のグルタチオン抱合体  
24     への代謝変換から生じたと推測された。

25      肝臓のミクロソーム試料において、NADPH 生成系、酸素分子及びグルタチオ  
26     ンを含む試験条件下で 2 種類の代謝物を生成させて精製し、構造を解析したとこ  
27     ろ、TBHQ の 5-又は 6 位のグルタチオン抱合体であることの 2 種類の生成が確認  
28     された。これらの代謝物は、TBHQ のキノン又はセミキノン体のグルタチオン抱  
29     合体への代謝変換から生じたと推測された。この反応にグルタチオン S-トランス  
30     フェラーゼは関与しなか必要ないようであった。チトクローム P450 の阻害物質  
31     は著しく明らかに TBHQ のグルタチオン抱合体の形成を低下させることから、チ  
32     トクローム P450 による酸化が TBHQ の TBQ への活性化における役割を果た  
33     していることを示唆していたが、自動酸化もこの反応における部分的な役割を果  
34     たしていた。（参照 18, 30） [FAS 40, 2.1.2 の 1 段落目] [Drug Metab Dispos 1985]  
35     (Tajima et al., 1991) 山中専門委員修文

37      *tert*ブチルセミキノンラジカルが、好気的性条件、NADPH 存在下のラット  
38     肝ミクロソームで TBHQ から *tert*ブチルセミキノニアニオンラジカル(TBQ<sup>-</sup>)  
39     が生成されたことが示された。スクシニル化チトクローム C の減少を指標として、  
40     500 µmol/L TBHQ と 5 µmol/L TBQ からは、肝ミクロソーム中で同程度に SOD

1 ~~で抑制され得るチトクローム C (過剰なスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) が陰イオンラジカルの生成されることが示された。の指標) の同程度の減少を引き起した。~~ キノンから形成されるセミキノンの自動酸化がスーパーオキシドの形成の原因であり、ヒドロキノンは自動酸化を通して酸化還元反応に加わると推測された。~~培地への LDH の放出によって示されたように、TBHQ ではなく TBQ はラットの培地への LDH の放出を指標とした~~ 肝細胞膜の毒性傷害を誘導したが、~~TBHQ では傷害はみられなかった。~~ セミキノン依存性スーパーオキシドの形成が BHA の毒性作用に寄与しているの原因と推測された。(参照 18, 31) [FAS 40, 2.1.2 の 3 つ目の試験] [Toxicology 1992] (Bergmann et al., 1992)

中山専門委員

修文

11

### 【中山専門委員コメント】

「500 μmol/L TBHQ と 5 μmol/L TBQ は、SOD で抑制され得るチトクローム C (過剰なスーパーオキシド陰イオンラジカルの生成の指標) の同程度の減少を引き起した。」とされている部分で、

「スクシニル化チトクローム C の減少を指標として、500 μmol/L TBHQ と 5 μmol/L TBQ から、肝ミクロソーム中で同程度にスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) が生成されることが示された。」と修正しています。

網掛けしたところは Toxicology の論文の図表に基づいた表記ですが、この方法の元論文を当たると、チトクローム c ではなくスクシニル化チトクローム c を基質としているためこのような表記になりました。一方、SOD で抑制されうるということは、SOD 添加系で減少が抑制されれば、活性酸素の分子種はスーパーオキシドアニオンであるということを証明できるからです。SOD という言葉を入れるかどうか、また、「スーパーオキシドアニオン」と特定しているので、網掛け部分自体必要ないのでは、という点で迷っています。

12

ラット (Wistar 系、雄) に BHA を 14 日間混餌投与 (1.5% 添加) し、同時にプロスタグラジン H 合成酵素の阻害剤であるアセチルサリチル酸 (0.2%) 又はインドメタシン (0.002%) を飲水投与した。両物質の投与によって、対照群と比較して尿への TBQ の排泄量が有意に減少した。BHA 及びその代謝物の TBHQ 及び TBQ の尿への合計排泄量は、各群同様であった (対照群 : 46.9%、アセチルサリチル酸投与群: 45.4%、インドメタシン投与群: 43.5%)。これらの結果から TBHQ から TBQ への代謝におけるプロスタグラジン H 合成酵素の *in vivo* での役割が示唆された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.2 の 6 つ目の試験] (Schilderman et al., 1993a)

22

ラット (F344 系、雄) に TBHQ を腹腔内投与 (1.0 mmol/kg 体重) したところ、胆汁に 3 種類のグルタチオン抱合体 (2-*tert*-ブチル-5-グルタチオン-S-イルヒドロキノン、2-*tert*-ブチル-6-グルタチオン-S-イルヒドロキノン及び 2-*tert*-ブチル-3,6-ビスグルタチオン-S-イルヒドロキノン) が検出された。TBHQ の硫黄を含

む代謝物が尿に検出された。本試験の結果、ラットを用いた *in vivo* 試験において TBHQ が酸化及びグルタチオン抱合を受けたことが示された。これらの抱合体は胆汁に排泄され、尿排泄の前にはさらに代謝される。TBHQ の硫黄を含む代謝物が腎臓と膀胱に対する TBHQ の毒性に役割を果たすほど十分な量で存在することが示唆された。(参照 18) [FAS 40, p3, 2.1.2 の 7 つ目の試験] (Peters et al., 1996a)

## 2. 残留試験

### (1) 豚

豚(交雑種(LW)、去勢雄 1 頭/時点)に 3-BHA を 91 日間混餌投与(150 又は 600 ppm(334 又は 1,260 mg/頭/日相当<sup>6)</sup>)し、投与開始 6 週後並びに最終投与 0、1、2、3、5 及び 7 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸を探材し、GC-MS 又は HPLC によって組織中 BHA 濃度を測定<sup>7</sup>した(検出限界: GC-MS 0.025 µg/g、HPLC 0.02 µg/g)。

結果を表 7 に示した。

150 ppm 投与群では、筋肉、脂肪及び小腸において最終投与 1 日後に BHA が検出されたが、その後は全組織とも検出限界未満であった。

600 ppm 投与群では、肝臓及び小腸において最終投与 2 日後まで BHA が検出され、脂肪では最終投与 3 日後まで検出された。最終投与 5 日後以降は、全組織において検出限界未満であった。(参照 19) [鶏及び豚残留試験]

表 7 豚における BHA 91 日間混餌投与後の組織中残留濃度(µg/g)<sup>a</sup>

投与群(ppm)	組織	投与開始 6 週後	最終投与後日数(日)					
			0	1	2	3	5	7
150	肝臓	0.04 <LOD <sup>c</sup>	0.03 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
	腎臓	0.03 0.05	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>					
	筋肉	0.03 <LOD <sup>c</sup>	0.03 <LOD <sup>c</sup>	0.03 <0.02 <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
	脂肪	0.05 0.10	0.04 0.04	<LOD <sup>b</sup> 0.02	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
	小腸	0.05 0.10	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	0.03 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
600	肝臓	0.06 <LOD <sup>c</sup>	0.06 <LOD <sup>c</sup>	0.04 <LOD <sup>c</sup>	0.03 —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
	腎臓	0.06 0.23	0.03 <sup>d</sup> 0.02	0.03 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
	筋肉	0.03 <sup>d</sup> <LOD <sup>c</sup>	0.03 <sup>d</sup> <LOD <sup>c</sup>	0.03 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
	脂肪	0.08 0.13	0.12 0.08	0.03 <LOD <sup>c</sup>	0.03 0.04	0.03 0.05	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>

<sup>6</sup> 参照 19 に記載されている豚の被験物質総摂取量を投与期間で除して算出した。

<sup>7</sup> 分析は 2 施設で実施しており、それぞれ GC-MS 又は HPLC によって測定した。

	小腸	0.05 0.48	0.14 0.10	0.04 <LOD <sup>c</sup>	0.03 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
--	----	--------------	--------------	---------------------------	---------------------------	------------------------	------------------------	------------------------

1 n=1 <LOD : 検出限界未満 — : 測定せず

2 a : 上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値

3 b : 検出限界 0.025 µg/g

4 c : 検出限界 0.02 µg/g

5 d : 参照 17 には「0.02」と記載されているが、LOD (0.025 µg/g) 以上の数値と判断し、「0.03」と記載  
6 した。

## (2) 鶏

9 鶏（肉用種、初生、雌 10 羽/時点(投与開始 4 週後のみ 16 羽)）に 3-BHA を 56 日  
10 間混餌投与 (150 又は 600 ppm(13 又は 49 mg/羽/日相当<sup>8</sup>) ) し、投与開始 4 週後並  
11 びに最終投与 0、1、2、3、5 及び 7 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び皮膚を採材  
12 し、GC-MS 又は HPLC によって組織中 BHA 濃度を測定<sup>9</sup>した（検出限界 : GC-MS  
13 0.025 µg/g、HPLC 0.02 µg/g）。なお、分析用試料として、5 羽分（投与開始 4 週後のみ  
14 8 羽分）をまとめて 1 試料とし、2 試料を作製した。

15 結果を表 8 に示した。

16 150 ppm 投与群では、肝臓及び腎臓では検出されなかった。筋肉では最終投与 1  
17 日後のみ検出され、その後は検出されなかった。脂肪では最終投与 1 日後まで、皮膚  
18 では最終投与 3 日後まで検出されたが、その後は検出限界未満であった。

19 600 ppm 投与群では、肝臓及び腎臓では最終投与 1 日後以降は検出されなかった。  
20 筋肉では全時点で検出されなかった。脂肪及び皮膚では最終投与 2 日後まで BHA が  
21 検出された。（参照 19） **【鶏及び豚残留試験】**

23 表 8 鶏における BHA 56 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg/g)<sup>a</sup>

投与群 (ppm)	組織	投与開 始 4 週 後	最終投与後日数(日)					
			0	1	2	3	5	7
150	肝臓	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>						
	腎臓	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>				
	筋肉	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> 0.04	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
	脂肪	0.04 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> 0.11	<LOD <sup>b</sup> 0.02	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
	皮膚	0.05 <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> 0.04	<LOD <sup>b</sup> 0.02	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> 0.03	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>
600	肝臓	<LOD <sup>b</sup> 0.02	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
	腎臓	<LOD <sup>b</sup> 0.02	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —	<LOD <sup>b</sup> —
	筋肉	<LOD <sup>b</sup>						

<sup>8</sup> 参照 19 に記載されている鶏の被験物質総摂取量を投与期間で除して算出した。

<sup>9</sup> 分析は 2 施設で実施しており、それぞれ GC-MS 又は HPLC によって測定した。

		<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	—	—	—	—
脂肪	0.07	0.29	0.03	<LOD <sup>b</sup>				
	<LOD <sup>c</sup>	0.62	0.09	0.09	<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	—
皮膚	0.12	0.19	<LOD <sup>b</sup>					
	0.04	0.25	0.04	0.04	<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	<LOD <sup>c</sup>	—

1 n=1 <LOD : 検出限界未満 — : 測定せず

2 a : 上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値

3 b : 検出限界 0.025 µg/g

4 c : 検出限界 0.02 µg/g

5

### 6 (3) 鶏卵

7 採卵鶏（白色レグホン種、9か月齢、8羽/群）に3-BHAを21日間混餌投与（150  
8 又は600 ppm(それぞれ17、68 mg/羽/日相当<sup>10</sup>)）し、投与開始7、14日後並びに最  
9 終投与0、1、2、3、5及び7日後に採卵し、GC-MS又はHPLCによって卵黄及び  
10 卵白中BHA濃度を測定<sup>11</sup>した（検出限界：GC-MS 0.025 µg/g、HPLC 0.02 µg/g）。  
11 結果を表9に示した。

12 150 ppm 投与群では、全時点の卵黄にBHAが検出され、投与開始14日後に最高  
13 濃度（0.10 µg/g）がみられた。卵白では全時点でBHAは検出されなかつた。

14 600 ppm 投与群でも、150 ppm 投与群と同様に、全時点の卵黄にBHAが検出さ  
15 れ、投与開始7日後に最高濃度（0.34 µg/g）がみられた。卵白では全時点でBHAは  
16 検出されなかつた。（参照20）【鶏卵残留試験】

17  
18 表9 採卵鶏におけるBHA 21日間混餌投与後の卵黄及び卵白中残留濃度（µg/g）<sup>a</sup>

投与群 (ppm)	試料	投与開始後日数 (日)		最終投与後日数(日)					
		7	14	0	1	2	3	5	7
150	卵黄	0.08 0.04	0.10 0.05	0.09 0.08	0.09 0.07	0.08 0.04	0.08 0.04	0.08 <LOD <sup>c</sup>	0.05 <LOD <sup>c</sup>
	卵白	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>							
600	卵黄	0.25 0.34	0.30 0.32	0.31 0.27	0.28 0.29	0.28 0.26	0.27 0.18	0.09 0.07	0.07 0.02
	卵白	<LOD <sup>b</sup> <LOD <sup>c</sup>							

19 n 数不明 <LOD : 検出限界未満

20 a : 上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値

21 b : 検出限界 0.025 µg/g

22 c : 検出限界 0.02 µg/g

### 23 (4) にじます、こい及びあゆ

24 にじます、こい又はあゆ（10尾以上/時点）にBHAをそれぞれ63、59又は57日  
25 間混餌投与（全魚種において50又は150 ppm）し、最終投与7日後に筋肉及び内臓

10 参照21に記載されている鶏の被験物質総摂取量を投与期間で除して算出した。

11 分析は2施設で実施しており、それぞれGC-MS又はHPLCによって測定した。

(消化管内容物および腎臓を除く。) を採取<sup>12</sup>し、GC-MS によって残留濃度を測定した(検出限界 0.05 µg/g)。なお、50 及び 150 mg/kg 飼料の投与量は、にじますで 0.33 及び 0.98 mg/kg 体重/日相当、こいで 0.60 及び 1.8 mg/kg 体重/日相当、あゆで 0.81 及び 2.6 mg/kg 体重/日相当であった。<sup>13</sup>

結果を表 10 に示した。

筋肉中濃度は、全魚種の両投与群のいずれの時点においても検出限界未満であった。

内臓については、全魚種において残留がみられたが、最終投与 7 日後には検出限界未満であった。(参照 21) [魚残留試験]

表 10 にじます、こい及びあゆにおける BHA 混餌投与後の筋肉及び内臓中濃度 (µg/g)

魚種	添加量 (ppm)	組織	最終投与後日数(日)			
			1	2	3	7
にじます	50	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	0.05	<LOD	<LOD	<LOD
	150	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	0.13、0.12	0.08	<LOD	<LOD
こい	50	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	0.07	<LOD	<LOD	<LOD
	150	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	0.22、0.27	<LOD	<LOD	<LOD
あゆ	50	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	150	筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
		内臓	0.05、0.07	<LOD	0.06	<LOD

n 数不明

### 3. 遺伝毒性試験

BHA の遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 11 に示した。

表 11 BHA の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA1538	0.00375~0.0150% (w/v)	陰性	25 [FAS 15, p5] (Fabrizio, 1974)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	5~5,000 µg/plate (± S9) <sup>a</sup>	陰性 <sup>a</sup>	32 [添付資料 16]
		<i>S. typhimurium</i>	10~1,000 µg/plate	陰性	25

<sup>12</sup> 各時点で 10 尾以上から採取しているが、分析した検体数は不明であった。

<sup>13</sup> 参照 22 のデータから算出した。

	TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	(±S9)		[FAS 15, p4] (Joner, 1978)
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	1 ~ 100 µg/plate (±S9)	陰性	33 [Food Tech 1980] (Bonin and Baker, 1980)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA100、 TA102、TA104	1 ~ 1,000 µg/plate (±S9) <sup>b</sup>	陰性 <sup>b</sup>	3、34 [EFSA 2011, Table 4] [Mutat Res 1988] (Hageman etal., 1988)
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538	1~100 µg/plate (± S9)	陰性	3、35 [EFSA 2011, Table 4] [Food Chem Toxicol 1990] (Williams et al., 1990)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA102	0.5 ~ 100 µg/plate (-S9) <sup>a</sup> 1~250 µg/plate (+ S9) <sup>a</sup>	陰性 <sup>a</sup>	3、36 [EFSA 2011, Table 4] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA104、 TA1535	1~67 µg/plate (- S9) 1~100 µg/plate (+ S9、TA97、TA104、 TA1535) 1~200 µg/plate (+ S9、TA98、TA100)	陰性	53 [Environ Mol Mutagen 1992] (Zeiger et al., 1992)
	<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> D7	50~200 µg/mL (- S9、4 時間曝露) 50~150 µg/mL (+ S9、4 時間曝露) 1~100 µg/mL (- S9、24 時間曝露)	陰性	3、37 [EFSA 2011, Table 4] [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)
遺伝子突然 変異試験	チャイニーズハムス ター肺由来(CHL) V79 細胞 ( <i>hprt</i> 座 位)	18~54 µg/mL (± <u>ラット又はハムス</u> <u>ター由来の</u> S9)	陰性	3、38 [EFSA 2011, Table 4] [Cancer Lett 1985] (Rogers et al., 1985)

	ラット肝上皮細胞 ( <i>hprt</i> 座位)	60~90 µg/mL (−S9) <sup>a</sup>	陰性 <sup>a</sup>	3、35 [EFSA 2011, Table 4] [Food Chem Toxicol 1990] (Williams et al., 1990)
	<i>Staphylococcus aureus</i> W46	12.5、25 µg/mL (−S9)	陽性	3、39 [EFSA 2011, Table 4] [FEMS Microbiol Lett] (Degré and Saheb, 1982)
	<i>S. cerevisiae</i> D4	0.0625 ~ 0.2500% (w/v)	陰性	25 [FAS 15, p5] (Fabrizio, 1974)
染色体異常試験	ヒト胎児肺由来細胞 WI-38	2.0~200 µg/mL	陰性	25 [FAS 15, p4] (Fabrizio, 1974)
	チャイニーズハムスター肺由来(CHL)細胞	~ 0.03 µg/mL (−S9)	陰性	25、40 [FAS 15, p4] [Mutat Res 1977] (Ishidate and Odashima, 1977)
	チャイニーズハムスター由来 Don 細胞	1×10 <sup>-6</sup> ~1×10 <sup>-3</sup> M (−S9) <sup>c</sup>	陰性 <sup>e</sup>	25、41 [FAS 15, p4] [JNCI 1977] (Abe and Sasaki, 1977)
	チャイニーズハムスター卵巣由来(CHO)細胞	33~300 µM (±S9)	陽性 ( <u>100 µM</u> + S9) 山田専門 委員修文	3、42 [EFSA 2011, Table 4] [Mutat Res 1989] (Phillips et al., 1989)
		25~500 µM (+S9)	陽性 ( <u>50~250 µM</u> + S9) 山田専門 委員修文	
		<u>62~250 µM (+ラット肝ミクロゾーム、土カタラーゼ、3時間処理)</u> 山田専門 委員修文	陽性 -カタラーゼ> +カタラーゼ	
	CHL 細胞	0.02~0.08 mg/mL (−S9、24 時間又は	陽性 <sup>a</sup> (0.125)	3、36 [EFSA 2011,

		48 時間処理 <sup>a</sup> 0.05~0.125 mg/mL (−S9、6 時間処理 <sup>a</sup> 後 18 時間培養) <sup>a</sup> 0.05~0.15 mg/mL (+S9、6 時間処理 <sup>a</sup> 後 18 時間培養) <sup>a</sup> 下位専門委員修文	mg/mL、+S9)	Table 4] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
	CHO 細胞	62.5~750 μM (± S9、8 又は 24 時間 培養) <sup>a</sup> 33.1~662 μM (+ S9 ミクロソーム(± カタラーゼ)、8 又は 24 時間培養) <sup>a</sup> 山田専門委員修文	陽性 <sup>a</sup> (33.1 μM 下位専門委員修文、+S9 ミクロソーム(−カタラーゼ)、24 時間) 山田専門委員修文	3、43 [EFSA 2011, Table 4] [In Vitro Toxicol] (Murli and Brusick)
不定期 DNA 合成(UDS) 試験	ラット肝初代培養細胞(雄)	0.01~5.0 μg/mL <sup>a</sup>	陰性 <sup>a</sup>	3、35 [EFSA 2011, Table 4] [Food Chem Toxicol 1990] (Williams et al., 1990)
姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスター由来 Don 細胞	$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L (−S9)	陰性	25、41 [FAS 15, p4] [JNCI 1977] (Abe and Sasaki, 1977)
	CHL V79 細胞	18~54 μg/mL (± S9)	陰性	3、38 [EFSA 2011, Table 4] [Cancer Lett 1985] (Rogers et al., 1985)
	CHO 細胞	5~500 μg/mL (± S9) <sup>a</sup>	陰性 <sup>a</sup>	3、35 [EFSA 2011, Table 4] [Food Chem Toxicol 1990] (Williams et al., 1990)
遺伝子変換試験 山田専門委員修文	<i>S. cerevisiae</i> D7	50~200 μg/mL (−S9、4 時間曝露) 50~150 μg/mL (+S9、4 時間曝露) 1~100 μg/mL (−S9、24 時間曝露)	陰性	37 [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)

	DNA 損傷試験 <u>(8-oxodG 検出)</u> 山田専門委員修文	ヒト末梢血リンパ球 deoxyguanosine	<u>3-BHA</u> 10~100 $\mu$ M (50 時間培養) 下位専門委員修文	陽性 陰性	3、44 [EFSA 2011, p22] [Carcinogenesis 1995] (Schilderman et al., 1995a)
	DNA 損傷試験 <u>(DNA の生物学的不活性試験)</u> 下位専門委員修文	$\phi$ X-174 DNA ( <u>二</u> 4 本鎖)	0.1 mM (37°C、30 時間 <u>処理</u> 培養)	陰性	55 [Carcinogenesis 1993] (Schilderman et al., 1993)
	宿主経由試験	<i>S. typhimurium</i> TA1530、G46 マウス(ICR Swiss 系、雌雄不明)	15~1,500 mg/kg 体重	陰性	25 [FAS 15, p5] (Fabrizio, 1974)
		<i>S. cerevisiae</i> D3 マウス(ICR Swiss 系、雌雄不明)	15~1,500 mg/kg 体重	陽性	
<i>in vivo</i>	染色体異常試験	ラット骨髄細胞	15~1,500 mg/kg	陰性	25 [FAS 15, p4] (Fabrizio, 1974)
	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験	マウス (B6C3F1 系、雌雄各 5 匹/群) 前胃上皮	単回強制経口投与 (300 mg/kg 体重 <u>2、4 時間処理</u> ) 下位専門委員修文	陰性	3、45 [EFSA 2011, table 4] [Toxicology 1994] (Benford et al., 1994)
	定期 DNA 合成 (RDS) 試験	マウス (B6C3F1 系、雌雄不明、5 匹/群) 前胃上皮 下位専門委員修文	単回強制経口投与 (300 mg/kg 体重 <u>6、8、10、12 時間処理</u> ) 下位専門委員修文	陽性	3、45 [EFSA 2011, table 4] [Toxicology 1994] (Benford et al., 1994)
	伴性劣性致死変異試験	ショウジョウバエ (雄)	0.001% 液 腹部注入	陰性	3、46 [EFSA 2011, table 4] [Int J Radiat 1974] (Prasad and Kamra, 1974)
		ショウジョウバエ (雄) 山田専門委員	0.01 ~ 0.15% 溶液 経口投与	陰性	3、47 [EFSA 2011,

		修文		table 4] [Mutat Res 1976] (Miyagi and Goodheart, 1976)
優性致死試験	ラット (SD 系、雄)	単回又は 5 日間反復投与 15 ~ 1,500 mg/kg 体重/日	陰性 <sup>d</sup>	25 [FAS 15, p5] (Fabrizio, 1974)
DNA 損傷試験 (コメットアッセイ)	マウス (ddY 系、雄 4 匹/群) 腺胃、結腸、肝臓、腎臓、膀胱、肺、脳、骨髓	単回経口投与(100 ~1,000 mg/kg 体重) 投与 3 又は 24 時間後に観察	陽性 (腺胃(1,000 mg/kg 体重(投与 3 時間後)) 及び結腸(500 mg/kg 体重(投与 3 時間後)、 1,000 mg/kg 体重(投与 3 及び 24 時間後))	3、48 [EFSA 2011, Table 4] [Mutat Res 2002] (Sasaki et al., 2002)
	マウス (ddY 系、雄 3 匹/群) 骨髓、肝臓、腎臓及び胃	単回強制経口投与 (800 mg/kg 体重)	陽性 (胃(投与 3 及び 24 時間後) 及び腎臓(投与 3 時間後))	49 [J Am Sci 2012] (Ramadan and Suzuki, 2012)
DNA 損傷試験 (アルカリ溶出試験)	ラット (F344 系、雄、匹数不明) 前胃上皮	3-BHA 単回強制経口投与 (およそ 220 mg/kg 体重相当) 山田専 門委員修文	陰性	3、16 [EFSA 2011, Table 4] [Carcinogenesis 1991] (Morimoto et al., 1991)
DNA 損傷試験 (8-oxodG 検出)	ラット(Wistar 系、雄、6 匹/群/時点) 肝臓、腺胃上皮、結腸・直腸上皮	3-BHA 3、7 又は 14 日間混餌投与(1.5%(1.2 ~ 1.5 g/kg 体重/日))	陽性 (肝臓(投与 14 日後)及び腺胃上皮(投与 3、7 及び 14 日後))	3、50 [EFSA 2011, p22] [Food Chem Toxicol 1995] (Schilderman et al., 1995b)
DNA 付加体形成試験	ラット (F344 系、雄 5 匹/群) 前胃、腺胃、肝臓、腎臓	[ <i>tert</i> - <sup>14</sup> C]又は [methyl- <sup>14</sup> C]標識 3-BHA [ <i>tert</i> - <sup>14</sup> C]標識 2-BHA [ <i>tert</i> - <sup>14</sup> C]標識 3-BHA : 1.6 mg 又は 1 g/kg 体重、 [methyl- <sup>14</sup> C]標識 3-BHA : 1 g/kg 体重、 [ <i>tert</i> - <sup>14</sup> C]標識	陰性	51 [Toxicology 1987] (Hirose et al., 1987)

		<p><del>2-BHA : 1 g/kg 体重</del>  <del>山田専門委員修文</del>  <del>単回強制経口投与</del>  <del>[<i>tert</i>-<sup>14</sup>C]標識 3-</del>  <del>BHA : 1.6 mg 又は</del>  <del>1 g/kg 体重、</del>  <del>[methyl-<sup>14</sup>C]標識 2-</del>  <del>BHA 及び [<i>tert</i>-<sup>14</sup>C]</del>  <del>標識 2-BHA : 1 g/kg 体重</del></p>		
		<p>ラット ((F344、雄 6 匹/群) 前胃</p> <p>3-BHA 単回又は 5 日間反復 強制経口投与(1,000 mg/kg 体重/日)</p>	陰性	<p>3、52 [EFSA 2011, Table 4] [Cancer Lett 1989] (Saito et al., 1989)</p>
		<p>ラット (F344、雄 6 匹/群) 前胃上皮</p> <p>5 日間反復強制経口 投与 (1,000 mg/kg 体重)</p>	陰性	<p>3 [EFSA 2011, Table 4] (Ito et al., 1991)</p>

1 a : 最高濃度で生育阻害がみられた。  
 2 b : 500 µg/plate 以上で生育阻害がみられた。  
 3 c :  $1 \times 10^4$  M 以上で生育阻害がみられた。  
 4 d : 単回投与でみられた優性致死率の増加は、陰性対照群の低値のために陽性とみなされなかった。  
 5 反復投与では第 6 及び 7 週に着床前胚損失率の有意な増加がみられたが、この影響が単独でみ  
 6 られていることから、陽性と判断されなかった。  
 7

#### 【山田専門委員コメント】

(脚注の a~c について)

濃度に関するコメントは、判定ではなく、濃度のところにつけるのではないで  
しょうか。

#### 【山田専門委員コメント】

3-BHA は別の表にしたほうがいいかもしれません。3 試験なのでこのままでも  
いいかもしれません。

#### 【事務局より】

3-BHA の試験を別表にした際の修文案を以下のように作成しました。別表にするかどうかご検討お願いいたします。(上述の表の修文は反映させています。)

表○ 3-BHA の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	DNA 損傷試験 (8-oxodG 検出)	ヒト末梢血リンパ球	3-BHA 10~100 µM (50 時間培)	陽性 (100 µM)	3、44 [EFSA 2011, p22]

			(養)		[Carcinogenesis 1995] (Schilderman et al., 1995a)
in vivo	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出試験)	ラット (F344 系、雄、匹数不明) 前胃上皮	3-BHA 単回強制経口投与(およそ 220 mg/kg 体重相当)	陰性	3、16 [EFSA 2011, Table 4] [Carcinogenesis 1991] (Morimoto et al., 1991)
	DNA 損傷試験 (8-oxodG 検出)	ラット (Wistar 系、雄、6 匹/群/時点) 肝臓、腺胃上皮、結腸・直腸上皮	3-BHA 3、7 又は 14 日間混餌投与 (1.5%(1.2~1.5 g/kg 体重/日))	陽性 (肝臓(投与 14 日後)及び腺胃上皮(投与 3、7 及び 14 日後))	3、50 [EFSA 2011, p22] [Food Chem Toxicol 1995] (Schilderman et al., 1995b)
	DNA 付加体形成試験	ラット ((F344、雄 6 匹/群) 前胃	3-BHA 単回又は 5 日間反復強制経口投与 (1,000 mg/kg 体重/日)	陰性	3、52 [EFSA 2011, Table 4] [Cancer Lett 1989] (Saito et al., 1989)

BHA の代謝物である TBHQ、TBQ、BHA- $\alpha$ -O、diBHA、BHA-OH 及び TBQO の遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 12~17 に示した。

表 12 TBHQ の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	~5.0 µg/mL (TA1535)、 ~15 µg/mL (TA1537) ~ 50 µg/mL (TA98、TA100、TA1538)	陰性	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (Société Kemin Europa, 1982a)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	~450 µg/plate (-S9) ~2,700 µg/plate (+S9)	陰性	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (Mueller and Lockhart,

				1983)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA100、 TA102、TA104	1~1,000 µg/plate ( $\pm$ S9) <sup>a</sup>	陰性	10、18、34 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1988] (Hageman et al., 1988)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA102	3~166 µg/plate (-S9) 3~3,333 µg/plate (+ <u>ラッ</u> <u>ト又はハムスター由來の</u> S9)	陰性	10、18、53 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Environ Mol Mutagen 1992] (Zeiger et al., 1992)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA102	0.5~100 µg/plate (-S9) 5~1,000 µg/plate (+S9) <sup>ba</sup>	陰性	10、18、36 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7	100~500 µg/mL (-S9) 50~200 µg/mL (+S9)	陰性	10、18、37 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)
遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y ( $Tk^{+/-}$ )	~31.3 µg/mL ( $\pm$ S9)	陽性 (+ S9)	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (Litton Bionetics, 1982a)
	CHO 細胞 ( <i>hprt</i> 座位)	~6 µg/mL (-S9) ~250 µg/mL (+S9)	陰性	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (Beilman

				and Barber, 1985)
	CHL V79 細胞 ( <i>hprt</i> 座位)	0.17~3.40 µg/mL (±ラット又はハムスター肝細胞)	偽陽性陰性 <sup>b</sup>	<u>3</u> 10、18、37 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 3 段落目] [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)
【事務局より】				
参照 3 (EFSA 2011)の「3.2.3.1 Genotoxicity of metabolites」の 3 段落目には、「…inconsistent and weak activity in the frequency of SCE and in the mutation frequency of the HGPRT gene locus …」との記載がありますが、陰性としました。				
【山田専門委員コメント】				
参照 3 を参考のカラムに入れてはどうでしょうか?もちろん同じ記述が参照 10 にもあります。				
陽性の結果も出ているが、再現性がないということなら「偽陽性」という記載もご検討ください。その上で b の脚注があるほうが筋が通っています。				
【下位専門委員コメント】				
参照 37 では、「These results could be interpreted as equivocal.」としています。				
染色体異常試験	CHL V79 細胞	~330 µg/mL (±S9)	陽性 (-S9)	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (Société Kemin Europa, 1982c)
	CHO 細胞	<u>100~335 µM (-S9、高細胞密度)</u> 下位専門委員修文 <u>15~62 µM (-S9、通常の細胞密度)</u>	陽性 <sup>e</sup> ( <u>150~335 µM、高細胞密度</u> ) 下位専門委員修文 ( <u>31、62 µM、通常の細胞密度</u> ) <sup>d</sup>	10、18、42 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1989] (Phillips et al., 1989)

	CHO 細胞	5~25.2 µg/mL (-S9) 100.5~300 µg/mL (+S9)	陽性 <sup>ed</sup> (+ S9)	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (NTP, 1995)
	CHL 細胞	0.0125 ~ 0.05 mg/mL (-S9、24 時間又は 48 時間処理置) 0.02 ~ 0.04 mg/mL ( <u>±</u> -S9、6 時間処理置後 18 時間培養) <del>0.02~0.04 mg/mL (+S9、6 時間処置後 18 時間培養)</del> 山田専門委員修文	陰性 下位専門 委員修文 陽性 (+ S9)	10、18、36 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
小核試験	CHL V79 細胞	120~720 µM (-S9、 <u>±</u> アラキドン酸) 720 µM ( <u>単独</u> 、 <u>山田専門委員修文</u> <u>±</u> カタラーゼ CAT 又は <u>±</u> グルタチオン)	陽性 抑制 TBHQ により増加した小核の減少 <sup>fe</sup> 山田 専門 委員修文	10、18、54 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, p15、5 段落 目] [Environ Mol Mutagen 1994] (Dobo and Eastmond, 1994)
	【山田専門委員コメント】 アラキドン酸の影響がないことを注釈に加えるか、+アラキドン酸の条件を削除するかどちらかだと思います。 カタラーゼを CAT と省略するのであれば、初出の時に定義するのではないでしょうか？そもそも、より記載の数および字数の多いグルタチオンを GSH と省略していないので、カタラーゼを CAT にする必要はないと思います。CAT はクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼにも使われる略称で、紛らわしいです。			
遺伝子転換試験	<i>S. cerevisiae</i> D7 ( <i>trp5</i> 座位)	100~500 µg/mL (-S9) 50~200 µg/mL (+S9)	陰性	10、18、37 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)
姉妹染色分体交換試験	CHO 細胞	0.5~16.7 µg/mL (-S9) 5~166.7 µg/mL (+S9)	陽性 <sup>gf</sup> (+ S9)	10、18 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] (NTP, 1995)

	CHL V79 細胞	0.17~3.40 µg/mL (±ラット又はハムスター肝細胞) <sup>h g</sup>	偽陽性 <sup>c</sup> 陰性	3、10、18、37 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, Table 2] [Mutat Res 1992] (Rogers et al., 1992)
【事務局より】				
		参照 10 の Table 2 では、結果を「inconclusive」と記載されています。また、参照 3 (EFSA 2011)の「3.2.3.1 Genotoxicity of metabolites」の 3 段落目には、「…inconsistent and weak activity in the frequency of SCE and in the mutation frequency of the HGPRT gene locus …」との記載がありますが、陰性としました。		
	【山田専門委員コメント】			
	参考のカラムに参照 3 も入れてはどうでしょうか。 陽性の結果も出ているが、再現性がないということなら「偽陽性」という記載もご検討ください。その上で脚注があるほうが筋が通っています。			
DNA 損傷試験 (8-oxodG 検出)	deoxyguanosine	~0.1 mM (37°C、17 時間処理培養) 山田専門委員修文	陽性 <sup>h</sup>	10、18、55 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, p 15 の 2 段落目] [Carcinogenesis 1993] (Schilderman et al., 1993)
	ヒト末梢血リンパ球	10~100 µM (37°C、50 時間処理培養) 山田専門委員修文	陽性 <sup>h</sup>	10、18、44 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, p 15-16 の 7 段落目] [Carcinogenesis 1995] (Schilderman et al., 1995)
	子牛胸腺 DNA	10 <sup>-6</sup> ~10 <sup>-2</sup> M (37°C、1 時間処理培養、±CuCl <sub>2</sub> ) 山田専門委員修文	陽性 <sup>h</sup>	10、18、56 [EFSA 2004, Table 2] [FAS 40, p 16 の 2 段落目] [Toxicol Lett 1996] (Nagai et al.,

				1996)
	ラット肝細胞 (F344 系、雌由来) 山田専門委員修文	10 及び 50 $\mu\text{M}$ (37°C、1 時間処理培養) 山田専門委員 修文	陽性 <sup>¶</sup>	10、57 [EFSA 2004, Table 2] [Mutat Res 2002] (Li et al., 2002)
	DNA 不活性化試験 (DNA 鎖切断試験) 山田専門委員修文	<del>φ X-174 RF I DNA(二本鎖)</del> 山田専門委員修文	12.5~100 $\mu\text{M}$ ( $\pm$ Cu(II)) 37°C、30 分処理培養 山田専門委員修文	陽性 <sup>ml</sup> (+Cu(II))
		<del>φ X-174 RF I DAN(2 本鎖)</del>	<del>100 <math>\mu\text{M}</math> (+10 <math>\mu\text{M}</math> Cu(II)) 37°C、60 分間培養</del>	陽性 <sup>¶</sup>
【山田専門委員コメント】 TBHQ 単独のデータがないので、削除したほうがいいと思います。残るのであれば、この注釈には Cu 存在下で DNA 鎖切断が生じることを書くべきです。Cu 存在下で生じる鎖切断がカタラーゼ等で減弱されることだけ書いても意味がありません。				
【下位専門委員コメント】 Cu 存在下での結果だけなので、また、上に同様な試験結果がありますので私も削除していいと思います。				
DNA 損傷試験 (コメットアッセイ)	ヒト由来肺腫瘍細胞(A549)	0.5 mM (24 時間処理培養) 山田専門委員修文	陽性	59 [Food Chem 2014] (Eskandani et al., 2014)
DNA 損傷試験 (DNA 断片化フラグメントーションアッセイ) 山田専門委員修文	ヒト肺がん由来細胞(A549)	1 mM (24 時間処理培養) 山田専門委員修文	陽性	
DNA 損傷試験 (DNA の生物学的不活性化試験) 山田専門委員修文	<del>φ X-174 DNA(一本鎖)</del> 山田専門委員修文	0.1 mM (37°C、30 時間培養) 山田専門委員修文	陽性	55 [Carcinogenesis 1993] (Schilderman et al., 1993)

		<p><b>【山田専門委員コメント】</b>          DNAは活性を持たないので、不活化されることはありません。この試験でファージDNAからファージができるかどうかで、ファージDNAが損傷を受けているかどうかを調べています。論文では biological activity of phiX-s74 DNA という表現を使っています。</p> <p><b>【下位専門委員コメント】</b>          参照 55 と 57 の文献は、どちらも <math>\phi</math>X-174 DNA を使用していますが、試験方法と検出が異なっています。          参照 55 の文献は、1本鎖の <math>\phi</math>X-174 DNA を BHA 等で処理して、DNAを損傷し、そのDNAを大腸菌に感染させてファージのplaques形成を調べたもので、DNAを生物学的に不活化したかどうか調べています。          参照 57 の文献は、<math>\phi</math>-174 plasmid DNAを用いてDNA鎖切断を検出しています。</p>			
<i>in vivo</i>	染色体異常試験	マウス骨髄細胞	単回腹腔内投与 (~200 mg/kg 体重) <sup>nm</sup>	陰性	10、18 [EFSA 2004, Table3, p48] [FAS 40, Table2 ] (Litton Bionetics, 1985)
<p><b>【事務局より】</b>          参照 10 の Table 3 では、陰性の結果について「inconclusive」と記載されています。</p>					
	マウス骨髄細胞 (雄 5 囚)	単回腹腔内投与 (200 mg/kg 体重)	陽性 <sup>oH</sup>	10、18、60 [EFSA2004, Table3] [FAS 40, Table2 ] [Food Chem Toxicol 1984] (Giri et al., 1984)	
	マウス骨髄細胞 (雄 5 囚)	30 日間強制経口投与 (2 mg/kg 体重/日)	陽性 <sup>pH</sup>		
<p><b>【事務局より】</b>          参照 10 の Table 3 では、「the study is inconclusive」との記載があります。</p>					
<b>小核試験 山田専門委員 修文</b>	マウス骨髄細胞	経口投与 (162、325 又は 650 mg/kg 体重、24 時間以内に 2 回投与) <sup>p</sup>	陰性	10、18 [EFSA 2004, Table3] [FAS 40, Table2 ] (Litton Bionetics, 1982b)	
<p><b>【事務局より】</b>          参照 10 の Table 3 では、「inconclusive」との記載があります。</p>					

	マウス骨髄細胞 経口投与 (250 mg/kg 体重、 投与 24、48、72 時間後に採取)	陽性 (投与 24 時間後のみ)	10、18 [EFSA 2004,Table3] [FAS 40, Table2] (Société Kémin Europa,1982 b)	
	マウス骨髄細胞 (雄 5 匹/群)	3 日間腹腔内投与 (9.38～ 300 mg/kg 体重/日) <sup>a</sup>	陰性	10、18 [EFSA 2004,Table3] [FAS 40, Table2] (NTP, 1995)
優性致死試験	ラット(SD 系)	83 日間混餌投与 (~565 mg/kg/日)	陰性 <sup>r</sup>	10、18 [EFSA 2004,Table3] [FAS 40, Table2] (Krasavage and Faber, 1983)
【事務局より】 参照 10 の Table 3 には、「equivocal」との記載があります。				
姉妹染色分体 交換試験	マウス骨髄細胞 (スイス系、雄 20 匹/ 群)	腹腔内投与 (0.5～200 mg/kg 体重) <sup>s</sup>	陽性	10、18、61 [EFSA 2004,Table3] [FAS 40, Table2] [Environ Mol Mutagen 1989] (Mukerjee et al., 1989)
DNA 損傷試 験 試験 (アルカリ溶出試験)	ラット(F344 系、 雄、匹数不明) 前胃上皮	単回強制経口投与 (0.001 ～1.0%、投与 3 時間後採 取) <sup>t</sup> 山田専門委員修文	陰性	10、16 [EFSA 2004,Table3] [Carcinogene sis 1991] (Morimoto et al., 1991)

1 a : S9 非存在下の TA97 及び TA104 では最高用量、TA100 では 500 µg/plate 以上、TA102 では 200  
 2 µg/plate 以上で生育阻害がみられた。S9 存在下では、TA102 及び TA104 の最高用量で生育阻害が  
 3 みられた。

4 b<sub>a</sub> : S9 非存在下では 25 µg/plate 以上、S9 存在下では 500 µg/plate 以上で生育阻害がみられた。

5 c<sub>b</sub> : 複数回の実験のうち陽性の結果もみられたが、一貫した結果ではなく、再現性がなかった。

6 d<sub>e</sub> : カタラーゼ CAT によって染色体異常細胞数は減少した。

7 e<sub>d</sub> : S9 存在下では最低用量以外の用量において ≤25 細胞数しか観察されなかった。

8 f<sub>e</sub> : CREST 抗体による標識が陰性の細胞数は カタラーゼ CAT によって減少し、陽性及び陰性の細胞  
 9 数がグルタチオンによって陽性及び陰性の細胞数は減少した。 山田専門委員修文

1 gf : TBHQ 添加によって僅かであるが有意な増加（添加：14.4 SCEs/細胞、対照：8.3 SCEs/細胞）が  
 2 みられた。  
 3 hg : 最高用量においても播種効率の減少が 50%に達しておらず、肝細胞の非存在下で細胞への毒性を  
 4 測定していることから、最高用量が毒性限界までに達しているか不明である。  
 5 ih : スーパーオキシドジスムターゼ SOD、tert-ブチルアルコール、カタラーゼ CAT、ジエチレントリ  
 6 アミン五酢酸 DTPA、デスフェリオキサミンメシル酸塩及び Fe<sup>3+</sup>によって減少し抑制されたが、  
 7 Fe<sup>2+</sup>では増加した。 [山田専門委員修文]  
 8 jj : アセチルサリチル酸 (0.0004%) によって抑制された。 [山田専門委員修文]  
 9 kj : CuCl<sub>2</sub>によって増大し、EDTA、BCS・2Na、メチオニン、グルタチオン還元型及びカタラーゼ CAT  
 10 によって抑制され、FeCl<sub>2</sub>、マンニトール、安息香酸ナトリウム及びアジ化ナトリウムによっては変  
 11 化しなかった。 [山田専門委員修文]  
 12 lk : BCS 及びネオクプロインによって抑制された。  
 13 ml : Cu 存在下で DNA 鎮切断が生じた。その切断はカタラーゼ CAT 及び BCS によって抑制された。  
 14 [山田専門委員修文]  
 15 nm : 最高用量の妥当性が示されておらず、採取時間が投与後 24 時間のみであった。  
 16 on : 観察された染色体異常の型が示されておらず、対照群（溶媒のみ）の染色体異常頻度が 4.67%だ  
 17 った。  
 18 po : 観察された染色体異常の型が示されておらず、対照群（溶媒のみ）の染色体異常頻度が 4.33%だ  
 19 った。  
 20 p : 24 時間以内に 2 回投与したが、採取時間が最終投与後 6 時間のみであった。  
 21 q : 複数回投与の妥当性が示されておらず、毒性用量を動物の生存率のみで設定した。  
 22 r : 着床後胚損失率に用量相関性がみられなかった。  
 23 s : 参照 61 の用量設定の根拠から、体重当たりの用量と判断した。  
 24

【山田専門委員コメント】

- (1) 一度しか出てこない略称は不要です。（SOD、DTPA）
- (2) 抑制ー促進、減少ー増加ですので、組み合わせを正しくしてください。
- (3) p の注釈は必要ですか。

25

26

表 13 TBQ の遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA102	0.05～10 µg/plate (-S9) 2.5～500 µg/plate (+S9) <sup>a</sup>	陰性	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 2 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	10～200 µg/plate ( $\pm$ S9) <sup>b</sup>	陰性	3、62 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 7 段落目] [Food Addit Contam 1990] (Kalus et al., 1990)

	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	10~100 µg/plate ( $\pm$ S9) <sup>c</sup>	陰性	3、63 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 8 段落目] [Environ Health Perspect 1994] (Kalus et al., 1994)	
染色体異常試験	CHO 細胞	2.5~7.5 µM (-S9)	陽性	42 [Mutat Res 1989] (Phillips et al., 1989)	
	チャイニーズハム スター肺由来 (CHL)細胞	0.0015~0.003 mg/mL (-S9、24 時間処理置) 0.002~0.003 mg/mL (-S9、48 処理置) 0.001~0.003 mg/mL (-S9、6 時間処理置後 18 時間培養) 0.005~0.02 mg/mL (+S9、6 時間処理置後 18 時間培養 山田専門委員修文)	陽性 (+ S9)	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 11 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)	
	ヒトリンパ球	10~100 µM (37°C、50 時間培養)	陽性	3、44、 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 9 段落目] [Carcinogenesis 1995] (Schilderma n et al., 1995)	
DNA 損傷試験 (8-oxodG 検出)	deoxyguanosine	~0.08 mM (37°C、17 時間培養)	陰性	55 [Carcinogenesis 1993] (Schilderma n et al., 1993)	
	φ X-174 DNA (— 1本鎖)	0.1 mM (37°C、30 時間処理 培養) 下位専門委員修文	陰性	55 [Carcinogenesis 1993] (Schilderma n et al., 1993)	
<i>in vivo</i>	DNA 付加体形成試験 ( <sup>32</sup> P ポスト	ラット (F344 系、雄 6 囗群) 前胃	単回強制経口投与 (125 mg/kg 体重) 又は 5 日間強制経口内投与 (125 mg/kg)	陰性	3、52 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 4

	ラベル試験		体重/日 文	山田専門委員修 文	段落目 [Cancer Lett 1989] (Saito et al., 1989)
	DNA 損傷 試験 (アルカリ溶 出試験)	ラット (F344、雄、匹 数不明) 前胃上 皮 山田専門委員修 文	単回強制経口投与 (0.00001~0.1 %、 <u>投与 3 時間後採取</u> ) 山田専門委員 修文	陽性	3、16 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 5 段落目] [Carcinogenesis 1991] (Morimoto et al., 1991)

1 a : TA98(-S9)では 5 µg/plate 以上、それ以外は最高用量で生育阻害がみられた。

2 b : TA98(-S9)では 30 µg/plate 以上、TA100(-S9)では 100 µg/plate 以上で生育阻害がみられた。

3 c : TA98(-S9)では 30 µg/plate 以上、TA100(-S9)では 100 µg/plate で生育阻害がみられた。

4

5

表 14 BHA-o-O の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	復帰突然変異試験 (Ames 試験)	<i>S. typhimurium</i> TA98、 TA100	10~300 µg/plate ( $\pm$ S9) <sup>a</sup>	陰性	3、62 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 7 段落目] [Food Addit Contam 1990] (Kalus et al., 1990)
	染色体異常試験	CHL 細胞	0.01~0.02 mg/mL (-S9、 24 又は 48 時間処理) 0.01、0.02 mg/mL (-S9、 6 時間処理後 18 時間培 養) 0.005~0.02 mg/mL (+ S9、6 時間処理後 18 時 間培養) 山田専門委員修文	陽性 (0.02 mg/mL、 -S9、6 及び 24 時 間処理)	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 11 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
in vivo	DNA 損傷試 験(アルカリ溶 出試験)	ラット(F344、雄、 匹数不明) 前胃上皮	単回強制経口投与 (0.01~ 0.1 %、 <u>投与 3 時間後採取</u> ) 山田専門委員修文	陽性	3、16 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 5 段落目] [Carcinogenesis 1991] (Morimoto et al., 1991)
	DNA 付加体 形成試験	ラット(F344 系、 雄 6 匹/群) 前胃	単回又は 5 日間強制経口投 与 (250 mg/kg 体重/日)	陰性	3、52 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 4 段落目] [Cancer Lett 1989]

					(Saito et al., 1989)
--	--	--	--	--	----------------------

1 a : TA98(-S9)の最高用量及びTA100(-S9)の 200 µg/plate 以上で毒性がみられた。山田専門委員修  
2 文

3 表 15 diBHA の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	復帰突然変異試験 (Ames 試験)	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、TA102	25~5,000 µg/plate ( $\pm$ S9)	陰性	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 2 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)
	染色体異常試験	CHL 細胞	0.1~0.2 mg/mL (-S9、24 又は 48 時間処理) 0.1~0.2 mg/mL ( $\pm$ S9、 6 時間処理後 18 時間培 養) <del>0.1~0.2 mg/mL (+S9、6 時間処置後 18 時間培養)</del> 山田専門委員修文	陰性	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 2 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)

5 表 16 BHA-OH の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	染色体異常試験	CHL 細胞	0.01~0.02 mg/mL (-S9、 24 又は 48 時間処理) 0.005~0.02 mg/mL ( $\pm$ S9、 6 時間処理後 18 時 間培養) <del>0.005~0.02 mg/mL (+ S9、6 時間処置後 18 時 間培養)</del> 山田専門委員修文	陽性 (0.015 mg/mL 以 上、-S9、 24 時間処 理) (0.02 mg/mL、- S9、6 時間 処理) 山田 専門 委員修文	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 2 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)

7 表 17 TBHQ の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参考
in vitro	染色体異常試験	CHL 細胞	0.0005~0.002 mg/mL (- S9、24 又は 48 時間処理 ) 0.002~0.006 mg/mL ( $\pm$ S9、 6 時間処理後 18 時 間培養)	陽性 (0.002 mg/mL、 -S9、24 時間処理 )	3、36 [EFSA 2011, 3.2.3.1 の 2 段落目] [Mutat Res 1990] (Matsuoka et al., 1990)

			<del>0.002~0.006 mg/mL (+S9、6時間処置後18時間培養)</del> 山田専門委員修文	(0.006 mg/mL、 -S9、6時間処理 <del>置</del> ) 山田専門委員修文	al., 1990
--	--	--	---	---	-----------

【参考データ】として、*In vitro* の CHL 細胞を用いた小核試験において、BHA 及び TBHQ は S9 存在下で陽性、TBQ 及び TBQO は S9 非存在下で陽性であったとの報告がある。(参照 64 ; 講演要旨のため用量等の詳細データがない) 山田専門委員修文

### 【遺伝毒性のまとめ】

BHA については、*in vitro* の遺伝子突然変異試験において 1 試験だけ陽性であったが、その他の遺伝子突然変異試験及び復帰突然変異試験では陰性であり、*in vivo* の伴性劣性致死試験も陰性であった。*in vitro* の染色体異常試験（代謝活性化条件）で陽性であったが、*in vivo* の染色体異常試験及び優性致死試験では陰性であった。*in vitro* の DNA 損傷試験は陰性であったが、*in vivo* の DNA 損傷試験は陽性であった。

代謝物 TBHQ については、*in vitro* での復帰突然変異試験及び遺伝子突然変異を調べた試験は 1 試験を除いて陰性であった。*in vitro* の染色体異常試験及び小核試験は陽性であり、多くの *in vivo* の染色体異常試験でも陽性であったが、*in vivo* の優性致死試験は陰性であった。DNA 損傷試験は *in vitro* はの DNA 損傷試験は 陽性であったが、*in vivo* では陰性であった。

同 TBQ についても、*in vitro* の復帰突然変異試験は陰性であったが、*in vitro* の染色体異常試験は陽性であった。DNA 損傷試験は *in vitro* の DNA 損傷試験では 陽性と陰性の結果が得られているが、*in vivo* では陽性であった。

同 BHA-o-O 及び diBHA について、*in vitro* の復帰突然変異試験は陰性であった。*In vitro* の染色体異常試験は、BHA-o-O、BHA-OH 及び TBQO の *in vitro* の染色体異常試験では 陽性であったが、diBHA では陰性であった。 山田専門委員修文

以上から、BHA 及び TBHQ 等の代謝物には遺伝子突然変異誘発性はないが、染色体異常誘発性は有すると考えられた。しかしながら、TBHQ の試験において、カタラーゼ等の抗酸化酵素やグルタチオン等の抗酸化物質ラジカルスカベンジャー 下位専門委員修文によって染色体異常等が抑制されたこと、また、BHA は体内で代謝され、キノン化合物が生成する (参照 16)。これらのことから、BHA 及び TBHQ 等の代謝物の染色体異常誘発性は、BHA の代謝物として生成されたキノン化合物によって活性酸素種が生じたことによる二次的な影響と考えられ、この遺伝毒性には閾値が設定できると考えられた。 山田専門委員修文

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、BHA 及び TBHQ 等の代謝物は生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さないと考えた。

【山田専門委員コメント】

(1) 「遺伝毒性のまとめ」との項目立てについて

特に直前が参考データなので、区切りがわかりません。項目立てしたほうがよくないでしょか?

(2) 「この遺伝毒性には閾値が設定できると考えられた。」の記載の削除について

ここには、遺伝毒性の有無のみを記載するものと思います。

【下位専門委員コメント】

ラジカルスカベンジャーは、化学物質をさすことが多いと思いますので、カタラーゼのような酵素は抗酸化酵素とした方がいいと思います。

1  
2   **4. 急性毒性試験**

3   (1) BHA に関する試験

4      マウス及びラットにおける BHA の急性毒性試験の結果を表 [1841](#) に示した。(参  
5      照 3、22) [\[EFSA 2011, 3.2.1\] \[FAS 10, p5\]](#)

6  
7           表 [1841](#) BHA の急性毒性試験結果

動物種	雌雄	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	参照
マウス	不明	経口	>2,000	3、22
	不明	経口	1,500～1,700	3
ラット	不明	経口	2,200～5,000	3、22
	不明	経口	2,900～3,000	3

8  
9   (2) TBHQ に関する試験

10     マウス、ラット、モルモット及びイヌにおける TBHQ の急性毒性試験の結果を表  
11   [1942](#) に示した。(参照 18) [\[FAS 40, 2.2.1\]](#)

12  
13           表 [1942](#) TBHQ の急性毒性試験結果

動物種	雌雄	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	参照
マウス (絶食)	不明	経口	1,040	18
ラット (給餌)	不明	経口	955 (コーン油中 10%) 890 (コーン油中 5%)	
ラット (絶食)	不明	経口	756 (コーン油中 10%) 802 (コーン油中 5%)	
モルモット	不明	経口	790	
イヌ	不明	経口	> 400 <sup>a</sup>	

14     a : 本投与量では動物は嘔吐を繰り返したが、投与後約 10 時間まではみられなかった。

1    5. 亜急性毒性試験

2    (1) 13週間亜急性毒性試験（ラット） [1986年]

3    ラット（F344系、雄5匹/群）にBHA（粉末）を13週間混餌投与（0、0.1、0.25、  
4    0.5又は2%（0、50、125、250又は1,000 mg/kg体重/日相当））し、亜急性毒性試験が  
5    実施された。

6    2%投与群において、著しい体重増加抑制がみられた。また、本投与群の前胃上皮  
7    に増殖性変化がみられ、これらの動物では扁平上皮の肥厚及び基底細胞の下方への  
8    増殖（downward proliferation）がみられた。角化症に加えて、真皮乳頭（papillae）  
9    及び上皮脚の伸長（rete pegs）もみられたが、前胃の筋層は正常であった。0.5%投  
10   与群の動物では標識率（labelling index）<sup>14</sup>は投与開始9日後には2.5倍になり、2%投  
11   与群では投与開始91日後には5.3倍であった。投与終了1週間後には、被験物質の全  
12   投与群において動物は正常に戻ったが、粘膜病変の回復はより緩慢で、投与終了9週  
13   後においても観察された。

14   上述の追跡試験として、ラットに①BHAを3か月混餌投与（2%）し、その後基礎  
15   飼料を12か月投与又は②BHAを6か月混餌投与（2%）し、その後基礎飼料を9か月投  
16   与して、前胃を検査した。両投与群の前胃は組織学的にはほぼ正常で、6か月投与群は  
17   上皮の下方伸長が少数みられた。しかし、2%BHAを12か月投与した後に3か月基礎  
18   飼料を投与したラットの2例は、前胃に扁平上皮癌がみられ、その他の動物には、標  
19   識率で示されるように、高い増殖率の乳頭状増殖がみられた。（参照23）[FAS 24,  
20   p3の3段落目] (Clayson et al, 1986)

21   ANSパネルは、0.5%以上投与群で過形成がみられたことから、本試験における  
22   NOAELを飼料添加濃度として0.25%（125 mg/kg体重/日相当）と判断した。（参照  
23   3）[EFSA 2011, 3.2.2.1の最初の試験、3.]

24   食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%以上投与群で過形成がみられた  
25   ことから、本試験におけるNOAELを125 mg/kg体重/日と判断した。

27   (2) 180日間亜急性毒性試験（イヌ）<参考資料<sup>15</sup>> [1986年]

28   イヌ（ビーグル種、雄29匹及び雌30匹/群）にBHAを混餌投与（0、1.0又は  
29   1.3%（それぞれ雄/雌：0/0、247/243、303/269 mg/kg体重/日相当<sup>16</sup>））し、亜急性毒  
30   性試験が実施された。

31   1.3%投与群では、摂餌量と体重増加量が減少した。また、両投与群において肝臓  
32   の絶対重量が増加した。両投与群の肝臓の電子顕微鏡検査によって、肝細胞の滑面小  
33   胞体及びミエロイド小体が増殖した。

34   光学又は電子顕微鏡検査では、胃と食道下部に増殖性又は過形成病変及び細胞数  
35   の変化はみられなかった。（参照 23、24、26）[FAS 24, p7 の一番下の段落] [FAS  
36   21, p6, Dogs の一つ目の試験] [Food Chem Toxicol 1986a] (Ikeda et al., 1986)

<sup>14</sup> ある特定の物質を動物に投与し、免疫組織学的染色によって測定した器官中の細胞数および増殖割合

<sup>15</sup> 試験の検査項目が特殊であることから、参考資料とした。

<sup>16</sup> 参照 26 のデータから体重1kg当たりのBHA摂取量を算出した。

1  
2 (3) 6か月間亜急性毒性試験（イヌ） **1986年**

3 イヌ（ビーグル種、雄又は雌3～4匹/群）にBHAを6か月間混餌投与（0、0.25、0.5  
4 又は1.0%（それぞれ雄/雌：0/0、54/62、111/112、219/231 mg/kg体重/日相当））し、  
5 亜急性毒性試験が実施された。

6 用量依存的に体重増加抑制がみられた。摂餌量については、0.5%以上投与群で対  
7 照群より有意に低かった。BHA全投与群の肝臓重量が増加したが、肝臓及びその他の  
8 器官に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、食道遠位部の扁  
9 平上皮の有糸分裂像にも変化はなかった。

10 投与1、3及び6か月後の血液生化学的検査では、1.0%投与群にAlbの僅かな減少並  
11 びにAP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。（参照23、24、27）

12 [FAS 24, p8の2段落目] [FAS 21, p6, Dogsの2つ目の試験] [Food Chem Toxicol  
13 1986b] (Tobe et al., 1986)

14 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1.0%投与群で体重増加抑制がみられ  
15 たことから、本試験におけるNOAELを飼料添加濃度として0.5%（111 mg/kg体重/日  
16 相当）と判断した。

17  
18 (4) 110日間亜急性毒性試験（豚） **1986年**

19 妊娠豚（デンマークランドレース種、妊娠豚、9～13頭/群）にBHAを妊娠期間の  
20 110日間混餌投与（0、0.5、1.9又は3.7%（0、50、200又は400 mg/kg体重/日相当））  
21 し、亜急性毒性試験が実施された。

22 その結果、3.7%投与群で体重増加量の有意な低下がみられた。肝臓と甲状腺の絶  
23 対重量と相対重量に関して用量依存性の増加がみられた。

24 BHA全投与群及び対照群において、胃の重層扁平上皮の増殖性変化及び錯角化症  
25 がみられた。さらに、1.9%以上投与群の数頭に食道上皮の増殖性変化及び錯角化症  
26 がみられた。胃の腺部に乳頭腫又は他の組織学的変化はみられなかった。1.9%以上  
27 投与群の数頭の食道の全長に渡って、肉眼的に線状、黄褐色かつ粗造な上皮構造がみ  
28 られた。（参照3）[EFSA 2011, 3.2.2.3 Pigs] (Wurzen and Olsen, 1986)

29 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1.9%以上投与群において、食道上皮  
30 の増殖性変化及び錯角化症がみられたことから、本試験におけるNOAELを飼料添  
31 加濃度として0.5%（50 mg/kg体重/日相当）と判断した。

32  
33 (5) TBHQに関する亜急性毒性試験

34 ①13週間亜急性毒性試験（マウス） **1995年**

35 マウス（B6C3F1系、雌雄各10匹/群）にTBHQを13週間混餌投与（0、2,500、  
36 5,000、10,000、20,000又は40,000 mg/kg飼料（雄/雌：0/0、440/500、870/1,075、  
37 1,950/2,175、4,000/4,630又は8,425/9,040 mg/kg体重/日相当））し、亜急性毒性試験  
38 が実施された。

39 試験期間中にTBHQ投与群の雌2例が死亡したが、TBHQ投与とは関連がない  
40 と考えられた。

10,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄に、試験終了時の体重及び体重増加量に用量  
相関的な有意な減少がみられた。摂餌量は TBHQ 投与群及び対照群で同様であった  
が、10,000 mg/kg 飼料以上投与群では飼料をまき散らす傾向がみられたことから、  
これら 3 群の実際の摂餌量は少ないことが示唆された。脱毛及び被毛の変色に投与  
との関連性がみられたが、おそらくこぼれた飼料に皮膚が接触したためと考えられ  
た。

血液生化学的検査において BUN の用量相関的な減少が全測定時点の雌雄にみら  
れたこと以外には、毒性学的に重要な変化はみられなかった。血液学的検査では、  
20,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄に RBC 赤血球、網状赤血球 RBC 赤血球、血小  
板、リンパ球及び分葉核好中球数の増加が全測定時点でみられた（雌でより高頻度）  
が、分葉核好中球の増加を除き、体重増加量の減少とこれに関連した脱水によるもの  
と考えられた。また、得られた血液学的及び血液生化学的検査値は CRC 毒性学ハ  
ンドブック（1995）に掲載された B6C3F1 系マウスの参考値の範囲内であった。

臓器の絶対重量について、10,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄では対照群より低  
かったが、相対重量は対照群より高かったことから、体重の減少に起因した二次的な  
変化と考えられた。生殖器についても同様の傾向がみられ、10,000 及び 40,000  
mg/kg 飼料投与群の左側精巣上体尾部、左側精巣及び左側精巣上体でみられた。  
40,000 mg/kg 飼料投与群の雌では対照群に比べて発情周期が有意に長くなったが、  
体重減少による二次的なものと考えられた。

TBHQ 全投与群の雌及び 20,000 mg/kg 飼料以上投与群の雄に前胃の粘膜過形成  
の頻度及び重症度の用量相関的な増加がみられた。10,000 mg/kg 飼料以上投与群の  
雌雄では、鼻の化膿性炎症並びに皮膚の慢性炎症及び表皮過形成の発生頻度の用量  
相関的な増加がみられた。NOEL は 10,000 mg/kg 飼料投与群において体重増加量  
の減少、前胃の粘膜過形成並びに鼻及び皮膚の炎症の頻度の増加がみられたことか  
ら、本試験における NOEL は 5,000 mg/kg 飼料（870 mg/kg 体重/日相当）と考え  
られた。（参照 18） [FAS 40, 2.2.2.1 Mice] (NTP, 1995)

## ②6 か月間亜急性毒性試験（ラット） 1968 年

ラット（SD 系、雌雄各 15 匹/群）に TBHQ を 6 か月間混餌投与（0、10、50 又  
は 250 mg/kg 飼料）し、亜急性毒性試験が実施された。TBHQ は 0、0.02、0.1 又は  
0.5%濃度となるよう油に溶解（非加熱又は加熱（1 時間で 190°C にし、その後 4 時間  
190°C に保温））し、飼料にその溶液を 5%濃度で添加した。

試験期間中に死亡が 3 例みられたが、投与による影響とは考えられなかった。

250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の雄で体重増加の軽度の抑制がみられ、10  
mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の雄では対照群に比べて有意な体重増加がみられた。  
このような影響は TBHQ 投与群（加熱油）の雌にはみられなかった。TBHQ 全投与  
群の雌では対照群と同様の体重増加がみられた。

投与群の摂餌量は、対照群と同等又は増加していた。

血液学的検査では、250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群で投与 3 か月後に WBC の  
増加がみられた以外、対照群と同様であった。250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の

WBC 増加は投与 6 か月後にはみられなかった。

臓器の相対重量については、250 mg/kg 飼料（加熱油）投与群の雄の精巣と肝臓、50 mg/kg 飼料以上投与群（加熱油）投与群の雌の肝臓に僅かな増加がみられたが、TBHQ の影響よりも加熱油と非加熱油の違いに関連しているようであった。

病理組織学的検査では、投与に関連した影響はみられなかった。（参照 18）[FAS 40, 2.2.2.2 の 2 つ目の試験] (Terhaar and Krasavage, 1968b)

### ③13 週間亜急性毒性試験（ラット） 1995 年

ラット（F344/N 系、雌雄各 10 匹/群）に TBHQ を 13 週間混餌投与（0、2,500、5,000 又は 10,000 mg/kg 飼料（雄/雌 : 0/0、190/190、370/360 又は 780/750 mg/kg 体重/日相当））し、亜急性毒性試験が実施された。本試験に供試した動物は、[II. 7. (8) ⑥]の児動物であり、妊娠及び哺育期間中に TBHQ にばく露されており、さらに離乳後 13 週間に本試験が実施された。

試験期間中に死亡はみられなかった。

体重について、対照群と比較すると、試験開始時点では 5,000 及び 10,000 mg/kg 飼料投与群の雄/雌でそれぞれ 10/5 及び 28/22% 低く、試験終了時点ではそれぞれ 6/7 及び 15/12% 低かった。試験開始時の 10,000 mg/kg 飼料投与群及び試験終了時の 5,000 mg/kg 飼料以上投与群における体重の差は有意であった。体重増加量については、10,000 mg/kg 飼料投与群の雄で対照群より 0.9% 低かったことを除き、TBHQ 全投与群及び対照群で同等であった。

摂餌量は、5,000 mg/kg 飼料以上投与群の雄で投与開始 2 週後に対照群より低下したが、13 週後では同等であった。10,000 mg/kg 飼料投与群の雌では、試験期間を通して対照群と比較して摂餌量が少ない傾向がみられた。

一般状態では、2,500 mg/kg 飼料投与群の雌を除いて、被毛の変色のみがみられた。

平均精子細胞数、精巣当たりの精子細胞頭部数及び精巣 1 g 当たりの精子細胞頭部数については、5,000 mg/kg 飼料投与群で有意な低下がみられたが、10,000 mg/kg 飼料投与群では影響はみられなかった。精巣上体の精子の濃度又は運動性に投与による影響はみられなかった。5,000 mg/kg 飼料投与群でみられた所見は、用量相関性がみられず、毒性学的な意義は不明であった。

発情周期は 5,000 mg/kg 飼料以下投与群で対照群より有意に長かった。10,000 mg/kg 飼料投与群の発情周期の長さは対照群と同等であったが、10,000 mg/kg 飼料投与群の 2/10 例は発情周期が不明瞭であった。

血清中胆汁酸について、5,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄で投与開始 5 日及び 3 週後並びに試験終了時に有意に上昇した。ALT 活性は、10,000 mg/kg 飼料投与群の雌で投与開始 5 日後に上昇した。投与開始 3 週後には TBHQ 全投与群の雌で対照群より高い ALT 値を示したが、その値は正常値の範囲内であった。試験終了時の ALT 値は TBHQ 投与群及び対照群で同等であった。

臓器の絶対重量及び相対重量に変化がみられたが、体重減少に伴う二次的なもののようにあった。5,000 mg/kg 以上投与群の雌雄の心臓の絶対重量は、対照群より低

1 かつた。TBHQ 全投与群の雄及び 10,000 mg/kg 飼料投与群の雌の肺の絶対重量は、  
2 対照群より低かった。TBHQ 全投与群において精巣の相対重量が、対照群より有意  
3 に高かった。肝臓及び腎臓の相対重量について TBHQ 全投与群の雄で対照群より有  
4 有意に高かったが、絶対重量では 2,500 mg/kg 飼料投与群の雄の肝臓のみで高かった。  
5 TBHQ 全投与群の雌の肝臓の相対重量が対照群より有意に高かったが、絶対重量に  
6 違いはみられなかった。これらの臓器重量の変化に伴う病理学的な所見はみられな  
7 かった。鼻呼吸器上皮の過形成の発生頻度の増加が、5,000 mg/kg 飼料投与群の雄及  
8 び 10,000 mg/kg 飼料の雌雄にみられた。鼻腔滲出液が 10,000 mg/kg 飼料投与群の  
9 雄により高頻度にみられた。

10 脾臓の色素沈着の発生頻度の用量相関的な増加がみられた（対照群、2,500、5,000  
11 及び 10,000 mg/kg 飼料投与群の雄でそれぞれ 0/10、1/10、3/10 及び 5/10 例、雌で  
12 0/10、5/10、8/10 及び 10/10 例）。加えて、赤脾髄の萎縮の発生頻度が、5,000 及び  
13 10,000 mg/kg 投与群の雌でそれぞれ 8/10 及び 10/10 例であった。腎臓の鉱質沈着  
14 の発生頻度には TBHQ 投与群の雌において用量相関性の減少がみられた。

15 脾臓の色素沈着の発生頻度の増加が TBHQ 全投与群の雌でみられたことから、本  
16 試験における NOEL は設定できなかった。本試験における LOEL は 2,500 mg/kg  
17 飼料（190 mg/kg 体重/日相当）であった。（参照 18）[FAS 40, 2.2.2.2 の 3 つ目の試  
18 験] (NTP, 1995)

## 20 6. 慢性毒性及び発がん性試験

### 【事務局より】

遺伝毒性試験の項目において、閾値が設定できるとご判断いただいた場合を考えて、  
発がん性試験における本調査会の判断を記載しています。閾値が設定できないとご判  
断いただいた場合は、本専門調査会の判断に関する部分を削除いたします。

#### (1) 104 週間発がん性試験（マウス） 1986 年

マウス (B6C3F 系、雄、匹数不明) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、0.5 又は 1%(0、  
約 750 又は 1,500 mg/kg 体重/日相当<sup>17</sup>) し、発がん性試験が実施された。

対照群、0.5 及び 1%投与群の投与 96 週以降の生存動物のうち前胃の病変がみられ  
た動物数を表 20 に示した。扁平上皮癌の発生は両投与群にはみられなかった。（参照  
3、65）[EFSA 2011, 3.2.4.3 の 1 段落目] [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986b)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%投与群で前胃に過形成がみられた  
ことから、本試験における LOAEL を飼料添加濃度として 0.5% (BHA として約 750  
mg/kg 体重/日相当) と判断した。本試験において、発がん性はみられなかった。

<sup>17</sup> 参照 3 に記載されている体重 1kg 当たりの用量

1 表 20 マウスを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	16	0	0	0
0.5	21	8 (38) <sup>b</sup>	0	0
1	22	21 (96) <sup>c</sup>	1 (5)	0

2 括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

3 a : 投与 96 週以降の生存動物数

4 b : 対照群と有意差あり (p&lt;0.01)

5 c : 対照群と有意差あり (p&lt;0.001)

6  
7 (2) 104 週間発がん性試験 (マウス) 1986 年8 マウス (B6C3F<sub>1</sub> 系、雄 150 匹/群) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、0.5 又は 1%(0、  
9 約 750 又は 1,500 mg/kg 体重/日相当<sup>16</sup>) し、発がん性試験が実施された。投与開始 8  
10 週後以降 8 週毎に各群 10 匹を、104 週後には各群 30 匹を剖検及び病理組織学的検査  
11 に供試した。吉田専門委員修文12 その結果、投与開始 72 週までは BHA 投与に関連した前胃の顕著な増殖性病変はみ  
13 られなかった。過形成は 1% BHA 投与群で投与開始 64 及び 72 週にそれぞれ 30、40%  
14 の動物にみられた。投与 80 週目から両投与群で乳頭腫がみられ、また扁平上皮癌は投  
15 与 88 週では両投与群、96 週では 1% 投与群でみられ、これらの扁平上皮癌は全て高分  
16 化型であった。17 投与開始 88 週以降に前胃に病変がみられた動物数を表 21 に示した。対照群及び両  
18 投与群において、腺胃の病変はみられなかった。(参照 3、66) [EFSA 2011, 3.2.4.3  
19 の 2 段落目] [Jpn J Cancer Res 1986] (Masui et al., 1986)20 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%以上投与群において乳頭腫がみら  
21 られたことから、本試験における LOAEL を飼料添加濃度として 0.5% (BHA として  
22 約 750 mg/kg 体重/日相当) と判断した。また、BHA は、本試験においてマウスの前  
23 胃に対して発がん性を有すると判断した。

24 表 21 マウスを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	39	0	0	0
0.5	37	10 (27.0) <sup>b</sup>	5 (13.5) <sup>c</sup>	1 (2.7)
1	43	35 (81.4) <sup>b</sup>	5 (14.3) <sup>c</sup>	2 (4.7)

26 括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

27 a : 癌腫が最初にみられた投与 88 週以降の生存動物数

28 b : 対照群と有意差あり (p&lt;0.001)

29 c : 対照群と有意差あり (p&lt;0.05)

30

1 (3) 96 週間慢性毒性及び発がん性試験（ラット）<参考資料<sup>18</sup>> 1982年

2 ラット (F344 系、雌雄 20~30 匹/群) に BHA を 96 週間混餌投与 (0、0.04、0.2 又  
3 は 1.0%) し、慢性毒性及び発がん性試験が実施された。

4 その結果、摂餌量、摂水量、生存率、体重及び器官重量に投与による影響はみられな  
5 かった。

6 血液学的及び血清生化学的検査では、0.2 及び 1.0%投与群で LDH が対照群より増  
7 加していること以外は、各パラメーターに投与による影響はみられなかった。

8 前胃の乳頭腫が 1%投与群の雄及び雌でそれぞれ 3/15、2/18 例にみられたが、対照  
9 群（雄 0/9 例、雌 0/13 例）ではみられなかった。雌雄の乳頭腫の発生頻度の合計は、  
10 統計学的に有意に高かった。また、その他にみられた腫瘍は、下垂体腺腫及び皮下肉腫  
11 （対照群及び投与群）、肝血管腫（投与群のみ）、腎癌 1 例（0.2%投与群の雌）、腺胃腺  
12 癌 1 例、甲状腺腺腫 1 例、精巣間細胞腫腫瘍 1 例（0.04%投与群の雄）であった。吉

13 田専門委員修文（参照 71） [FAS 18, p2 の一番下の段落] (Tomii and Aoki, 1982)

15 (4) 104 週間慢性毒性及び発がん性試験（ラット） 1982、1983 年

16 ラット (F344 系、雌雄各 50~52 匹/群) に BHA を 104 週間投与 (0、0.5 又は 2%(雄  
17 /雌 : 0/0、98/108、414/474 mg/kg 体重/日相当)) し、慢性毒性及び発がん性試験が実  
18 施された。BHA 投与終了後、112 週まで BHA 無添加飼料を給与した後、検査が実施  
19 された。

20 その結果、BHA 投与終了時点の対照群、0.5 及び 2%投与群の生存率は、それぞれ雄  
21 では 68.6、68.6 及び 67.3%、雌では 64.7、66.7 及び 78.4% であった。

22 試験期間を通じて一般症状に投与による影響はみられなかった。

23 体重については、2%投与群の雌雄に対照群と比べて約 10%の低下がみられた。

24 血液学的及び血液生化学的検査において、投与群に血小板数の増加及び Alb/Glb 比  
25 の減少がみられたが、背景データ内であることから、毒性学的意義はないと考えられ  
26 た。尿検査では投与に関連した影響はみられなかった。

27 臓器重量では、投与群の雄で脳の絶対重量の有意な減少、投与群の雌で唾液腺と心臓  
28 の相対重量の有意な増加が認められた。

29 【吉田専門委員コメント】

(臓器重量の変化について) 体重減少の影響かどうか確認する必要があります。

【事務局より】

参照 68 の Text-Figure 1 と 2 をみますと、最高用量投与群のみ体重が低くなっています  
おり、その旨を評価書案にも記載しております。

また、この臓器重量に関する記載は、参照 68 には以下のように記載されています。

<sup>18</sup> 試験の用量が飼料への添加濃度で記載されており、体重 1kg 当たりの BHA 摂取量が不明であるこ  
とから、参考資料とした。

A significant decrease in the absolute brain weight of males given BHA and increases in the relative weights of the salivary glands and heart of females given BHA were observed, and these changes were dose related.

【吉田専門委員コメント】

体重低下で臓器の相対重量が上がる所以、雌の変化はそれによる2次的影響かと思われますが、脳重量の絶対重量まで下がることはあまりないと思われます。いずれも元のデータで確認できないのであれば、このままの記載で結構です。

1 投与群において、慢性間質性腎炎の用量依存性の増加がみられた。(表 22)  
2 前胃以外の器官における腫瘍発生頻度は、BHA 投与によって増加しなかった。  
3 投与群の前胃に過形成、乳頭腫及び扁平上皮癌がみられ、その発生頻度は有意に増加  
4 した(表 22)。扁平上皮癌の初発は 2%投与群の雄及び雌でそれぞれ 59、82 週目に確  
5 認された。また、2%投与群の雄 2 例及び雌 1 例でリンパ節への転移が、2%投与群の雌  
6 1 例で肝臓への~~転移浸潤病巣~~がみられた。扁平上皮癌では高分化型と低分化型がみられ  
7 た。~~高分化型は異型性核を伴った角化及び多くの有糸分裂像を示した。~~ 中山専門委  
8 員修文 (参照 3、23、67、68) [EFSA 2011, 3.2.4.1 の 1 段落目] [FAS 24, p5 の 2 段落  
9 目] [Jpn J Cancer Res 1982] [JNCI 1983] (Ito et al., 1982) (Ito et al., 1983)

10 【吉田専門委員コメント】

11 2%投与群の雌 1 例でみられて「肝臓の浸潤病巣」は転移でしょうか。

12 【事務局より】

13 参照 68 の表 2 に肝臓への転移である旨が記載されていましたので、「転移」に修正  
14 しました。

15 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%以上投与群に慢性間質性腎炎及び  
16 前胃の過形成がみられたことから、本試験における LOAEL を飼料添加濃度として  
17 0.5% (BHA として 98 mg/kg 体重/日相当) と判断した。また、BHA は、本試験にお  
18 いてラットの前胃に対して発がん性を有すると判断した。

19 表 22 ラットを用いた 104 週間慢性毒性及び発がん性試験における前胃に病変がみら  
れた動物数

添加量 (%)	性 別	BHA 摂取量 (mg/kg 体重/日)	生存動 物数 <sup>a</sup>	前胃の病変			間質性 腎炎
				過形成	乳頭腫	扁平上皮癌	
0	雄	0	51	0	0	0	33
	雌	0	51	0	0	0	21
0.5	雄	98	50	13 (26.0) <sup>c</sup>	1 (2.0)	0	42 <sup>d</sup>
	雌	108	51	10 (19.6) <sup>b</sup>	1 (2.0)	0	30
2	雄	414	52	52 (100) <sup>c</sup>	52 (100) <sup>c</sup>	18 (34.6) <sup>c</sup>	46 <sup>b</sup>

	雌	474	51	50 (98.0) <sup>c</sup>	49 (96.1) <sup>c</sup>	15 (29.4) <sup>c</sup>	48 <sup>c</sup>
--	---	-----	----	------------------------	------------------------	------------------------	-----------------

括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

a : 投与 41 週以降の生存動物数

b : 対照群と有意差あり (p<0.01)

c : 対照群と有意差あり (p<0.001)

d : 対照群と有意差あり (p<0.05)

### (5) 104 週間発がん性試験 (ラット) 1986 年

ラット (F344 系、雄 50 匹/群) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、0.125、0.25、0.5、1 又は 2%(0、54.8、109.6、230.4、427.6 又は 1,322.6 mg/kg 体重/日相当)) し、発がん性試験が実施された。

その結果、投与に関連した臨床所見はみられなかった。

投与群の体重増加量に用量依存性の低下がみられた。摂餌量及び生存率に投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査において、前胃に過形成、乳頭腫及び扁平上皮癌がみられ、増殖性及び腫瘍病変の発生頻度に用量依存性がみられた (表 23)。また、前胃以外にも良性又は悪性の腫瘍がみられたが、対照群と投与群間で発生頻度は有意な差はみられなかつた。(参照 3、69) [EFSA 2011, 3.2.4.1(p23 の一番下の段落)] [JNCI 1986] (Ito et al., 1986a)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.25%以上投与群において前胃の過形成がみられたことから、本試験における NOAEL を飼料添加濃度として 0.125% (BHA として 54.8 mg/kg 体重/日相当) と判断した。また、BHA は本試験においてラットの前胃に対して発がん性を有すると判断した。

表 23 ラットを用いた 104 週間慢性毒性及び発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	50	0	0	0
0.125	50	1 (2) <sup>b</sup>	0	0
0.25	50	7 (14) <sup>b</sup>	0	0
0.5	50	16 (32) <sup>c</sup>	0	0
1.0	50	44 (88) <sup>c</sup>	10 (20) <sup>b</sup>	0
2.0	50	50 (100) <sup>c</sup>	50 (100) <sup>c</sup>	11 (22) <sup>c</sup>

括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

a : 投与 50 週以降の生存動物数

b : 対照群と有意差あり (p<0.01)

c : 対照群と有意差あり (p<0.001)

### (6) 104 週間発がん性試験 (ラット) 1986 年

ラット (F344 系、雄、匹数不明) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、1 又は 2%(0、

約 500 又は 1,000 mg/kg 体重/日相当<sup>19)</sup> し、発がん性試験が実施された。

対照群、1 及び 2%投与群の投与 96 週以降の生存動物のうち前胃に病変がみられた動物数を表 24 に示した。2%投与群では扁平上皮癌の発生もみられた。(参照 3、65)

[EFSA 2011, 3.2.4.1(p24 の 2 段落目] [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986b)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1%以上投与群の前胃に乳頭腫がみられたことから、本試験における LOAEL を飼料添加濃度として 1% (BHA として約 500 mg/kg 体重/日) と判断した。また、BHA は、本試験においてラットの前胃に対して発がん性があると判断した。

表 24 ラットを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	23	0	0	0
1	25	24 (96) <sup>b</sup>	21 (84) <sup>b</sup>	0
2	26	26 (100) <sup>b</sup>	26 (100) <sup>b</sup>	9 (35) <sup>c</sup>

括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

a : 投与 96 週以降の生存動物数

b : 対照群と有意差あり (p<0.001)

c : 対照群と有意差あり (p<0.01)

#### (7) 104 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料<sup>20)</sup> 1986 年

ラット (F344 系、雄 150 匹/群) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、1 又は 2%) し、発がん性試験が実施された。投与開始 8 週後以降 8 週毎に各群 10 匹を、104 週後には各群 30 匹を検査した。吉田専門委員修文

前胃の過形成は、投与 8 週目からの両投与群で観察され、2%投与群では投与 16 週以降、1%投与群では投与 40 週以降、ほぼ全ての動物でみられた。

乳頭腫は、2% BHA 投与群では 8 週で初発 (発生頻度 20%) し、その後次第に増加し、32 週ではほぼ全動物でみられた。1% BHA 投与群では、48 週まではみられなかつたが、56 週に 90% の発生頻度であり、その後 104 週まで 80~90% で推移した。

扁平上皮癌は、2%BHA 投与群のみにみられ、48 週で 1 例、80 週で 1 例みられ 96 週以降増加した。104 週で確認された扁平上皮癌 1 例は、低分化型で漿膜まで浸潤がみられたが、本例以外は高分化型で、粘膜下織又は粘膜筋層への浸潤がみられた。

投与開始 48 週以降に前胃に病変がみられた動物数を表 25 に示した。いずれの動物においても、腺胃の病変はみられなかった。(参照 23、66) [FAS 24, p4 一番下の段落] [Jpn J Cancer Res 1986] (Masui et al., 1986b)

<sup>19</sup> 参照 3 に記載されている体重 1kg 当たりの用量

<sup>20</sup> 試験の用量が飼料への添加濃度で記載されており、体重 1kg 当たりの BHA 摂取量が不明であることから、参考資料とした。

1 表 25 ラットを用いた 104 週間発がん性試験における前胃病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変がみられた動物数		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	92	1 (1.1)	0	0
1	94	92 (97.9) <sup>b</sup>	71 (75.5) <sup>b</sup>	0
2	94	93 (98.9) <sup>b</sup>	86 (91.5) <sup>b</sup>	13 (13.8) <sup>b</sup>

2 括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

3 a : 癌が最初にみられた投与 48 週以降の生存動物数

4 b : 対照群と有意差あり (p&lt;0.001)

5

6 (8) 104 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料<sup>21</sup>> 1997 年7 ラット (F344 系、雄 30 又は 31 匹/群) に BHA を 104 週間混餌投与 (0 又は 0.4%(0  
8 又は約 200 mg/kg 体重/日相当<sup>22</sup>) し、発がん性試験が実施された。9 投与群の体重は、対照群と比較して有意に減少した。投与群の肝臓及び腎臓の相対重  
10 量も対照群と比較して減少した。11 投与群の前胃及び腺胃に過形成、乳頭腫、腺腫及び癌の発生はみられなかった。また、  
12 食道、肝臓及び腎臓における腫瘍の発生頻度にも有意な変化はなかった (参照 3、70)

13 [EFSA 2011, 3.2.4.1(p25 の一番下の段落) [Carcinogenesis 1997] (Hirose et al., 1997)

14

15 (9) 104 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料<sup>23</sup>> 1998 年16 ラット (F344 系、SHR 系、SD 系及び Lewis 系、雄 30 匹/群) に BHA を 104 週間  
17 混餌投与 (0 又は 2%) し、発がん性試験が実施された。

18 各系統の投与群の体重は、それぞれの対照群より有意に低かった。

19 前胃に病変がみられた動物数を表 26 に示した。扁平上皮癌の発生頻度は系統によつ  
20 て異なっていた。(参照 3、74) [EFSA 2011, 3.2.4.1(p26 の 2 段落目) [Food Chem  
21 Toxicol 1998](Tamano et al., 1998)

22

## 23 表 26 ラットを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

系統	BHA 投与	生存動物数 <sup>a</sup>	BHA 摂取量 (mg/kg 体重/日)	前胃の病変		
				扁平上皮癌	乳頭腫	肉腫
F344 系	+	30	974	8 (26.7) <sup>b</sup>	30 (100)	1 (3.5)
	-	30	0	0	1 (3.3)	0
SHR 系	+	30	1,375	23 (76.7) <sup>c</sup>	30 (100)	1 (3.3)
	-	29	0	0	0	0
SD 系	+	30	956	11 (36.7) <sup>c</sup>	30 (100)	2 (2.7)
	-	30	0	0	0	0
Lewis	+	30	1,041	2 (6.7)	30 (100)	0

21 一用量の試験であることから、参考資料とした。

22 参照 3 に記載されている体重 1kg 当たりの用量

23 一用量の試験であることから、参考資料とした。

系	一	30	0	0	0	0
---	---	----	---	---	---	---

括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

a : 投与 40 週以降の生存動物数

b : 対照群と有意差あり ( $p<0.01$ )

c : 対照群と有意差あり ( $p<0.001$ )

#### (10) 104 週間発がん性試験 (ハムスター) [1986 年]

ハムスター (シリアンゴールデン系、雄、匹数不明) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、1、2%(0、約 1,200 又は 2,400 mg/kg 体重/日相当<sup>24</sup>) し、発がん性試験が実施された。

対照群、1 及び 2%投与群の投与 96 週以降の生存動物のうち前胃に病変がみられた動物数を表 27 に示した。1%投与群の 1 例に扁平上皮癌がみられたが、2%投与群にはみられなかった。(参照 3、65) [EFSA 2011, 3.2.4.2 の 1 段落目] [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986b)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1%投与群の前胃に過形成及び乳頭腫がみられたことから、本試験における LOAEL を飼料添加濃度として 1% (BHA として約 1,200 mg/kg 体重/日相当) と判断した。また、BHA は、本試験においてハムスターの前胃に対して発がん性を有すがあると判断した。

表 27 ハムスターを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	12	5 (42)	2 (17)	0
1	13	11 (85) <sup>b</sup>	12 (92) <sup>c</sup>	1 (8)
2	4	3 (75)	4 (100) <sup>d</sup>	0

括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

a : 投与 96 週以降の生存動物数

b : 対照群と有意差あり ( $p<0.05$ )

c : 対照群と有意差あり ( $p<0.001$ )

d : 対照群と有意差あり ( $p<0.01$ )

#### (11) 104 週間発がん性試験 (ハムスター) <参考資料<sup>25</sup>> [1986 年]

ハムスター (シリアンゴールデン系、雄 150 匹/群) に BHA を 104 週間混餌投与 (0、1 又は 2%) し、発がん性試験が実施された。投与開始 8 週後以降 8 週間毎に各群 10 匹を、104 週後に各群 30 匹を検査した。しかし、2%投与群は 56 週以降生存動物が減少したため、69 週と 104 週に検査した。吉田専門委員修文

その結果、前胃の過形成は投与 8 週～104 週の間に両投与群の全動物に観察された。対照群においても 56 週まではみられなかったが、56～80 週の間に 10%の動物に観察

<sup>24</sup> 参照 3 に記載されている体重 1 kg 当たりの用量

<sup>25</sup> 体重 1 kg 当たりの BHA 摂取量が不明であることから、参考資料とした。

1 された。

2 乳頭腫は、2%投与群では 8 週目からみられ、48 及び 56 週以外は全動物にみられた。  
3 1%投与群でも 8 週目から乳頭腫がみられ、32 週以降はほぼ全動物にみられた。これら  
4 の乳頭腫については、角化亢進及び粘膜下層への腫瘍の下方成長が高頻度に観察され  
5 た。

6 扁平上皮癌は 64 週目から両投与群でみられた。扁平上皮癌は高分化型であり、肝臓  
7 への浸潤が 1 例でみられた。

8 【吉田専門委員コメント】

「肝臓への浸潤」は「転移」でしょうか？

【事務局より】

参照 66 では、「Histologically, these carcinomas were all well differentiated, and direct invasion of the liver was seen in one case.」と記載されています。

「転移」に修文したほうがよろしいでしょうか？

【吉田専門委員コメント】

原案でよいようですが、当日、病理の先生方の確認をお願いできればと思います。

9  
10 投与開始 64 週以降に前胃に病変がみられた動物数を表 28 に示した。両投与群の過  
11 形成、乳頭腫及び扁平上皮癌の発生頻度は対照群と比較して有意に増加した。いずれの  
12 動物においても、腺胃の病変はみられなかった。（参照 23、66）[FAS 24, p7 の 4 段  
13 落目] [Jpn J Cancer Res 1986] (Masui 1986b)

14  
15 表 28 ハムスターを用いた 104 週間発がん性試験における前胃に病変がみられた動  
16 物数

添加量 (%)	生存動物数 <sup>a</sup>	前胃の病変		
		過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
0	52	9 (17.3)	0	0
1	55	53 (96.4) <sup>b</sup>	54 (98.2) <sup>b</sup>	4 (7.3) <sup>c</sup>
2	40	40 (100) <sup>b</sup>	38 (95.0) <sup>b</sup>	4 (10.0) <sup>c</sup>

17 括弧内の数値は、生存動物数に占める前胃の病変がみられた動物数の割合(%)

18 a : 癌が最初にみられた投与 64 週以降の生存動物数

19 b : 対照群と有意差あり (p<0.001)

20 c : 対照群と有意差あり (p<0.05)

21  
22 (12) TBHQ に関する慢性毒性及び発がん性試験

23 ①104 週間慢性毒性及び発がん性試験（マウス） 1995 年

24 マウス (B6C3F<sub>1</sub> 系、雌雄各 60 匹/群) に TBHQ を 104 週間混餌投与 (0、1,250、  
25 2,500 又は 5,000 ppm(雄/雌 : 0/0、130/150、290/300 又は 600/680 mg/kg 体重/日相

1 当) し、慢性毒性試験及び発がん性試験が実施された。投与開始 15 か月後で雌雄各 6  
2 ~10 匹/群を中間検査した。

3 各投与群の生存率は、対照群と同等であった。

4 摂餌量は投与群と対照群で差がなかったが、5,000 ppm 投与群の体重は対照群と比  
5 較して約 10% 低かった。

6 臨床所見に TBHQ 投与に関連した影響はみられなかった。

7 中間検査の血液学的検査において 5,000 ppm 投与群の雄で網状赤血球 RBC が対照  
8 群より有意に高値であったこと以外は、血液学的検査に異常はみられなかった。

9 中間検査における肝臓の絶対重量は、全投与群の雌雄で対照群より高値であったが、  
10 5,000 ppm 投与群の雌の相対重量のみが対照群と有意な差がみられた。他の臓器重量  
11 に影響はみられなかった。

12 中間検査では、腫瘍及び非腫瘍病巣の発生頻度に投与に関連した影響はみられなか  
13 った。

14 投与終了時では、5,000 ppm 投与群の雄で肝細胞腺腫及び肝細胞腺腫・癌(複合) の  
15 発生頻度が有意に低かった。雌でも同様の傾向がみられたが、統計学的な有意な差では  
16 なかった。

17 投与終了時の 1,250 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫及び肝細胞腺腫・癌(複合) の発  
18 生頻度が有意に高かったが、肝細胞腺腫・癌(複合) の発生頻度は過去の対照群のデー  
19 タ範囲内であり、投与による影響ではないと考えられた。

#### 【吉田専門委員コメント】

(肝細胞腺腫・癌(複合) の「複合」について) 腺腫と癌の合計の意味でしょうか。

#### 【事務局より】

参照 10 に以下のように記載されていたので、「肝細胞腺腫・癌(複合)」と記載し  
ました。

At the end of the study, females in the 1250 ppm group had significantly higher  
incidences of hepatocellular adenomas and hepatocellular adenomas or carcinomas  
(combined).

#### 【吉田専門委員コメント】

足し算した発生頻度と思われますので、合計のほうがわかりやすいのではないか  
でしょうか。

投与群の雌では、甲状腺の濾胞細胞腺腫の発生頻度が対照群より高値(対照群、1,250、  
2,500 及び 5,000 投与群 : 1/51、3/51、2/50、5/54) であったが、その発生頻度の差は  
統計学的に有意でなく、米国国家毒性プログラム(National Toxicology Program) の  
2 年間 NTP 混餌投与試験の過去の対照群のデータ範囲内(0~9%) であった。投与群  
の雌の甲状腺の濾胞細胞の過形成の発生頻度は、対照群より高値(対照群、1,250、2,500  
及び 5,000 ppm 投与群 : 12/51、19/51、24/50、24/54) であったが、重篤度は対照群と

1 同様であった。過形成病変は中間検査ではみられなかった。

2 本試験において、発がん性はみられなかった。

3 JECFA は、甲状腺の濾胞細胞の過形成はotoxicological 意義があるとし、本試験における  
4 LOEL を 150 mg/kg 体重/日と判断した。また、本試験において発がん性はないと判断  
5 した。(参照 10、18) [EFSA 2004, p16-17] [FAS 40, 2.2.3.1、p20 の上から 4 段落目]  
6 (NTP 1995)

7

8 ②20 か月間慢性毒性及び発がん性試験（ラット） 1968 年

9 ラット（系統不明(アルビノ)、雌雄各 55 匹/群）に TBHQ を 20 か月間混餌投与（0、  
10 0.016、0.05、0.16 又は 0.5 %）し、慢性毒性試験が実施された。

11 投与開始 6 か月及び 12 か月後に、雌雄各 10 匹/群を検査し、20 か月後に残りの動  
12 物を検査した。

13 試験期間中、死亡率は対照群及び投与群で同程度であり、また臨床所見に異常はみら  
14 れなかった。

15 成長率、摂餌量、飼料効率、尿検査並びに血液学的及び血液生化学的検査について、  
16 投与群と対照群で同様であった。

17 臓器重量について、投与終了時の 0.05 及び 0.16% 投与群の雄において脾臓及び脳の  
18 絶対重量が減少したが、相対重量には統計学的な有意な違いはみられなかった。

19 TBHQ の投与に関連した肉眼的及び病理組織学的变化はみられなかった。(参照 10、  
20 18) [EFSA 2004, p14～15] [FAS 40, 2.2.3.1、p20 の上から 4 段落目] (Terhaar et al.,  
21 1968)

22

23 ③30 か月間慢性毒性及び発がん性試験（ラット） 1995 年

24 ラット（F344/N 系、雌 60 匹/群；F<sub>0</sub> 世代）に TBHQ を雄との交配 2 週間前から F<sub>1</sub>  
25 児動物の離乳まで混餌投与（0、1,250、2,500 又は 5,000 ppm）し、離乳後の F<sub>1</sub> 動物  
26 （雌雄各 68～70 匹/群）に母動物の添加濃度と同一濃度の TBHQ を 30 か月間又は投  
27 与群の生存率が 20% 未満になるまでの期間、混餌投与（0、1,250、2,500 又は 5,000  
28 ppm(雄/雌 : 0/0、50/60、110/120 又は 225/240 mg/kg 体重/日)）し、慢性毒性及び発  
29 がん性試験が実施された。投与開始 3 か月後に雌雄各 10 匹/群を中間検査した。

30 生存率について、5,000 ppm 投与群は対照群よりも高く、雌では統計学的に有意な  
31 差がみられた。

32 摂餌量は対照群及び投与群で同程度であったが、5,000 ppm 投与群の体重が対照群  
33 より約 10% 低かった。

34 TBHQ 投与に関連した臨床所見として、全投与群で被毛の変色がみられた。

35 中間検査では血液学的検査に投与の影響はみられず、また腫瘍もみられなかった。脾  
36 臓のヘモジデリン沈着の発生頻度は雌では用量相關的に増加（対照群、1,250、2,500 及  
37 び 5,000 ppm : 24/60、27/60、33/57、41/60 例）したが、5,000 ppm 投与群のみが対  
38 照群と有意な差がみられており、雄ではヘモジデリン沈着はみられなかった。中間検査  
39 では、他に病理組織学的検査に異常はみられなかった。

40 投与終了時の検査では、5,000 ppm 投与群の雄で肝細胞癌（2/60 例(3%)）がみられ

たが、他の投与群ではみられなかった。この発生頻度は、統計学的に有意な差はみられず、文献上の過去のデータ範囲内（0～6%）であったことから、偶発的な所見と考えられた。肝細胞腺腫又は変異細胞奕性病巣の発生頻度にはTBHQ 投与の影響はみられなかつた。吉田専門委員修文

2,500 ppm 以上投与群の雄で両側の精巣に間質細胞腫瘍の発生頻度の増加がみられたが、文献上の過去のデータ範囲内であり、統計学的に有意差はみられなかつた。

吉田専門委員修文

甲状腺の C 細胞（濾胞傍細胞）及び濾胞細胞腺腫の発生頻度に対照群と投与群で同程度であった。対照群ではみられなかつた C 細胞癌及び濾胞細胞癌が 5,000 ppm 投与群の雄でみられた（それぞれ 2/60 及び 3/60 例）が、統計学的に有意な差ではなかつた。雌では甲状腺腺腫及び癌の発生頻度は対照群及び投与群で同様であった。甲状腺の過形成は対照群及び投与群でみられなかつた。文献上の C 細胞癌及び濾胞細胞癌の発生頻度は、それぞれ 0.5%（0～2%）及び 3.8%（0～12%）と報告されており、5,000 ppm 投与群における発生頻度が低いこと及び前がん病巣がみられないことから、5,000 ppm 投与群の雄でみられた C 細胞癌及び濾胞細胞癌は TBHQ 投与と関連性はないと考えられた。

TBHQ の投与と関連して、雄の下垂体前葉末端部の腺腫、雌の副腎皮質腺腫、雌雄の乳腺線維腺腫、雌の乳腺線維腺腫、腺腫又は癌腫（複合）の発生頻度の低下がみられた。これら<sub>19</sub>の腫瘍発生頻度の低下は体重減少と関連していると推察された。吉田専門委員修文

胆管の過形成は、雌では 5,000 ppm 投与群のみが対照群より高頻度にみられたが、雄では用量に依存して発生頻度の低下がみられた。肝細胞の細胞質空胞化の発生頻度は、雌では用量に依存性の低下がみられたが、雄では差がみられなかつた。

雄の腎臓では、囊腫（対照群、1,250、2,500 及び 5,000 ppm : 2/60、3/60、7/58、11/60 例）及び化膿性炎症（対照群、1,250、2,500 及び 5,000 ppm : 9/60、8/60、9/58、20/60 例）の発生頻度が増加した。雌の腎臓では、慢性腎炎の発生頻度が増加した（対照群、1,250、2,500 及び 5,000 ppm : 1/60、1/60、3/57、5/60 例）が、化膿性炎症の発生頻度には変化がみられなかつた。

JECFA は、5,000 ppm 投与群の雄における腎臓の囊腫及び化膿性炎症並びに雌における脾臓のヘモジデリン沈着の発生頻度の増加が毒性学的に意義のある影響と判断し、本試験における NOEL を 2,500 ppm (110 mg/kg 体重/日) と判断した。また、本試験において発がん性はないと判断した。（参照 10、18） [EFSA 2004, p15-16] [FAS 40, 2.2.3.2、p20 の上から 4 段落目] (NTP 1995)

#### ④117 週間慢性毒性試験（イヌ） 1968 年

イヌ（ビーグル種、雌雄各 4 又は 6 匹/群）に TBHQ を 1 日 1 時間、1 週 6 日の自由採餌で 117 週間混餌投与（0、500、1,580 又は 5,000 ppm(雄/雌 : 0/0、21/22、72/73 又は 260/220 mg/kg 体重/日相当)）し、慢性毒性試験が実施された。網状赤血球 RBC の増加が 104 週目にも認められたことから、観察を継続するために試験期間が 117 週まで延長された。投与開始 1 年後に雌雄各 1 匹/群を検査した。

試験期間中に死亡例はなく、一般状態、行動及び理学的検査に投与の影響はみられなかった。体重は、5,000 ppm 投与群の雌雄で対照群より低い傾向がみられたが、統計学的に有意な差はみられなかった。

摂餌量、血液生化学的及び尿検査に投与による影響はみられなかった。

血液学的検査において、5,000 ppm 投与群の雄の Hb が 52、104 及び 112 週で、同群の雌では 26 週と 112 週で対照群に比べて有意に低値であった。Ht は 5,000 ppm 投与群の雄の 52、104 及び 112 週で対照群より有意に低値であり、同群の雌の 52、78 及び 112 週でも低値であったが、統計学的に有意な差はみられなかった。網状赤血球 RBC (%) は、TBHQ 投与群の雌雄の 99、104/105 及び 112 週で高い傾向がみられたが、用量相関性がなく、統計学的検定が示されなかった。RBC は、112 週の結果のみであるが、5,000 ppm 投与群の雌雄で対照群より有意に低値であった。

末梢血塗抹標本では、TBHQ 投与群で正赤芽球及び赤血球の好塩基性化 (erythrocyte basophilia) RBC の出現頻度の増加がみられた。正赤芽球は、雄では 1,580 及び 5,000 ppm 投与群で各 1 例、雌では 500、1,580 及び 5,000 ppm 投与群でそれぞれ 1、2 及び 1 例であった。赤血球の好塩基性化 RBC は、雄では 5,000 ppm 投与群で 1 例、雌では 1,580 及び 5,000 ppm 投与群でそれぞれ 1 及び 2 例であった。

#### 【吉田専門委員コメント】

(好塩基性 RBC について)

赤血球の多染性のことだと思いますが、原文に準じて「赤血球の好塩基性化 (erythrocyte basophilia)」とされるとよいと思います。ただ、網赤血球の増加と同じ意味合いで（幼弱な赤血球が増加している）ので、削除しても大丈夫です。

臓器重量では、肝臓の絶対及び相対重量が 5,000 ppm 投与群の雌雄で対照群より高い傾向がみられたが、雄の相対重量のみ有意な差がみられた。TBHQ 投与群の雄の精巣の相対重量は有意な増加傾向を示したが、5,000 ppm 投与群では対照群と有意な差がみられなかった。腎臓の相対重量は TBHQ 投与群の雌で高い傾向がみられたが、1,580 ppm 投与群のみ有意に高かった。他の臓器の重量には、投与に関連した影響はみられなかった。

肉眼的及び病理組織学的検査では、投与に関連した変化はみられなかった。投与群の肝臓及び腎臓の電子顕微鏡検査において、細胞構造の異常はみられなかった。投与群の肝細胞で小胞体増加はみられなかった。臓器重量は過去のデータ範囲内であること、及び臓器重量の変化は病理組織学的所見を伴っていないことから、体重の変動を反映したものにすぎない可能性がある。

JECFA は、5,000 ppm 投与群の Hb 及び Ht の減少、RBC の減少に基づき、本試験における NOEL を 72 mg/kg 体重/日と判断した。（参照 10、18） [EFSA 2004, p19] [FAS 40, 2.2.3.3、p20 の上から 5 段落目]

1      7. 生殖発生毒性試験

2      (1) 生殖毒性試験（ラット） 1979、1981年

3      ラット（SD系、雌雄、匹数不明）にBHAを混餌投与（0、0.125、0.25又は0.5%）  
4      し、生殖毒性試験が実施された。親動物には交配前及び交配期間の2週間投与した。  
5      さらに、雌ラットには妊娠期間から児動物の離乳まで、児動物には試験終了まで  
6      BHAを投与した。児動物の中から選択した動物について、生後21日に脳のニューロン数測定、また90日に眼の大きさ及び脳の部位別重量の測定及び体性運動野の組織学的検査を実施した。

9      交配前及び交配期間中、妊娠期間中及び哺育期間中の各期間のBHA投与量は、  
10     0.125%投与群で110、100及び220mg/kg体重/日、0.25%投与群で220、210及び  
11     420mg/kg体重/日、0.5%投与群でそれぞれ420、410及び800mg/kg体重/日に相  
12     当した。児動物の行動試験は3～90日齢の間に標準的なバッテリーテストが実施さ  
13     れた。

14     その結果、生殖に関するパラメーターへの影響は認められず、母動物の体重変化も  
15     みられなかった。

16     児動物では、離乳前最終週で発育抑制がみられた。

17     生後30日までの離乳時死亡率は、生後30日の生存児数を基にして0.5%投与群で  
18     は13.5%と増加し、0.25%投与群では8.3%と僅かに増加した。0.5%投与群の児動物  
19     の離乳前体重に有意な減少がみられ、これは離乳後の生後42日まで持続したが、  
20     0.25%投与群の児動物の体重は対照群より高値であった。生後90日の体重において  
21     は、投与に関連する有意な影響はみられなかった。行動試験では驚愕反射の遅延が  
22     0.25%以上投与群でみられた。眼の大きさ、脳の部位別重量又は脳組織構造に投与に  
23     関連する影響はみられなかった。

24     ANSパネルは、本試験における生殖発生毒性に対するNOAELを飼料中BHA濃度として0.125%（BHAとして少なくとも100mg/kg体重/日相当）と判断した。（参考  
25     3、25） [EFSA 2011, 3.2.5.1] [FAS 15, p5の一番下の試験] (Vorhees et al., 1979)  
26     (Vorhees et al., 1981)

27     食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、母動物に対する毒性がみられなかったことから、本試験における母動物に対するNOAELを飼料中BHA濃度として0.5%（BHAとして410mg/kg体重/日相当）と判断した。0.25%投与群の児動物において死亡率の増加及び驚愕反射の低下がみられたことから、児動物に対するNOAELを飼料中BHA濃度として0.125%（BHAとして100mg/kg体重/日相当）と判断した。

35      (2) 3世代生殖毒性試験（ラット）<参考資料<sup>26</sup>> 1962年

36     ラット（系統及び匹数不明）にBHAを1年間混餌投与（0又は500～600mg/kg体重/日、LD<sub>50</sub>の1/5量に相当）し、3世代生殖発生毒性試験を実施した。F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代に6か月間混餌投与した。BHAは、同腹児数、出生児体重、切歯萌出日及び眼瞼開

<sup>26</sup> 用量の詳細が不明であることから、参考資料とした。

1 裂日への影響はみられなかった。試験終了時の親動物及び児動物の剖検及び病理組織  
2 学的検査では、投与による影響はみられなかった。(参照 25) [FAS 15, p9 の一番下  
3 の段落] (Karpelyuk, 1962)

4

5 (3) 児動物の一般行動試験 (マウス) <参考資料<sup>27</sup>> 1974 年

6 タイトルについて

7 【桑形専門委員修文案】 児動物の一般行動への影響試験

8 【小林専門委員修文案】 児動物の一般行動機能試験

9

10 マウス (Swiss Webster 系、雌雄、匹数不明) に BHA を混餌投与 (0 又は 0.5% (0  
11 又は 750 mg/kg 体重/日相当)) し、試験が実施された。出産時に同腹児数を 8 匹に  
12 調整し、21 日齢で離乳させた。離乳した児動物には母動物と同様に継続して給餌し  
13 た。児動物が 6 週齢から行動試験を実施した。

14 その結果、帰巣反応 (orientation reflex)、睡眠時間の減少、身づくろいの低下、  
15 学習能力の低下及び探索行動の亢進が認められた。(参照 3) [EFSA 2011, 3.2.5.2]  
(Stokes and Schudder, 1974)

16 (4) 発生毒性試験 (ウサギ) 1978 年

17 ウサギ (ニュージーランド白色種、雌、匹数不明) に BHA を妊娠 7~18 日に強制  
18 経口投与 (0、50、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。  
妊娠 28 日に帝王切開した。

19 その結果、観察項目 (体重、内臓及び骨格異常発現率、生存胎児数及び死亡胎児数、  
20 黄体数及び着床数、一般的な生殖パラメーター) に投与による影響はみられなかっ  
21 た。

22 ANS パネルは、本試験における発生毒性に対する NOAEL を 400 mg/kg 体重/日  
23 と判断した。(参照 3、25) [EFSA 2011, 3.2.5.3] [FAS 15, p5 の下から 2 段落目]  
(Hansen and Meyer, 1978)

24 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験において投与による影響がみら  
25 れなかつたことから、母動物及び胎児毒性に対する NOAEL を 400 mg/kg 体重/日  
26 と判断した。催奇形性はみられなかつた。

27 (5) 発生毒性試験 (豚) <参考資料<sup>28</sup>> 1982 年

28 豚 (品種不明、雌 10 頭/群) に BHA を人工授精の 3 週間前から妊娠 110 日まで混  
餌投与 (0、50、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠  
110 日に帝王切開した。

29 摂餌量に影響はみられなかつた。400 mg/kg 体重/日投与群の母動物の体重が、対

27 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

28 胎児の観察項目がなく、胎児に対する NOAEL 及び催奇形性を判断できないことから、参考資料とした。

照群に比べて著しい影響がみられた。

肝臓と甲状腺の絶対及び相対重量が用量依存性に増加し、全 BHA 投与群は対照群より有意に高値であった。

生殖及び発生毒性に関するパラメーターに BHA の影響はみられなかった。

ANS パネルは、本試験における母動物毒性に対する NOAEL を 200 mg/kg 体重/日、発生毒性に対する NOAEL を 400 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 3) [EFSA 2011, 3.2.5.4] (Hansen et al., 1982)

#### (6) 発生毒性試験（サル）<参考資料<sup>29</sup>> 1976 年

サル(アカゲザル、雌 6 頭/群)に BHA 及びジブチルヒドロキシトルエン(BHT)混合物を混餌投与(BHA/及びBHT:それぞれ 0/0、50/50 mg/kg 体重/日)し、発生毒性試験が実施された。投与は交配前の 1 年間と交配後の 1 年間(妊娠期間 165 日間を含む)に渡って実施された。血液生化学的検査を 1 か月毎に実施し、月経周期の記録は試験期間を通じて行われた。投与開始 1 年後に通常飼料を給与されている雄と交配させた。妊娠 40 日、80 日、120 日及び 160 日、分娩後 30 日及び 60 日に血液検査が実施された。

妊娠に伴う異常はみられず、正常な児動物が分娩された。投与群では 5 頭、対照群では 6 頭の児動物が出生した。児動物の血液検査は出生 1、5、15、30 及び 60 日に実施され、観察は 2 歳まで実施された。3 か月齢で投与及び対照群の各 2 頭の児動物は母動物から隔離され、1 か月間のホームケージ観察に供試された。

試験期間中に母動物及び児動物に一般状態に異常はみられなかった。母動物はその後も正常な児動物を出産した。投与期間中に出生した児動物については、投与に関連しない要因による死亡 1 例を除き、健康であった。3 か月齢でのホームケージ観察において行動異常はみられなかった。

ANS パネルは、本試験における NOAEL を BHA 及び BHT の混合物として 100 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 3) [EFSA 2011, 3.2.5.5] (Allen, 1976)

#### (7) TBHQ に関する生殖発生毒性試験

##### ① 3 世代生殖発生毒性試験（ラット） 1968 年

ラット(SD 系、雌雄各 15 匹/群)に TBHQ を混餌投与(0 又は 0.5%)し、3 世代生殖発生毒性試験が実施された。雌雄を 1 対 1 で交配させ、2 産するまで交配し、第 2 産の離乳児動物から次世代動物を選抜した。F<sub>3b</sub> 胎児は F<sub>2</sub> 母動物が妊娠 19 日の帝王切開によって得た。

各世代の 2 産とも、交配及び妊娠率、出産率及び同腹児数は正常であった。

F<sub>1a</sub> 及び F<sub>2a</sub> の同腹児において、生後から離乳までの死亡数が対照群より多かったが、F<sub>1b</sub> 及び F<sub>2b</sub> 世代にはみられなかった。

F<sub>0</sub> 親動物は、対照群より摂餌量が少なく、体重増加量も低かった。

離乳後の各測定時点における投与群の児動物の体重は、対照群より低かった。

<sup>29</sup> BHA 及び BHT の混合物の投与であり、一用量の試験であることから、参考資料とした。

離乳から離乳 5 週後までの死亡率（総動物数中の死亡数の割合）は、対照群において高かった。F<sub>3b</sub> 親動物の胎児 22 匹に異常所見がみられたが、このうち 13 匹は対照群であった。投与群の 2 匹に軽微な骨格異常がみられた。

投与に関連した病理組織学的所見はみられなかった。（参照 18） [FAS 40, p12, 2.2.4 の 2 つ目の試験] (Terhaar & krasavage, 1968a)

## ②生殖毒性試験（ラット） 1970 年

ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) に TBHQ を交配前 66 日間混餌投与 (0、0.015、0.15 又は 0.5%) し、試験が実施された。

F<sub>0</sub>動物は 2 産するまで交配した。F<sub>1a</sub> 児動物は、継続して添加飼料を投与された。F<sub>1b</sub> 児動物は、生後 10 日まで F<sub>1a</sub> 児動物と同様に処置され、10 日齢で、母動物を無添加飼料を与える組と添加飼料を継続して与える組に分けられた。対照群の母動物及び哺育児については、半数は無添加飼料を与え、残りの半数は 0.5%TBHQ 添加飼料を与えた。生後 5 週齢で児動物は解剖した。

親動物の死亡がみられた（投与開始後 5 日間 : 0.5% 投与群の雄 1 例、対照群 1 例、投与 6 日以降 : 各投与群の雄 1 例、対照群の雌 1 例）が、投与による影響とは考えられなかった。

親動物の摂餌量は、0.5% 投与群で試験開始時に僅かな減少がみられた以外、対照群と同様であった。0.5% 投与群の雄では、対照群より僅かな体重増加抑制がみられた。

性周期、交尾率、妊娠率、妊娠期間、一腹内児数、出生時死亡率、哺育期間中及び離乳後の生存率に投与による影響はみられなかった。

投与群の F<sub>1a</sub> 児動物の同腹児体重は、対照群と同様であった。

対照群において無添加飼料から 0.5%TBHQ 添加飼料に変更した F<sub>1b</sub> の児動物の体重は、無添加飼料群に比較して、離乳後 2 週間までやや低かったが、これは摂餌忌避によるかもしれない。〔参照 18〕 [FAS 40, 2.2.4 の 3 つ目の試験] (Krasavage & Terhaar, 1970)

## ③生殖毒性試験（ラット） 1995 年

ラット (F344/N 系、雌 16 匹) に TBHQ を交配前 2 週間から F<sub>1</sub> 児動物の離乳まで TBHQ を混餌投与 (0、2,500、5,000、10,000、20,000 又は 40,000 mg/kg 飼料 (0、125、250、500、1,000 又は 2,000 mg/kg 体重/日相当)) した。

20,000mg/kg 飼料以上投与群の母動物は出産しなかった。10,000 mg/kg 飼料以下投与群では、妊娠期間、同腹児数、死産児のいる母動物数及び哺育 4 日の児動物体重に投与による影響はみられなかった。

10,000 mg/kg 飼料投与群において児の哺育 4 日生存率と離乳時（生後 28 日）の生存率は、対照群より低かった。

5,000 mg/kg 飼料投与群においても離乳時の児の生存率は対照群より低かったが、有意な差ではなかった。

F<sub>1</sub> 児動物から選抜した児動物を 13 週間亜急性毒性試験に用いた。（参照 18） [FAS

1           40, 2.2.4 の最後の試験] (NTP, 1995)

2

3           ④発生毒性試験 (ラット)    1977 年

4           ラット (SD 系、雌 20 匹/群) に TBHQ を妊娠 6~16 日に混餌投与 (0, 0.125、  
5           0.25 又は 0.5%) し、発生毒性試験が実施された。交配及び妊娠 6~16 日以外の期間  
6           には無添加飼料を給餌した。妊娠 20 日に帝王切開した。

7           その結果、各投与群の TBHQ の総投与量は 970、1880 又は 3600 mg/kg 体重とな  
8           ったが、母動物の体重増加及び摂餌量に影響はみられなかった。黄体数、着床数、生  
9           存胎児数、吸収胚数、胎児重量及び死亡率は、投与群と対照群で違いはみられなか  
10          た。全ての群で骨格検査において骨格変異 (過剰肋骨痕跡) がみられたが、その頻度  
11          は投与群よりも対照群で 2 倍高かった。本試験で用いた TBHQ の投与量ではラット  
12          に催奇形性を示さないと結論された。(参照 18) [FAS 40, 2.2.5 の一つ目の試験]  
13          (Krasavage, 1977)

14

15           ⑤*in vitro* の発生毒性に関する試験 1988 年

16           BHA とその代謝物 (TBHQ 及び TBQ) の催奇形性を評価するため、細胞培養法  
17          を用いて試験を実施した。ラット胎児細胞分化試験では、TBQ > TBHQ > BHA の  
18          順で肢芽細胞及び中脳細胞の分化に対して用量相関性の阻害作用を示した。TBQ は  
19          ヒト胚口蓋間葉系細胞増殖試験において最も強い阻害作用を示した。TBHQ の阻害  
20          作用は BHA よりも強いが、TBQ より弱かった。(参照 18) [FAS 40, 2.2.5 の 2 つ  
21          目の試験] (Tsuchiya et al., 1988)

22

23          8. 他の毒性試験

24          (1) 胃に対する BHA の影響に関する試験

25           ①28 日間亜急性毒性試験 (マウス) <参考資料<sup>30</sup>> 1986 年

26           マウス (NMRI 系、雄 10 匹) に BHA を 28 日間強制経口投与 (0 又は 1,000 mg/kg 体  
27          重、落花生油に溶解) した。試験終了時にマウスの前胃に肉眼で病変がみられ、これ  
28          はラットの病変と類似していた。(参照 23, 24) [FAS 24, p2] [FAS 21, p6] (Altmann  
29          et al., 1986)

30

31           ②2 週間亜急性毒性試験 (ラット) 1990 年

32           ラット (Wistar 系、5 週齢、雄 10 匹/群) に BHA を 2 週間混餌投与 (0, 0.25、  
33           0.50, 0.75, 1.0 又は 2.0% (0, 125, 250, 375, 500 又は 1000 mg/kg 体重/日相当))  
34          し、亜急性毒性試験が実施された。BHA 無添加の対照群の他に、2% 投与群と同量の  
35          対照飼料を給餌する群 (Pair-fed control : 制限給餌対照群) を設けた。BHA を投与  
36          した後、DNA 合成の際に DNA に取り込ませるためにチミジン類似体である 5-ブロ  
37          モ-2'-デオキシリジン (BrdU) をラットに腹腔内投与し、免疫組織学的染色によ  
38          て細胞数及び増殖細胞の割合 (標識率 (labelling index)) を測定した。

<sup>30</sup> 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

その結果、各組織における標識率は、2%BHA投与群の前胃、腺胃、小腸、結腸/直腸において無添加対照群及び制限給餌対照群に比べて有意に高く、食道では制限給餌対照群より有意に高いが、無添加対照群とは有意な差はみられなかった。前胃に加えて、食道、腺胃、小腸、結腸/直腸も BHA の細胞増殖増強効果の標的組織になりうることが示唆された。実験終了時の血漿中の BHA 濃度は投与量に依存して増加していた。(参照3) [EFSA 2011, 3.2.2.1のNew studies] (Verhagen et al., 1990)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、2%投与群の前胃、腺胃、小腸、結腸/直腸に標識率の増加がみられたことから、本試験における NOAEL を飼料添加濃度として 1.0% (500 mg/kg 体重/日相当) と判断した。

### ③9 及び 27 日間亜急性毒性試験（ラット） 1986 年

ラット (F344系、雄5匹/群) にBHAを9又は27日間混餌投与 (0、0.1、0.25、0.5、1又は2%(0、50、125、250又は1,000 mg/kg 体重/日相当)、飼料：コーン油、ペレット又は粉末) した。投与後、前胃の扁平上皮の増殖変化を組織学的検査した。また、同じ混餌投与計画によるラット (5~15匹/群) に放射標識チミジンを検査直前に注射し、前胃の扁平上皮の標識体取り込みを調べた。

0.25%以下投与群の9日間投与したラットでは、標識率への影響はみられなかった。病理組織学的には、0.5%以上投与群のみ過形成が観察され、影響がみられた前胃の領域の大きさは用量依存的であった。ペレット飼料による2%投与群では、投与開始9日後に前胃の小彎に沿って粘膜が局所的に4倍に肥厚していた。乳頭突起及び不規則な間隔に並んだ乳頭間隆起、粘膜肥厚及び角化症が観察された。多くの有糸分裂像が正常な基底層でみられた。下層では急性の炎症性細胞浸潤もみられた。投与開始27日後には、肥厚は6倍に拡大し広がっており中山専門委員修文、前胃-胃底腺基底部の結合部隣接部で最も顕著であった。ペレット飼料による2%投与群の投与開始9及び27日後には、標識率は前基底部領域 (pre-fundic region) でおよそ8倍に増加していた。コーン油飼料によるBHA投与群では、投与開始27日後の標識率は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。胃の中間領域では、標識率に対するコーン油又はペレット飼料によるBHA投与の影響は同様 (2倍) であったが、肥厚はコーン油飼料の方が小さかった (コーン油飼料4倍、ペレット飼料9倍)。ペレット飼料又は粉末飼料によるBHAの影響に意義のある違いはみられなかった。

ANSパネル (EFSAの食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネル) は、0.5%以上投与群において前胃に過形成がみられたことから、本試験におけるNOAELを飼料添加濃度として0.25% (125 mg/kg 体重/日相当) と判断した。(参考3、23) [EFSA 2011, 3.2.2.1の一つ目の試験、3.2.2.4の次の段落] [FAS 24, p2の一番下の段落] (Clayson et al; 1986)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%以上投与群において前胃に過形成等の病変がみられたことから、本試験におけるNOAELを飼料添加濃度として0.25% (125 mg/kg 体重/日相当) と判断した。

1      ④4週間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>31</sup>> 1987年

2      ラット(F344系、雄、5匹/群)にBHA(粉末状)を4週間混餌投与(2%(1000mg/kg  
3      体重/日相当))し、亜急性毒性試験が実施された。

4      その結果、体重増加の有意な低下や相対肝重量の有意な増加がみられた。食道開口部  
5      (Oesophageal orifice)付近の前胃基底部領域には重度の過形成がみられた。また、食  
6      道開口部及び前胃との境界縁では、上皮の白色肥厚がみられ、中央領域では斑状の病変  
7      が散見された。(参照3、23) [EFSA 2011, 3.2.2.1 の 3つ目の試験] [FAS 24, p3 の 2  
8      段落目] (Hirose et al., 1987)

10     ⑤4週間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>32</sup>> 1993年

11     ラット(F344系、雄5匹/群)にBHAを4週間混餌投与(0、0.5、1又は2%(0、  
12     350、710又は1,400mg/kg体重/日相当))し、亜急性毒性試験が実施された。実験終了の24時間前に、BrdUを投与するために浸透圧ミニポンプをラットに装着した。前胃における細胞増殖はDNAへ取り込まれたBrdUの免疫組織学的検出によって評価した。切片長1mmあたりの細胞数及び増殖細胞の割合(標識率)を前胃の3か所(盲嚢、中間部位、前基底部領域)について測定した。

17     その結果、前胃における過形成病変の数と大きさの用量依存的な増加及び標識率の  
18     有意な増加が観察された。(参照3) [EFSA 2011, 3.2.2.1 の New studies] (Cantoreggi  
19     et al., 1993)

21     ⑥10週間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>33</sup>> 1962年

22     ラット(系統、性別及び匹数不明)にBHAを10週間混餌投与(0又は500~600mg/kg体重/日(LD<sub>50</sub>の1/5量相当))し、亜急性毒性試験が実施された。

24     その結果、発育速度の低下がみられ、血中酵素、カタラーゼCAT、ペルオキシダーゼ及びコリンエステラーゼの活性の低下がみられた。対照群と比較して、肝臓のリン脂質量の減少がみられたが、脂質の蓄積はみられなかった。組織及び器官の組織学検査では、投与に関連した影響はみられなかった。(参照25) [FAS 15, p8 の 3段落目]  
25     (Karpalyuk, 1962)

30     ⑦3か月間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>34</sup>> 1986年

31     ラット(SD系、雄30匹)にBHAを3か月間混餌投与(1%)し、試験が実施された。投与終了後には、動物の66%に前胃の過形成、乳頭腫が26%、癌が6%にみられた。投与群では、活発なDNA合成をしている前胃の細胞の標識率は対照群の11倍以上であった。

35     別の試験においてBHAを強制経口投与したところ、混餌投与よりも投与の影響が  
36     重度であり、癌が強制経口投与では12/18例に、混餌投与では2/20例にみられた。(参

31 1用量の試験であることから、参考資料とした。

32 試験の詳細が不明なことから、参考資料とした。

33 試験の詳細が不明なことから、参考資料とした。

34 1用量の試験であることから、参考資料とした。

1 照23) [FAS 24, p6の一番下の段落] (Newberne et al., 1986)

2

3 ⑧3か月間亜急性毒性試験（ラット、肝臓の部分切除）<参考資料<sup>35</sup>> 1986年

4 ラット（Wistar系、10匹、肝臓の2/3を部分的切除）にBHAを混餌投与（2%）  
5 したところ、前胃の病変部は有意に速く進行した。癌は3か月後に初めてみられた。  
6 体重増加抑制はみられなかった。肝臓の部分切除をしていない動物の前胃では一部  
7 で過形成がみられたのみであったが、肝臓の部分切除を実施した動物では前胃に腫  
8 瘍がみられ、前胃粘膜は白色で肥厚し、密集した小結節がみられた。また、10例全  
9 てに過形成がみられ、顕著な過角化を伴う乳頭腫もみられた。さらに、半数において  
10 癌がみられた。癌細胞には異型、核異型及び有糸分裂像が認められたが、分化度は高  
11 かった。

12 筋層及び脂肪組織への癌の浸潤もみられた。顆粒球系細胞中山専門委員、吉田  
13 専門委員修文、リンパ球及びマクロファージの粘膜下組織への浸潤もみられた。他の  
14 全ての器官は正常であった。（参照23）[FAS 24, p6 の 3 段落目] (Abraham et al.,  
15 1986)

16

17 ⑨24週間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>36</sup>> 1986、1987年

18 ラット（F344系、雄10匹）にBHAを24週間混餌投与（2%、ペレット飼料）した。  
19 また、別のラット（F344系、雄20匹）に24週間BHA混餌飼料を給餌し、その後BHA  
20 無添加飼料を72週間給餌し、BHAばく露による影響の消失を調べた。

21 24週間投与群の前胃では上皮の肥厚がみられ、特に前胃と腺胃の境界縁において  
22 顕著であった。

23 しかしながら、BHAの24週間投与後に72週間無添加飼料を給餌した動物では境界  
24 縁付近にごく軽度の肥厚がみられた。

25 24週間投与群の前胃には、過形成及び乳頭腫がみられた。これらの変化には、重  
26 層扁平上皮の上方及びしばしば間質での増殖、加えて基底細胞の下方への増殖によ  
27 る上皮脚の伸長がみられた。粘膜固有層及び粘膜下組織には急性の炎症もみられた。

28 投与を終了した動物では、過形成及び乳頭腫は完全に消失したが、基底細胞の下方  
29 増殖は全投与動物において継続していた。検査した動物のうち3例で乳頭腫がみられ  
30 た。この群において炎症、基底細胞の異形成及び癌はみられなかった。（参照23）

31 [FAS 24, p4の1段落目] (Masui et al., 1986a; Ito & Hirose, 1987)

32

33 ⑩32週間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料<sup>37</sup>> 1986年

34 ラット（Wistar系、雄10匹/群）にBHA（粉末）を32週間混餌投与（1又は2%）  
35 し、亜急性毒性試験が実施された。

<sup>35</sup> 供試動物が肝臓を部分切除した動物であることから、一般的な毒性試験と異なることから、参考資料とした。

<sup>36</sup> 1用量の試験であることから、参考資料とした。

<sup>37</sup> 試験の用量が飼料への添加濃度で記載されており、体重1kg当たりのBHA摂取量が不明であることから、参考資料とした。

1 BHA 全投与群に体重増加抑制の他に、前胃粘膜で扁平上皮の肥厚と扁平上皮乳頭  
2 肿がみられた。

3 2%投与群でみられた腫瘍は、前胃の大部分にみられた。これらの病変は絨毛状で  
4 灰白色であった。表面には、壊死を伴う過角化がみられた。本投与群では、乳頭腫の  
5 発生頻度は 100%であった。乳頭腫病変は 4 例（発生頻度 20%）で粘膜下組織へ下方伸長して  
6 いた。

7 1%投与群では、前胃に单一又は複数のポリープ様腫瘍がみられ、乳頭腫の発生頻  
8 度は 40%であった。

9 被験物質の全投与群の腺胃又は十二指腸に病変はみられなかった。（参照23）[FAS  
10 24, p6の2段落目] (Takahashi et al., 1986)

11 【事務局より】

12 前回の専門調査会において、⑨と⑩の試験についてさらなる修文が必要か、原報を取  
13 り寄せて吉田専門委員にご確認いただくことになっておりました。

14 吉田専門委員にご確認いただき、追加の記載はございませんでした。

15 ⑪1～4 週間亜急性毒性試験（ハムスター）<参考資料<sup>38</sup>> [1984 年]

16 ハムスター（シリアンゴールデン系、匹数不明）に BHA (2-BHA、3-BHA 又は  
17 粗精製 BHA(3-BHA 98%、2-BHA 2%)) を 1～4 週間混餌投与（0 又は 1%）したと  
18 ころ、3-BHA 及び粗精製 BHA 投与群の前胃粘膜の過形成が、2-BHA 投与群よりも  
進行しており、重度であった。（参照 24）[FAS 21, p6, Hamsters の 2 つ目の試験]  
(Ito et al., 1984)

19 ⑫1 又は 3 日間並びに 1、2、3、4 又は 16 週間投与試験（ハムスター）<参考資料<sup>39</sup>

20 > [1986 年]

21 ハムスター（シリアンゴールデン系、約 30 匹/群）に BHA を 1 又は 3 日間並びに  
22 1、2、3、4 又は 16 週間混餌投与（1%）し、その後標識指標を確認できるように放  
23 射標識したチミジンを注射し、標識率を測定した。

24 BHA 投与群では体重が減少したが、肝臓の絶対重量は増加した。

25 少なくとも 1 週間投与した動物では、前胃上皮の巢状肥厚が潰瘍とともに又は潰  
26 瘍を伴わずにみられ、時には密なケラチン状灰白色物質で覆われていた。他の器官に  
27 は異常はみられなかった。

28 過形成の重症度は投与期間とともに次第に増した。乳頭腫は投与 4 週から観察され  
29 始めた。好中球浸潤もまた観察された。標識率は観察された病変の重症度に比例して  
30 増加した。（参照23）[FAS 24, p7の2段落目] (Hirose et al., 1986d; Ito et al., 1986b)

38 試験の詳細が不明であり、1 用量の試験であることから、参考資料とした。

39 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

1      ⑬16週間亜急性毒性試験（ハムスター）<参考資料<sup>40</sup>> 1986年

2      ハムスター（シリアルゴールデン系、7週齢、雄26～32匹/群）に2-BHA、3-BHA  
3      又は粗精製BHAを16週間混餌投与（1%（1,200mg/kg体重/日相当））し、亜急性毒性試験が実施された。

5      投与開始1日～16週後（7時点）に3匹ずつ組織学的検査及びオートラジオグラ  
6      フィー検査に供試した。

7      2-BHA投与群では、投与4週以降前胃粘膜に重度の過形成がみられ、投与16週  
8      後に最も重度となり、乳頭腫もみられた。

9      3-BHA及び粗精製BHA投与群では、投与1週以降前胃粘膜に過形成がみられ、  
10     投与4週後に最も重度となり、それ以降病変は軽減した。乳頭腫は投与16週後に最  
11     も重度となった。2-BHA、3-BHA及び粗精製BHAのいずれも過形成及び乳頭腫を  
12     起起するが、3-BHA及び粗精製BHAによる病変には可逆的なものがあること、また粗精製BHAの催腫瘍性は主として3-BHAによるものであった。（参照3）[EFSA  
13     2011, p18, 3.2.2.2] (Hirose et al., 1986b)

16     ⑭20週間亜急性毒性試験（ハムスター）<参考資料<sup>41</sup>> 1986年

17     ハムスター（系統不明、15匹）にBHAを20週間混餌投与（1%）した。そのうち3  
18     匹に放射標識チミジンを注射した。

19     BHA投与群に体重増加の抑制がみられた。白色のケラチン状物質を伴った前胃上  
20     皮の肥厚がみられた。全例で重度の過形成がみられ、60%にさらに乳頭腫の病変もみ  
21     られた。前胃の標識率は対照動物のほぼ3倍であった。他の器官では変化はみられな  
22     かった。（参照23）[FAS 24, p7の3段落目] (Hirose et al., 1986b)

24     ⑮5～6日間亜急性毒性試験（ウサギ）<参考資料<sup>42</sup>> 1957年

25     ウサギ（ニュージーランド白色種品種、性別及び匹数不明）にBHAを5～76日  
26     間強制経口投与（1,000mg/羽/日）し、亜急性毒性試験が実施された。

27     Naの尿中排泄が10倍に、Kの排泄が20%増加した。細胞外液の容積の低下によ  
28     って血漿中Na濃度の著しい変化が防がれた。投与開始65日後に血清Kが投与前  
29     の約半分に低下し、骨格筋のK濃度は低下し、Na濃度は上昇した筋肉の細胞内ではKはNaに置換された。心筋のK及びNa濃度におけるその変化は、骨格筋より  
30     遅く起こり、その程度は軽度であった。BHAは腎臓に直接影響した可能性があった。  
31     副腎皮質では球状帶の変化がみられ、Na及びKの喪失と関連したアルドステロン  
32     の尿中排泄の増加がみられた。（参照25、73）[FAS 15, p8, Rabbit] [Br J Exp Pathol]  
33     (Denz & Llaurodo, 1957)

<sup>40</sup> 1用量の試験であることから、参考資料とした。

<sup>41</sup> 1用量の試験であることから、参考資料とした。

<sup>42</sup> 1用量の試験であることから、参考資料とした。

【事務局より】

本試験の色づけした部分について、もとの論文を確認し、上述のように修文しました。

⑯28日間亜急性毒性試験（モルモット）<参考資料<sup>43</sup>> [1986年]

モルモット（品種、性別及び匹数不明）にBHAを28日間強制経口投与（0又は1,000 mg/kg 体重/日）したところ、胃に肉眼的変化はみられなかった。（参照 24）  
[FAS 21, p6, Guinea pigs] (Altmann, 1986)

⑰85日間亜急性毒性試験（サル）<参考資料<sup>44</sup>> [1986年]

サル（カニクイザル、雌8頭/群）にBHAを1週間に5日間で4週間強制経口投与（0、125、500 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解）し、その後投与量を半分にして計85日間投与して、亜急性毒性試験が実施された。

その結果、一般状態及び血液生化学的検査において投与に関連した影響はみられず、胃に増殖性変化もみられなかった。投与に関連した病理組織学的変化はみられなかった。統計学的に有意な所見として、500 mg/kg 体重/日投与群において食道遠位部の扁平上皮の基底細胞層の分裂指数（mitotic index）の上昇（1.9倍）がみられた。試験終了時点には、両投与群において肝臓の相対重量が増加した（125及び500 mg/kg 体重/日投与群、対照群で  $2.64 \pm 0.26\%$ 、 $2.89 \pm 0.39\%$ 、 $2.19 \pm 0.11\%$ ）。（参照3）[EFSA 2011, 3.2.2.4 Monkeys] (Iverson et al., 1986)

（2）ラットの前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する試験

①1、2又は4週間亜急性毒性試験（ラット） [1985年]

ラット（Wistar Han/BGA、雌雄）にBHAを1、2又は4週間混餌投与（2%）した。対照群には、投与群と同量のBHA無添加飼料を与えた。

1週間投与群では、前胃粘膜で上皮の損傷、軽度な過形成及び過角化症がみられた。2及び4週間投与群では、過形成及び過角化症の重症度が増したが、他の所見は軽度であった。過形成は、境界縁の領域で生じた。BHA無添加飼料を給餌する4週間の回復期間を設けると、1週間投与群でみられた上皮の変化及び軽度の過形成は完全に消失し、境界縁においてごく僅かな細胞数の増加とこれら細胞の好塩基性化がみられただけであった。

2及び4週間投与群でみられた過形成変化は、4週間の回復期間で部分的に回復した。

別の試験において、ラット（雄）にBHAを1、2、4、8、16又は32日間強制経口投与（1 g/kg 体重/日、落花生油溶液）した。前胃の変化は、おもに境界縁より遠位で生じた。

1日間投与の前胃に軽度の炎症、僅かな上皮損傷及び有糸分裂活動の増加がみられ

<sup>43</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>44</sup> 被験物質の投与が1週間に5日間であったことから、参考資料とした。

た。2日間投与の前胃には軽度の過形成及び過角化症並びに有糸分裂の著明な増加がみられた。吉田専門委員修文

4及び8日間投与では、上皮の過形成は著しかったが、4日間投与で明らかに増加していた有糸分裂は8日間投与では少なくなっていた。

16又は32日間投与では、前胃の過形成病変は回復しているようにみられた。(参考  
照24) [FAS 21, p5 の2段落目] (Altmann et al., 1985)

#### ②90日間亜急性毒性試験（ラット） 1986年

第1試験として、ラット（Wistar系、雌雄各10匹/群）にBHA（結晶形）を90日間混餌投与（0、0.125、0.5又は2%（0、約62.5、250又は1,000mg/kg体重/日相当））した。2%投与群の前胃には明らかな変化として、基底部の上皮異形成とともに過角化症及び巨大な乳頭状過形成がみられた。0.5%投与群では2%投与群ほど明瞭ではなかったが、これらの病変がみられ、0.125%投与群においても軽度な病変としてみられた。

別の群（Wistar系、雌雄各5匹）にBHAを90日間混餌投与（2%）し、その後4週間の回復期間を設けた。回復期間後には、前胃に軽度な過角化症及び中等度の過形成がみられた。

第2の試験として、ラット（Wistar、雌雄各20匹/群）にBHAを90日間混餌投与（0.025、0.125、又は2%（約12.5、62.5又は1,000mg/kg体重/日相当）、落花生油に溶解）した。投与開始90日後に各群10匹を検査し、残りの動物は回復試験に供試し、4週間又は8週間の回復期間を設けた。2%投与群の前胃粘膜に、明らかな過形成、さらに3例に乳頭状過形成がみられた。結晶形のBHAを用いた試験に対して、本試験の病変は境界縁に限定されていた。0.125%以下投与群には、前胃に病変はみられなかった。

回復試験では、4週間の回復期間後に2%投与群の雌1/10例に前胃粘膜に軽度な過形成がみられ、8週間の回復期間後には雌雄各1例に同様の病変がみられた。

これらの試験のいずれの動物においても、食道に変化はみられなかった。

ANSパネルは、第1試験においてはBHA全投与群の前胃粘膜に過形成がみられたことから、第1試験におけるLOELを62.5mg/kg体重/日と判断した。また第2試験では2%投与群に前胃粘膜の過形成がみられたことから、第2試験におけるNOAELを62.5mg/kg体重と判断した。（参考3、24、28） [EFSA 2011, 3.2.2.1の2つ目の試験、3.2.2.4の下の段落] [FAS 21, p5 の3段落目] [Food Chem Toxicol 1986c] (Altmann et al., 1986)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、第1試験においてBHA全投与群の前胃粘膜に過形成がみられたことから、第1試験におけるLOAELを62.5mg/kg体重/日と判断した。第2試験では、2%投与群の前胃粘膜に過形成がみられたことから、第2試験におけるNOAELを62.5mg/kg体重/日と判断した。

#### ③13週間亜急性毒性試験（ラット） 1985年

ラット（F344系、雄、匹数不明）にBHAを13週間混餌投与（0、0.1、0.25、0.5

1 又は 2%、粉末飼料) した。

2 2%投与群では、他の投与群及び対照群より摂餌量及び体重増加量が低く、試験終  
3 了時には 2%投与群のみ前胃粘膜に増殖性変化がみられた。<sup>3H</sup> 標識チミジン~~指標~~  
4 ~~標識率の~~增加が用量依存性でみられ、NOEL は 0.25% であった。2%投与群のみ前胃  
5 に組織学的变化がみられた。

6 投与 13 週間後に BHA を休薬し、無添加飼料を給餌すると、~~標識率 <sup>3H</sup> 標識チミ  
7 ジン指標~~は急速に低下し、1 週間後には全投与群と対照群は同等になった。無添加飼  
8 料の 9 週間給餌後には、2%投与群の粘膜の状態は、ほぼ正常に戻った。(参照 24)  
9 [FAS 21, p4 一番下の段落] (Iverson et al., 1985)

#### 10 ④ 6、12 又は 15 か月間亜急性毒性試験 (ラット) 1986 年

11 ラット (系統、性別及び匹数不明) に BHA を 6、12 又は 15 か月間混餌投与 (2%、  
12 落花生油に溶解) した。その後、2 又は 7 か月間の回復期間を設けた群と設けない群  
13 を設定した。

14 組織学的検査は、(1)噴門部付近の食道、(2) 境界縁に隣接する大弯部の前胃及び腺  
15 胃、(3)食道開口部付近の前胃及び腺胃に対して実施した。粘膜に過角化症又は錯角  
16 化症がみられたが、特に境界縁の近傍にみられた。

17 12 か月間投与では、3/10 例の前胃粘膜上皮に限局性異形成形成異常がみられ、  
18 4/10 例の前胃粘膜上皮に~~広範な異形成一般的な形成異常~~中山専門委員修文がみられ  
19 た。病変のタイプと程度は、前胃の異なる領域においても同様であった。

20 12 か月間の投与後に 2 か月間の回復期間を設けた場合、大弯部の病変はほぼ完全  
21 に消失したが、食道開口部付近の胃の病変は残存した。

22 15 か月間の投与後に 7 か月間の回復期間を設けた場合、広範な過形成、乳頭腫、  
23 ~~異形成形成異常を~~中山専門委員修文及び侵襲性増殖 (本試験条件では、粘膜筋板ま  
24 では達していなかった。) といった前胃の変化はほぼ完全に消失した。(参照 24)

25 [FAS 21, p5, 4 段落目] (Altmann et al., 1986)

#### 26 (3) 胃に対する TBHQ の影響に関する試験

##### 27 ① 4 週間亜急性毒性試験 (ラット) 1994 年

28 ラット (系統、性別及び匹数不明) に TBHQ を単独又は前胃の発がんプロモータ  
29 一物質である亜硝酸 Na の飲水投与と組み合わせて、4 週間混餌投与 (2%) し、亜  
30 急性毒性試験が実施された。

31 TBHQ 単独投与群では前胃の前基底部及び中間領域の粘膜の肥厚がみられた。  
32 TBHQ と亜硝酸 Na の同時投与群では前胃粘膜の厚さは、TBHQ 単独、亜硝酸 Na  
33 単独又は対照群の 10 倍以上に増加した。腺胃及び食道にも軽度の粘膜の肥厚がみら  
34 れた。粘膜の肥厚に関する影響は~~BrdU の標識率 5-ブロモ-2'-デオキシリジン~~標識  
35 指標の増加を伴っていた。(参照 10) [EFSA 2004, p13 の一番下の試験] (Kawabe  
36 et al., 1994, Yoshida et al., 1994)

1      ②20週間亜急性毒性試験（ハムスター） [1986年]

2      ハムスター（系統、性別及び匹数不明）にTBHQを20週間混餌投与（0.5%）し、  
3      亜急性毒性試験が実施された。

4      その結果、TBHQ投与による前胃、腺胃及び膀胱に過形成又は腫瘍性病変は生じ  
5      ず、検査した組織において標識率の増加はみられなかった。（参照10）[EFSA 2004,  
6      p14の一番上の試験] (Hirose et al., 1986)

7

8      (4) 発がん性に関する促進作用又は抑制作用

9

10     【事務局より】

11     本項目は、参照10、24、71に記載されていますが、BHAや発がん性物質の投与方  
12     法や投与量に不明なものが多くあります。

13     本項目の取扱い（例えば、投与量が不明なものは削除する、等）についてご検討お願  
14     いいたします。

15     既知の発がん性物質等の発がん性に対するBHA及びTBHQの促進又は抑制作用  
16     を表29に示した。

17     BHA及びTBHQとともに、促進又は抑制作用を示す試験結果であった。（参照10、  
18     24、65、71）[EFSA 2004, p20～21][FAS 18, p3～4][Toxicol Pathol 1986][FAS 21,  
19     p3～4]

17     表29 BHAの発がん性に対する促進又は抑制作用

動物	発がん性物質		BHA		対象 病変	結果	参照
	物質	投与	投与方法	投与量			
マウス (ICR/Ha 系、雌)	ベンゾ (a) ピレ ン	強制経 口 (1 mg/匹/ 回、2回/ 週、4 週間)	混餌投与 (投与8日 前から最 終投与3 日後まで) a	0.03、0.06 mmol/g 飼 料	前胃腫 瘍	抑制	71 [FAS 18, p4] (Wattenberg et al., 1980)
マウス (ICR/Ha 系)	ベンゾ (a) ピレ ン	不明	混餌投与	不明	前胃及 び肺の DNA 付加体 形成	前胃：抑 制 肺：影響 なし	71 [FAS 18, p4] (Ioannou et al., 1982)
マウス (A/J系、 雄)	ウレタン	単回腹 腔内	2週間混 餌投与 (投与後)a	不明	肺腫瘍	抑制	71 [FAS 18, p3] (Witschi, 1981)
マウス(系 統不明)	ヒドラジ ン硫酸塩	不明	混餌投与	不明	肺腫瘍	影響なし	24 [FAS 21, p4] (Maru & Bhide, 1984)
	イソニア ジド	不明	不明	不明	肺腫瘍	抑制	

マウス(系統不明)	ウレタン	不明	不明	不明	肺腫瘍	影響なし	24 [FAS 21, p4] (Witschi et al., 1981)
	3-メチルコラントレン						
	ジメチルニトロソアミン						
マウス(A/J系)	ウレタン	不明	混餌投与 (投与前) <sup>a</sup>	不明	肺腫瘍	頻度：影響なし 多様性：減少	24 [FAS 21, p4] (Witschi & Doherty, 1954)
	ベンゾ(a)ピレン						
マウス(系統不明、雌)	メチルアゾキシメタノール酢酸塩	不明	混餌投与	不明	結腸癌、肺腫瘍	抑制	24 [FAS 21, p3] (Reddy et al., 1983) (Reddy & Maeur, 1984)
マウス(系統不明)	1,2-ジメチルヒドラジン(DMH)	不明	不明	不明	結腸癌	抑制	24 [FAS 21, p3] (Jones et al., 1984)
マウス(CF1系、雌)	メチルアゾメタノール酢酸塩	2回注射 (4日間隔)	2週間混餌投与 (投与前) <sup>a</sup>	300、 1,000、 3,000、 6,000 ppm	死亡数	減少	71 [FAS 18, p3] (Reddy et al., 1982)
					肝臓等の器官の病理組織学的所見	抑制	
ラット(F344系、雄)	N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)	単回強制経口投与 (150 mg/kg 体重)	32週間混餌投与 (投与1週間後から) <sup>a</sup>	0.5%	胃癌(前胃、腺胃)	促進(前胃のみ)	65 [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
ラット(系統不明)	N-メチルニトロソウレア(MNU)	腹腔内投与(20 mg/kg 体重、2回/週、4週間)	32週間混餌投与 (最終投与後から) <sup>a</sup>	2%	前胃の乳頭腫、癌	促進(乳頭腫、癌)	
ラット(系統不明)	MNNG	不明	不明	不明	前胃の癌	促進	24 [FAS 21, p3] (Shirai et al., 1984)
ラット(系統不明)	MNU	4週間投与	32週間混餌投与 (投与後) <sup>a</sup>	2%	前胃の癌及び乳頭腫	促進	24 [FAS 21, p3] (Imaida et

					膀胱の 乳頭腫、乳 頭状及び結節 性過形成	促進	al., 1984)
ラット (F344 系、雄)	DMH	不明	混餌投与 (投与後) <sup>a</sup>	不明	結腸癌	影響なし	24 [FAS 21, p3] (Shirai et al., 1985)
ラット (F344系、 雄)	DMH	皮下投 与 (20 mg/kg 体重、1 回/週、4 週間)	36 週間混 餌投与 (最終投与 1週間後 から) <sup>a</sup>	0.5%	結腸癌	影響なし	65 [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
ラット(系 統不明)	N-エチ ル-N-ヒ ドロキシ エチルニ トロソア ミン (EHEN)	不明	5 週間混 餌投与 (投与後) <sup>a</sup>	不明	肝臓の 前癌病 変及び 腫瘍	抑制	24 [FAS 21, p3] (Ito et al., 1983)
ラット(系 統不明)	ジエチル ニトロソ アミン (DEN)	不明	不明	不明	肝臓の 腫瘍 <sup>b</sup>	抑制	24 [FAS 21, p3] (Thamavit et al., 1985)
ラット(系 統不明)	シプロフ ィブラー ト	混餌投 与(单独 又は BHA と混合)	混餌投与 (シプロフ ィブラー トと混合)	不明	肝腫瘍	5 mm 以 上の 腫 瘍: 抑制 総腫瘍 数: 影響 なし	24 [FAS 21, p3] (Rao et al., 1984)
ラット(系 統不明)	DEN	不明	不明	不明	肝臓の 病巣 <sup>c</sup>	抑制	24 [FAS 21, p4] (Imaida et al., 1983)
ラット (F344系、 雄)	EHEN	2 週間 飲水投 与 (0.1%)	29 週間混 餌投与 (最終投与 後 1 週間 から) <sup>a</sup>	2%	肝臓の 過形成、肝 細胞癌	抑制 (過形成の 数及び肝 細胞癌)	65 [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
ラット(系 統不明、 肝部分切 除 <sup>d</sup> )	DEN	腹腔内 投与 (200 mg/kg)	混餌投与 (投与後 2 週から 6 週間) <sup>a</sup>	0.5、1、2%	肝臓の 病巣 <sup>e</sup>	抑制	
ラット (F344系、	N-ブチ ル-N-(4-	4 週間 飲水投	3 週間混 餌投与	2%	膀胱の 過形	促進 (乳頭腫、	65 [Toxicol

雄)	ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(BBN)	与(0.05%)	(最終投与後) <sup>a</sup>		成、乳頭腫、癌	癌)	Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
		2週間飲水投与(0.05%)	22週間混餌投与(最終投与後) <sup>a</sup>	0.5、1、2%		促進(過形成)	
ラット(系統不明)	MNU	腹腔内投与(20mg/kg体重、2回/週、4週間)	32週間混餌投与(最終投与後から) <sup>a</sup>	2%	膀胱の過形成、乳頭腫、癌	促進(過形成、乳頭腫)	
ラット(系統不明)	BBN	4週間	32週間混餌投与 <u>(最終投与後から)<sup>a</sup></u>	2%	膀胱の癌腫、乳頭腫、乳頭状又は結節性過形成	促進	24 [FAS 21, p4] (Imaida et al., 1983)
ラット(系統不明)	7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)	不明	混餌投与(投与前又は投与後1週間) <sup>a</sup>	不明	乳腺腫瘍	抑制	24 [FAS 21, p4] (King & McCay, 1984) McCormick et al., 1984)
ラット(SD系、雌)	DMBA	強制経口投与(0.25mg/kg体重)	33週間混餌投与(投与1週間後から) <sup>a</sup>	1%	乳腺腫瘍	抑制	65 [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
ラット(系統不明)	アザセリン	腹腔内投与(30mg/回/週、3週間)	混餌投与	0.45%	膵臓の好酸性病巣	抑制	4 [FAS 21, p4] (Roebuck et al., 1984)
ラット(F344系、雄)	EHEN	2週間飲水投与(0.1%)	29週間混餌投与(最終投与後1週間から) <sup>a</sup>	2%	腎臓の腺腫、腺癌	影響なし	65 [Toxicol Pathol 1986] (Ito et al., 1986)
ラット(系統不明)	MNU	腹腔内投与(20mg/kg体重、2	32週間混餌投与(最終投与後から) <sup>a</sup>	2%	甲状腺の腺腫、腺癌	影響なし	65 [Toxicol Pathol 1986]

		回/週、4 週間)					(Ito et al., 1986)
--	--	--------------	--	--	--	--	-----------------------

1 a : 発がん性物質の投与に対する BHA の投与時期

2 b :  $\gamma$ -GTP 及び胎盤型 GST 活性を指標とした。

3 c :  $\gamma$ -GTP を指標とした。

4 d : DEN 投与の 3 週間後に切除した。

5 e : 胎盤型 GST 熔成の病巣

6

7 表 29 TBHQ の発がん性に対する促進又は抑制作用

動物	発がん性物質		TBHQ		腫瘍	結果	参照
	物質	投与	投与方法	投与量			
ラット(系統不明)	N-ジメチルニトロソアミン	強制経口投与	不明 (亜硝酸ナトリウム及びジメチルアミンと併用投与)	~225 mg/kg 体重	肝細胞壞死	225 mg/kg 体重:抑制 <225 mg/kg 体重:影響なし	10 [EFSA 2004, p20] (Astill and Mulligen, 1977)
ラット(系統不明、肝部分部分)	DEN	単回腹腔内	6 週間混餌投与	0, 0.25, 1%	肝臓内の前がん病巣 <sup>b</sup>	1% : 抑制 0.25 % : 影響なし	10 [EFSA 2004, p20] (Ito et al., 1988) (Hasegawa et al., 1992)
ラット(系統不明)	肝発がん物質及びニトロソ化合物	不明	不明	不明 (TBHQ を含む抗酸化剤混合物を肝発がん物質及びニトロソ化合物と併用投与)	肝の結節性過形成、肝細胞癌	抑制	10 [EFSA 2004, p21] (Fukushima et al., 1991)
			不明	不明 (TBHQ を含む抗酸化剤混合物をニトロソ化合物と併用投与)	膀胱癌	促進	

ラット(系統不明)	BBN	不明	36週間混餌投与 (投与後) <sup>a</sup>	2%	膀胱の乳頭状又は結節性過形成	促進	10 [EFSA 2004, p20] (Tamano et al., 1987)
					膀胱癌・乳頭腫	影響なし	
ラット(系統不明)	BBN	不明	16週間混餌投与  BHA 及び 0.3% BHT 混合)	0.7%(0.7% BHA 及び 0.3% BHT 混合)	膀胱癌、乳頭腫	促進	10 [EFSA 2004, p20] (Ono et al., 1992)
				0.7%	膀胱癌、乳頭腫	影響なし	
ラット(系統不明)	BBN	不明	32週間混餌投与 (投与後) <sup>a</sup>	0.8%	膀胱癌	促進	10 [EFSA 2004, p20-21] (Hagiwara et al., 1989)
				0.4% (BHA 又は BHT との併用 (各 0.4%))	膀胱の乳頭様又は結節様過形成	促進	
ラット(系統不明)	BBN	不明	不明	不明	膀胱癌	促進 <sup>c</sup>	10 [EFSA 2004, p21] (Ito and Fukushima, 1989)
ラット(系統不明)	DMBA	不明	51週間混餌投与	0.8%	乳腺腫瘍	抑制 <sup>d</sup>	10 [EFSA 2004, p21] (Hirose et al., 1988)
ラット(系統不明)	5種類のニトロソアミン化合物及び1,2-ジメチルヒドラジンの混合	不明	混餌投与	1%	食道の乳頭様又は結節様過形成及び乳頭腫、前胃乳頭腫	促進	10 [EFSA 2004, p21] (Hirose et al., 1993)
					結腸癌	抑制(多重度(multiplicity))	

1 a : 発がん性物質の投与に対する BHA の投与時期

1 b : 胎盤型 GST 陽性の病巣  
2 c : BHA より弱い作用  
3 d : 投与に関連した体重増加量の減少も影響していると考えられた。

4

5

6 これ以降 (P)

7

8 III. 國際機関等における評価 (P)

9 IV. 食品健康影響評価 (P)

10

## 1 &lt;別紙1：検査値等略称&gt;

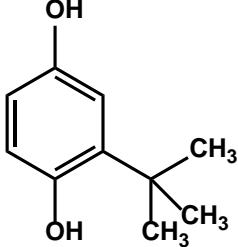
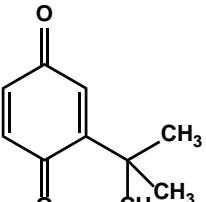
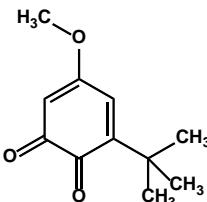
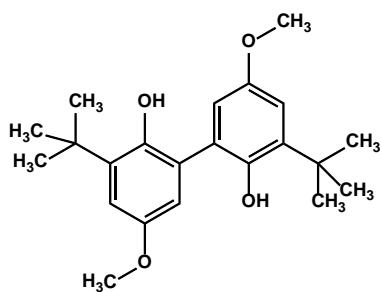
略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
Alb	アルブミン
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
ANSパネル	(欧州食品安全機関) 食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネル
AP	アルカリホスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
AUC <sub>0~t</sub>	投与 t 時間後までの血(漿)中濃度時間曲線下面積
<u>BBN</u>	<u>N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン</u>
<u>BCS</u>	<u>バソクプロインジスルホン酸</u>
<u>BrdU</u>	<u>5-ブロモ-2'-デオキシウリジン</u>
BUN	血液尿素窒素
<del>CAT</del>	<del>カタラーゼ</del>
CL	クリアランス
C <sub>max</sub>	血(漿)中最高濃度
<u>DEN</u>	<u>ジエチルニトロソアミン</u>
<u>DMBA</u>	<u>7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン</u>
<u>DMH</u>	<u>1,2-ジメチルヒドラジン</u>
<del>DTPA</del>	<del>ジエチレントリアミン五酢酸</del>
<u>EDTA</u>	<u>エチレンジアミン四酢酸</u>
EFSA	欧州食品安全機関
<u>EHEN</u>	<u>N-エチル-N-ヒドロキシエチルニトロソアミン</u>
GC	ガスクロマトグラフィー
GC-MS	ガスクロマトグラフィー・質量分析
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小影響量
<u>MNNG</u>	<u>N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン</u>
<u>MNU</u>	<u>N-メチルニトロソウレア</u>
NADPH	ニコチンアミドアデニジヌクレオチドリン酸 (還元型)
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量

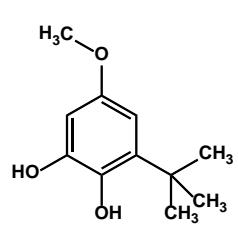
<u>RBC</u>	赤血球
<u>SCE</u>	姉妹染色分体交換
SOD	スーパーオキシドジスムターゼ
$T_{1/2}$	血(漿)中半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
$T_{max}$	最高血(漿)中濃度到達時間
Vd	分布容積
WBC	白血球

1

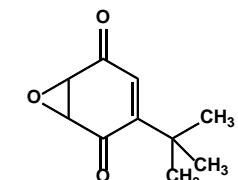
2

1 〈別紙2：代謝物略称〉

略称	代謝物名
TBHQ	<p><i>tert</i>-ブチルヒドロキノン (BHAの脱メチル体)</p>  <p>(参照 22) [EFSAJ 2004, p3]</p>
TBQ	<p><i>tert</i>-ブチルキノン</p>  <p>(参照 16) [Carcinogenesis 1991]</p>
<u>BHA-o-O</u>	<p><u>3-<i>tert</i>-ブチルアニソール-4,5-キノン</u></p>  <p><u>(参照 16)</u> [Carcinogenesis 1991]</p>
<u>diBHA</u> <u>(BHA dimer)</u>	<p><u>2,2'-ジヒドロキシ-3,3'-ジ-<i>tert</i>-ブチル-5,5'-ジメトキシ-1,1'-ビフェニル</u></p>  <p><u>(参照 16)</u> [Carcinogenesis 1991]</p>

<u>BHA-OH</u>	<u>3-tert-ブチル-4,5-ジヒドロキシアニソール</u>
	 <p style="text-align: right;">(参照 16)</p> <p style="text-align: right;">[Carcinogenesis 1991]</p>

<u>TBQO</u>	<u>tert-ブチルキノンオキシド</u>
	 <p style="text-align: right;">(参照 36)</p> <p style="text-align: right;">[Mutat Res 1990]</p>

1

2

1    〈参考〉

- 2    1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件  
3       （平成 17 年 11 月 29 日厚生労働省告示第 499 号） **[厚労告示]**
- 4    2. The Merck Index, 15<sup>th</sup> Edition **[Merck Index]**
- 5    3. EFSA: Scientific opinion on the re-evaluation of butylated hydroxyanisole – BHA  
6       (E 320) as a food additive. EFSA Journal 2011; 9(10): 2392-2440 **[EFSA 2011]**
- 7    4. Environment Canada and Health Canada: Phenol, (1,1-dimethylethyl)-4-  
8       methoxy-(Butylated hydroxyanisole), Screening assessment for the challenge.  
9       2010 **[Canada]**
- 10    5. EC: European Union Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No  
11       1831/2003. **[EC Regulation]**
- 12    6. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 42 1992 **[FAS 42]**
- 13    7. 厚生労働省:暫定基準見直し資料 BHA 飼料添加物に関する試験抄録(非公表) **[試**  
14       **験抄録]**
- 15    8. 食品衛生法施行規則 別表第一**[食品衛生法施行規則]**
- 16    9. 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号） **[飼料**  
17       **添加物省令]**
- 18    10. EFSA: Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing  
19       aids and materials in contact with food on a request from the commission related  
20       to tertiary-butylhydroquinone (TBHQ). EFSA Journal 2004; 84: 1-50 **[EFSA 2004]**
- 21    11. WHO: tert-Butylhydroquinone. WHO Food Additives Series 42 1999 **[FAS 42**  
22       **TBHQ]**
- 23    12. Hashizume K, Toda C, Yasui T and Nagano H: Determination of butylated  
24       hydroxyanisole and its conjugated metabolites in the organs, blood and excreta of  
25       mice by high-performance liquid chromatography. Japanese Journal of Toxicology  
26       and Environmental Health 1992; 38(5): 397-402 **[Jpn J Toxicol Environ Health**  
27       **1992]**
- 28    13. Ansari GAS and Hendrix PY: Tissue distribution and pharmacokinetics of 3-t-  
29       [methyl-14C]butyl-4-hydroxy-anisole in rats. Drug Metab Dispos 1985; 13(5): 535-  
30       541 **[Drug Metab Dispos 1985]**
- 31    14. Hirose M, Hagiwara A, Inoue K, Ito N, kaneko H, Saito K et al.: Metabolism of 2-  
32       and 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole in the rat (III): Metabolites in the urine and  
33       feces. Toxicology 1988; 53(1): 33-43 **[Toxicology 1988]**
- 34    15. Yamada T, Yamamoto M, Yoshihira K, Kawashima K, Tanaka S and Takanaka A:  
35       Distribution of 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) orally administered in liver,  
36       serum and fetus in rats. Japanese Journal of Toxicology and Environmental  
37       Health 1993; 39(1): 68-71 **[Jpn J Toxicol Environ Health 1993]**
- 38    16. Morimoto K, Tsuji K, Iio T, Miyata N, Uchida A, Osawa R et al.: DNA damage in  
39       forestomach epithelium from male F344 rats following oral administration of *tert*-  
40       butylquinone, one of the forestomach metabolites of 3-BHA. Carcinogenesis 1991;

- 1           12(4): 703-708 [Carcinogenesis 1991]
- 2   17. Verhagen H, Maas LM, Beckers RHG, Thijssen HHW, ten Hoor F, Henderson PT  
3       et al.: Effect of subacute oral intake of the food antioxidant butylated  
4       hydroxyanisole on clinical parameters and phase-I and -II biotransformation  
5       capacity in man. Hum Toxicol 1989; 8(6): 451-459 [Hum Toxicol 1989]
- 6   18. WHO: tert-Butylhydroquinone (TBHQ). Food Additives Series 40 (1998) [FAS 40]
- 7   19. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 及び BHT の残留試験報告書（肉用鶏及び  
8       肥育豚）（非公表） [鶏及び豚残留試験]
- 9   20. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 及び BHT の残留試験報告書（鶏卵への移  
10      行）（非公表） [鶏卵残留試験]
- 11   21. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 養殖水産動物における BHA の残留試験報告（に  
12      じます、こい及びあゆ）（非公表） [魚残留試験]
- 13   22. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 10, 1976 [FAS 10]
- 14   23. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 24, 1989 [FAS 24]
- 15   24. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 21, 1987 [FAS 21]
- 16   25. WHO: Butylated hydroxyanisole (BHA). Food Additives Series 15, 1980 [FAS 15]
- 17   26. Ikeda GJ, Stewart JE, Sapienza PP, Peggins JO, Michel TC and Olivito V: Effect  
18       of subchronic dietary administration of butylated hydroxyanisole on canine  
19       stomach and hepatic tissue. Food Chem Toxicol 1986; 24(10/11): 1201-1221 [Food  
20      Chem Toxicol 1986a]
- 21   27. Tobe M, Furuya T, Kawasaki Y, Naito K, Sekita K, Matsumoto K et al.: Six-month  
22       toxicity study of butylated hydroxyanisole in beagle dogs. Food Chem Toxicol 1986;  
23       24(10/11): 1223-1228 [Food Chem Toxicol 1986b]
- 24   28. Altmann HJ and Grunow W: Effects of BHA and related phenols on the  
25       forestomach of rats. Food Chem Toxicol 1986; 24(10/11): 1183-1188 [Food Chem  
26      Toxicol 1986c]
- 27   29. Takizawa Y, Matsuda Y and Yamasita J: The absorption and excretion of butylated  
28       hydroxyanisole in beagle dogs. Toxicolo Letters 1985; 27(1-3): 27-34 [Toxicol Lett  
29      1985]
- 30   30. Tajima K, Hashizaki M, Yamamoto K and Mizutani T: Identification and structure  
31       characterization of S-containing metabolites of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole in  
32       rat urine and liver microsomes. Drug Metab Dispos 1991; 19(6): 1028-1033 [Drug  
33      Metab Dispos 1991]
- 34   31. Bergmann B, Dohrmann JK and Kahl R: Formation of the semiquinone anion  
35       radical from *tert*butylquinone and from *tert*-butylhydroquinone in rat liver  
36       microsomes. Toxicology 1992; 74 (2-3): 127-133 [Toxicology 1992]
- 37   32. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 添付資料 16（非公表） [添付資料 16]
- 38   33. Bonin AM and Baker RSU: Mutagenicity testing of some approved food additives  
39       with the *Salmonella* microsome assay. Food technology in Australia 1980; 32(12):  
40       608-611 [Food Tech 1980]

- 1    34. Hageman GJ, Verhagen H and Kleinjans JCS: Butylated hydroxyanisole,  
2       butylated hydroxytoluene and ter.-butylhydroquinone are not mutagenic in the  
3       Salmonella/microsome assay using ner tester strains. Mutat Res 1988; 208(3-4):  
4       207-211 [Mutat Res 1988]
- 5    35. Williams GM, McQueen CA and Tong C: Toxicity studies of butylated  
6       hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. I. Genetic and cellular effects. Food  
7       Chem Toxicol 1990; 28(12): 793-798 [Food Chem Toxicol 1990]
- 8    36. Matsuoka A, Matsui M, Miyata N, Sofuni T and Ishidate M: Mutagenicity of 3-  
9       *tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) and its metabolites in short-term tests in vitro.  
10      Mutat Res 1990; 241(2):125-132 [Mutat Res 1990]
- 11    37. Rogers CG, Boyes BG, Matula TI and Stapley R: Evaluation of genotoxicity of *tert*-  
12       butylhydroquinone in an hepatocyte-mediated assay with V79 Chinese hamster  
13       lung cells and in strain D7 of *Saccharomyces cerevisiae*. Mutat Res 1992; 280(1):  
14       17-27 [Mutat Res 1992]
- 15    38. Rogers CG, Nayak BN and Heroux-Metcalf C: Lack of induction of sister  
16       chromatid exchanges and of mutation to 6-thioguanine resistance in V79 cells by  
17       butylated hydroxyanisole with and without activation by rat or hamster  
18       hepatocytes. Cancer Lett 1985; 27: 61-69 [Cancer Lett 1985]
- 19    39. Degré R and Saheb SA: Butylated hydroxyanisole as a possible mutagenic agent.  
20      FEMS Microbiol Lett 1982; 14(3): 183-186 [FEMS Microbiol Lett]
- 21    40. Ishidate M Jr and Odashima S: Chromosome tests with 134 compounds on Chinese  
22       hamster cells in vitro – a screening for chemical carcinogens. Mutat res 1977; 48:  
23       337-354 [Mutat Res 1977]
- 24    41. Abe S and Sasaki M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges  
25       in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. J Natl Cancer Inst 1977;  
26       58(6): 1635-1641 [JNCI 1977]
- 27    42. Phillips BJ, Carroll PA Tee AC and Anderson D: Microsome-mediated  
28       clastogenicity of butylated hydroxyanisole (BHA) in cultured Chinese hamster  
29       ovary cells: The possible role of reactive oxygen species. Mutat Res 1989; 214:  
30       105-114 [Mutat Res 1989]
- 31    43. Murli H and Brusick D: Induction of Chromosomal aberrations by high  
32       concentrations of butylated hydroxyanisole (BHA) in Chinese hamster ovary  
33       (CHO) cells in the presence of washed microsomes. In Vitro Toxicol 1992; 5(2): 93-  
34       101 [In Vitro Toxicol]
- 35    44. Schilderman PA, Rhijnsburger E, Zwingmann I and Kleinjans JC: Induction of  
36       oxidative DNA damage and enhancement of cell proliferation in human  
37       lymphocytes in vitro by butylated hydroxyanisole. Carcinogenesis 1995; 16(3):  
38       507-512 [Carcinogenesis 1995]

- 1       45. Benford DJ, Price SC, Lawrence JN, Grasso P and Bremmer JN: Investigations  
2       of the genotoxicity and cell proliferative activity of dichlorvos in mouse  
3       forestomach. Toxicology 1994; 92: 203-215 [Toxicology 1994]
- 4       46. Prasad OM and Kamra OP: radiosensitization of Drosophila sperm by commonly  
5       used food additives – butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene.  
6       Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med 1974; 25(1): 67-72 [Int J Radiat  
7       1974]
- 8       47. Miyagi MP and Goodheart CR: Effects of butylated hydroxyanisole in Drosophila  
9       melanogaster. Mutat Res 1976; 40(1): 37-41 [Mutat Res 1976]
- 10      48. Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K et al.,: The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food  
11      additives. Mutat Res 2002; 519: 103-119 [Mutat Res 2002]
- 12      49. Ramadan AMA and Suzuki T: Detection of genotoxicity of phenolic Antioxidants,  
13      butylated hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone in multiple mouse organs  
14      by the alkaline comet assay. J Am Sci 2012; 8(1): 722-727 [J Am Sci 2012]
- 15      50. Schilderman PA, ten Vaarwerk FJ, Lutgerink JT, van der Wurff A, ten Hoor F  
16      and Kleinjans JCS: Induction of oxidative DNA damage and early lesions in rat  
17      gastro-intestinal epithelium in relation to prostaglandin H synthase-mediated  
18      metabolism of butylated hydroxyanisole. Food Chem Toxicol 1995; 33(2): 99-109  
19      [Food Chem Toxicol 1995]
- 20      51. Hirose M, Asamoto M, Hagiwara A, Ito N, Kaneko H, Saito K et al.,: Metabolism  
21      of 2- and 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (2- and 3-BHA) in the rat (II): Metabolism  
22      in forestomach and covalent binding to tissue macromolecules. Toxicology 1987;  
23      45(1): 13-24 [Toxicology 1987]
- 24      52. Saito K, Nakagawa S, Yoshitake A, Miyamoto J, Hirose M and Ito N: DNA-  
25      adduct formation in the forestomach of rats treated with 3-*tert*-butyl-4-  
26      hydroxyanisole and its metabolites as assessed by an enzymatic 32P-postlabeling  
27      method. Cancer Lett 1989; 48: 189-195 [Cancer Lett 1989]
- 28      53. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T and Mortelmans: Salmonella  
29      mutagenicity tests: V. results from the testing of 311 chemicals. Environ Mol  
30      Mutagen 1992; 19(Suppl 21): 2-141 [Environ Mol Mutagen 1992]
- 31      54. Dobo KL and Eastmond DA: Role of oxygen radicals in the chromosomal loss and  
32      breakage induced by the quinone-forming compounds, hydroquinone and *tert*-  
33      butylhydroquinone. Environ Mol Mutagen 1994; 24: 293-300 [Environ Mol  
34      Mutagen 1994]
- 35      55. Schilderman PA, van Maanen JMS, ten Vaarwerk FJ, Lafleur MVM, Westmijze  
36      EJ, ten Hoor F et al.,: The role of prostaglandin H synthase-mediated metabolism  
37      in the induction of oxidative DNA by BHA metabolites. Carcinogenesis 1993; 14(7):  
38      1297-1302 [Carcinogenesis 1993]
- 39      56. Nagai F, Okubo T, Ushiyama K, Satoh K and Kano I: Formation of 8-

- hydroxydeoxyguanosine in calf thymus DNA treated with tert-butylhydroquinone, a major metabolite of butylated hydroxyanisole. *Toxicol Lett* 1996; 89(2): 163-167 [Toxicol Lett 1996]
57. Li Y, Seacat A, Kuppusamy P, Zweier JL, Yager JD and Trush MA: Copper redox-dependent activation of 2-tert-butyl(1,4)hydroquinone: formation of reactive oxygen species and induction of oxidative DNA damage in isolated DNA and cultured rat hepatocytes. *Mutat Res* 2002; 518(2): 123-133 [Mutat Res 2002]
58. Li Y and Trush MA: Reactive oxygen-dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Research* 1994; 54: 1895s-1898s [Cancer Research 1994]
59. Eskandani M, Hamishehkar H and Ezzati Nazhad Dolatabadi J: Cytotoxicity and DNA damage properties of *tert*-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chemistry* 2014; 153: 315-320 [Food Chem 2014]
60. Giri AK, Talukder SSG and Sharma A: Mutachromosomal effects of *tert*-butylhydroquinone in bone marrow cells of mice. *Food Chem Toxicol* 1984; 22(6): 459-460 [Food Chem Toxicol 1984]
61. Mukherjee A, Talukder G and Sharma A: Sister chromatid exchanges induced by tertiary butyl hydroquinone in bone marrow cells of mice. *Environ Mol Mutagen* 1989; 13: 234-237 [Environ Mol Mutagen 1989]
62. Kalus WH, Münzner R and Filby WG: isolation and characterization of some products of the BHA-nitrite reaction: examination of their mutagenicity. *Food Addit Contam* 1990; 7(2): 223-233 [Food Addit Contam 1990]
63. Kalus WH, Münzner R and Filby WG: The reaction of butylated hydroxyanisole and its metabolites with some arylamines: investigations of product mutagenicity. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 96-99 [Environ Health Perspect 1994]
64. Suzuki T, Matsuoka A, Sawada M, Hayashi M, Miyata N and Sofuni T: Cytotoxicity and micronucleus induction by 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole and its metabolites in menadione- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-resistant cells. *Mutat Res* 1991; 253(3): 278-279 [Mutat Res 1991]
65. Ito N, Hirose M, Fukushima S, Tsuda H, Tatematsu M and Asamoto M: Modifying effects of antioxidants on chemical carcinogenesis. *Toxicol Pathol* 1986; 14(3): 315-323 [Toxicol Pathol 1986]
66. Masui T, Hirose M, Imada K, Fukushima S, Tamano S and Ito N; Sequential changes of the forestomach of F344 rats, Syrian golden hamsters, and B6C3F1 mice treated with butylated hydroxyanisole. *Japanese Journal of Cancer Research* 1986; 77: 1083-1090 [Jpn J Cancer Res 1986]
67. Ito N, Hagiwara A, Shibata M, Ogiso T and Fukushima S: Induction of squamous cell carcinoma in the forestomach of F344 rats treated with butylated hydroxyanisole. *Japanese Journal of Cancer Research* 1982; 73: 332-334 [Jpn J Cancer Res 1982]

- 1    68. Ito N, Fukushima S, Hagiwara A, Shibata M and Ogiso T: Carcinogenesity of  
2       butylated hydroxyanisole in F344 rats. J Natl Cancer Inst 1983; 70(2): 343-352  
3       [JNCI 1983]
- 4    69. Ito N, Fukushima S, Tamano S, Hirose M and Hagiwara A: Dose response in  
5       butylated hydroxyanisole induction of forestomach carcinogenesis in F344 rats. J  
6       Natl Cancer Inst 1986; 77(6): 1261-1265 [JNCI 1986]
- 7    70. Hirose M, Takesada Y, Tanaka H, Tamano S, Kato T and Shirai T: Carcinogenicity  
8       of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low  
9       doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat  
10      medium-term multi-organ carcinogenesis model. Carcinogenesis 1997; 19(1): 207-  
11      212 [Carcinogenesis 1997]
- 12    71. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 18, 1983 [FAS 18]
- 13    72. Ito N and Hirose M: The role of antioxidants in chemical carcinogenesis. Jpn J  
14      Cancer Research 1987(78): 1011-1026 [Jpn J Cancer Res 1987]
- 15    73. Denz FA and Liaurado JG: Some effects of phenolic anti-oxidants on sodium and  
16      potassium balance in the rabbit. Br J Exp Pathol 1957; 38: 515-524 [Br J Exp  
17      Pathol 1957]
- 18    74. Tamano S, Hirose M, Tanaka H, Hagiwara A and Shirai T; Variation in  
19      susceptibility to the induction of forestomach tumours by butylated  
20      hydroxyanisole. Food Chem Toxicol 1998; 36: 299-304 [Food Chem Toxicol 1998]
- 21    75.
- 22
- 23
- 24