

(案)

動物用医薬品評価書

酢酸トレンボロン

2019年4月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
1	
2	
3	
4	5
5	5
6	6
7	7
8	8
9	8
10	8
11	8
12	8
13	8
14	9
15	10
16	10
17	10
18	11
19	14
20	15
21	17
22	17
23	17
24	18
25	18
26	18
27	19
28	19
29	21
30	24
31	31
32	33
33	33
34	35
35	36
36	36
37	37
38	37
39	37
40	38

1	(4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	38
2	(5) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	40
3	(6) 23 週間亜急性毒性試験 (ラット、 α -TBOH)	42
4	(7) 亜急性毒性試験 (ラット、TBA) <参考資料>	44
5	(8) 皮下投与試験	44
6	(9) 移植投与試験	46
7	6. 慢性毒性及び発がん性試験	48
8	(1) 95~104 週間慢性毒性試験 (マウス)	48
9	(2) 112 週間慢性毒性試験 (ラット)	50
10	(3) 長期投与慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	53
11	(4) 発がん性試験 (ラット、 ^3H 標識 TBA) ① <参考資料>	53
12	(5) 発がん性試験 (ラット、 ^3H 標識 TBA) ② <参考資料>	53
13	(6) 発がん性試験 (ラット、 α -TBOH 又は β -TBOH) ③ <参考資料>	54
14	7. 生殖発生毒性試験	54
15	(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)	54
16	(2) 生殖毒性試験 (ラット) ①	57
17	(3) 生殖毒性試験 (ラット) ② <参考資料>	58
18	(4) 生殖発生毒性試験 (ラット) ①	59
19	(5) 生殖発生毒性試験 (ラット) ②	60
20	(6) 発生毒性試験 (ラット) ①	61
21	(7) 発生毒性試験 (ラット) ②	61
22	8. ホルモン作用に関する試験	62
23	(1) 14 日間投与試験 (豚、 β -TBOH 又は α -TBOH)	62
24	(2) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ①	63
25	(3) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ②	65
26	(4) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ③	66
27	(5) 14 週間投与試験 (豚、TBA)	67
28	(6) 30 日間投与試験 (サル、 β -TBOH)	69
29	(7) 8 週間投与試験 (サル、TBA) <参考資料>	70
30	(8) 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル、TBA)	70
31	9. その他の試験	71
32	(1) タンパク質結合に対する影響 (<i>in vitro</i>)	71
33	(2) タンパク質結合に対する影響 (ラット)	71
34	(3) ハーシュバーガーアッセイ (ラット)	72
35	(4) 体組成及び循環代謝に対する影響 (ラット)	72
36	(5) E2 β の排泄及び窒素貯留に対する影響 (牛)	73
37	(6) E2 β の排泄及び窒素貯留に対する影響 (豚)	73
38	(7) アンドロゲン作用及び同化作用に対する影響 (ラット)	73
39	(8) エストロゲン作用 (ラット)	73
40	(9) 免疫応答に関する特殊試験 (牛)	74

1	(10) 残留物の毒性に関する特殊試験	74
2	(11) 細胞形質転換試験	74
3	10. 臨床試験	75
4	(1) 忍容性試験 (牛)	75
5	(2) 安全性試験 (牛)	75
6	11. ヒトにおける知見	75
7	12. 薬理的試験	75
8	III. 国際機関等における評価について	77
9	1. JECFA の評価	77
10	2. 欧州の評価	77
11	2. 米国の評価	77
12	3. 豪州の評価	78
13	IV. 食品健康影響評価	79
14	表 57 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比	
15	較	80
16	<別紙 1: 代謝物/分解物略称>	85
17	<別紙 2: 検査値等略称>	86
18	<参照>	88
19		
20		

1 <審議の経緯>

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）

2014年 3月 25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0320第9号）、関係資料の接受

2014年 3月 31日 第509回食品安全委員会（要請事項説明）

2019年 4月 19日 第223回動物用医薬品専門調査会

2

3 <食品安全委員会委員名簿>

（2015年6月30日まで）

熊谷 進（委員長）*

佐藤 洋（委員長代理）

山添 康（委員長代理）

三森 国敏（委員長代理）

石井 克枝

上安平 浏子

村田 容常

（2017年1月6日まで）

佐藤 洋（委員長）

山添 康（委員長代理）

熊谷 進

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

（2018年6月30日まで）

佐藤 洋（委員長）

山添 康（委員長代理）

山本 茂貴

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

*：2012年7月2日から

4

（2018年7月1日から）

佐藤 洋（委員長*）

山本 茂貴（委員長代理*）

川西 徹

吉田 緑

香西 みどり

堀口 逸子

吉田 充

*：2018年7月2日から

5

6

1 <食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2015年9月30日まで)

山手 丈至 (座長)	川治 聡子	松尾 三郎
小川 久美子 (座長代理)	須永 藤子	宮田 昌明
青木 博史	辻 尚利	山崎 浩史
青山 博昭	寺岡 宏樹	吉田 和生
石川 さと子	能美 健彦	吉田 敏則
石川 整	舞田 正志	渡邊 敏明

(2016年3月31日まで)

青山 博昭 (座長)	須永 藤子	山崎 浩史
小川久美子 (座長代理)	辻 尚利	吉田 和生
青木 博史	寺岡 宏樹	吉田 敏則
石川さと子	能美 健彦	渡邊 敏明
石塚真由美	舞田 正志	
島田 章則	宮田 昌明	

(2017年9月30日まで)

青山 博昭 (座長)	島田 美樹	宮田 昌明
小川久美子 (座長代理)	須永 藤子	吉田 和生
青木 博史	辻 尚利	吉田 敏則
石川さと子	寺岡 宏樹	渡邊 敏明
石塚真由美	能美 健彦	
島田 章則	舞田 正志	

(2018年3月31日まで)

青山 博昭 (座長)	島田 美樹	能美 健彦
小川久美子 (座長代理)	下地 善弘	舞田 正志
青木 博史	須永 藤子	宮田 昌明
石川さと子	辻 尚利	吉田 敏則
島田 章則	寺岡 宏樹	渡邊 敏明

(2018年4月1日から)

青山 博昭 (座長)	島田 美樹	舞田 正志
小川久美子 (座長代理)	下地 善弘	宮田 昌明
青木 博史	須永 藤子	吉田 敏則
石川さと子	辻 尚利	渡邊 敏明
石塚真由美	寺岡 宏樹	
島田 章則	能美 健彦	

要 約

1
2
3 合成ホルモン剤である「酢酸トレンボロン」(CAS No.10161-34-9) について、JECFA
4 評価書、FDA 評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

5 評価に用いた試験成績等は、薬物動態 (ラット、牛等)、残留 (牛)、遺伝毒性、急性毒
6 性 (マウス及びラット)、亜急性毒性 (マウス、ラット等)、慢性毒性・発がん性 (マウス
7 及びラット)、生殖発生毒性 (ラット) の試験成績である。

8
9 [以降は審議後に記載。]

1 I. 評価対象動物用医薬品の概要

2 1. 用途

3 合成ホルモン剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：酢酸トレンボロン

7 英名：Trenbolone Acetate

8

9 3. 化学名

10 IUPAC : (17β)-3-Oxoestra-4,9,11-trien-17-yl acetate

11 CAS No. : 10161-34-9

12

13

14 4. 分子式

15 $C_{20}H_{24}O_3$

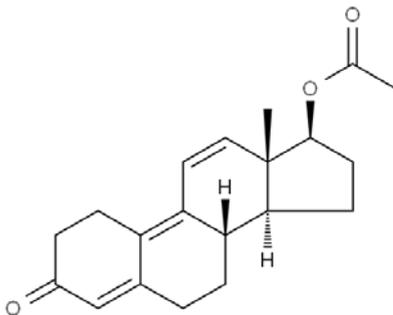
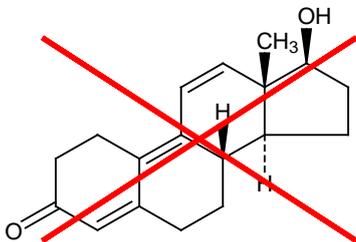
16

17 5. 分子量

18 312.41

19

20 6. 構造式



(参照 2) [2:Merck Index]

21

【島田美樹専門委員】

17 位が、 $OCOCH_3$ ではないでしょうか？この構造式はトレンボロンだと思います。

【宮田専門委員】

構造式がトレンボロンとなっている。OH→OAc

【青山座長】

これはトレンボロンで、17位にアセチル基があって初めて酢酸トレンボロンではないでしょうか？参照4の記載はそのようになっています。

【事務局より】

構造式を差し替えました。

1

2 7. 使用目的及び使用状況

3 酢酸トレンボロン (TBA) は、タンパク同化作用を持つ合成ステロイドである。分子
4 の17位に α と β の2種類のエピマーが存在する。市販品はTBAの β -エピマーである。
5 TBAは、**肉用牛**に対して体重増加、飼料効率の向上、窒素保持の亢進を目的に使用され
6 る。投与は、TBA単独で又は17 β -エストラジオール (E2 β) 又はゼラノールと併用して、
7 通常、食肉処理前の60～90日間にわたり耳下に**インプラント**を皮下移植投与
8 (**subcutaneous implant in the ear**) する。(参照3) [3:TRS763]

9 海外では、米国、カナダ、オーストラリアにおいて一定の処方に基づきTBA等のホル
10 モン剤の使用が認められている。欧州では、~~ECが~~1988年に成長促進を目的とした使
11 用が禁止され、1989年にはこれらのホルモン剤が使用された牛肉及び牛肉製品の輸入
12 が禁止された。その後、~~獣医公衆衛生に関する科学委員会 (SCVPH) が~~ホルモン剤に
13 ついてリスク評価が実施され、E2 β を永続的に使用禁止、その他の物質には、さらなる
14 科学的情報が提供されるまで暫定的に使用禁止とされた。

15 日本では、1960年代から去勢牛の肥育促進を効能・効果とする天然型のホルモン剤が
16 承認、使用されていたが、1999年に動物用医薬品業者が自主的に承認を取り下げた。~~現~~
17 ~~在、合成型の~~TBAを主剤とするホルモン剤については、~~承認されていない~~これまで承
18 認、使用されたことはない。(参照4) [4:食安委 ファクトシート]ヒト用医薬品としての承
19 認・使用されたことはない。

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

21

¹ 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)

1 II. 安全性に係る知見の概要

2 本評価書は、JECFA 評価書、FDA 評価書等を基に、TBA の毒性に関する主な知見を
3 整理した。

4 代謝物略称及び検査値等略称をそれぞれ別紙 1 及び別紙 2 に示す。

5

【事務局より】

代謝物の記載について：以下のように統一しています。

α -トレンボロン、 17α -トレンボロン、 17α -TBOH $\rightarrow\alpha$ -TBOH

β -トレンボロン、 17β -トレンボロン、 17β -TBOH $\rightarrow\beta$ -TBOH

6

7 1. 薬物動態試験

8 (1) 薬物動態試験 (ラット)

9 胆管カニューレを装着したラット (SD 系、日齢、雌雄及び匹数不明) に ^3H 標識 TBA
10 を単回静脈内投与 (28 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。

11 投与した放射活性の 84%が投与後 24 時間に胆汁中に排泄され、6%が遊離体-TBOH、
12 37%がグルクロン酸抱合体、37%が硫酸抱合体であった。3-Ketotrienic 構造体は胆汁中
13 放射活性の 66%を占めた。 17α -ヒドロキシトレンボロン (α -TBOH) は、胆汁中から検
14 出されなかった。同定された 3-Ketotrienic 代謝物を図 1 に示す。(参照 5、6) [5:5:FAS23
15 pi][6:NADA 138-612, 1986 IV-F (Pottier et al., 1978)] 島田美樹専門委員、宮田専門委員

16

【事務局より】

「遊離体」とありますが、酢酸エステルが外れたものとする、TBOH のことと考えてよい
でしょうか。

【島田美樹専門委員】

はい。17 位が OH であるトレンボロンをさしていると思います。

【宮田専門委員】

TBOH と考えられます。

【事務局より】

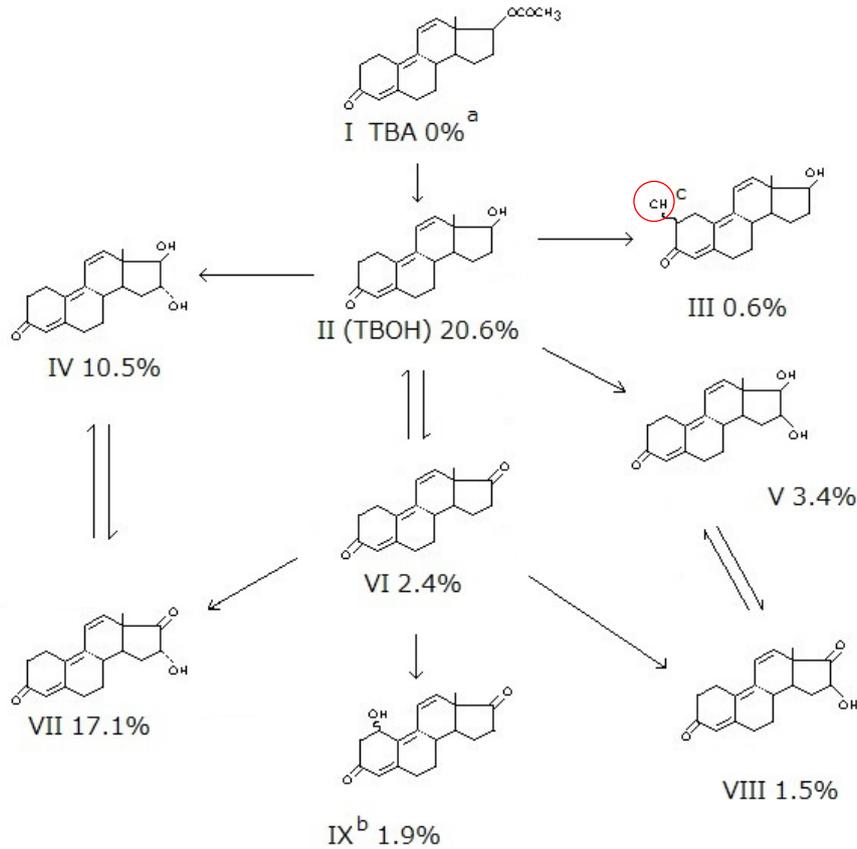
「3-Ketotrienic 構造体は胆汁中放射活性の 66%を占めた」とありますが、図 1 の I~IX の
百分率の和は 58%にしかありません。66%はどういう計算をしたのか不明です。

【島田美樹専門委員】

The identified 3-ketotrienic metabolites are presented in Figure 1.となっていて、同定できた
代謝物のみが記載されているということではないでしょうか？

17

18



- a. 胆汁放射活性のパーセンテージを意味する
- b. 暫定的に同定された構造物を表示している
- c. 化合物IX及びIIIの1-又は2-水酸基の配置は詳細不明
- d. 二重矢印は可逆性の可能性を意味する

図 1 ラットの胆汁における TBA の胆汁中代謝物

【事務局より】

IIIの2位の置換基はメチル基と思われます。図表の脚注c. が正しいなら、図を修正（2位のCH₃をOHに）する必要があります。一方、図が正確だとすれば、脚注を修正する必要があります。ご確認をお願いいたします。

【島田美樹専門委員】

2位にCH₃基が入る代謝反応は考えにくく、元文献の図からOH基であると思えます。

(2) 薬物動態試験（牛、TBA 単独投与）

① ³H 標識 TBA 投与試験（牛）①

未経産牛（月齢不明、2頭）に³H標識TBAを単回皮下移植投与（300mg/頭）し、薬物動態試験が実施された。試料は、60日間移植投与直後に1頭から、60日間移植投与終了から16日後に別の1頭から採取した。

肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の³H放射活性の含有量は0.5～25 ng eq/gであった。

これらの残留物のうち1~5%がTBA、トレンボロン (TBOH) 及びTBOHのグルクロン酸抱合体であり、5%までが他の有機溶媒中にみられた。残りの放射活性のうち約50%が水溶性であり、不溶性の残留物はタンパク分解酵素のペプシン及びトリプシンで処理することにより水溶性となった。[島田美樹専門委員 (参照 5) [5:5:FAS23 p2 (Ryan & Hoffman, 1978)]

単位修正 : 「ppb」 → 「ng eq/g」

② ³H 標識 TBA 投与試験 (牛) ②

未経産牛(月齢不明、2頭)に³H標識TBAを単回皮下移植投与 (s.c. implantations) (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。インプラント (投与時の放射活性の31%を含有) は、移植投与 60 日後に除去された。試料は、インプラント除去直後に1頭から、インプラント除去から 16 日後に別の1頭から採取した。

酢酸エチルで抽出した血漿中放射活性は大部分が TBOH と考えられた。血漿中からは大部分の試料で TBA は検出されなかった。投与 1~55 日後の血漿中濃度は 5~13 ng eq/mL であり、投与 58 日後には、総放射活性及び不揮発性放射活性の両方に大幅な増加 (17~20 ng eq/mL) が観察された。血漿中総放射活性及び不揮発性放射活性の消失半減期は、移植投与期間中でそれぞれ 32 及び 29 日であり、休薬期間中 (インプラントの除去後) はそれぞれ 18 及び 14 日であった。血漿中の酢酸エチルで抽出可能な放射活性は移植投与 1~55 日後において総放射活性の 10~74%であったが、この比率はインプラント除去 16 日後には 5%に低下した。インプラント除去 16 日後において、組織中放射活性は筋肉で 58%、肝臓で 75%、腎臓で 77%、脂肪で 74%まで低下した。(参照 5) [5:5:FAS23 p2(Chasseaud et al., 1976)]

単位修正 : 「ppb」 → 「ng eq/mL」

③ ³H 標識 TBA 投与試験 (牛) ③

未経産牛 (月齢不明、2 頭) に³H 標識 TBA を移植投与 (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。投与 2 か月後に、カテーテル留置により 1 頭から胆汁が採取された。胆汁採取後に、背部及び後肢の筋肉及び肝臓中の放射活性濃度が測定された。各組織及び胆汁中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度が、同位体逆希釈法により測定された。

筋肉中の放射活性濃度は、部位に関係なく、肝臓の 1/10 であった。一方、胆汁中濃度は肝臓中濃度の 15 倍であった。β-TBOH の濃度は概して (on average)、様々な組織において、0.05~0.1 ng eq/g であった。α-TBOH 濃度は筋肉では 0.005 ng eq/g であったが、肝臓では 0.88 ng eq/g に達した。酵素性分解後、胆汁から β-TBOH は検出されなかったが、α-TBOH 濃度は約 200 ng eq/mL に達した。α-TBOH は、筋肉中では総 TBOH の 10%、肝臓では 90~95%、胆汁では 99%以上を占めた。(参照 5)

[5:5:FAS23 p3(Pottier, 1979)] 単位修正 : 「ppb」 → 「ng eq/g 又は mL」

④ ³H 標識 TBA 投与試験 (牛) ④

未経産牛 (月齢不明、2 頭) の耳下に³H 標識 TBA を移植投与 (300 mg/頭 ; 388

1 mCi) し、薬物動態試験が実施された。投与 60 日後の肝臓及び筋肉中残留濃度が測定
 2 された。総残留濃度は肝臓及び筋肉でそれぞれ 32.2 及び 2.4 ng eq/g であった。直接
 3 又は酵素加水分解及びタンパク質分解後に、厳密に標準化した有機溶媒又は水で抽出
 4 し、肝臓及び筋肉における放射活性の分布を測定した。これらの過程を経ることで放
 5 射活性の回収率はほぼ 100%となり、総残留物の 5~15%しか有機溶媒から抽出でき
 6 なかったことが示された。残りの放射活性は水性溶媒に可溶性であるか、又は組織構
 7 造と結合状態であった。

8 別の試験では、子牛に TBA を投与 (3,500 mg/頭) し、投与 68 日後の子牛由来の
 9 肝臓組織を用いてラジオイムノアッセイ (RIA) により TBA/TBOH 比を測定した。
 10 trienic ステロイド型の残留物は、有機溶媒で抽出可能な残留物を含有する分画からの
 11 み得られた。(参照 5、7) [5:FAS23 p3][7:FNP41-1, 1987 p31(Hoffman et al., 1984)]

12 単位修正 : 「 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 」 → 「 $\text{ng eq}/\text{g}$ 」

13 ⑤ ^3H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑤

14 不妊牛 (barren) (月齢不明、雄 2 頭) に ^3H 標識 TBA を静脈内投与 (10 mg/頭)
 15 し、薬物動態試験が実施された。

16 その結果、 ^3H 標識 TBA は血漿中で速やかに加水分解され、投与 0.1 時間後に TBA
 17 としては僅か 2%の放射活性しか回収されなかったが、70%は TBOH として回収され
 18 た。投与 2 時間後には放射活性は抽出されず、抽出分画では極性物質が主要であった。
 19 投与 3~8 時間後以降、TBOH の血中消失半減期 ($T_{1/2}$) は 1.5 時間であった。(参照
 20 5) [5:FAS23 p3(Pottier et al., 1975)]

21 ⑥ ^3H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑥

22 不妊牛 (月齢不明、雄 2 頭) の耳根部に ^3H 標識 TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭)
 23 し、薬物動態試験が実施された。

24 インプラントからの吸収は緩やかで、インプラントからの消失半減期は 68~84 日
 25 であった。移植投与後 3 か月にわたり、放射活性の約 33%が血漿中で抽出され、その
 26 うちの 70%を TBOH が占めた。主要排泄経路は胆汁及び尿中であつた。投与 3 か月
 27 後の組織中濃度は肝臓 (6.5 ng/g) 及び腎臓 (4.5 ng/g) を除き約 1 ng/g であつた。組
 28 織中放射活性の 25%が抽出可能であり、そのうち 40%が TBOH であつた。しかし、
 29 肝臓及び腎臓においては、僅か 10%のみが抽出可能であつたが、腎臓周囲脂肪では、
 30 放射活性の 88%までが抽出可能であつた。腎臓周囲脂肪の放射活性の 50%は TBA で
 31 あつた。投与部位における放射活性濃度は、移植投与量の 8~21%であつた。(参照 5)
 32 [5:FAS23 p3(Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)] 単位修正 : 「ppb」 → 「ng/g」

33 ⑦ ^3H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑦

34 泌乳牛 (月齢不明、2 頭) に ^3H 標識 TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭) し、薬物
 35 動態試験が実施された。

36 インプラントからの消失は緩やかで、消失半減期は約 60 日であつた。移植投与後 5
 37 か月間にわたり血漿中に存在する放射活性の約 17%は抽出可能であつた。乳汁中に排
 38 39 40

1 泄された放射活性は1%未満であった。乳汁中の放射活性の10%が抽出可能であり、
 2 そのうちの25%がTBOHであった。移植投与5か月後の組織中濃度は、肝臓(3.4 ng
 3 eq/g)及び腎臓(2.7 ng eq/g)を除き、約1 ng eq/g又はng eq/mLであった。肝臓及
 4 び腎臓(いずれも10%)を除き、組織中放射活性の約25%は抽出可能であり、そのう
 5 ちの約40%はTBOHであった。対照的に、腎臓周囲脂肪においては総放射活性の88%
 6 が抽出可能で、そのうち50%はTBAであった。未変化のTBAは他の組織ではみら
 7 れなかった。投与5か月後の投与部位における放射活性濃度は、移植投与量の8~21%
 8 であった。(参照5) [5:FAS23 p4(Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)]

9 正:「ppb」→「ng eq/g」又は「ng eq/mL」

10
 11 ⑨ 非標識TBA投与試験(牛)①

12 子牛(月齢不明、雄2頭)の右耳根部にTBAを皮下移植投与(140 mg/頭)し、薬
 13 物動態試験が実施された。

14 蛍光分析により、尿中に高濃度のTBOHの排泄が検出された。投与3時間以内で
 15 は、比較的高濃度が測定された(50~80 ng/mg クレアチニン)。投与10時間後に
 16 TBOHは最高濃度(約120 ng/mg クレアチニン)に達し、その後2日以内に急激に
 17 低下した。E2βを追加移植投与するとTBOHの排泄はごく僅かに減少した。(参照5)

18 [5:FAS23 p1(Bouffault, 1977)]

19
 20 ⑩ 非標識TBA投与試験(牛)②

21 未経産牛(頭数不明、15か月齢、雌)にTBAが9週間経口投与(0.4又は8 mg/
 22 頭)された。投与1及び2週後に尿中からTBAが検出された。TBAは、最終投与2
 23 週後にいくつかの尿試料から検出されたが、最終投与3週後には検出されなかった。

24 (参照5) [5:FAS23 p2(Stephany et al., 1976)]

25
 26 (3) 薬物動態試験(牛、エストラジオールとの併用)

27 ~~① 薬物動態試験(牛)①~~

28 ~~子牛(月齢不明、雄3~4頭/群)に³H標識E2β(20 mg/頭)を、単独又はTBOH(140~~
 29 ~~mg/頭)と併用して皮下移植投与し、薬物動態試験が実施された。~~

30 ~~E2β投与群では、E2βの血漿C_{max}は3 nmol/Lであった。投与放射活性の95%は投与~~
 31 ~~20日以内に尿及び糞中に排泄され、投与31日後以降は尿又は糞中からは検出されな~~
 32 ~~かった。E2β+TBOH投与群では、E2βの血漿C_{max}は0.33 nmol/Lであった。放射活性の~~
 33 ~~排泄は投与107日後まで観察され、その時点の糞及び尿中放射活性は1.4~3 nCi/gであ~~
 34 ~~った。(参照5) [5:FAS23 p1(Riis & Suresh, 1976)]~~

島田美樹専門委員、宮田専門委員

35
【事務局より】

E2βの動態にTBOH(遊離体)が影響するかをみている試験です。本評価に必要な試験か、ご確認をお願いします。

【島田美樹専門委員】

本質的には、必要ないかと思えます。

【宮田専門委員】

TBOH の動態についての記載がありませんので削除でいいと考えます。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

② 薬物動態試験（牛）②

牛（月齢不明、去勢雄 2 頭）に ^3H 標識 TBA を E2 β (estradiol) (40 mg/頭) と併用して単回皮下移植投与 (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。インプラントは投与 60 日後に除去され、1 頭からは移植投与終了直後に、もう 1 頭からはインプラント除去から 16 日後に試料を採取した。

インプラント除去直後（移植投与 60 日後）では、投与放射活性の 28% が残存していた。酢酸エチル抽出の血漿中放射活性は主に TBOH によるものと考えられ、ほとんどの血漿試料中で TBA はみられなかった。総放射活性及び不揮発性放射活性の血中消失半減期はいずれも 26 日であった。インプラント除去直後の酢酸エチル抽出の血漿中放射活性は、総放射活性の 3~5% の範囲であった。インプラント除去後 16 日までの血漿中濃度を測定したところ、投与 1~60 日後の間に低下し、総放射活性及び不揮発性放射活性の血中消失半減期はそれぞれ 50 及び 55 日であった。組織中の放射活性は、インプラント除去から 16 日の間に筋肉で 46%、肝臓及び腎臓で 2%、脂肪で 29% まで低下した。（参照 5） [5:FAS23 p4(Chasseaud et al., 1976)]

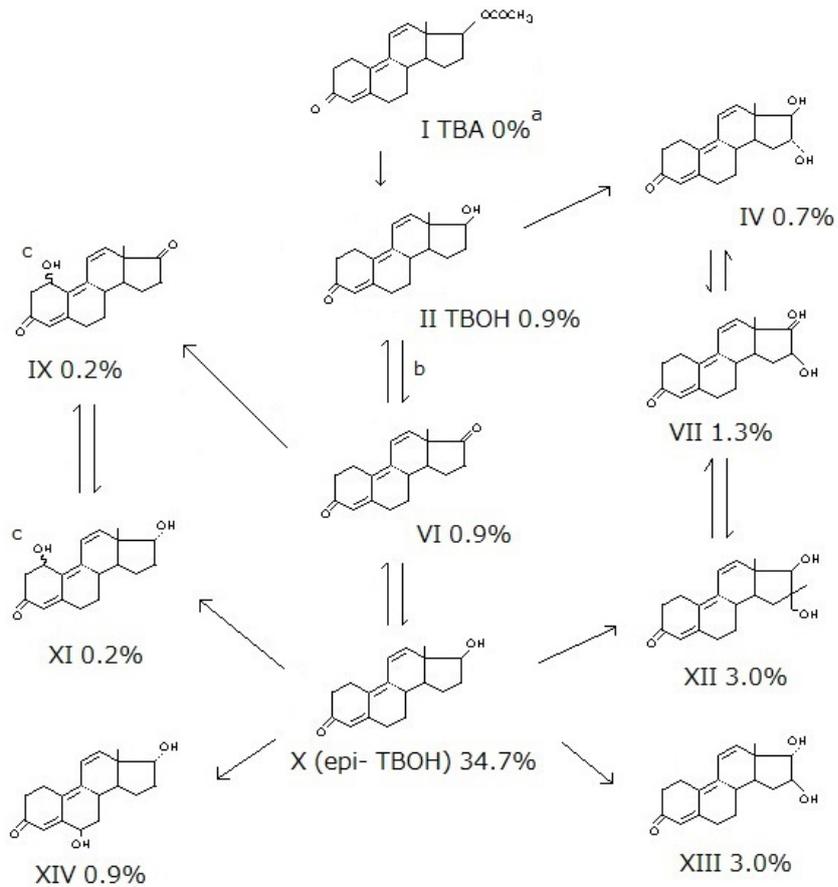
(4) 代謝試験（牛）

未経産牛（頭数不明、14 か月齢）に ^3H 標識 TBA を静脈内投与 (10 mg/kg 体重) し、代謝試験が実施された。

投与後最初の 24 時間に投与放射活性の 80% が胆汁中に排泄された。そのうち 3.5% が遊離体 TBOH であり、30% がグルクロン酸抱合体として、30% が硫酸抱合体として排泄された。胆汁中で特定された 3-Ketotrienic 構造を有する代謝物を図 2 に示した。Ketotrienic 構造を失った 3 種類の化合物もまた分離された。これらの代謝物を図 3 に示した。トリチウム水として分離されたのは、投与放射活性の 1% 未満であった。（参照 5、6） [5:FAS23 p3][6:NADA 138-612, 1986 IV-F(Pottier et al., 1978)]

島田美樹専門委員

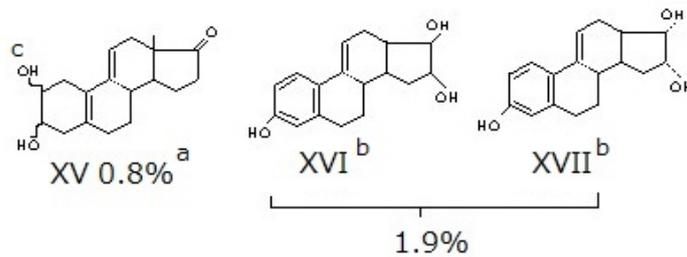
1



- a 胆汁活性のパーセンテージを意味する
 b 二重矢印は可逆性の可能性を示す
 c 構造物 IX 及び XI の 1-水酸基の配置は暫定的に同定されたものを記述しており、詳細不明

図 2 未經産牛の胆汁中の 3-ketotrienic 代謝物

2
3
4
5
6
7
8
9



- a 胆汁の放射能のパーセンテージを意味する
 b 暫定的に同定された構造を示す
 c 水酸基の配置は詳細不明

図 3 未經産牛の胆汁中の非 3-ketotrienic 代謝物

10
11
12
13
14
15
16
17

1 **調査事業**

2 (5) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独)

3 牛 (未成熟雌、20 頭) に TBA を ~~インプラントで~~皮下移植投与 (3 個又は 4 個/頭、
4 インプラント用量 140 mg/個) し、投与 30 日後の肝臓中及び複数部位 (臀部、腰、肩、
5 首) の筋肉中の TBA 代謝物が検討された。結果を表 1 に示した。

6 肝臓中の主な残留物は α -TBOH であり、筋肉中の主な残留物は β -TBOH であった。
7 α -TBOH の含有量は、肝臓中で 4.3 ± 2.3 ng/g であったが、筋肉組織中では 0.4 ng/g
8 未満であった。(参照 8) [8:MacNeil et al., 2008]

9
10 表 1 TBA を ~~インプラント~~皮下移植投与した牛の肝臓及び筋肉中における
11 残留 α -TBOH 及び β -TBOH 濃度

組織 (n=20)	α -TBOH 濃度 ng/g		β -TBOH 濃度 ng/g	
	陽性数	検出値幅	陽性数	検出値幅
肝臓	20	0.7-11.6	11	ND-2.7
首部筋肉	4	ND-0.2	20	0.2-0.5
肩部筋肉	2	ND-<0.2	20	<0.2-0.4
腰部筋肉	0	ND	20	<0.2-0.6
臀部筋肉	13	ND-<0.2	20	ND-1.0

12 **【調査事業有識者検討会結論】 (分類結果 A)**

13 • 未成熟な雌に投与している論文である。筋肉部位ごとにどのくらい未変化体や代謝物がある、
14 という論文として採用し、事務局にて評価書案の薬物動態の項の作成に利用できるか検討す
15 る。

16 **調査事業**

17 (6) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独及び他ホルモン剤併用)

18 TBA (200 mg) とエストラジオール (40 mg) の合剤を皮下投与された牛 (去勢雄、体重
19 255~404 kg 体重、8 頭) の血液、尿及び糞から、TBA 代謝物がメチル tert-ブチルエ
20 ーテルで抽出された後、LC-MS 法によって解析された。

21 尿及び糞では、 α -TBOH が主要な代謝物であった。血清中の主要な代謝物は β -TBOH
22 であり、TBA を投与された全ての牛の血清から検出された。(参照 9) [9:Blackwell et al.,
2014]

23 **【調査事業有識者検討会結論】 (分類結果 A)**

24 • 排泄される尿中と胆汁中に α -TBOH の形で出る点、血中では、尿中と異なり β -TBOH が主た
25 る代謝物であることなどが記載されている。
• 評価書に代謝経路を記載する際に、種々の組織の主たる代謝物を記載する必要がある。そのた
めに複数の論文を採用する必要があることから、当論文は残す。

26 (7) 薬物動態試験 (豚、TBA 単独又は他ホルモン剤併用)

27 豚 (雄、雌及び去勢雄) に TBA (1~2 ppm) を単独又は E2 β (2 ppm) 若しくはエ

1 チニルエストラジオール (2 ppm) と併用して 5~8 週間混餌投与した。

2 その結果、最終投与 5 及び 6.5 週後には、尿中から TBOH は検出されなかった。総ス
3 テロイドエストロゲンの尿中排泄量は、最終投与 7 週後において増加しなかった。(参
4 照 5) [5:FAS23 p15(Kroes et al., 1976a)]

6 (8) 残留物のバイオアベイラビリティ (ラット)

7 ³H 標識 TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭) 60 日後に牛 (雌 2 頭) の肝臓、腎臓又は筋
8 肉を凍結乾燥したもの又は酢酸エチル抽出したものがラット (系統、日齢及び雌雄不明、
9 3 匹/群) に経口投与された。牛における ³H 標識 TBA 濃度は肝臓で 30 ng eq/g、腎臓で
10 24 ng eq/g、筋肉で 3.2 ng eq/g であった。これらの組織をラットに経口投与後 3 日間に
11 おける放射活性の排泄を表 2 に示した。(参照 5) [5:FAS23 p4(Hawkins et al., 1979)]

13 表 2 ³H 標識 TBA を移植投与された牛由来の組織を経口投与された
14 ラットにおける放射活性の排泄

投与方法	投与組織 (n=3)	投与放射活性に対する排泄率 (%)		
		尿	糞	合計
凍結乾燥組織	肝臓	3	81	84
	腎臓	2	93	94
	筋肉	6	85	91
抽出組織	肝臓	5	78	83
	腎臓	2	103	105
	筋肉	2	73	75

15 前述の雌牛 2 頭由来の肝臓、腎臓又は筋肉を 1 時間凍結乾燥したものが胆管カニュー
16 レを装着した 24 時間絶食ラット (系統、日齢及び雌雄不明、3 匹/群) に経口投与され
17 た。これらの組織を経口投与後 48 時間の放射活性の体内動態を表 3 に示した。(参照 5)
18 [5:FAS23 p4(Hawkins et al., 1979)]

21 表 3 ³H 標識 TBA を移植投与された牛由来の組織を経口投与された
22 ラット (胆管カニューレ装着) における放射活性の排泄

投与組織 (n=3)	投与放射活性に対する排泄率 (%)				
	胆汁	尿	糞	消化管/内容物	合計
肝臓	7	5	59	2	74
腎臓	3	1	31	60	95
筋肉	3	2	56	検出せず	61

24 **調査事業**

25 (9) 代謝試験 (ヒト、標識 β-TBOH)

26 ヒト (性別不明、人数不明) に、~~放射性ラベルされた~~ [6,7-³H]標識 β-TBOH をハン
27 バーガーに注入して食させることで経口投与し、尿を 72 時間に渡って採取した。

28 放射活性の排泄率は、24 時間までに約 50%であった。尿を、酸化アルミニウム (中

性アルミナ) を用いたカラムクロマトグラフィーにより分離し、分画毎の放射活性の割合を測定した結果、主要な放射活性は、グルクロン酸抱合体 (54.7%) 分画にあり、硫酸抱合体、遊離型それぞれの分画の放射活性の割合は、20.9%及び24.4%であった。

各分画 (抱合体分画は酵素処理にて、脱抱合したもの) に含まれる代謝物を逆相カラムグラフィーにて解析した。硫酸抱合体分画は、主に2つの未知代謝物より構成されていた。遊離型分画は、 β -TBOH、 α -TBOH、トレンジオン及び複数の極性代謝物より構成されていた。グルクロン酸抱合体分画は、主に ~~α -トレンボロン~~- α -TBOH と少量の β -TBOH より構成されていた。(参照 10) [10:Spranger and Metzler, 1991]

【調査事業有識者検討会結論】(分類結果 A)

・代謝経路等を見るのに最も優れた論文である。

2. 残留試験

(1) 残留試験 (子牛)

① 子牛①

子牛 (月齢不明、体重 150~200 kg、去勢雄及び雌各 6 頭/時点) の耳に、[6,7-³H] 標識 TBA を皮下移植投与 (200 mg/頭) し、残留試験が実施された。移植投与 15 及び 30 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び胆汁並びに試験期間中の血液放射活性が測定された。放射活性は、無処置及び凍結乾燥後の両方で、組織を酸化処置した後に測定した。組織中の総放射活性濃度及び非揮発性放射活性濃度を表 4 及び 5 に示した。

試験期間中の血漿中放射活性濃度はほぼ一定を保ち、平均 4~5 ng/mL であった。投与 15 及び 30 日後の組織中放射活性濃度は、同程度又は投与 30 日後の方が高かった。組織中放射活性濃度は肝臓で最も高く、投与 15 日後では 43.8 ng eq/g、30 日後では 50.5 ng/g であった。腎臓では 16~22 ng/g、筋肉及び脂肪では 2~3 ng/g であった。胆汁中濃度は高く、投与 15 及び 30 日後でそれぞれ 1,073 及び 736 ng eq/g であった。総放射活性濃度と揮発性放射活性濃度を比較すると、僅かなトリチウム水しか生成されないことが判明した。

また、肝臓試料をホモジナイズし、その一部をジエチルエーテル又は酢酸エチルを用いて抽出した。ホモジナイズした肝臓試料の一部は β -グルクロニダーゼで一晩インキュベーション後に抽出した。肝臓から抽出された放射活性を表 6 に示した。肝臓中放射活性の約 10%はジエチルエーテル又は酢酸エチルで抽出され、 β -グルクロニダーゼとともにインキュベーション後、この比率が 20~30%に増加したことからグルクロン酸抱合体の存在が示唆された。(参照 5~7) [5:FAS23 p1] [6:NADA 138-612, 1986 IV-F] [7:FNP41-1, 1987, p30~31] (Hawkins, et al., 1984)

単位修正: 「ng/g 又は mL」 → 「ng eq/g 又は mL」

1 表 4 組織中の総放射活性濃度* (ng eq/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)	
	15	30
肝臓	43.8±21.7	50.5±11.4
腎臓	16.4±5.6	21.8±5.1
筋肉	2.41±0.65	3.28±0.50
脂肪	2.45±1.15	2.40±0.88
胆汁	1,163±1,046	741±148

2 *: 平均値±標準偏差

3
4 表 5 組織中の非揮発性放射活性濃度* (ng eq/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)	
	15	30
肝臓	42.5±22.0	49.3±10.9
腎臓	15.1±6.3	20.5±5.2
筋肉	1.58±0.49	2.64±0.36
脂肪	2.38±1.36	2.31±0.74
胆汁	1,073±918	736±151

5 *: 平均値±標準偏差

6
7 表 6 肝臓から抽出した放射活性 (試料中の総放射活性に占める比率 (%))

移植投与後 経過日数 (日)	無処理		β-グルクロニダーゼ処理	
	ジエチルエーテ ル抽出	酢酸エチル抽出	ジエチルエーテ ル抽出	酢酸エチル 抽出
15	11.1±3.1	14.9±3.3	25.9±5.5	28.9±5.1
30	8.1±2.1	11.7±2.5	18.3±3.2	21.4±3.9

8
9 ② 子牛②

10 子牛 (月齢不明、雌雄各 3 頭/投与群/時点、雌雄各 2 頭/対照群/時点) に TBA の配
11 合剤 (TBA (140 mg) + E2β (20 mg)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与
12 群では投与 15、30、50 及び 70 日後、対照群では投与 30 及び 70 日後の肝臓、腎臓
13 及び筋肉中濃度が RIA により測定された。肝臓及び腎臓については α-TBOH 及び β-
14 TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体が測定され、筋肉については総 α-TBOH 及び
15 総 β-TBOH (いずれも遊離体+抱合体) が測定された。

16 TBOH の濃度については有意な性差は認められなかった。結果を表 7 及び表 8 に
17 示した。(参照 7、11) [7:FNP41-1, 1987 p34~35] [11:FNP41-2, 1989 p95] (Roberts and Cameron,
18 1986) 表の単位修正: 「ng/kg」 → 「pg/g」

1 表 7 TBA 配合剤*を移植投与した子牛における組織中の β -TBOH の濃度 (pg/g)

組織 (n=6)	測定対象	移植投与後経過日数 (日)			
		15	30	50	70
肝臓	遊離体	414±178	908±404	787±413	763±226
	抱合体	404±198	366±112	366±95.7	436±56.9
腎臓	遊離体	423±208	586±52.7	226±156	389±211
	抱合体	240±43.7	207±47.6	198±50.4	252±61.5
筋肉	遊離体+抱合体	237±87.5	228±108	261±91.6	219±125

2 * : TBA (140 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有

3
4 表 8 TBA 配合剤*を移植投与した子牛における組織中の α -TBOH の濃度 (pg/g)

組織 (n=6)	測定対象	移植投与後経過日数 (日)			
		15	30	50	70
肝臓	遊離体	982±245	1,080±353	683±301	540±149
	抱合体	1,200±598	754±315	584±226	733±206
腎臓	遊離体	322±184	196±90.8	193±54.6	142±37.7
	抱合体	312±283	221±340	139±37.7	91.6±1.92
筋肉	遊離体+抱合体	81.2±39.6	105±43.7	66.6±32.5	44.2±16.5

5 * : TBA (140 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有

6
7 (2) 残留試験 (未經産牛)

8 ① 未經産牛①

9 牛 (未經産牛、月齢不明、体重約 280 kg、6 頭/時点) に TBA の単剤を移植投与 (300
10 mg/頭) し、残留試験が実施された。投与 15、30、60 及び 75 日後に、筋肉、肝臓、
11 腎臓、脂肪及び血漿中の β -TBOH、及び α -TBOH 及び E2 β のそれぞれの遊離体及び
12 抱合体を測定した。

13 β -TBOH 及び α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留濃度を表 9～
14 12 に示した。

15 投与 15 日後における筋肉、肝臓及び腎臓中の β -TBOH の遊離体濃度は、同様であ
16 る。脂肪中濃度は、その他の組織中濃度のほぼ 2 倍であった。投与 60 日後には β -
17 TBOH の遊離体濃度は、投与 15 又は 30 日後の濃度と比較して有意に減少した。

18 β -TBOH の抱合体は肝臓及び腎臓のみから検出された。 α -TBOH の遊離体は、筋肉
19 及び腎臓では投与 30 日後まで、肝臓及び脂肪では試験期間を通じて検出された。(参
20 照 7、11) [7:FNP41-1, 1987 p33~34] [11:FNP41-2, 1989 p92~93] (Arts, et al., 1986)

21 表の単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

表 9 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の β -TBOH 遊離体の濃度 (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	15	30	60	75
肝臓	528±162	440±148	253±67	110±63
腎臓	530±310	445±195	340±72	145±66
筋肉	526±237	645±328	152±24	187±103
脂肪	1,090±546	1,020±535	345±164	158±109

* : TBA (300 mg/頭) を含有

表 10 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の β -TBOH 抱合体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	15	30	60	75
肝臓	1,030±650	972±470	909±268	499±176
腎臓	179±62	167±38	144±34	33
筋肉	60	75	34	97±34
脂肪	31	46	31	30

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

表 11 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の α -TBOH 遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	15	30	60	75
肝臓	440±192	286±78	63±30	71±25
腎臓	144±87	155±47	57	26
筋肉	73±78	102±106	60	42
脂肪	152±48	113±54	93±19	70±27

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

表 12 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の α -TBOH 抱合体の濃度* (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	15	30	60	75
肝臓	4,260±1,730	2,920±1,130	1,700±755	1,570±733
腎臓	464±353	309±176	200±103	242±107
筋肉	75	59	20	81
脂肪	62	60	40	44

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

【宮田専門委員】

表 9～表 16 の検出限界値はわかりますか？

【事務局より】

検出限界不明です。表下の中にその旨を追記しました。

② 未経産牛②

牛（未経産牛、月齢不明、体重約 270 kg、6 頭/時点/群）の耳に TBA の単剤を 60 日の間隔で 2 回移植投与（300 mg/頭）し、残留試験が実施された。投与群は第 2 回投与 0、15、30 及び 60 日後の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の β -TBOH 及び α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度が HPLC/RIA により測定された。なお、この試験における第 2 回投与は、初回とは反対側の耳で実施された。

β -TBOH 及び α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中濃度を表 13～16 に示した。

β -TBOH の遊離体の濃度は脂肪中で最も高く、筋肉、肝臓及び腎臓中濃度の 3 倍以上であった。なお、筋肉、肝臓及び腎臓中濃度はいずれもほぼ同様であった。 β -TBOH の抱合体は肝臓でみられた。

α -TBOH の遊離体及び抱合体は肝臓及び腎臓で有意な濃度で検出され、肝臓中における最高濃度は 4,000 pg/g であった。

α -TBOH 又は β -TBOH のそれぞれの遊離体又は抱合体の濃度は、第 2 回移植投与 15 日の試料のほぼ全例で最も高かった。（参照 11） [11:FNP41-2, 1989 p93~95] (Heister, M., 1986) 表の単位修正：「ng/kg」→「pg/g」

表 13 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における組織中の β -TBOH の遊離体の濃度 (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
		第 2 回 : 15	第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	95±71	331±150	212±84	181±125
腎臓	176±162	586±221	259±129	156±91
筋肉	164±143	460±196	210±70	268±116
脂肪	523±502	2,260±980	716±188	511±224

* : TBA (300 mg/頭) を含有

表 14 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における組織中の β -TBOH の抱合体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
		第 2 回 : 15	第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	385±378	1,170±571	1,090±353	1,030±480
腎臓	69	137±76	123±23	128±23
筋肉	48	25	26	23
脂肪	14	8	10	17

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

表 15 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の α -TBOH の遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
		第 2 回 : 15	第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	97±54	247±134	256±78	187±115
腎臓	37	110±51	72±30	44
筋肉	53	96±24	44	45
脂肪	21	60	86±32	77±19

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

表 16 TBA 単剤*を移植投与した未経産牛における
組織中の α -TBOH の抱合体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
		第 2 回 : 15	第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	1,050±1,030	4,180±1,790	3,230±462	2,380±968
腎臓	116±78	245±88	339±199	212±71
筋肉	64	59	78±11	74
脂肪	14	25	57	57

* : TBA (300 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

(3) 残留試験 (去勢雄牛)

① 去勢牛①

牛 (月齢不明、去勢雄 4 頭/時点/投与群、2 頭/時点/対照群) に、TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 15 及び 30 日後の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の E2 β 、 α -TBOH 及び β -TBOH の濃度が測定された。配合剤投与後の組織中の E2 β の濃度を表 17 に示した。

E2 β の濃度を未処置の対照群において天然に生じた濃度と比較すると、許容可能な安全値² (allowable incremental increase) よりも大幅な低値を示した。

配合剤移植投与 15 及び 30 日後の組織中の α -TBOH 及び β -TBOH の組織中残留濃度を、別の TBA の単剤移植投与 (200 mg/頭) 後の組織中残留濃度と比較する試験が実施された。結果を表 18 に示した。

配合剤を投与された動物における残留濃度は、投与 15 日後より 30 日後の方が低値を示した。肝臓、腎臓及び脂肪中の β -TBOH 濃度は、単剤投与による肝臓、腎臓及び脂肪中の β -TBOH 濃度よりも低値であった。筋肉における β -TBOH 濃度は、配合剤を投与された動物の方が単剤を投与された動物より有意に高値であった (p<0.05)。肝臓を除き、 α -TBOH 濃度は配合剤を投与された動物の方が単剤を投与された動物より高値であったが、単剤使用による α -TBOH の残留濃度は大部分が定量限界未満であった。(参照 12) [12:NADA140-992, 2001 p8-10 (Steer Study #4667-01-07-95)]

² FDA で設定されている安全とされる残留上限値

表の単位修正：「ppt」→「pg/g」

【事務局より】

allowable incremental increase を直訳すると、「許容可能な増加量」であるが、次の試験に記載の acceptable safe incremental levels と同じ意味であると考え、「許容可能な安全値（ここまで増加しても安全と許容される量）」としました。

表 17 TBA 配合剤を投与 15 及び 30 日後の去勢雄牛における組織中の E2β の濃度 (pg/g)

組織	許容可能な安全値	投与後経過日数 (日)			
		15		30	
		対照群	投与群	対照群	投与群
肝臓	240	<LOQ ^a	84.8±23.9	<LOQ	28.6
腎臓	360	61.2±9.1	60.4±20.7	98.6±15.7	64.9±22.2
筋肉	120	<LOQ	13.4±2.4	<LOQ	13.6±3.7
脂肪	480	<LOQ	67.1±16.9	<LOQ	59.4±20.5

投与群 n=4、対照群 n=2

a : LOQ (定量限界) : 筋肉及び脂肪 5 pg/g、肝臓及び腎臓 24 pg/g

表 18 TBA 配合剤又は TBA 単剤を投与 15 及び 30 日後の去勢雄牛における組織中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度 (pg/g)

測定対象	組織	TBA 配合剤				TBA 単剤			
		投与 15 日後		投与 30 日後		投与 15 日後		投与 30 日後	
		対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
β-TBOH	肝臓	<LOQ	240±83.0	<LOQ	216±30.1	<LOQ	762±161	<LOQ	498±67.8
	腎臓	<LOQ	176±21.5	<LOQ	130±4.9	<LOQ	387±35.3	<LOQ	337±66.0
	筋肉	<LOQ	279±38.5	<LOQ	234±47.2	<LOQ	211±39.5	<LOQ	139±63.1
	脂肪	<LOQ	378±61.9	<LOQ	260±81.1	<LOQ	847±73.2	<LOQ	661±127
α-TBOH	肝臓	<LOQ ^a	1,550±932	<LOQ	802±240	<LOQ ^b	4,020±2420	<LOQ	1,770±470
	腎臓	<LOQ	178±45.2	<LOQ	167±23.7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	19.14±3.25	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	60.2±11.7	<LOQ	43.9±11.5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

投与群 n=4、対照群 n=2

a : 配合剤の LOQ (定量限界) : (α-TBOH 及び β-TBOH について) 筋肉及び脂肪 30 pg/g、肝臓及び腎臓 125 pg/g

b : 単剤の LOQ (定量限界) : (α-TBOH 及び β-TBOH について) 筋肉 15 pg/g、脂肪 30 pg/g、肝臓

1 125 pg/g、腎臓 250 pg/g

2
3 ② 去勢牛②

4 牛（月齢不明、去勢雄 4 頭/時点/投与群、2 頭/時点/対照群）に TBA の配合剤（TBA
5 （140 mg/頭） + E2β （28 mg/頭））又は TBA （200 mg/頭）を移植投与し、残留試験
6 が実施された。投与 15 及び 30 日後の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中の E2β、α-TBOH
7 及び β-TBOH の濃度が測定された。E2β の濃度は、対照群及び TBA 配合剤投与群に
8 においてのみ測定された。

9 結果を表 19 及び 20 にまとめた。組織中残留濃度は、投与 15 及び 30 日後の両時
10 点で同様であったため、結果は両時点における平均値で示した。

11 TBA 配合剤投与群及び対照群における E2β の濃度は、許容可能な安全値
12 (acceptable safe incremental levels) より大幅に低値であった。

13 2 種の TBA 代謝物 (trenbolone metabolite) (α-TBOH 及び β-TBOH) の残留濃度
14 を TBA 配合剤投与群及び TBA 200 mg 投与群で比較すると、TBA 配合剤投与群の濃
15 度の方が TBA 200 mg 投与群より常に低値であった。(参照 12) [12:NADA140-992, 2001

16 Steer Study #4667-01-07-95] 表の単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

17
18 【事務局より】

4 パラ 1 行目の「TBA 代謝物」は、本文中記載は trenbolone metabolite でしたが、記載内
容から TBA 代謝物と判断しました。ご確認をお願いします。

19 【島田美樹専門委員】

TBA 代謝物で良いと思います。

20 表 19 TBA 製剤*を移植投与後の去勢雄牛における E2β 濃度** (pg/g)

組織	許容可能な安全値	TBA 製剤投与群	無処置対照群
腎臓	360	<LOQ ^a	<LOQ
肝臓	240	<LOQ	<LOQ
筋肉	120	<LOQ	<LOQ
脂肪	480	16.1 ± 2.6	6.1 ± 1.7

21 投与群 n=8、対照群 n=4

22 * : TBA (140 mg/頭) + E2β (28 mg/頭) を含有、** : 投与 15 日後と 30 日後の平均値

23 a : LOQ : 筋肉及び脂肪 6 pg/g、肝臓及び腎臓 25 pg/g

1 表 20 TBA 配合剤*又は TBA 200 mg を移植投与後の去勢雄牛における
2 組織中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度 (ngpg/kg)

残留物質	組織	対照	TBA 配合剤	TBA 200 mg
α-TBOH	肝臓	<LOQ ^a	285±14.8	2,8990±2,010
	腎臓	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	<LOQ	127±102
β-TBOH	肝臓	<LOQ ^b	200±50.1	630±182
	腎臓	<LOQ	<LOQ	362±56.0
	筋肉	<LOQ	75.6±14.6	175±62.3
	脂肪	<LOQ	177±48.1	754±138

3 投与群 n=8、対照群 n=4、* : TBA (140 mg/頭) + E2β (28 mg/頭) を含有

4 a : LOQ (α-TBOH) : 筋肉 15 pg/g、脂肪 30 pg/g、肝臓 125 pg/g、腎臓 250 pg/g

5 b : LOQ (β-TBOH) : 筋肉及び脂肪 30 ngpg/kg、肝臓 125 ngpg/kg、腎臓 250 ngpg/kg

6
7 ③ 去勢牛③

8 牛 (月齢不明、去勢雄 6 頭/群) に TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) + E2β (40
9 mg/頭)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 15、30、60 及び 75 日後の筋
10 肉、肝臓、腎臓及び脂肪における β-TBOH 及び α-TBOH のそれぞれの遊離体及び抱
11 合体の濃度が HPLC/RIA (検出限界 70 pg/g) により測定された。

12 β-TBOH 及び α-TBOH のそれぞれ遊離体及び抱合体の組織中濃度を表 21~24 に
13 示した。標準偏差を示していない濃度は、検出限界以下のものである。

14 筋肉、肝臓及び脂肪中の β-TBOH の遊離体の濃度は、互いに同じような濃度であっ
15 たが、腎臓中濃度は検出限界付近の低い濃度であった。肝臓においてのみ β-TBOH の
16 抱合体が検出可能であった。

17 肝臓においてのみ α-TBOH の遊離体が投与 60 日後まで検出され、腎臓及び脂肪で
18 は投与 30 日後までしか検出されなかった。α-TBOH の抱合体は肝臓及び腎臓で検出
19 された。

20 本試験の結果、TBOH の検出限界は 70 pg/kg と考えられた³。(参照 7、11) [7:FNP41-
21 1, 1987 p31~33] [11:FNP41-2, 1989 p89~90] (Arts, et al., 1986(a))

22 表の単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

23 【宮田専門委員】

表 23、表 26、表 27 で検出限界値以下で標準偏差のあるものがある。

【事務局より】

もとの文献を読むと、本試験の結果から検出限界 70 ng/kg を求めた、と記載されていました。
本文にその旨を追記しました。

24

³ かなり低い濃度でも残留物の検出は可能であったが、確実に測定可能な残留濃度として、この検出限界値が設定された。

1 表 21 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
2 組織中の β -TBOH の遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	対照群	投与後経過日数 (日)			
		15	30	60	75
肝臓	33	467±162	323±131	180±105	83±52
腎臓	8	78±41	67	78±24	52
筋肉	17	254±62	272±80	108±29	71±32
脂肪	21	392±147	293±171	120±106	111±86

3 検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
4 * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、
5 ** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

7 表 22 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
8 組織中の β -TBOH の抱合体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	対照群	投与後経過日数 (日)			
		15	30	60	75
肝臓	56	1,110±568	772±618	695±337	401±177
腎臓	15	35	36	33	33
筋肉	34	66	43	38	43
脂肪	34	27	31	32	20

9 検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
10 * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、
11 ** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

13 表 23 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
14 組織中の α -TBOH の遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	対照群	投与後経過日数 (日)			
		15	30	60	75
肝臓	41	213±71	226±80	89±26	39
腎臓	50	95±44	76±8	24	23
筋肉	36	0	9	41	40
脂肪	38	74±20	62±19	60	55

15 検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
16 * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、
17 ** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

19 表 24 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
20 組織中の α -TBOH の抱合体の濃度** (ngpg/kg)

組織 (n=6)	対照群	投与後経過日数 (日)			
		15	30	60	75
肝臓	47	1,920±864	1,710±758	908±664	656±331
腎臓	39	386±282	210±44	143±27	182±51
筋肉	13	21	10	27	16
脂肪	41	59	36	52	16

21 検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
22 * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、

** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

④ 去勢牛④

牛(月齢不明、体重 400~450 kg、去勢雄 6 頭/群) の耳に TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) 及び E2β (40 mg/頭)) を単回又は 2 回移植投与 (初回と第 2 回移植投与は 60 日の間隔で実施) し、残留試験が実施された。単回投与群では投与 60 日後に、2 回投与群では第 2 回投与 15、30 及び 60 日後に筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の β-TBOH 及び α-TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度を HPLC/RIA (検出限界 70 pg/g) を用いて測定した。なお、第 2 回投与は、初回とは反対側の耳で実施された。

β-TBOH 及び α-TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中濃度を表 25~28 に示した。

標準偏差は絶対標準偏差で示した。標準偏差を示していない数値は、検出限界以下の数値である。

単回投与に比べて、2 回投与の方が、筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の β-TBOH の遊離体の濃度は、有意に高かった。β-TBOH の抱合体は、肝臓及び腎臓中からのみ検出された。

α-TBOH の遊離体は主に肝臓でみられた。α-TBOH の大部分は抱合体として主に肝臓及び腎臓で有意な濃度で検出された。(参照 11) [11:FNP41-2, 1989 p90~92] (Arts et al., 1986 (b)) 単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

表 25 TBA 配合剤*を移植投与した去勢雄牛における
組織中の β-TBOH の遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
		第 2 回 : 15	第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	103±37	219±111	99±47	48
腎臓	256±76	402±96	188±50	163±45
筋肉	188±55	295±88	351±103	282±85
脂肪	631±395	1,150±473	636±131	826±269

検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)

* : TBA (200 mg/頭) + E2β (40 mg/頭) を含有、

** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

表 26 TBA 配合剤*を移植投与した去勢雄牛における
組織中の β -TBOH の抱合体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
	第 2 回 : 15		第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	551±182	976±330	779±330	330±130
腎臓	82±37	105±22	84±17	63±23
筋肉	35	35	37	18
脂肪	15	21	12	16

検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
* : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

表 27 TBA 配合剤*を移植投与した去勢雄牛における
組織中の α -TBOH の遊離体の濃度** (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
	第 2 回 : 15		第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	141±60	211±108	115±42	47
腎臓	35	43	65±19	48
筋肉	70±46	61±56	36	48
脂肪	20	24	77±16	62±20

検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
* : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、
** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

表 28 TBA 配合剤*を移植投与した去勢雄牛における
組織中の α -TBOH の抱合体の濃度** (ngpg/kg)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	第 1 回 : 60	第 1 回 : 75	第 1 回 : 90	第 1 回 : 120
	第 2 回 : 15		第 2 回 : 30	第 2 回 : 60
肝臓	1,730±475	3,090±2,180	4,650±1,510	2,060±575
腎臓	183±104	191±90	163±81	95±18
筋肉	63	80±37	88±21	87±21
脂肪	29	35	76±35	60

検出限界 : 70 pg/g (確実に測定可能な濃度)
* : TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 mg/頭) を含有、
** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

⑤ 去勢牛⑤

牛 (月齢不明、体重約 280 kg、去勢雄 4 頭/時点) の左耳に TBA の単剤 (140 mg/頭) を、右耳にプロゲステロン製剤 (プロゲステロン (200 mg) + E2 β (20 mg)) を同時に移植投与し、残留試験が実施された。投与 15 及び 30 日後の組織中残留濃度が RIA により測定された。筋肉及び脂肪では α -TBOH 及び β -TBOH の遊離体 (非結合性残留物) が、肝臓及び腎臓ではそれらの遊離体及び抱合体 (グルクロン酸抱合体及

1 び硫酸抱合体) が合わせて測定された。

2 β -TBOH 及び α -TBOH の組織中残留濃度を表 29 及び表 30 に示した。

3 肝臓中の β -TBOH 遊離体と抱合体の合計の濃度並びに脂肪及び筋肉中の β -TBOH
4 遊離体の濃度は、投与 30 日後の方が投与 15 日後の濃度に比べて有意に高かった。腎
5 臓中からは β -TBOH は検出されなかった。

6 α -TBOH の遊離体と抱合体の合計としての残留が有意に検出されたのは、肝臓中に
7 おいてのみであった。(参照 11) [11:FNP41-2, 1989 p92] (Herschler, R.C., 1988)

8 単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

9
10 表 29 TBA 単剤*及びプロゲステロン製剤**を同時移植投与した去勢雄牛における
11 組織中の β -TBOH の濃度*** (pg/g)

組織 (n=4)	投与後経過日数 (日)	
	15	30
肝臓 ^a	491±39	596±108
腎臓 ^a	<250	<250
筋肉 ^b	147±15	241±40
脂肪 ^b	421±53	505±52

12 a : 遊離体及び抱合体の合計、b : 遊離体のみ

13 * : TBA (140 mg/頭) を含有、

14 ** : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有

15 *** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

16
17 表 30 TBA 単剤*及びプロゲステロン製剤**を同時移植投与した去勢雄牛における組
18 織中の α -TBOH の濃度*** (pg/g)

組織 (n=4)	投与後経過日数 (日)	
	15	30
肝臓 ^a	1,128±242	1,045±165
腎臓 ^a	<250	<250
筋肉 ^b	<15	<15
脂肪 ^b	51±14	<30

19 a : 遊離体及び抱合体の合計、b : 遊離体のみ

20 * : TBA (140 mg/頭) を含有、

21 ** : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有

22 *** : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

23 **【宮田専門委員】**

表 29, 表 30 の検出限界値はわかりますか？

【事務局より】

検出限界不明です。表下の中に追記しました。

24
25 (4) 残留試験 (去勢雄牛及び未經産牛)

26 去勢雄牛及び未經産牛 (各 3 頭/投与群、各 1 頭/対照群) に TBA の配合剤 (TBA (200
27 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 60 日後の筋

1 肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の E2β、α-TBOH 及び β-TBOH の濃度が測定された。組織中
2 の E2β 濃度を表 31 に、組織中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度を表 32 に示した。

3 投与動物における E2β の濃度を未処置の対照群における天然に生じた濃度と比較す
4 ると、許容可能な安全値よりも大幅な低値であった。

5 移植投与 60 日後の主要組織中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度は、去勢雄牛のみを
6 用いた試験 [II. 2.(3) ①] で報告されている移植投与 15 及び 30 日後における濃度と同
7 様の傾向がみられたに検出され、肝臓では α-TBOH の濃度が高く、筋肉及び脂肪では
8 β-TBOH の濃度が高かった。組織中の α-TBOH 及び β-TBOH の濃度に雌雄（去勢雄牛
9 及び未経産牛）による違いはなかった。また、投与 60 日後の組織中残留濃度は、去勢雄
10 牛及び未経産牛において統計的な有意差はみられなかった。（参照 12） [12:NADA140-992,

11 2001 Heifer and Steer Study #97U-040] 表の単位修正：「ng/kg」→「pg/g」

12 【事務局より】

L6～7の記載について、去勢雄牛のみを用いた試験 [II. 2.(3) ①] で報告されている移植投
与 15 及び 30 日後における濃度（表 18）と同様の傾向がみられた、と記載してよいでしょうか。
ご確認をお願いいたします。

【島田美樹専門委員】

同様の傾向が見られたと言い難いところもありますが、「同様に検出された」という表現はい
かがでしょうか？

【宮田専門委員】

同様の傾向があるとは思いますが、結論として何が言いたいのかわかりませんので、同様の傾
向がみられ～ たとえば“肝臓では α-TBOH の濃度が高く、逆に筋肉、脂肪では β-TBOH の濃
度が高かった”。のように具体的に記載してはいかがでしょうか？

13
14 表 31 去勢雄牛及び未経産牛における TBA 配合剤*を投与 60 日後の組織中の E2β の
15 濃度 (pg/g)

組織	許容可能な 安全値	去勢雄牛		未経産牛	
		対照	投与群	対照	投与群
肝臓	240	<LOQ ^a	41.7±3.8	<LOQ	25.3 ^b
腎臓	360	<LOQ	26.1±3.8	<LOQ	33.1±4.6
筋肉	120	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
脂肪	480	<LOQ	86.0±37.2	<LOQ	75.2±26.5

16 投与群のみ n=3（対照：n=1）、*：TBA（200 mg/頭）+E2β（20 mg/頭）を含有

17 a：LOQ：定量限界（筋肉 30 ng/kg、肝臓及び腎臓 20 ng/kg、脂肪 40 ng/kg）

18 b：1例を除き定量限界未満

1 表 32 去勢雄牛及び未経産牛における TBA 配合剤*を投与 60 日後の組織中の α-
2 TBOH 及び β-TBOH の濃度 (pg/g)

残留物	組織	去勢雄牛		未経産牛	
		対照	投与群	対照	投与群
α-TBOH	肝臓	<LOQ ^a	1,430±486	<LOQ	1,590±1,040
	腎臓	<LOQ	129±12.5	<LOQ	324±204
	筋肉	<LOQ	95.5 ^b	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
β-TBOH	肝臓	<LOQ	481±179	<LOQ	515±46.2
	腎臓	<LOQ	152±31.8	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	97.9±24.4	<LOQ	97.1±17.7
	脂肪	<LOQ	344±152	<LOQ	338±50.1

3 投与群のみ n=3 (対照 : n=1)、* : TBA (200 mg/頭) + E2β (20 mg/頭) を含有
4 a : LOQ : 定量限界 (α-TBOH 及び β-TBOH について) (筋肉 50 pg/g、肝臓 200 pg/g、腎臓及び脂
5 肪 100 pg/g)
6 b : 1 例を除き定量限界未満
7

8 3. 遺伝毒性試験

9 (1) 遺伝毒性試験

10 TBA 及び α-TBOH 及び β-TBOH の各種遺伝毒性試験の結果を表 33 に示した。(参照
11 5、10)

12 表 33 TBA、TBOH の遺伝毒性試験結果

試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i> 復帰突然 変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	10~10,000 µg/plate : TBA 又 は配合剤 (TBA+E2β (7:1)) (±S9)	陰性 (参照 5、6)	(Hossack et al., 1978) [5:FAS23 p6] [6:NADA 138-612, 1986 p9]
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	1,000、2,000、3,000 µg/plate : TBOH (±S9)	1,000 µg/plate で陰性 ^a (参照 5)	(Ingerowski et al., 1981) [5:FAS23 p6]
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	0.5~500 µg/plate : α-TBOH 15~1,500 µg/plate : β-TBOH	陰性 (参照 5、6)	(Richold et al., 1982a) [5:FAS23 p7] [6:NADA 138-612, 19p10]
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	0.06~2 µg/plate : TBOH	陰性 (参照 5)	(Schiffman et al., 1985) [5:FAS23 p7]
	<i>S. typhimurium</i> TA100、TA98、TA102	0~1,000 µg/plate ^b : β-TBOH 333 µg/plate : TBA	TA100 : 陽性 ^c TA98 : 陰性 TA102 : 陰性 (参照 13)	(Lutz et al., 1988) [13:FAS25 p2]

〔酢酸トレンボロン〕

染色体異常試験	ヒトリンパ球	6、30、60 µg/mL : α-TBOH 又は β-TBOH (±S9)	陰性 (参照 5、6)	(Richold et al., 1982b) [5:FAS23 p7] [6:NADA 138-612, 1986 p9-10]
	CHO 細胞	1~10 µg/mL : β-TBOH (-S9) 6~60 µg/mL : β-TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	(Allen et al., 1985) [5:FAS23 p8]
染色体異常誘発性試験 (染色体異常、異数性細胞)	調査事業 ハムスター-SHE 細胞	1~30 µg/ml : β-TBOH	陰性 (参照 14)	[14:Tsutsui et al., 1995]
細胞突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞	15~45 µg/mL : α-TBOH 15~65 µg/mL : β-TBOH (+S9)	擬陽性 (Equivocal) ^d (参照 5、6)	(Richold et al., 1982c, 1983) [5:FAS23 p7] [6:NADA 138-612, 1986 p10]
遺伝子突然変異試験 (Forward mutation assay)	CHO 細胞 (<i>Egprt</i> 遺伝子座)	25~100 µg/mL : β-TBOH (-S9) 25 ~ 150 µg/mL : β-TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	(Edgar et al., 1985) [5:FAS23 p7]
	CHO 細胞 (<i>Hgpert</i> 遺伝子座)	25~100 µg/mL : β-TBOH (±S9)	陰性 (参照 5)	(Henderson et al., 1986a) [5:FAS23 p7]
	チャイニーズハムスター V79 細胞 (<i>Hgpert</i> 遺伝子座)	3~75 µg/mL : β-TBOH (-S9) 12 ~ 125 µg/mL : β-TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	(Henderson et al., 1987b) [5:FAS23 p7]
	BHK21 細胞	- : TBA (±S9)	陽性 (±S9) (参照 6)	[6:NADA 138-612, 1986 p11]
小核試験	CHO 細胞	1~10 µg/mL : α-TBOH (-S9) 6~60 µg/mL : β-TBOH (+S9)	擬陽性 (Equivocal) (-S9) 陰性 (+S9) (参照 5)	(Henderson et al., 1986b) [5:FAS23 p7]
	シリアンハムスター胚線維芽細胞	5 × 10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁴ mol/L : β-, α-TBOH	陽性 (参照 13)	(Schiffmann et al., 1988) [13:FAS25 p2]
	マウス C3H10T1/2 細胞	5 × 10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁴ mol/L : β-, α-TBOH	陰性 (参照 13)	(Schiffmann et al., 1988) [13:FAS25 p2]

		調査事業 ヒト MCL-5 細胞 (遺伝子改変あり)	20~26 µg/ml : TBOH	陽性 (参照 15)	[15:Kayani and Parry, 2008]
		調査事業 ヒト WILL3 細胞	20~26 µg/ml : TBOH	陰性 (参照 15)	[15:Kayani and Parry, 2008]
		調査事業 ハムスター V79 細胞	3~100 µM ^g : β-TBOH	陽性 ⁱ (参照 16)	[16:Dorn et al., 2008]
	不定期 DNA 合成試験	HeLa 細胞及びシリアンハムスター胚細胞	2.5~15 µg/mL	陰性 (参照 5)	(Schiffman et al., 1985) [5:FAS23 p7]
	DNA 修復試験	培養ヒト上皮細胞	1~512 µg/mL α-TBOH 又は β-TBOH	陰性 (参照 5)	(Allen & Proudlock, 1983) [5:FAS23 p7-8]
in vivo	細胞遺伝学的試験	ラット骨髄細胞 ラット精原細胞	100 mg/kg 体重 : α-TBOH 又は β-TBOH を単回強制経口投与 25 又は 50 mg 体重 : α-TBOH 又は β-TBOH を 4 回強制経口投与	陰性 (参照 5、6)	(Richold & Richardson, 1982) [5:FAS23 p8] [6:NADA 138-612, 1986 p9]
	小核試験	赤血球	100 mg/kg 体重 : β-TBOH	陰性 (参照 5)	(Allen et al., 1980) [5:FAS23 p8]

- 1 a : 細胞毒性濃度では擬陽性
 2 b : 参照 13 の記載のまま
 3 c : S9 非存在下の TA100 においてのみ観察され、対照の 1.3 倍を超えない一貫した用量依存的な増加
 4 がみられたため、陽性とした。
 5 d : >22 µg/mL の α-TBOH 及び >15 µg/mL の β-TBOH では細胞毒性がみられた。両物質は突然変異
 6 出現頻度を 2 倍増加させたが、α-TBOH において突然変異出現頻度の増加は高毒性濃度下のみで
 7 生じた。
 8 e : 用量と負の相関がみられ、最も形質転換の数が多かったのは最低用量であった。
 9 f : ヒトシトクロム遺伝子である CYP1A2、CYP2A6、CYP3A4 及び CYP2E1 並びに microsomal
 10 epoxide hydrolase が恒常発現している。
 11 g : 異数性誘発性優位であること示された。

12

13 (2) DNA 共有結合試験

14 ① in vitro 試験^a

15 β-TBOH (純度>97%) は、³H 標識 β-TBOH とインキュベーションした
 16 *S.typhimurium* TA100 から分離した DNA と不可逆的に結合した。(参照 13) [13:FAS25
 17 2.2.5] (Lutz et al., 1988)

18

19 ② in vitro 試験^b

20 子牛の胸腺 DNA に対する β-TBOH (純度>97%) の共有結合について、in vitro で
 21 ラット肝由来細胞を用いて、S9 の存在下及び非存在下におけるインキュベーション
 22 により調べられた。最大 DNA 結合は、S9 非存在下で認められた。非活性 S9 (補酵
 23 素なし) の添加により、DNA 結合は約 1/20 に低下した。中間的結果が活性 S9 存在
 24 下でみられた。(参照 13) [13:FAS25 2.2.5] (Lutz et al., 1988)

25

③ *in vivo* 試験

β -TBOH (純度 99%) をラット (SD 系の雌) に経口投与 (投与量不明)、又はラット (Wistar 系の雄) に腹腔内投与 (投与量不明) した。投与 8 時間後 (雌) 又は 16 時間後 (雄) に、肝臓から DNA を分離し、一定の比放射能になるまで精製した。共有結合指数 (CBI) は 8~17 までの範囲であった。これは、アフラトキシン B1 及びジメチルニトロソアミンのそれぞれの CBI 10,000 及び 6,000 と比較すると低い。(参照 13) [13: FAS25 p1~2] (Lutz et al., 1988)

TBA、 α -TBOH 又は β -TBOH について広範な遺伝毒性試験が実施され、その一部に陽性結果が認められた。

In vitro の遺伝毒性評価では、細菌を用いた復帰突然変異試験において、1 試験のみ S9 非存在下の TA100 に用量依存性の増加が認められたが、コロニー数は対照の 1.3 倍を超えないものであった。哺乳類培養細胞を用いる突然変異試験では、L5178Y 細胞で擬陽性 (Equivocal) の報告があるが、不定期 DNA 合成試験及び DNA 修復試験はいずれも陰性であった。したがって、遺伝子突然変異誘発性及び DNA 損傷性はないか、あっても極めて弱いと考えた。また、培養細胞を用いた染色体異常試験は陰性であり、小核試験で擬陽性又は陽性の報告があるが、*in vivo* では、ラットの骨髄細胞及び精原細胞に対する染色体損傷性は認められず、末梢血を用いた小核試験も陰性であった

以上から、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、TBA 並びにその代謝物である α -TBOH 及び β -TBOH には、生体内にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

TBA の急性毒性試験が、マウス及びラットを用いて経口又は腹腔内投与により実施された。結果を表 34 に示した。(参照 5) [5: FAS23 p12~13]

表 34 TBA の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	雌雄	溶媒	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス	経口	雌雄	コーン油中に 40%エタノール	1,500	[Audegond et al., 1981a]
	腹腔内	雄	エタノール+10%ゴマ油	565	[Escuret & Bas, 1978]
	腹腔内	雌	エタノール+10%ゴマ油	643	[Escuret & Bas, 1978]
ラット	経口	雌雄	コーン油中に 10%エタノール	5,000	[Audegond et al., 1981b]
	腹腔内	雄	コーン油中に 10%エタノール	1,601	[Escuret & Bas, 1978]
	腹腔内	雌	コーン油中に 10%エタノール	1,772	[Escuret & Bas, 1978]
	経口	雌雄	カプセル	1,000	[Audegond et al., 1981c]

5. 亜急性毒性試験

(1) 8週間亜急性毒性試験（マウス、TBA）

マウス（系統不明、体重 19～25 g、雌雄各 8 匹/群）に TBA を 8 週間混餌投与（混餌濃度：0、25、50 又は 100 ppm）し、亜急性毒性試験が実施された。本試験でみられた毒性所見を表 35 に示す。

死亡率、外観、行動、体重、摂餌量及び飼料効率に、投与による影響はみられなかった。全投与群の雌で、肝臓の絶対及び相対重量の有意な低下並びに子宮の絶対及び相対重量の有意な高値がみられた。50 ppm 以上投与群の雌では、卵巣の絶対及び相対的重量が有意な低値、100 ppm 投与群の雄では精巣の絶対及び相対重量の有意な低下がみられた。副腎、腎臓、前立腺、精囊又は脾臓重量への影響はみられなかった。雌では卵巣の周期的活動の用量依存的な抑制がみられ、性腺における黄体の欠如又は減少、間質の用量依存的な量の減少及び子宮内の子宮内膜腺の数の減少が病理組織学的な特徴としてみられた。（参照 5） [5:FAS23 p13] (Hunter et al., 1976a)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、100 ppm 投与群の雄で精巣の絶対及び相対重量の有意な減少が、全投与群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の有意な低下並びに子宮の絶対及び相対重量の有意な高値がみられたことから、雄の NOAEL を 50 ppm (7.5 mg/kg 体重/日に相当⁴)、雌の LOAEL を 25 ppm (3.75 mg/kg 体重/日に相当⁵) と設定した。

表 35 8週間亜急性毒性試験（マウス）における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・精巣の絶対及び相対重量の低下	・卵巣の絶対及び相対的重量の低下
50 以上	毒性所見なし	・肝臓の絶対及び相対重量低下並びに絶対及び相対重量の高値 ・卵巣の周期的活動の抑制、性腺における黄体の欠如又は減少、間質の用量依存的な量の減少及び子宮内の子宮内膜腺の数の減少
25 以上		

(2) 10週間亜急性毒性試験（マウス、TBA）

マウス（スイスアルビノ CFLP、日齢不明、雌雄各 8 匹/群）に TBA を 10 週間混餌投与（0、1、2、5 又は 10 ppm (雄：0、0.12、0.24、0.56 又は 1.2 mg/kg 体重/日相当、雌：0、0.13、0.25、0.66 又は 1.4 mg/kg 体重/日相当)）し、亜急性毒性試験が実施され

⁴ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Mouse	0.02	3	150

⁵ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

1 た。病理組織学的検査は、対照群及び 10 ppm 投与群の前立腺、精嚢、精巣、卵巣及び
2 子宮のみに実施された。

3 摂餌量又は体重増加量における影響を含め、投与に起因する影響の徴候はみられな
4 かった。調査した全ての臓器の絶対及び相対重量は、同じ系統及び日齢のマウスにおける
5 正常値の範囲内であると考えられ、投与に関連した影響はみられなかった。全ての病理
6 組織学的パラメータは、正常値の範囲内であった。(参照 5) [5:FAS23 p13] (Hunter et al.,
7 1976b)

8 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、いずれの投与群においても投与による影
9 響がみられなかったことから、本試験の NOAEL を最高用量である 10 ppm (雄で ~~1.2~~
10 ~~mg/kg 体重/日~~、雌で ~~1.4 mg/kg 体重/日~~ ~~1.5 mg/kg 体重/日~~に相当⁶⁾) と設定した。
11

【事務局より】

病理組織学的検査が対照群と最高用量投与群の 2 群しか行われていません。投与に関連した
影響はみられていないので、通常の病理組織学的検査であれば、NOAEL は設定できると思いま
すが、本試験では、生殖器官のみに限られており、(1)の試験でみられた肝臓については検討さ
れておりません。NOAEL 等の設定はできますでしょうか。

【寺岡専門委員】

生殖器官に対する影響が最も問題になるということなのかもしれませんが、毒性試験であるからに
はほかの組織もやはり検討するべきだと思います。生殖器官にしぼった理由が明らかなのであれ
ば別です。その場合は理由について簡単に追記すべきではないでしょうか。

【事務局より】

著者 (又は JECFA?) がなぜ本試験で肝臓をみなかったかは不明です。

【島田章則専門委員】 (コメントあり)

【事務局より】

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会の結論として、NOAEL 等を示す際に、単位を ppm か
ら mg/kg 体重/日に換算する際、EHC240 (JECFA) に基づく換算値に修正しました。(以下、同
様の修正を行っています。)

12
13 (3) 10 日間亜急性毒性試験 (ラット、TBA) <参考資料 7>

14 ラット (系統不明、21~24 日齢、去勢雄 16 匹) の去勢後 2~11 日に TBA を 10 日間
15 経口投与 (0、0.75、3、12 又は 48 mg/匹/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

16 最終投与 1 日後の剖検において、用量依存的な前立腺の絶対重量の増加 (最大+440%)
17 及び精嚢の絶対重量の増加 (最大+400%) が全投与群で認められた。3 mg/匹/日以上投
18 与群では、肛門挙筋重量の用量依存的な増加 (最大+250%) がみられた。(参照 5) [5:FAS23
19 p13] (Schroder, 1971a)

20
21 (4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)

22 ラット (CFY 系、雌雄各 10 匹/群) に TBA を 13 週間混餌投与 (0、25、50 又は 100

⁶ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

⁷ 雄のみの試験であること、一用量当たりの供試動物数が少ないことから、参考資料とした。

1 ppm (雄: 0、1.8、3.8 又は 7.6 mg/kg 体重/日相当、雌: 0、2.2、4.2 又は 8.4 mg/kg 体
2 重/日相当)) し、亜急性毒性試験が実施された。本試験でみられた毒性所見を表 36 に示
3 す。

4 全投与群において、雌は雄より飼料効率が高く、その結果、体重増加量がより高かつ
5 た。

6 25 ppm 投与群において、**剖検所見形態学的変化**はみられなかったが、前立腺重量が
7 低下 (-36%) であった。50 ppm 投与群では、**剖検所見形態学的**又は子宮の変化はみ
8 られなかったが、2 例で前立腺及び精嚢重量の低下 (それぞれ-50%又は-30%) がみ
9 られた。100 ppm 投与群では、雄で投与 12 及び 13 週において好中球及びリンパ球数
10 が低値 (-35%) を示した。形態学的変化を伴わない、精嚢重量の低下 (-60%)、**5例**
11 **で**前立腺重量の低下 (-80%) がみられ、**その5例の**前立腺は立方上皮に覆われる**小胞**
12 **を伴って小型腺房から**なっていた。また、6 例で子宮の変化がみられ、子宮腺の拡張並
13 びに子宮内膜及び腺上皮の波型の外観を伴う、子宮内膜間質の明らかな**縮小減少**が特
14 徴的であった。(参照 5) [5:FAS23 p13] (Hunter et al., 1976c) **小川専門委員**

15 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全投与群の雄で前立腺重量の変化がみら
16 れ、100 ppm 投与群の雌で子宮の変化がみられたことから、雄は LOAEL を 25 ppm
17 (1.8 mg/kg 体重/日に相当-1.25 mg/kg 体重/日に相当⁸)、雌は NOAEL を 50 ppm (4.2
18 mg/kg 体重/日に相当-2.5 mg/kg 体重/日に相当⁹) と設定した。

20 表 36 13 週間亜急性毒性試験の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・好中球及びリンパ球数の低値	・子宮内膜間質の 縮小減少 (子宮腺の拡張、子宮内膜及び腺上皮の波型の外観を伴う)
50 以上	・精嚢重量の低下	毒性所見なし
25 以上	・前立腺重量の低下	

21 **【事務局より】**

雄の前立腺重量の低下については、100 ppm 投与群では立方上皮に覆われる小胞を伴うとい
った所見がありますが、25 及び 50 ppm 投与群では形態学的変化がありません。重量のみの変
化を毒性と捉えるか、ご議論をお願いいたします。

【小川専門委員】

毒性と考えます。

【小川専門委員】 (網掛け部分の修正について)

⁸ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat (old)	0.40	20	50

⁹ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

いずれにしても、表に記載して、文は削除されると思いますが、元の文は At 50 ppm, lower prostate and seminal vesicle weights (-50 and -30%, respectively), which were not associated with morphological or uterine changes, were observed in two rats.

雄の話の中に子宮とあるのは奇異ですが、50ppm では子宮の所見なしということですね。

【島田章則専門委員】

これまで、重量のみでも評価したことはありますか？

【事務局より】

モネパンテルの評価の際、ラット 52 週間慢性毒性試験 [評価書「モネパンテル」(Ⅱ. 6. (1))] で雌ラットにみられた肝臓の絶対及び比重量の増加がみられたことから、NOAEL を設定したことがあります。

【事務局より】

EHC240 に基づいて「ppm」から「mg/kg 体重/日」に換算する際、Rat (old)の数値を用いて換算してよいでしょうか。

1

2 (5) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)

3 ラット (系統不明、体重 60 g、雌雄各 10 匹/群) に TBA を 3 か月間経口投与 (0、50、
4 100、200 又は 1,000 µg/kg 体重/日、6 日/週投与) し、亜急性毒性試験が実施された。
5 被験物質は、0.9% NaCl、0.4%ポリソルベート 80、0.5% カルボキシメチルセルロース
6 (CMC) 及び 0.9%ベンジルアルコールを含む水溶液 (0.5 mL) として投与された。試
7 験終了時においてのみ、半数の動物で測定が実施された。本試験でみられた毒性所見を
8 表 37 に示す。

9 成長率は、雌では僅かに増加したが、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雄では減少した。
10 血液学的検査では、パラメータに投与の影響はみられなかった。

11 血液生化学的検査では、全投与群の AST 及び ALT が減少した。100 µg/kg 体重/日
12 以上投与群において、T.Chol が **低下減少**した。1,000 µg/kg 体重/日投与群では、Glu が
13 僅かに減少したが、この群の雌のみで、尿素が僅かに **上昇増加**した。

14 臓器重量は、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で肝臓重量が、1,000 µg/kg 体重/日
15 投与群の雌雄で腎臓重量が、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で脾臓重量が増加した。
16 雌において、卵巣重量が 1,000 µg/kg 体重/日投与群で増加し、子宮重量は 100 及び 200
17 µg/kg 体重/日投与群で減少した。雄において、100 µg/kg 体重/日以上投与群で精嚢重量
18 が、100 及び 1,000 µg/kg 体重/日投与群で前立腺重量が減少した。

19 剖検では、1,000 µg/kg 体重/日投与群において、前立腺、精嚢及び精巣の萎縮がみら
20 れた。

21 病理組織学的検査では、卵巣及び子宮の変化が雌で認められた。卵巣では、全投与群
22 において嚢胞及び放出された卵胞がみられ、子宮では、200 µg/kg 体重/日以上投与群に
23 において子宮の菲薄化 (*dentelle uterine*) がみられた。1,000 µg/kg 体重/日投与群の雄で
24 は、精子形成遅延並びに精嚢及び前立腺の形成不全がみられた。(参照 5) [5:FAS23
25 p13~14] (Seeger, 1971a, b)

26 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、100 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で精嚢
27 重量の減少、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝臓及び脾臓重量の増加及び子宮重量

1 の減少並びに子宮の菲薄化がみられたことから、NOAEL を雄で 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、
2 雌で 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定した。

3

4

1 表 37 3 か月間亜急性毒性試験の毒性所見

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	雄	雌
1,000	<ul style="list-style-type: none"> ・ Glu の僅かな減少 ・ 腎臓重量増加 ・ 精嚢、前立腺重量減少 ・ 前立腺、精嚢及び精巣の萎縮 ・ 精子形成遅延、精嚢及び前立腺の形成不全 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Glu の僅かな減少、尿素の僅かな 上昇増加 ・ 腎臓重量増加 ・ 卵巣重量増加、
200 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 成長率減少 ・ 肝臓重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝臓重量増加、脾臓重量増加 ・ 子宮の菲薄化 (<i>dentelle uterine</i>)
100 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ T.Chol 減少 ・ 精嚢重量減少 寺岡専門委員 	<ul style="list-style-type: none"> ・ T.Chol 減少
50 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ AST、ALT 減少 ・ 毒性所見なし 小川専門委員 	<ul style="list-style-type: none"> ・ AST、ALT 減少 ・ 卵巣所見 (嚢胞、放出卵胞)

2

【小川専門委員】(表中の AST 及び ALT の減少について)
毒性とはしてしないと思います。

【事務局より】

表から削除しました。

血液生化学的パラメータの変化は毒性所見と捉える必要はないでしょうか？

3

4 (6) 23 週間亜急性毒性試験 (ラット、 α -TBOH)

5 ラット (SD 系 : CD(UK)、雌雄各 10 匹/群) に α -TBOH を 23 週間強制経口投与 (0、
6 10、40、360 又は 3,600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、メチルセルロース (MC) 懸濁液として投与)
7 し、亜急性毒性試験が実施された。別の群 (雌雄各 10 匹/群) には参照化合物として β -
8 TBOH を投与 (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) した。臨床徴候及び死亡の有無を観察し、体重、飲
9 水量及び摂餌量の測定、飼料効率の算出、血液学的検査、眼科学的検査、生化学的検査、
10 臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。本試験でみられた毒性所見を表
11 38 に示す。

12 **高用量-360 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群 (high dosed)** の雄 1 例が投与 2 週に死亡したが、お
13 そらく挿管ミスの結果と考えられた。

14 **高用量-360 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群 (high dosed)** の雄で流涎が認められた。3,600 $\mu\text{g}/\text{kg}$
15 体重/日投与群の雄で摂餌量が有意に増加した。

16 血液学的検査及び血液生化学的検査では、血小板数、PCV 及び Hb が、全投与群の雄
17 で有意に減少した。MCV 及びトロンボテスト時間は、3,600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群
18 (**highest dose**) でのみ有意に減少した。雌では、3,600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群のみで Hb
19 及び RBC 並びにトロンボテスト時間の有意な増加がみられた。Ca 濃度は減少している
20 ようにみえたが、恐らく対照値が比較的高いことによると考えられた。雄では Na 及び

1 K 濃度が有意に上昇し、**高用量-360 µg/kg 体重/日投与群 (high dose)** の雄及び雌で
 2 T.Chol が有意に減少した。360 µg/kg 体重/日以上投与群の雌において、TP は有意に低
 3 下し、ALP は増加した。

4 臓器重量では、**3,600 µg/kg 体重/日投与群 (highest dosed)** において、雄の前立腺及
 5 び精嚢重量並びに雌の子宮重量が有意に減少した。3,600 µg/kg 体重/日投与群では、下
 6 垂体重量が雄で有意に増加し、雌では有意に減少した。

7 剖検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。

8 また、本試験では特定のホルモンのパラメータは測定されなかった。

9 JECFA は、本試験における α-TBOH の NOAEL を、40 µg/kg 体重/日と設定してい
 10 る。(参照 13) [13:FAS25 p1] (Dean, 1988; Hooks et al., 1988)

11 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、**高用量投与群の雄で流**
 12 **涎3,600 µg/kg 体重/日投与群の雄で摂餌量の増加、MCV 及びトロンボテスト時間の減**
 13 **少、下垂体重量の増加並びに前立腺及び精嚢重量の減少がみられ、360 µg/kg 体重/日投**
 14 **与群の雌 雄で血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメータに有意な変化が散見さ**
 15 **れたトロンボテスト時間の増加並びに下垂体及び子宮重量の減少がみられたことから、**
 16 **NOAEL を 40360 µg/kg 体重/日と設定した。**

17
18 表 38 23 週間亜急性毒性試験の毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日)	雄	雌
3,600	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量増加 ・MCV 及びトロンボテスト時間減少 ・下垂体重量増加 ・前立腺及び精嚢重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb 及び RBC 並びにトロンボテスト時間増加 ・下垂体重量減少 ・子宮重量減少
360 以上		・TP は有意に低下し、ALP は増加
40 以上		
10 以上	・血小板数、PCV 及び Hb 減少	

19 【事務局より】

FAS25 (参照 10) 1. EXPLANATION では、第 32 回会議 (FAS23 (参照 5)) で要求された適切な動物を用いた α-TBOH の 90 日間経口投与試験をまとめたとの記載があるため、13 週間の間違いの可能性があります。

【小川専門委員】

引用はDean 1988とHooks 1988となっており、

DEAN, G.A. (1988). 17 alpha trenbolone toxicity to rats by repeated oral gavage for 132 weeks. Draft results. Unpublished report No.RSL/756 from Huntingdon Research Centre Ltd., Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Roussel UCLAF, 75020 Paris, France.

HOOKS, W.N., BOWMAN, J.C., RAO, R.S., GIBSON, W.A. & GOPINATH, C. (1988). 17 alpha trenbolone toxicity to rats by repeated oral administration for 13 weeks (final report). Unpublished report No. RSL 756/881104 from Huntingdon Research Centre, Ltd., Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Roussel UCLAF, 75020 Paris, France.

が該当すると考えます。2.2.2 short-term studies ですので、Hooks et al から、13 週試験と同意します。

【事務局より】

雄の高用量投与群 (high dose) で流涎がみられたとあります。high dose に、360 µg/kg 体重/日投与群が含まれると考えてよいでしょうか。

【小川専門委員】

highest と high が書き分けられていますので、順に 3600, 360 と考えます。そうしますと、流涎は 360 のみで見られたこととなります。用量相関性がないことから毒性とはしにくいと思います。

【島田章則専門委員】 (コメントあり)

1

2 (7) 亜急性毒性試験 (ラット、TBA) <参考資料¹⁰>

3 ラット (系統及び匹数不明、雌) に TBA を混餌投与 (0.01、0.1、2.5、5、10、20、
4 40、80 又は 160 ppm、投与期間不明) し、亜急性毒性試験が実施された。

5 80 ppm 以上投与群で子宮重量の増加が示された。全群における膈スミアは陰性であ
6 ったが、膈粘膜の僅かな増殖が 160 ppm 投与群でみられた。(参照 5) [5:FAS23 p14] (Huis
7 in`t Veld et al., 1973)

8

9 (8) 皮下投与試験

10 ① 4 日間亜急性毒性試験 (ラット、TBA) <参考資料¹¹>

11 卵巣を切除したラット (系統及び匹数不明、体重 60~65 g、雌) に TBA を 4 日間
12 皮下投与 (0、0.2、1.0 又は 5.0 mg/匹/日¹²) し、亜急性毒性試験が実施された。

13 投与開始 5 日後に、全投与群において、子宮重量の用量依存的な増加 (最大+550%)
14 がみられた。TBA のエストロゲン活性は、E2β のエストロゲン活性の 0.1%未満であ
15 った。(参照 5) [5:FAS23 p14] (Schroder, 1971b)

16

17 ② 9 日間亜急性毒性試験 (ラット、TBA、β-TBOH 又は α-TBOH) <参考資料¹³>

18 ラット (系統及び匹数不明、体重 100 g、去勢雄) に、TBA (4、20 又は 100 µg/匹
19 /日)、β-TBOH (4、20 又は 100 µg/匹/日) 又は α-TBOH (20、100、500 又は 1,000
20 µg/匹/日) を 9 日間皮下投与し、亜急性毒性試験が実施された。投与は去勢 1 日後か

¹⁰ 投与期間及び試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

¹¹ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹² 溶媒：ゴマ油

¹³ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

ら開始した。対照として1群を設定した。最終投与1日後、前立腺、肛門挙筋及び精囊の重量を測定した。

TBA 及び β -TBOH 投与群では、全ての用量において臓器重量が用量依存的に増加した。 α -TBOH 投与群では、100 μ g/匹/日以上投与群で臓器重量が増加した。(参照 5)

[5:FAS23 p14] (Escuret & Bas, 1978)

③ 10日間亜急性毒性試験(ラット、TBA) <参考資料¹⁴>

ラット(系統及び匹数不明、体重65~75g、去勢雄)にTBAを去勢後10日間皮下投与(0、0.02、0.1又は0.5mg/匹/日¹⁵)し、亜急性毒性試験が実施された。

試験11日(最終投与1日後)に、全投与群で肛門挙筋(最大+250%)、前立腺(最大+1,400%)及び精囊(最大+2,500%)の重量が用量依存的に増加した。本試験において、TBAは、テストステロンの5倍、17-エチニル-19-ノルテストステロンの20倍高い、顕著なタンパク同化及びアンドロゲン活性を示した。(参照 5) [5:FAS23 p14] (Schroder, 1971b)

④ 2か月間亜急性毒性試験(ラット、TBA) <参考資料¹⁶>

ラット(系統不明、体重123~131g、雌雄各10匹/群)にTBAを2か月間皮下投与(0、200、1,000、又は5,000 μ g/kg 体重/日、6日/週投与)し、亜急性毒性試験が実施された。TBAは、酢酸デオキシコルチコステロン(syncortyl)及びラッカセイ油の1:1の溶液として投与された。試験終了時に雌雄各5匹/群のラットを用いて血液学的及び血液生化学的検査が実施された。

体重は、全投与群の雌で増加が亢進したが、5,000 μ g/kg 体重/日投与群の雄では増加抑制がみられた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、全投与群においてHb及びHtの僅かな増加並びにWBCの軽度の減少(リンパ球減少症による)が明らかになった。その他、5,000 μ g/kg 体重/日投与群の雌でGluが減少(他の群ではみられなかった)し、1,000 μ g/kg 体重/日以上投与群の雌及び5,000 μ g/kg 体重/日投与群の雄でBUNが減少した。また、1,000 μ g/kg 体重/日以上投与群の雌雄でT.Cholが低下した。

臓器重量は、全投与群で腎臓の絶対及び相対重量が増加し、副腎及び胸腺の絶対及び相対重量が減少した。全投与群の雌で卵巣重量が用量依存的に減少した。200及び1,000 μ g/kg 体重/日投与群の雌において、子宮重量が減少した。投与群の雌全例が肝臓の絶対重量の増加を示した。投与群の雄全例で精巣重量が、1,000 μ g/kg 体重/日以上投与群の雄で精囊及び前立腺重量が減少した。

剖検では、胸腺、卵巣及び精巣において萎縮が認められ、精囊及び前立腺においては肥大がみられた。(参照 5) [5:FAS23 p14~15] (Sovetal, 1970; Seeger, 1971a)

¹⁴ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁵ 溶媒：ゴマ油

¹⁶ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

⑤ 4日間亜急性毒性試験（ウサギ、TBA）＜参考資料¹⁷＞

ウサギ（品種不明、体重 2 kg、4～6 匹/群）に TBA を 4 日間皮下投与（0、0.05、0.5、2 又は 5 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。肝機能（AST 活性及び BSP 排泄）が検査された。

2 mg/kg 体重/日投与群において AST の僅かな増加、5 mg/kg 体重/日投与群においては有意な増加がみられた。BSP 排泄は、いずれの群においても投与の影響を受けなかった。（参照 5） [5:FAS23 p15] (Seeger, 1971a)

⑥ 単回皮下投与試験（牛、E2β 又は TBOH+E2β）＜参考資料¹⁸＞

子牛（月齢及び頭数不明、雄）に E2β を単回皮下投与（20 mg/頭）し、6 週後の病理組織学的検査を実施した結果、精囊に顕著な変化がみられた。TBOH（140 mg/頭）+E2β（20 mg/頭）の皮下投与では、4/11 例に精囊のごく僅かな変化がみられたが、3/7 例では精囊の変化がみられず、アンドロゲン刺激が観察された。（参照 5） [5:FAS23 p15] (Kroes, 1972)

【事務局より】

本評価書に記載する必要があるか、ご確認お願いいたします。

【小川専門委員】

精囊の変化の内容も不明瞭であり、必要ないと思われます。

【島田章則専門委員】（コメントあり）

【寺岡専門委員】

皮下投与ですし、使用動物についての情報が不足しておりますが、異なる動物種の実権でもあります。ほかの問題がなければ、参考資料ですので残してもよいと思います。

（9）移植投与試験

① 4～8 週間移植投与試験（牛、TBA+E2β）＜参考資料¹⁹＞

子牛（月齢不明、雄 8 頭/群）に TBA の配合剤（TBA（140 mg/頭）+E2β（20 mg/頭））を皮下移植投与し、4 又は 8 週後に投与の影響が検討された。別の群には、テストステロン（200 mg/kg 体重）+E2β（20 mg/kg 体重/頭）が投与された。

前立腺の組織学的検査において、両投与群に分泌活性並びに増殖性及び化生性変化の増強がみられた。（参照 5） [5:FAS23 p15] (Verbeke et al., 1975)

② 56 日間移植投与試験（牛、E2β 又は TBA+E2β）＜参考資料²⁰＞

子牛（頭数不明、11 週齢、雄）に E2β（20 mg/頭）を単独又は TBA（140 mg）と併用して皮下移植投与し、投与試験が実施された。

¹⁷ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁸ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁹ 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

²⁰ 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

1 E2 β 投与群では、投与後 12 日間に尿中に排泄された総エストロゲン量は多く、投
 2 与 3 週後に正常値に戻った。E2 β +TBA 投与群では、投与 42 日後までエストロゲン
 3 の段階的で長期化した排泄が起こったが、投与 56 日後には正常値に達した。E2 β の
 4 定性試験及び尿中 E2 β から、 α -エピマーが大部分の尿試料中に存在したことが判明し、
 5 E2 β は、E2 β 投与群の尿中にみられた。E2 β +TBA 投与群では、E2 β が尿中にみられ
 6 たのは投与 21 日後のみであった。前立腺の病理組織学検査では、両投与群で腺上皮
 7 の扁平上皮化生が認められた。(参照 5) [5:FAS23 p15~16] (Kroes et al., 1976b)

8 9 ③ 9 週間移植投与試験 (牛、TBA 又は TBA+E2 β) <参考資料²¹>

10 去勢牛及び未経産牛 (頭数不明) に TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭) し、別の去
 11 勢牛 (頭数不明) に TBA 配合剤 (TBA (140 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭)) を移植投
 12 与して、投与試験が実施された。

13 投与後 9 週間の観察期間中、BUN が全群において減少したが、その他の血液パラ
 14 メータ (Glu、Ca、P、Mg、Na、K 及び TP) には、投与の影響はみられなかった。
 15 インスリン又は成長ホルモンの血漿中濃度に変化はみられなかった。観察期間中、去
 16 勢牛でチロキシン濃度の低下が認められたが、最も顕著だったのは、TBA+E2 β 投与
 17 群であった。去勢牛では、胸腺重量の顕著な低下が認められた (約-50%)。(参照 5)

18 [5:FAS23 p16] (Heitzman, 1975)

19 20 ④ 10 週間移植投与試験 (牛、TBA 又は TBA+E2 β) <参考資料²²>

21 子牛 (7 週齢、雌、計 1,480 頭) に TBA 又は TBA の配合剤 (TBA+E2 β) を表 39
 22 の用量で皮下移植投与し、投与 10 週後の影響が検討された。

23 全投与群において、血液パラメータ (Glu、AST、ALT、AP、LDH、Chol、Bil、
 24 Hb 及び PCV)、尿比重及び pH に投与の影響はみられなかった。血清及び骨中の Ca
 25 及び P の値は変化しなかったが、血清中 Mg 濃度及び骨への Mg 沈着は、第 3、5 及
 26 び 6 群において低下した。子宮の腺細胞の増殖を伴う、子宮重量の増加が第 3 群で僅
 27 かに、第 4、5 及び 6 群では有意にみられたが、これらの群では子宮内腔が部分的に
 28 液体で満たされていた。投与群では、卵胞の小型化を伴う卵巣重量の減少がみられた。
 29 これらの重量変化は、第 2、3 及び 6 群で最も顕著であった。卵胞数の減少を伴う卵
 30 胞の縮小は、第 5 及び 6 群において最も顕著であった。全投与群で、用量依存的な胸
 31 腺重量の減少がみられた。第 3 群では陰核の発達異常が顕著であった。病理組織学的
 32 検査では、第 4、5 及び 6 群の乳腺組織に、用量相関性のない増殖及び分泌がみられ
 33 た。心臓、肝臓、腎臓、脳下垂体、松果体、副腎、甲状腺及び骨格筋には、異常はみ
 34 られなかった。(参照 5) [5:FAS23 p16] (Gropp et al., 1975)

35
36

21 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

22 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

1 表 39 移植投与試験における投与物質と用量

被験物質	群 1	群 2	群 3	群 4	群 5	群 6
TBA (mg/頭)		140	3,500	140	1,400	3,500
E2β (mg/頭)				20	200	500

2
3 ⑤ 移植投与試験（牛、TBA 又は TBA+E2β）＜参考資料²³＞

4 去勢牛及び雄牛（頭数不明）に、TBA（140 mg/頭）を単独又は E2β（20 mg/頭）
5 を併用して皮下移植投与し、投与試験が実施された（移植期間不明）。対照動物には、
6 担体を投与した。

7 TBA+E2β 投与群では、雄牛において外因性 E2β の尿中への排泄に影響を与え、去
8 勢牛にも同様の影響の可能性があると考えられた。病理組織学的検査では、TBA+E2β
9 投与群において前立腺の扁平上皮化生がみられた。両投与群では、対照群に比べて前
10 立腺上皮の更なる活性化がみられた。（参照 5） [5:FAS23 p16] (Kroes et al., 1976c)

11
12 6. 慢性毒性及び発がん性試験

13 (1) 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）

14 マウス（スイスアルビノ CFLP、体重 22～25 g、雌雄各 64 匹/群）に、TBA を 95～
15 104 週間（生存率が対照群の雄又は雌において 20%となった時点で試験終了）混餌投与
16 [混餌投与：0、0.5、1、10 又は 100 ppm（雄で 0、0.004、0.09、0.86 又は 8.6 mg/kg
17 体重/日、雌で 0、0.005、0.10、0.96 及び 9.5 mg/kg 体重/日に相当）] し、慢性毒性試
18 験が実施された。投与開始 13 週後、雌雄各 12 匹/群を用いて中間検査を実施した。本試
19 験でみられた毒性所見を表 40 及び 41 に示す。

20 次に示す臓器重量、剖検及び病理組織学的変化を除き、本試験で測定した全てのパラ
21 メータにおいて有意な差異はみられなかった。

22 中間検査では、100 ppm 投与群の雌雄において、腎臓の絶対及び相対重量の有意な増
23 加がみられた（20～40%増）。100 ppm 投与群の雌では、脾臓重量の有意な低下がみら
24 れ（-20%）、1 ppm 以上投与群の雄では有意な増加がみられた（+25%）。全投与群の
25 雌において、子宮の相対重量の用量依存的な低下がみられた（最大-25%）。100 ppm 投
26 与群の雌全例において、黄体欠如を特徴とする排卵抑制が認められ、卵胞の発達は成熟
27 卵胞段階に進んでいた。また、子宮の状態は発情休止期と一致していた。100 ppm 投与
28 群の雄 6/12 例の脾臓では、赤脾髄における多形核白血球数の増加がみられた（対照群で
29 は 0/12 例）が、同群の雄 2/12 例で、洞のうっ血（congested sinuses）が認められた（対
30 照群で 0/12 例）。

31 試験終了時の臓器重量は記録されていない。試験終了時の剖検及び病理組織学的検査
32 において、投与群の雄で肝臓の結節性過形成及び用量依存的な腫瘍増加が認められ、10
33 ppm 以上投与群で統計学的に有意であった。100 ppm 投与群の雌では、肝腫瘍の発生
34 頻度も増加し（8/52 例に対し対照群は 4/51 例）、雄では肝細胞空胞化の発生頻度の増加
35 もみられた。100 ppm 投与群の雌において、剖検で腎臓の腫大及び肥大の発生頻度が増

23 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

1 加し、腎炎の発生頻度の僅かな増加を伴っていた。同群では、卵巢嚢胞の増加（10/20 例
2 に対し対照群 1/11 例）並びに腫大化、膿瘍化した又は嚢胞性の包皮腺²⁴（雌 4/20 例に
3 対し対照群 0/11 例）の増加がみられた。100 ppm 投与群の雌 4/20 例に脾臓の小型化が
4 みられた。（参照 5、6） [5:FAS23 p16~17] [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] (Hunter et al., 1981)

5 JECFA は、10 ppm 以上投与群の雄でみられた肝臓の過形成及び肝腫瘍の増加は発がん性によるものではなく、TBOH のホルモン作用によるものと判断した。（参照 5）
6 [5:FAS23 p18] [6:NADA 138-612, 1986 IV-A]

7
8 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、10 ppm 以上投与群の雄で肝臓の増殖性病変・結節性過形成が、100 ppm 投与群の雌で肝臓の増殖性病変、腎炎の増加、脾臓の造血性の低下、包皮腺の管の嚢胞性拡張及び/又は膿瘍がみられたことから、NOAEL を雄
9 で 1 ppm（0.090.15 mg/kg 体重/日に相当²⁵）、雌で 10 ppm（0.961.5 mg/kg 体重/日に
10 相当²⁶）と設定した。10 ppm 以上投与群の雄でみられた肝腫瘍の増加は、TBOH のホル
11 モン作用によるものと考えた。
12
13
14

15 表 40 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）における毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・肝細胞空胞化の発生頻度の増加	・腎臓の腫大 及び肥大 の発生頻度が増加（腎炎の発生頻度の僅かな増加を伴う） 島田章則専門委員 ・卵巢嚢胞の増加、腫大化、膿瘍化した又は嚢胞性の包皮腺 ・脾臓の小型化
10 以上	・肝臓の結節性過形成	
1 以上		
0.5 以上		

16
17 表 41 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）における腫瘍性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100		・肝腫瘍発生頻度の増加
10 以上	・肝腫瘍増加	
1 以上		
0.5 以上		

18 【事務局より】

雌にも「包皮腺」があるのでしょうか。

²⁴ 原文ママ

²⁵ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

²⁶ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

【小川専門委員】

雄の器官です。陰核腺などの誤りかもしれませんが、証拠がありません。

【事務局より】

「包皮腺」が何を示すか不明ということであれば、表 40 及び調査会の判断からは、関連の記載は削除すべきでしょうか。

【島田章則専門委員】（コメントあり）

【事務局より】

本試験の 10 ppm 以上投与群の雄でみられた肝腫瘍の増加及び肝臓の過形成について、JECFA は、TBOH のホルモン作用によるものとしています。

調査会の結論として、肝腫瘍の増加をホルモン作用によるものとしてよいか、ご検討をお願いいたします。

1

2 (2) 112 週間慢性毒性試験（ラット）

3 ラット（SD 系 CFY、体重 150～200 g、雌雄各 65 匹/群）に TBA を 112 週間混餌投
4 与（混餌濃度：0、0.5、1、4、16 又は 50 ppm（雄で 0、0.02、0.04、0.14、0.56 又は
5 1.80 mg/kg 体重/日、雌で 0、0.02、0.04、0.16、0.64 又は 1.92 mg/kg 体重/日に相当）
6 し、慢性毒性試験が実施された。被験動物は、交配 9 週間前から分娩 21 日後まで同量を
7 投与した親動物（50 ppm 投与群では母動物のみ妊娠 0 日から分娩 21 日後まで投与し
8 た）由来であった。試験 78 週に雌雄各 13～14 匹/群を用いて中間検査が実施された。
9 本試験でみられた毒性所見を表 42 及び 43 に示す。

10 外観の変化として、4 ppm 以上投与群の雌で、外陰部の隆起がみられた。投与群の雌
11 全例において、肛門性器皮膚の下垂が用量依存的に発現した（最大発生頻度 85%）。4
12 ppm 以上投与群の雄で、精巣の用量依存的な小型化がみられた（最大発生頻度 45%）。

13 体重は、50 ppm 投与群の雄で、試験期間を通じ摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が
14 みられた（それぞれ－15%及び－10%）。

15 飲水量は、50 ppm 投与群の雄で、投与 51 週まで低下した（－15%）。

16 尿検査では、投与に関連した変化はみられなかった。

17 血液学的検査では、16 ppm 以上投与群の雌において一部のパラメータの用量依存的
18 な僅かな上昇が確認された。雄では、投与の影響はみられなかった。

19 血液生化学的検査では、投与による影響はみられなかった。

20 中間検査の剖検では、16 ppm 投与群の雌 5/14 例及び 50 ppm 投与群の雌 13/13 例
21 で、陰核の隆起がみられた。50 ppm 投与群の雄では、精巣、精嚢及び前立腺の萎縮を示
22 した。臓器重量では、16 ppm 以上投与群の雄で、精巣及び前立腺の絶対重量の用量依
23 存的な減少が明らかになった。50 ppm 投与群の雌雄で副腎及び脳下垂体重量が減少し
24 た。全投与群で、卵巣重量が用量に関係なく増加した。

25 試験終了時に、臓器重量では、精巣、前立腺及び副腎の絶対重量の同様の変化が認め
26 られた。50 ppm 投与群の雄では、脳下垂体（－30%）、甲状腺（－20%）、腎臓（－30%）、
27 脾臓（－30%）及び肝臓（－20%）重量の減少が認められた。卵巣重量は、50 ppm 投与

1 群の雌で著しく減少した（-60%）。

2 剖検及び病理組織学的検査では、50 ppm 投与群の雌で、肝臓における病巣の発生頻
3 度及び肝細胞のすりガラス様の領域の僅かな増加が明らかになった。50 ppm 投与群の
4 雌で、膀胱結石並びにそれに関連した膀胱炎及び腎盂炎を伴う上皮過形成がみられた。
5 雌雄両方の生殖器官で影響がみられ、16 ppm 以上投与群の雄で、精巣、前立腺及び精
6 嚢の萎縮が、50 ppm 投与群の雌では、黄体の欠如、膣の炎症及び粘液分泌、子宮内膜
7 炎、子宮拡張、子宮内膜厚の低下及び陰核の骨の発達がみられた。1650 ppm 以上投与
8 群の雌で陰核の肥大がみられた。腫瘍の病理組織学的検査では、50 ppm 投与群におい
9 て腓島細胞腫瘍の発生頻度の増加がみられた。（参照 5、6） [5:FAS23 p17] [6:NADA 138-612,
10 1986 IV-A] (Hunter et al., 1982)

11 JECFA 及び FDA は、50 ppm の雄でみられた腓島細胞腫瘍の発生頻度の増加は発がん
12 性によるものではなく、TBOH のホルモン作用によるものと判断した。~~いと評価し、~~
13 ~~本試験について NOAEL 等を設定していない。~~（参照 5） [5:FAS23 p17] [6:NADA 138-612,
14 1986 IV-A]

15 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、~~16 ppm~~ 1 ppm 以上投与群の雄で精巣の
16 小型化、~~前立腺及び精嚢の萎縮が~~、雌で ~~陰核の肥大~~ 肛門性器皮膚の下垂がみられたこ
17 とから、本試験における NOAEL を ~~4 ppm (雄で 0.14 mg/kg 体重/日、雌で 0.16 mg/kg~~
18 ~~体重/日に相当)~~ 0.5 ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当²⁷) と設定した。~~16 ppm~~ 50 ppm
19 以上投与群の雌雄でみられた腓島細胞腫瘍の発生頻度の増加は TBOH のホルモン作用
20 によるものと考えた。

21 【事務局より】

本試験の 16 ppm 以上投与群の雌雄でみられた腓島細胞腫瘍の増加について、JECFA は、
TBOH のホルモン作用によるものとしています。本調査会の結論として、これらの所見をホルモ
ン作用によるものとしてよいか、ご検討をお願いいたします。

【事務局より】

EHC240 に基づいて「ppm」から「mg/kg 体重/日」に換算する際、Rat (old)の数値を用いて換
算してよいでしょうか。

22

23

²⁷ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

1 表 42 112 週間慢性毒性試験（ラット）における毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (ppm)	雄	雌
50	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・飲水量減少 ・副腎、脳下垂体、甲状腺、腎臓、脾臓及び肝臓重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎重量が減少 ・卵巣重量減少 ・肝臓病巣の発生頻度増加、肝細胞の擦りガラス様領域の僅かな増加 ・膀胱結石、膀胱炎、腎盂炎を伴う上皮過形成 ・黄体の欠如、膣の炎症及び粘液分泌、子宮内膜炎、子宮拡張、子宮内膜厚の低下及び陰核の骨の発達
16 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・精巣及び前立腺の絶対重量の減少 ・精巣、前立腺及び精嚢の萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・陰核の肥大
4 以上	→精巣の用量依存的な小型化	<ul style="list-style-type: none"> ・外陰部の隆起
1 以上	毒性所見なし ・精巣の小型化	<ul style="list-style-type: none"> ・肛門性器皮膚の下垂が用量依存的に発現
0.5 以上	毒性所見なし	毒性所見なし

寺岡専門委員

2
3
4

表 43 112 週間慢性毒性試験（ラット）における腫瘍性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
50	膵島細胞腫瘍の発生頻度の増加	膵島細胞腫瘍の発生頻度の増加
16 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

5

【事務局より】

50ppm 以上投与群の雌雄でみられた膵島細胞腫瘍の発生頻度の増加について、どのように考えたらいいでしょうか？

【小川専門委員】

トレンボロンでプロラクチンレベルが増加していれば、B 細胞の増殖が促される可能性があります。Brelje TC, Parsons JA, Sorenson RL. (1994) Regulation of islet beta-cell proliferation by prolactin in rat islets. Diabetes. 43(2): 263-73.

【島田章則専門委員】（コメントあり）

【寺岡専門委員】

4 ppm の雌で外陰部の隆起とありますが、この所見は毒性ではないのでしょうか？ もしそうであるとするならば、簡単でも説明が必要と思います。

6

1 (3) 長期投与慢性毒性試験 (ラット) <参考資料²⁸>

2 TBA に子宮内ばく露したラット (系統不明、600 匹) に TBA を長期混餌投与 (混餌
3 濃度 : 0、0.5、1、4、16.0 及び 50.0 ppm) し、慢性毒性試験が実施された。

4 主要な変化は、生殖器等に関連したものであり、16 ppm 以上投与群の大部分の雌で
5 は、雄のような粗い被毛、会陰部の脱毛、外陰部の隆起、卵巣の小型化、子宮の淡色粘
6 稠な液及び不明瞭な子宮頸部等がみられた。投与群の雄では去勢効果が顕著にみられた。
7 これらの所見の発現率及び重篤度は投与に関連した影響であった。いくらかの加齢性変
8 化の発現率が 50 ppm 投与群の雌で減少した。50 ppm 投与群の雄では、対照群に比
9 べて副腎及び下垂体の小型化が増加し、前立腺、精巣及び腎臓重量が顕著な低下を示した。
10 16 ppm 投与群の前立腺及び精巣重量も対照群に比較して有意に低下した。50 ppm 投与
11 群の雌では、副腎及び卵巣重量が有意に低値であった。雌では、黄体の欠落、膣の炎症
12 及び **修復変形 ?** (炎症に伴う粘膜や筋層等の過形成や損傷組織の線維化などに伴う形
13 態変化?) (inflammation and modification of the vagina)、子宮の炎症、内腔の拡張及
14 び内膜の **菲薄化** [島田章則専門委員]、陰核の拡大並びに陰核の骨の発達を含む顕著な病
15 理組織学的所見がみられた。雄では、精巣、前立腺及び精囊の萎縮性変化が顕著であっ
16 した。50 ppm 投与群の雌では、膀胱結石の増加、すりガラス様の肝細胞の頻度増加、涙腺
17 における **ハーダー腺化生 (Harderianisation)** の発現率の増加、乳腺維腺腫 (mammary
18 fibril adenoma) の発生率の減少、及び下垂体腺腫の発生率の減少がみられた。(参照 6)

19 [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] [小川専門委員]

20 【事務局より】

(2) ラット 112 週間慢性毒性と、試験の条件及び結果が酷似していることから、同一の試
験の可能性がります。

21
22 (4) 発がん性試験 (ラット、³H 標識 TBA) ① <参考資料²⁹>

23 ラット (Wistar 系、雄、匹数不明) に ³H 標識 TBA (57.0 Ci/mmol、17 µg/kg 体重)
24 を腹腔内投与し、発がん性試験が実施された。被験物質は、95%エタノール溶液として
25 用いられた。投与 16 時間後に、被験動物の肝臓における DNA への化学物質の共有結合
26 指数 (CBI) [Lutz, 1979]が定量された。

27 TBA の CBI は、5.62 であった[Lutz, 1979]³⁰。陽性対照の *N*-ヒドロキシアセチルア
28 ミノフルオレンの CBI は 262 であった。(参照 5) [5:FAS23 p5] (Barraud et al., 1983)

29 発がん性はみられなかった。

30
31 (5) 発がん性試験 (ラット、³H 標識 TBA) ② <参考資料³¹>

32 ラット (系統不明、雄、8 匹) に ³H 標識 TBA を腹腔内投与 (0.83 mCi、20~40 µg/kg
33 体重) し、時間に応じて TBA の CBI を測定した。投与 4~96 時間後に測定した結果、

28 投与期間が不明であることから、参考資料とした。

29 腹腔内投与で実施されていることから、参考資料とした。

30 Lutz (1979) によると、弱い発がん物質は CBI が約 10 又は 10

31 腹腔内投与で実施されていることから、参考資料とした。

1 CBI の最高値は投与 24 時間後の 7.8 で、投与 96 時間後には 1.11 となった。(参照 5)
 2 [5:FAS23 p5] (Barraud et al., 1983)

3
 4 (6) 発がん性試験 (ラット、 α -TBOH 又は β -TBOH) ③ <参考資料³²>

5 ラット (F 344 CDF、雌雄各 5 匹/群) に α -TBOH 又は β -TBOH (2.5、5 又は 10 mg/kg
 6 体重) を肝臓の部分切除 18 時間後に腹腔内投与した。対照群 (雌雄各 5 匹/群) として、
 7 溶媒のみ投与する 2 群及び無処置の 1 群を用いた。被験動物には投与後 13 日間以上の
 8 回復期間を設けた。その後、被験動物には、水道水と 0.02% の 2-アセチルアミノフルオ
 9 レンを含む粉末飼料が投与されたが、溶媒対照の 1 群に投与された飼料にはアセチ
 10 ルアミノフルオレンは含有されていなかった。新たな給餌計画の開始 7 日後に、被験動
 11 物には四塩化炭素を胃内への強制経口投与 (2 mL/kg 体重) した (アセチルアミノフル
 12 レンを与えない溶媒対照群の動物には、四塩化炭素を投与されなかった)。その 7 日
 13 後に、肝臓を採取し顕微鏡検査を実施した。

14 肝臓の部分切除手術後 2、3 日は、大部分の動物は中等度の嗜眠及びその他の臨床症
 15 状がみられたが、化合物に関連した悪影響はなかった。体重又は肝臓重量に有意な投与
 16 に関連した影響は報告されなかった。

17 α -TBOH 及び β -TBOH のいずれにも、試験用量において肝臓の前がん病変を誘発す
 18 るエビデンスは示されなかった。著者らは、これらのステロイドは全て、本試験におい
 19 て肝腫瘍イニシエーターである ~~エビデンス~~ 証拠は認められなかったと結論した。(参照
 20 5) [5:FAS23 p6] (Allen & Proudlock, 1987)

21
 22 7. 生殖発生毒性試験

23 (1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

24 ラット (SD 系、雌雄、700 匹以上) に TBA を混餌投与 (混餌濃度 : 0、0.5、3 又は
 25 18 ppm) し、2 世代繁殖試験が実施された。投与は、F₀ 世代の雄では交尾 9 週間前から、
 26 雌では交尾 2 週前から試験終了時まで実施された。F₁ 世代では 2 群を選択飼育し、交配
 27 させた。1 群は F₀ 世代と同じ混餌濃度で投与を継続し (投与継続群)、別のもう 1 群は
 28 3 週齢の時点で投与を中止した (~~無投与群~~ 休薬群)。

29 各投与群でみられた影響を表 44 に示した。(参照 5、6) [5:FAS23 p10~11] [6:NADA 138-
 30 612, 1986 IV-C] (James et al., 1985)

31 投与継続群の繁殖成績³³には、18 ppm 投与群では顕著な影響が ~~みられ~~、3 ppm 投与
 32 群では僅かな影響 ~~しかみられなかったがそれぞれみられた~~。0.5 ppm 投与群では、膈開
 33 口の僅かな遅延がみられ、6 週齢時には精巣上体 ~~及び~~又は精巣/前立腺重量への影響が
 34 認められた。投与の影響は F₂ 世代の児動物の方が F₁ 世代の同時期よりも顕著であつた。
 35 しかし、~~全体的な繁殖成績は、0.5 ppm 投与群における影響はみられなかった~~ 0.5 ppm
 36 投与群の繁殖成績は、対照群とほぼ同等であつた。休薬後の F₁ 世代の全群における繁殖
 37 成績には、対照群との間で大きな違いはみられなかった。(参照 5、6) [6:NADA 138-612,

³² 腹腔内投与で実施されていることから、参考資料とした。

³³ 親動物が児動物を出産し維持する能力で評価

1 1986 IV-C] [5:FAS23 p10~11] (James et al., 1985)
 2 ~~F₁世代投与群を親動物とする F₂世代の雄 (6週齢) では、対照群と比べて投与群の平均~~
 3 ~~体重は低値であった投与継続群では、F₂世代の雄 (6週齢) の平均体重がやや低かった~~
 4 ~~が、精巣、精巣上体、精嚢及び前立腺の組織学検査では、形態的異常は何もみられなかつた。~~
 5 ~~投与動物は性的に未熟であり、精巣においては精子の尾部が形成されているもの~~
 6 ~~の、精巣上体に精子が存在しない状態でありあったが、その週齢では正常であると考え~~
 7 ~~られた。(参照5) [5:FAS23 p11] (Offer, 1985)~~

8 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雌では 0.5 ppm 投与群の F₁世代の児動
 9 物で膣開口の僅かな遅延が、雄では ~~6週齢時に精巣上体及び/又は精巣/前立腺重量への~~
 10 ~~影響 F₁及び F₂世代の児動物に精巣/前立腺又は精巣上体の重量の低下がみられたことか~~
 11 ~~ら、雌雄の LOAEL を 0.5 ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当³⁴) と設定した。~~

【事務局より】

EHC240 に基づいて「ppm」から「mg/kg 体重/日」に換算する際、Rat (old)の数値を用いて換算してよいでしょうか。

表 44 2 世代繁殖試験 (ラット) における毒性所見

混餌濃度 (ppm)	世代	雄	雌
18	F ₀	<ul style="list-style-type: none"> 被毛粗剛、皮膚の変色 前胃部上皮抑制の発生頻度増加 精嚢/前立腺重量の 増加低下 	<ul style="list-style-type: none"> 妊娠中の体重増加抑制 被毛粗剛、皮膚の変色 2 回目の交配で妊娠率の顕著な低下 2 回目の交配までに要する時間の延長 妊娠期間の 大幅僅かな延長 同腹児数及び同腹児体重の低下 着床後/出産前の胎児死亡増加 卵巣重量の増加 同腹児数及び腹児体重の低下 <最初の交配後> 同腹児体重の減少<2 回目交配後>
	F ₁	<ul style="list-style-type: none"> 前胃部上皮抑制の発生頻度増加<投与群> 精嚢/前立腺重量の 増加低下<投与群> 精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低下<6 週齢離乳児> 胎児における肛門生殖 器突起 間距離の減少、骨格変異発生頻 	<ul style="list-style-type: none"> 被毛粗剛、皮膚の変色<投与群> 陰核の隆起<投与群、休薬薬の児動物> 膣の閉塞、早熟/不完全な膣口<投与群の児動物> 妊娠率の顕著な低下<投与群> 2 回目の交配までに要する時間の延長<投与群> 妊娠期間の 大幅僅かな延長<投与群>

³⁴ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat (old)	0.40	20	50

		度微増<F ₀ 世代の 2 回目の交配 後ので得られた胎児>	<ul style="list-style-type: none"> ・分娩延長による全同腹児の死亡発生頻度の顕著な増加、同腹児の雄の比率増加<投与群> ・同腹児数及び同腹児体重の低下<投与群> ・着床後/出産前の胎児死亡増加<投与群> ・卵巢重量の増加<投与群の児動物> ・副腎重量の低下<6週齢離乳児>
	F ₂	<ul style="list-style-type: none"> ・精巣下降の遅延<投与群の児動物> ・精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低下<6週齢離乳児> 	<ul style="list-style-type: none"> ・陰核の隆起<投与群> ・膣の閉塞、早熟/不完全な膣口<投与群の児動物> ・副腎重量の低下<6週齢離乳児>
3	F ₀	・体重増加抑制	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・同腹児数の減少 (1 回目の交配) ・同腹児体重の低下 (2 回目の交配)
	F ₁	<ul style="list-style-type: none"> ・精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低下 ・精巣下降の遅延 (軽度) <6週齢離乳児> 	<ul style="list-style-type: none"> ・被毛粗剛、皮膚の変色 (1 例) ・膣開口遅延 ・不完全な膣開口、膣の閉塞<6週齢離乳児>
	F ₂	・精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低下<6週齢離乳児>	・膣開口遅延<投与群の児動物>
0.5	F ₀		
	F ₁	・精嚢/前立腺の重量の低下<投与群の 6週齢離乳児>	・膣開口の僅かな (統計学的有意差を伴わない) 遅延
	F ₂	<ul style="list-style-type: none"> ・精嚢/前立腺の重量の低下<投与群の 6週齢離乳児> ・精巣上体重量の低下 	

1
2

渡邊専門委員、青山座長

(参考)

18 ppm 投与群では、次のような影響がみられた。

- a) F₀及び F₁世代の投与群の雌雄並びに F₁世代の休薬群の雌で通常体重の高値
- b) F₀世代の交配では妊娠中の体重増加抑制
- c) F₀世代の動物及び F₁世代の投与群の雌で被毛粗剛及び皮膚の変色
- d) F₁世代の投与群の雌で陰核の隆起がみられ、F₁世代の休薬群の雌では程度が小さかった。同様の影響は F₁世代投与群を親動物とする F₂世代の雌でもみられたが、F₁休薬群児ではみられなかった。
- e) F₁投与群児及び F₁投与群を親動物とする F₂児では、閉塞した膣及び/又は早熟/不完全な膣口がみられた。
- f) F₁投与群を親動物とする F₂児では、精巣下降の遅延がみられた。
- g) F₀世代の 2 回目の交配及び F₁投与群では妊娠率の顕著な低下がみられた。
- h) F₀世代の動物及び F₁世代の投与群で 2 回目の交配までに要する時間の延長がみられた。
- i) F₀世代の動物及び F₁世代の投与群で妊娠期間の大幅な延長がみられた。
- j) F₁世代の投与群で分娩延長及び全同腹児の死亡発生頻度の顕著な増加並びに同腹児における雄の割合の有意な増加がみられた。

- k) F₀世代及び F₁世代の投与群の交配後、出生時又は妊娠 20 日のと殺時における同腹児数及び同腹児体重の低値がみられた。
- l) F₀及び F₁世代の投与群において、着床後/出産前の死亡の増加がみられた。
- m) 最終剖検時では、前述の所見に加えて、F₀及び F₁世代の雄において前胃部上皮抑制の発生頻度が増加した。
- n) F₀及び F₁世代の雄における精嚢/前立腺重量の有意な減少、並びに F₀及び F₁世代の投与群の雌における平均卵巣重量の増加がみられた。
- o) F₁及び F₂世代の 6 週齢離乳児の雄における精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体の重量の有意な減少がみられた。F₁及び F₂世代の 6 週齢離乳児の雌は副腎重量の減少を示した。
- p) F₀世代の 2 回目の交配後、雄胎児における肛門生殖突起間距離の有意な減少及び骨格変異の発生頻度の微増（催奇形性相）。

TBA の 3 ppm 投与群では、次のような影響がみられた。

- a) F₀世代の最初の交配時において体重増加遅延がみられた。
- b) F₁世代の雌 1 例において被毛粗剛及び皮膚の変色がみられた。
- c) F₁世代及び F₁世代投与群を親動物とする F₂児の雌において膣開口の平均年齢の有意な遅延がみられた。
- d) 生後 6 週における剖検で F₁世代において不完全な膣開口又は膣の閉塞の発生が散見された。
- e) F₁世代の投与群を親動物とする F₂児の雄において軽度だが統計学的に有意ではない精巣下降の遅延がみられた。
- f) F₀世代の最初の交配後の出生時において同腹児数の有意な減少がみられた。
- g) F₀世代の 2 回目の交配後において同腹児重量の低下がみられた。
- h) 投与群の F₁世代の同腹児数の僅かな減少がみられた。
- i) F₁及び F₂の 6 週齢離乳児の雄における精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体の重量の有意な低下がみられた。

TBA の 0.5 ppm 投与群では、次のような影響がみられた。

- a) F₀世代の雄において、群の平均体重の高値がみられた。
- b) F₁児動物及び投与群の F₁世代からの F₂児動物における膣開口の平均年齢の僅かだが統計学的に有意ではない遅れ（続く交配能及び同腹児のパラメータは対照群のものと同様）
- c) F₁投与群の児の雄及び F₁世代の投与群を親とする F₂児の雄の 6 週齢時では精嚢/前立腺の重量の統計学的に有意な低下がみられた。
- d) F₂世代の雄における精巣上体重量の有意な低下がみられた。

(参照 5) [5:FAS23 p10~11] [James et al., 1985]

【青山座長】

一見すると、「TBA のアンドロゲン様作用は相対的にテストステロンやジヒドロテストステロンより弱いため、雄では受容体レベルで拮抗阻害が起こった」と推測される。しかし、「9. (7)」の記載によれば、TBA のアンドロゲン活性はテストステロンの 5 倍程度とされているので、上述の推測は必ずしも妥当ではないと考えられる。TBA の投与によりアンドロゲンの生合成が阻害された可能性を含め、MOA について少し議論しておく必要があると思われる。

1
2
3
4

(2) 生殖毒性試験 (ラット) ①

ラット (系統不明、体重 133~143 g、雄 40 匹及び雌 80 匹) に、交配 9 週間前から分娩 21 日後までにわたり、TBA を混餌投与 (混餌濃度 : 0、0.5、1、4 又は 16 ppm) す

るとともに、雌に妊娠 1 日から分娩 21 日後まで TBA を混餌投与（50 ppm）する別の群を設定して、生殖毒性試験が実施された。分娩 21 日後に、繁殖成績について調べられた。本試験でみられた毒性所見を表 45 に示す。

4 ppm 以上投与群の雌では試験期間中を通じて成長率が増加し（10～20%）、50 ppm 投与群では交配後に増加した（10%）。1 ppm 以上投与群において、用量依存的な妊娠率の低下がみられた（最大-30%）。全投与群で分娩 4 日後までの児動物の死亡率が対照群と比較して上昇した。分娩 0、4、12 及び 21 日後の同腹児数及び同腹児重量は、4 及び 16 ppm 投与群（最大約 10%）、並びに 50 ppm 投与群（約 25%）で減少した。児動物の平均体重は、50 ppm 投与群において分娩 4 日後以降でのみ減少した（最大 15%）。（参照 5、6） [5:FAS23 p10] [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] (Hunter et al., 1982)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、母動物では 1 ppm 以上投与群に用量依存的な妊娠率の低下が みられ、~~4ppm 以上投与群の胎児で同腹児数及び同腹児重量の減少がみられ~~ 全ての投与群で哺育児死亡率が上昇したことから、母動物及び胎児の NOAEL 親動物に対する NOAEL 及び児動物に対する LOAEL をそれぞれ 0.5 ppm（0.025 mg/kg 体重/日に相当³⁵）及び ~~1ppm~~ と設定した。[青山座長]

表 45 生殖毒性試験（ラット）における毒性所見

投与量 (ppm)	親動物	児動物
50		・平均体重減少（分娩 4 日後以降）
16 以上		
4 以上	・成長率増加	・同腹児数及び同腹児重量減少
1 以上	・妊娠率低下	
0.5 以上	毒性所見なし	・哺育児死亡率上昇

[渡邊専門委員、青山座長]

【事務局より】

EHC240 に基づいて「ppm」から「mg/kg 体重/日」に換算する際、Rat (old)の数値を用いて換算してよいでしょうか。

【青山座長】

- ・雄にも TBA を投与しているので、産児数の低下がすべて雌のせいとは断定できません。
- ・哺育児の死亡率上昇は立派な悪影響なので、「NOAEL は得られなかった」と判断すべきです。

(3) 生殖毒性試験（ラット）② <参考資料³⁶>

ラット（系統不明、雌雄各 12 匹）に TBA を 63 日間混餌投与（混餌濃度：0、25、50 又は 100 ppm）し、その後交配させた。これらの群では雌のそれぞれ 12/12、10/12、4/12 及び 1/12 例が妊娠した。（参照 5） [5:FAS23 p10] (Ross, 1980)

³⁵ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

³⁶ 妊娠率以外の結果の詳細が不明であることから、参考資料とした。

1
2 (4) 生殖発生毒性試験 (ラット) ①

3 ラット (系統不明、雌雄各 12 匹/群) に TBA を交配前、交配期間、妊娠期間及び授乳
4 期間を通じて混餌投与 (混餌濃度 : 0、1、2、5 又は 10 ppm) し (繁殖相)、この試験で
5 得られた児動物 (雌雄各 25 匹/群) に TBA を離乳後 13 週間にわたり同様の濃度で混餌
6 投与して (主要発達・成長相)、生殖発生毒性試験が実施された。本試験でみられた毒
7 性所見を表 46 に示す。

8 繁殖相では、交配前の期間において、10 ppm 投与群の雄で摂餌量の低下を伴う僅かな
9 体重増加抑制がみられたが、投与群において、繁殖成績に投与に関連した影響はみられ
10 ず、同腹児数、一腹の重量、児の大きさ及び死亡率に投与に関連した変化はみられな
11 かった。

12 **主要発達・成長相**では、全投与群の雄で体重増加抑制がみられ、2 ppm 以上投与群の
13 雌では摂餌量の増加を伴う体重増加がみられたが、用量相関性はみられなかった。

14 血液生化学的検査では、10 ppm 投与群で血清中 ALP が上昇した。

15 臓器重量では、10 ppm 投与群の離乳 4 週後の雌のみで肝臓の絶対及び相対重量が高
16 値を示した。また、5 ppm 以上投与群の雄で、離乳 4 週後に精囊の絶対重量の低下 (形
17 態学的な変化は伴わない) がみられたが、離乳 13 週後では対照群と同様であった。

18 FDA は、本試験における NOEL を 1 ppm と設定した。(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986
19 IV-A]

20 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、繁殖成績に投与に関連した影響はみられ
21 ず、10 ppm 投与群の雌雄に血清中 ALP の上昇が、10ppm 投与群の **胎児-児動物** に肝
22 臓の絶対及び相対重量の増加がみられたことから、親動物及び児動物に対する NOAEL
23 をそれぞれ 10 ppm 及び 5 ppm (0.5 mg/kg 体重/日及び 0.5 mg/kg 体重/日に相当³⁷⁾
24 と設定した。

25
26 表 46 生殖発生毒性試験 (ラット) における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌	児動物
10	・ALP 上昇	・ALP 上昇	・肝臓の絶対及び相対重量増加 (雌) (離乳 4 週後)
5 以上			毒性所見なし
2 以上		・摂餌量増加、体重の増加	
1 以上	・体重増加抑制	毒性所見なし	

渡邊専門委員

37 JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat (young)	0.10	10	100
Rat (old)	0.40	20	50

【事務局より】

EHC240に基づいて「ppm」から「mg/kg 体重/日」に換算する際、親動物はRat (old)の数値、子動物はRat (young)の数値を用いて換算してよいでしょうか。

★FDAがADIを設定する根拠となった試験★

(5) 生殖発生毒性試験（ラット）②

ラット（系統不明、雌雄、270匹）にTBAを交配2週間前から妊娠終了までの間、F₀世代の雌雄に混餌投与（混餌濃度：0、0.1、0.3、0.5、3又は18ppm）し、生殖発生毒性試験が実施された。F₁の同腹児は、離乳時まで飼育し、生後22日に雄を、生後24日に雌を肉眼的に検査した。本試験でみられた毒性所見を表47に示す。

親動物では、3ppm以上投与群で、体重は、雌で僅かに高値を示したが、妊娠中には増加抑制がみられ、雄では投与の最後3週間にわたり、僅かな増加抑制がみられた。剖検では、18ppm投与群の雌の22/29例で陰核の隆起がみられ、3ppm以上投与群で妊娠期間の延長（18ppm投与群で有意）がみられた。また、18ppm投与群の雌の4/29例で全同腹児動物が死亡した。

児動物については、3ppm以上投与群で同腹児数の減少、一腹当たりの重量の低下、死亡率の僅かな高値及び児動物の体重の高値がみられ、雄では、精巣重量の低下及び精囊/前立腺重量の上昇がみられた。また、18ppm投与群の雌の全例で約3週齢時から陰核の隆起がみられた。（参照5、6）[5:FAS23 p11~12][6:NADA 138-612, 1986 IV-C] (James et al., 1986)

FDAは、本試験において、ラットにおけるホルモン影響に対するNOELを0.5ppmと設定している。（参照6）[6:NADA 138-612, 1986 IV-C]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、3ppm以上投与群の雄親動物で僅かな体重増加抑制及び雌親動物で妊娠期間の延長が、胎児-児動物で同腹児数の減少、精巣重量の低下、及び精囊/前立腺重量の増加、陰核の隆起等がみられたことから、親動物及び児動物に対するNOAELをともに0.5ppm（~~30 µg/kg 体重/日~~ 0.025 mg/kg 体重/日）に相当³⁸）と設定した。

表47 生殖発生毒性試験（ラット）における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌	胎児-児動物
18		<ul style="list-style-type: none"> ・ <u>僅かな体重増加抑制（妊娠中）</u> ・ 陰核の隆起（22/29） ・ 妊娠期間延長 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 全同腹児動物死亡（4/29） ・ <u>1腹当たりの重量低下</u>

³⁸ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

3 以上	・僅かな体重増加抑制	・体重増加 <u>(交配前期間)</u> ・体重増加抑制 (妊娠中) ・妊娠期間 <u>の僅かな 延長</u>	・同腹児数減少、 <u>一腹当たり重量低値、哺育児</u> 死亡率の僅かな高値、 <u>胎児哺育児</u> 体重増加 (雌雄) ・精巣重量低下、精囊/前立腺重量増加 (雄) ・陰核の隆起 (雌)
0.5以上以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
0.3以上			
0.1以上			

渡邊専門委員、青山座長

【青山座長】

この試験は (1) のフォローアップとして実施されたようなので、位置を変えて「(2)」としては如何でしょうか？

~~-(6) 発生毒性試験 (ラット) ①³⁹~~

~~ラット (系統不明、6 匹/群) の妊娠 6~15 日に TBA を強制経口投与 (0 (溶媒⁴⁰)、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。~~

~~死亡率、成長率、黄体数、胎児の生存/死亡数及び分布、同腹児体重、胎児体重、顕微鏡的胎児異常、性比及び胎児頭殿長 (fetal crown-rump distance) の全てにおいて投与の影響はみられなかった。(参照 5、6) [5:FAS23 p12][6:NADA 138-612, 1986 IV-C] (James et al., 1982)~~

~~食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、いずれの投与群においても投与による影響がみられなかったことから、本試験の NOAEL を母動物、児動物ともに最高用量である 10 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。~~

【青山座長】

この試験は (7) を実施するための用量設定試験なので、すべて削除すべきと思います。

(7) 発生毒性試験 (ラット) ②

ラット (系統不明、20 匹/群) の妊娠 6~15 日に TBA を強制経口投与 (0 (溶媒⁴¹)、5、10 又は 20 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日に胎児の頭殿長及び肛門 **性器生殖突起** 間距離を測定し、骨格及び内臓異常を調べた。本試験でみられた毒性所見を表 48 に示す。

10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群で、母動物のそれぞれ 9/20 匹及び 15/20 例に脱毛がみられた。20 mg/kg 体重/日投与群では体の **緊張緩和弛緩 (relaxed bodytone)** がみられ、10 mg/kg 体重/日以上投与群では軽度の流涎の増加がみられた。全投与群で用量依

³⁹ II. 7. (7) の予備試験として実施された。

⁴⁰ 1%MC 及び 2.5%エタノールの溶液

⁴¹ 1%MC 及び 2.5%エタノールの溶液

1 存的な体重増加抑制がみられた（最大 20%）。渡邊専門委員

2 妊娠率、胎児の生存/死亡数、着床及び黄体数、同腹児重量、平均胎児体重、主要な外
3 表奇形の発生頻度、軽度の内臓奇形の発生頻度（ウィルソン法）及び胎児頭殿長の全て
4 において、投与の影響はみられなかった。骨格変異（肋骨の数、正常及び変異胸骨分節
5 の数）の発生頻度は、投与の影響を受けなかった。ブアン液で保存された雄胎児におけ
6 る肛門 ~~性器-生殖突起~~間距離は、対照群よりも僅かに短く、投与量の増加に伴い明らかに
7 僅かに短くなる傾向がみられ、20 mg/kg 体重/日投与群において有意（ $P < 0.05$ ）となっ
8 た。20 mg/kg 体重/日投与群の胎児における肛門 ~~性器-生殖突起~~間距離のばらつきは対
9 照群に比べて大きいにもかかわらず、アルコール保存された雄の胎児の平均値は同様の
10 傾向を示さなかった。20 mg/kg 体重/日投与群では、対照群に比べて、固定後の胎児重
11 量及び頭殿長の範囲も高かった。雌では、ブアン液及びアルコール保存された平均肛門
12 ~~性器-生殖突起~~間距離は、全群で同等であった。（参照 5、6） [5:FAS23 p12] [6:NADA 138-612,
13 1986 IV-C] (James et al., 1982) 渡邊専門委員

14 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全投与群の母動物で用量依存的な体重増
15 加抑制がみられたことから、本試験の母動物に対する LOAEL を 5 mg/kg 体重/日、い
16 ずれの投与群においても投与による胎児への影響がみられなかったことから、本試験の
17 胎児に対する NOAEL を最高用量である 20 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみ
18 られなかった。

20 表 48 発生毒性試験（ラット）における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
20	・体の緊張緩和	・胎児重量及び肛門生殖突起間距離（固定後）
10 以上	・脱毛 ・流涎（軽度）	
5 以上	・体重増加抑制	毒性影響なし

渡邊専門委員

21 **【渡邊専門委員】**

22 （下線部は、）評価に直接係らないのであれば、固定標本での形態観察は誤差が大き
いので削除しても良いのではないのでしょうか。もし記載するのであれば、表 48 にも加
えるべきではないのでしょうか。

23
24 8. ホルモン作用に関する試験

25 **★豪州が ADI を設定する根拠となった試験★**

26 (1) 14 日間投与試験（豚、β-TBOH 又は α-TBOH）

27 成熟豚（8～10 か月齢、雄、3～7 頭/投与群、11 頭/対照群）に β-TBOH（0.1、1、10、
28 16、24 又は 36 µg/kg 体重/日）又は α-TBOH（0.1、10、100、160、240 又は 360 µg/kg
29 体重/日）を、去勢後 14 日間経口投与した。最終投与後は、14 日間以上の休薬期間を設

1 けた。血液は、去勢前（試験 0 日）、試験 7、14、21 及び 28 日後に採取した。 α -TBOH
 2 投与群では試験 0 及び 14 日後に、 β -TBOH 投与群では試験 0、14 及び 28 日後に LH
 3 を測定した。最終投与から 14 日後に、下垂体、前立腺及び精囊について剖検及び病理組
 4 織学的検査を実施した。本試験でみられた毒性所見を表 49 及び 50 に示す。

5 体重及び臓器重量に投与の影響はみられなかった。

6 β -TBOH16 μ g/kg 体重/日以上投与群では、LH 値の減少に投与 14 日と 0 日の間で差
 7 がみられ、投与 28 日と 14 日ではより顕著な有意差がみられた。 α -TBOH の 160 μ g/kg
 8 体重/日以上投与群では、投与 14 日と 0 日の間で LH 値が有意に減少した。

9 剖検及び病理組織学検査では、 β -TBOH16、24 及び 36 μ g/kg 体重/日投与群において、
 10 前立腺上皮の形態学的変化（高さ及び腺房の大きさの増加）が認められた（それぞれ 3/7、
 11 2/7 及び 6/7 例）。（参照 5、13） [5:FAS23 p6(Roberts & Cameron, 1985)] [13:FAS25 p2~3
 12 (Roberts et al. 1983)]

13 JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL (no-hormonal-effect level)
 14 を、 β -TBOH で 10 μ g/kg 体重/日、 α -TBOH で 100 μ g/kg 体重/日と設定した。（参照 13）
 15 [13:FAS25 p2~3(Roberts et al. 1983)]

16 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、 β -TBOH16 μ g/kg 体重/日以上投与群及
 17 び α -TBOH の 160 μ g/kg 体重/日以上投与群で LH 値の明らかな変化がみられたことか
 18 ら、NOAEL を、 β -TBOH で 10 μ g/kg 体重/日、 α -TBOH で 100 μ g/kg 体重/日と設定
 19 した。

21 表 49 生殖発生毒性試験（ラット）における毒性所見（ β -TBOH 投与群）

投与量 (μ g/kg 体重/日)	雄
16 以上	・ LH 値の減少 ・ 前立腺上皮の形態学的変化（高さ及び腺房の大きさの増加）
10 以下	毒性所見なし

23 表 50 生殖発生毒性試験（ラット）における毒性所見（ α -TBOH 投与群）

投与量 (μ g/kg 体重/日)	雄
160 以上	・ LH 値の減少
100 以下	毒性所見なし

25 (2) 14 週間投与試験（豚、TBA）①

26 豚（5～6 か月齢、雌雄各 5 頭/群）に TBA を 14 週間混餌投与（0、5、7.5 又は 10
 27 μ g/kg 体重/日⁴²）し、臨床徴候の観察、体重測定、摂餌量測定、テストステロン、E2 β
 28 及びプロゲステロン（血液は毎週採取した。）の測定、剖検及び病理組織学的検査（精巢、
 29 精囊、子宮、卵巣、乳腺及び肝臓）が実施された。本試験でみられた毒性所見を表 51 に

42 溶媒：コーン油

1 示す。

2 対照群の雌 1 例が心筋破裂により、投与 11 週に死亡した。

3 体重及び摂餌量に、TBA の投与による影響はみられなかった。

4 血中ホルモン値では、対照群と比較して雄のテストステロンの偶発的な増加がみられ
5 た。7.5 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で、プロゲステロンの有意な低下が観察されたが、
6 用量依存性はみられなかった。E2β の統計学的に有意な変化は、雌雄ともに観察されな
7 かった。雌におけるプロゲステロンは、発情周期変動により、投与群と同様に対照群で
8 もばらつきがみられた。

9 臓器重量では、7.5 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で用量依存的な胸腺重量の減少及び
10 肝臓重量の増加がみられた。10 µg/kg 体重/日投与群では、雄で精巣上体重量が減少し、
11 雌で脾臓重量が増加した。

12 病理組織学的検査では、肝細胞の細胞質の組織学的変化（部分的な擦りガラス様変化）
13 が、投与群の雄でみられた（5、7.5 又は 10 µg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 4/5、5/5 及
14 び 5/5 例）。この所見はいかなる変性変化も伴わず、恐らく適応反応によるものであると
15 考えられた。（参照 13） [13:FAS25 p3] (Cherry, 1986; Roberts et al., 1986)

16 JECFA は、本試験における NOEL を 5~7.5 µg/kg 体重/日と設定した。（参照 13）
17 [13:FAS25 p3 (Cherry, 1986; Roberts et al., 1986)]

18 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、用量依存性はみられなかったが、7.5
19 µg/kg 体重/日以上投与群の雄でプロゲステロンの有意な低下が、10 µg/kg 体重/日投与
20 群の雌で脾臓重量の増加が観察されたことから、雄及び雌の NOAEL をそれぞれ 5 µg/kg
21 体重/日及び 7.5 µg/kg 体重/日と設定した。

22

23

1 表 51 14 日間投与試験（豚）における毒性所見

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	雄	雌
10	・精巣上体重量が減少	・脾臓重量が増加
7.5 以上	・プロゲステロンの有意な低下 ・胸腺重量の減少及び肝臓重量の増加	毒性所見なし
5 以上	・肝細胞の細胞質の組織学的変化 (部分的な擦りガラス様変化。 変性変化を伴わない)	

2

3 (3) 14 週間投与試験（豚、TBA）②

【事務局より】

FAS25（参照 10）の 1.EXPLANATION では、第 32 回会合（5:FAS23（参照 5））において検討された豚を用いたホルモンの試験 3 試験の個体データを要約する旨の記載があることから、II. 8.（2）と同一試験と考えられます。他方で、FAS25 では、別著者による文献も併せて参照していることから、II. 8.（2）とは別の試験として記載しました。

(参考)

(3) FAS23 の参考資料

Roberts, N.L. & Cameron D.M. (1985). Hormonal effects of orally administered trenbolone. Findings from three studies in the domestic pig. Unpublished report No. RSL 591/83499 from Huntingdon Research Centre, Huntingdon, England. Submitted to WHO by Roussel Uclaf, Paris, France.

(2) FAS25 の参考資料

CHERRY, C.P. (1986). Photomicrography addendum to histopathology report No. RSL/663. Oral administration of trenbolone acetate to growing pigs over a 14-week period. Unpublished report No. RSL 663/86476 from Huntingdon Research Centre Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by UCLAF, 75020 Paris, France.

ROBERTS, N.L., CROOK, D. & GOPINATH, C. (1986). Hormonal effects of oral administration of trenbolone acetate to growing pigs for fourteen weeks. Report No. RSL/663 from Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Roussel UCLAF, 75020 Paris, France.

4

5 豚（雌雄各 5 頭/群）に TBA を 14 週間経口投与（0、5.0、7.5 又は 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/
6 日⁴³）した。投与前及び投与後は毎週採血し、血漿中テストステロン、E2 β 及びプロゲ
7 ステロンを RIA により測定した。最終投与後に剖検し、精巣、卵巣、精嚢、子宮及び乳
8 腺の病理組織学的検査を実施した。

9 血漿中ホルモン値では、雄で、対照群に比べて投与 1 及び 5 週後にテストステロンが

⁴³ 溶媒：コーン油

1 いくらか増加し、7.5 µg/kg 体重/日以上投与群で有意な変化を示した。しかし、これら
2 の変化は持続しなかった。雌のテストステロンは、全ての群において全般的に低かった。

3 雄のエストラジオールに、群間の有意差はみられなかった。雌のエストラジオールは
4 全群で全般的に低いままであった。

5 雄のプロゲステロンは、10 µg/kg 体重/日投与群の投与 7~10 週後及び 7.5 µg/kg 体
6 重/日投与群の 10 週後で、対照群と比べて有意に低かった。しかし、これら 2 投与群の
7 投与前の値は対照群と比べると低く、投与 6~14 週にわたる平均値の解析で有意な影響
8 はみられなかった。雌では周期的変化のため、プロゲステロン値は変動し、一貫した群
9 間の差は明確ではなかった。周期の開始時期及びプロゲステロンのピークを調べた試験
10 では、明らかな影響はみられなかった。

11 臓器重量及び病理組織学的検査では、いずれの群においても、投与に関連した変化は
12 みられなかった。(参照 5) [5:FAS23 p8- 9] (Roberts & Cameron, 1985)

13 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において明確なホルモン影響がみ
14 られなかったため、ホルモン影響に対する NOAEL は最高用量である 10.0 µg/kg 体重/
15 日と設定した。

16
17 ★JECFA (1987, 1989) が暫定的な ADI を設定する根拠となった試験★

18 ★豪州が ADI を設定する根拠となった試験★

19 (4) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ③

20 性成熟期の豚 (26 週齢、雄雌各 4 頭/群) に、TBA を 14 週間混餌投与 (混餌濃度：
21 0、0.1、2 又は 20 ppm (0、2~3、40~100 又は 400~600 µg/kg 体重/日に相当)) した。
22 臨床徴候観察、死亡率算出、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、臨
23 床化学的検査、ステロイドホルモン分析、臓器重量測定 (雄雌ともに平均値及び相対的
24 データが示されたのみ)、剖検、骨髄塗抹検査及び病理組織学的検査が実施された。本試
25 験でみられた毒性所見を表 52 に示す。

26 死亡率、体重又は眼科学的検査において投与による影響はみられなかった。20 ppm 投
27 与群の 1 例が、投与 10 週で後軀の部分麻痺を発現後に安楽死処置された。

28 血液学的検査では、2 ppm 以上投与群の雌で投与 12 週に用量依存的で有意な影響が
29 みられた。

30 血液生化学的検査では、2 ppm 以上投与群の雌雄で投与 6 及び 12 週に T.Chol が有意
31 に増加した。BUN 及び AST は、20 ppm 投与群のみで増加した。テストステロン及び
32 E2β は 2 ppm 以上投与群の雄で有意に減少し、0.1 ppm 投与群では僅かで有意ではな
33 い減少が認められたが、この群の投与前の E2β は比較的lowかった。血清中プロゲステロ
34 ンは、2 ppm 以上投与群の雌において有意に減少した。

35 臓器重量では、精囊及び下垂体重量が 20 ppm 投与群においてのみ増加した。2 ppm
36 以上投与群において、肝臓及び腎臓重量の増加、子宮重量の減少及び精巣重量の減少が
37 用量依存的に観察された。精巣重量においてごく僅かな影響 (marginal effect) が 0.1
38 ppm 投与群で認められた。

39 病理組織学的検査では、2 ppm 以上投与群において、肝臓で“擦りガラス”様の細胞
40 質を伴う肝細胞の腫大が、雄では精巣の間質細胞の萎縮が、雌では卵巣で成熟卵胞の欠

1 如及び又は成熟又は初期の黄体退行を特徴とする周期的活動の抑制又は異常並びに子
 2 宮内膜の腺発達の欠如がそれぞれ用量依存的に観察された。(参照 5、13) [5:FAS23
 3 p14~15(Ross et al., 1980)] [13:FAS25 p3~4 (Ross et al., 1980)]

4 JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL を 0.1 ppm (2~3 µg/kg 体
 5 重/日) と設定した⁴⁴。(参照 13) [13:FAS25(Ross et al., 1980)]

6 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、2 ppm 以上投与群の雄でテストステロン
 7 及び E2β の有意な減少並びに精巣重量の用量依存的な減少が、雌で子宮重量の減少並び
 8 に卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化が用量依存的にみられたことから、ホ
 9 ルモン影響に対する NOAEL を 0.1 ppm (2~3 µg/kg 体重/日-0.004 mg/kg 体重/日に
 10 相当⁴⁵) と設定した。

11 表 52 14 日間投与試験 (豚) における毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日 ppm)	雄	雌
20	<ul style="list-style-type: none"> • BUN 及び AST 増加 • 精囊及び下垂体重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> • BUN 及び AST 増加
2 以上	<ul style="list-style-type: none"> • T.Chol が有意に増加 • テストステロン及び E2β 減少 • 精巣重量の減少 • 精巣の間質細胞の萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> • T.Chol が有意に増加 • 子宮重量の減少 • 卵巣で成熟卵胞の欠如及び/ 又は成熟又は初期の黄体退行 を特徴とする周期的活動の抑 制又は異常、子宮内膜の腺発達 の欠如
0.1 以上	毒性所見なし	毒性所見なし

13
 14 (5) 14 週間投与試験 (豚、TBA)

【事務局より】

本試験 (Robert & Cameron, 1985) は、II. 8. (4) の試験 (Ross et al., 1980) と酷似してい
 ます。しかし、それぞれ別著者の文献が参照されていること、FAS23 ではそれぞれホルモン影
 響に関する特殊試験 (Special studies on no-hormonal effect levels) と亜急性毒性試験 (Short term
 study) としてかき分けられていることから、別の試験と判断しました。

15 豚 (雌雄各 4 頭/群) に TBA を 14 週間混餌投与 [混餌濃度: 0、0.1、2 又は 20 ppm (0、
 16 2~3.1、40~62 又は 400~620 µg/kg 体重/日に相当)] した。投与前、投与 6 及び 12 週
 17 後に血液を採取し、血清中のホルモンを測定した。試験終了時には全動物に対し詳細な剖
 18

⁴⁴ 1987 年の JECFA 評価 (参照 5) では、本試験の NOAEL 等は設定されていない。

⁴⁵ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Pig or Sheep	60	2,400	40

1 検及び病理組織学的検査を実施した。本試験でみられた毒性所見を表 53 に示す。
2 全動物は試験期間中全般的に健康を維持し、投与に起因する異常な臨床徴候はみられな
3 かった。

4 体重、摂餌量又は眼科学的検査に投与の有意な影響はみられなかった。

5 血清中のホルモンでは、雄でテストステロンの顕著で用量相関的な減少がみられ、20
6 ppm 投与群の投与 6 週後並びに 2 及び 20 ppm 投与群の投与 12 週後の平均値は対照群よ
7 り有意に低値であった ($p<0.01$)。雌のテストステロンは測定した 3 時点全てで低かった。
8 雌のプロゲステロン値は多様であった。これは、プロゲステロン及び E2 β (estradiol) の
9 両方が顕著な周期変動を示し、試験試料が各動物の発情周期を考慮せずに任意の時点で採
10 取されたためと考えられた。投与 12 週後の雌のプロゲステロンは、用量依存的な減少を
11 示し、有意な傾向を示した ($p<0.05$)。雄のプロゲステロンの変動はより小さく、平均値は
12 雌より低く、投与に関連した一定の変化はみられなかった。エストロゲンについては、全
13 体の群で投与 12 週後に分泌がいくらか増加するエビデンスがあったが、雌の E2 β は全般
14 的に低く、群間で明らかな違いはみられなかった。雄の E2 β は一般的に雌より高く、投与
15 6 及び 12 週後に用量依存的な減少が顕著であった。

16 臓器重量では、精巣、卵巣及び子宮重量の投与に関連した減少が顕著であった。明らか
17 に、最も感受性が高い臓器は、精巣及び卵巣であった。0.1 ppm 投与群では、いずれの臓
18 器重量にも影響は観察されなかった。

19 病理組織学的検査では、2 ppm 以上投与群で精巣間質細胞の萎縮、周期的な卵巣活動の
20 抑制、子宮内膜腺の発達の結果的な欠如並びに乳腺における乳管の発達 (alveolar
21 development) 及び分泌の欠如 (20 ppm 投与群のみ) がみられた。0.1 ppm 投与群では、
22 生殖腺、子宮又は乳腺において投与に関連した変化はみられなかった。

23 JECFA は、本試験における NOEL を 2 ppm (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) 未満と設定した。(参
24 照 5) [5:FAS23 p6~9] (Robert & Cameron, 1985)

25 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会では、2 ppm 以上投与群の雄で精巣間質細胞
26 の萎縮が、雌で周期的な卵巣活動の抑制、子宮内膜腺の発達の結果的な欠如がみられた
27 ことから、本試験におけるホルモン影響に対する NOAEL を 0.1 ppm (~~2~3.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体~~
28 ~~重/日~~ 0.004 mg/kg 体重/日に相当⁴⁶⁾) と設定した。

29

30

⁴⁶ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

1 表 53 14 日間投与試験（豚）における毒性所見

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日 ppm)	雄	雌
20	・テストステロン低値	・乳管の発達 (alveolar development) 及び分泌の欠如
2 以上	・精巣間質細胞の萎縮、	・周期的な卵巣活動の抑制、子宮内膜腺の発達の結果的な欠如
0.1 以上	毒性所見なし	毒性所見なし

2

3 ★JECFA (1987) が暫定的な ADI を設定する根拠となった試験★

4 (6) 30 日間投与試験（サル、 β -TBOH）

5 去勢 ~~後間もない~~直後のサル（アカゲザル、8~17 歳齢、雄、2 匹/投与群、3 匹/対照
6 群）に β -TBOH を 30 日間経口投与（0、1、20 又は 400 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ ）し、TBOH によっ
7 て誘導されるアンドロゲン活性の可能性のある変化を検討した。最終投与日に精囊の生
8 検を実施した。去勢 17 日後から試験終了時までの間、最低用量（1 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ ）投与群に
9 は、1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ の β -TBOH を投与した（1/1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 投与群）。本試験でみられた
10 毒性所見を表 54 に示す。

11 投与により、精巣摘出後に起こる去勢後の LH 又は卵胞刺激ホルモン（FSH）分泌の
12 上昇は抑制されなかった。このモデルシステムでは、TBOH 及びテストステロンは抗性
13 腺刺激作用を示さなかったが、400 及び 1/1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 投与群では、アンドロゲン作用
14 と一致した部分的又は完全な精囊の形態 (partial or complete seminal vesicle
15 morphology-consonant) がみられた。去勢後には、予想された血清中テストステロン及
16 び E2 β (estradiol) の減少がみられたが、 β -TBOH (TBOH) の投与によりこれらのホル
17 モンの血清中濃度又は視床下部-下垂体-副腎皮質系における活性の典型的な日周パタ
18 ーンに変化はみられなかった。

19 JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL を 20 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ （2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体
20 重/日に相当）と設定した。（参照 5） [5:FAS23 p9] (Hess, 1983)

21 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、400 及び 1/1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 投与群でアンド
22 ロゲン作用と一致した精囊の形態（病理組織学的所見）がみられたことから、ホルモン
23 影響に対する NOAEL を 20 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ （2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当）と設定した。

24

25

1 表 54 30 日間投与試験（アカゲザル）における毒性所見

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/匹/ 日)	雄
1/1,600 ^a	・ アンドロゲン作用と一致した 部分的又は完全な精囊の形態 (partial or complete seminal vesicle morphology consonant)
400	・ アンドロゲン作用と一致した 部分的又は完全な精囊の形態 (partial or complete seminal vesicle morphology consonant)
20以上以下	毒性所見なし

2 a: 去勢 17 日後から試験終了時までの間、最低用量 (1 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$) 投与群には、
 3 1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ の β -TBOH を追加投与。
 4

5 (7) 8 週間投与試験（サル、TBA）＜参考資料⁴⁷⁾＞

6 サル（雌雄各 1 匹/群）に TBA を 8 週間強制経口投与（0、0.375 又は 1.875 mg/kg 体
 7 重/日）し、若いカニクイザルに TBA を強制経口投与した場合の毒性に関する予備試験
 8 が実施された。最終投与後に剖検し、選択した組織に対し病理組織検査を実施した。

9 その結果、試験期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重及び摂餌量に投与の影響
 10 はみられなかった。雄では、前立腺重量が減少し、精囊及び精巣重量が増加した。（参照
 11 6） [6:NADA 138-612, 1986 IV-A]

12
 13 ★FDA が ADI を設定する根拠となった試験★

14 (8) 3 月経周期又は 122 日間投与試験（サル、TBA）

15 性成熟したサル（アカゲザル、体重 6 kg、雌 6 匹/群）に、TBA を 3 月経周期又は最
 16 長 122 日間混餌投与（60、240 又は 960 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ ）する試験が実施された。投与前は毎
 17 日、投与期間の最初の 2 月経周期は 3 日間隔で、及び最後の月経周期は毎日、全動物か
 18 ら血液を採取し、血清中の E2 β (estradiol)、プロゲステロン、LH 及び FSH の濃度が
 19 RIA により測定された。本試験でみられた毒性所見を表 55 に示す。

20 960 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 投与群では、血清中の β -TBOH 濃度が最高値 (2.3 ng/mL) を示し、この
 21 用量は 16 回の生殖サイクルのうち 3 サイクルでゴナドトロピン（性腺刺激ホルモン）
 22 の分泌及び卵巣機能を阻害している可能性があると考えられた。

23 また、JECFA では、960 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 投与群で、脳下垂体性腺軸の阻害作用を有すると結
 24 論付けられた。急速に無排卵性ステージに達したが、示されたデータからは、この作用
 25 の前兆となり得る内因性ホルモン濃度の変化に関する結論を出すことはできなかった。

26 240 $\mu\text{g}/\text{日}$ 投与群の 1 例に、投与に関連すると考えられる無排卵がみられた。60 $\mu\text{g}/\text{日}$
 27 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当) 投与群においては、影響はみられなかった。（参照 5、6） [5:FAS23
 28 p9~10] [6:NADA 138-612, 1986 VI-A] (Hess, 1984)

47 II. 8. (8) の試験を実施するための予備試験であり、血中ホルモンの詳細が不明であることか
 ら、参考資料とした。

JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL を 60 µg/匹/日 (10 µg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 5) [5:FAS23 p9~10] (Hess, 1984)

FDA は、TBA の経口投与により繁殖パラメータに抑制影響がみられたが、少なくともプロゲステロン様物質と比較すると僅かであり、240 µg/匹/日以下の投与群では影響を及ぼさないと結論付け、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL (a conservative hormonal no effect level) を 240 µg/匹/日 (40 µg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-A]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、240 µg/匹/日投与群の 1 例に投与に関連すると考えられる無排卵がみられたことから、ホルモン影響に対する NOAEL を 60 µg/匹/日 (10 µg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 55 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (アカゲザル) における毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/匹/日)	雌
960	・脳下垂体性腺軸の阻害
240 以上	・無排卵
60 以上	毒性所見なし

9. その他の試験

(1) タンパク質結合に対する影響 (*in vitro*)

高齢女性由来ヒト血漿を用いて、α-TBOH 及び β-TBOH のコルチコステロイド結合グロブリンに対する親和性を測定する *in vitro* 試験が実施された。

これらの親和性は 0.1%未満であり、テストステロンに対する親和性 10%と比べて非常に低かった。テストステロン及びエストラジオール結合グロブリンに対する α-TBOH 及び β-TBOH の親和性は、テストステロンに対する親和性の 1%であった。*in vitro* でヒト女性血漿とともにインキュベートすると、³H 標識 α-TBOH は容易にアルブミン画分に結合し、僅か 4%しか遊離 TBOH として存在しなかった。β-TBOH の総血液クリアランスは、テストステロンの 2 倍であった。(参照 5) [5:FAS23 p5] (Philibert & Moguilewsky, 1983)

(2) タンパク質結合に対する影響 (ラット)

ラット (系統不明、雌、匹数不明) の頸部に TBA を 7 又は 14 日間皮下投与 (800 µg/kg 体重/日) し、タンパク質合成に対する影響が調べられた。

投与群では、対照群と比べて成長率の亢進がみられた。投与群で増加した成長率は、水分保持量の増加に起因するものではなかった。投与群では、カーカス⁴⁸の総窒素含有量が有意に高かった (p=0.01) が、総脂肪含有量は有意ではないが 8.3%減少した。一部の組織では TBA に対するタンパク質合成速度 (fractional synthetic rate) の反応にはタイムラグがみられた。投与群では、子宮及び骨格筋が混じった組織タンパク

⁴⁸ 組織・臓器を取り除いた残渣

1 のタンパク質合成速度は有意に減少した。測定されたタンパク質合成速度の減少は、
 2 タンパク合成に用いられるチロシンプールの特異的な活性の変化によるものではなく、
 3 合成速度の変化を反映したものと考えられた。(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-
 4 D]

6 調査事業

7 (3) ハーシュバーガーアッセイ (ラット)

8 TBA が、アンドロゲン反応性組織に対してテストステロンと同程度のアンドロゲ
 9 ン様作用を有するかを検討するため、少数のラット (Sprague Dawley 種、未成熟去
 10 勢雄) を用いてハーシュバーガーアッセイが実施された。テストステロン プロピオ
 11 ネート (12.5、25、50、100、200 µg/匹/日、4 匹/投与群) 又は TBA (50、100、
 12 200 µg/匹/日、3 匹/投与群) が 10 日間皮下投与された。

13 組織重量に対する TBA の皮下投与の作用として、200 µg/日投与群でのみ、腹側前
 14 立腺、精囊+凝固腺 (SVCG)、カウパー腺の組織重量が有意に増加した。全ての
 15 TBA の皮下投与群で、球海綿体筋+肛門挙筋 (LABC) の組織重量が有意に増加し
 16 た。一方、副腎の組織重量は減少した。

17 また、TBA の経口投与によるアンドロゲン作用を検討するため TBA (0.1、1、
 18 20、50 mg/kg 体重/日、3 匹/投与群) が 10 日間経口投与された。

19 TBA の経口投与による組織重量増加作用は、皮下投与群に対する作用と比較して
 20 弱く、球海綿体筋(LABC)、陰茎亀頭に対する作用での比較では約 100 分の 1、腹
 21 側前立腺、SVCG に対する作用の比較では約 80 分の 1 の力価であった。(参照 17)

22 [17:Wilson et al., 2002]

23 【調査事業有識者検討会結論】 (分類結果 A)

- ハーシュバーガーアッセイの実験例数が少ない。毒性評価には採用できず、参考資料である。
- アンドロゲン作用があることのデータを用いた説明に採用する。
- *In vitro* でテストステロンとほぼ同等の影響がある点及び皮下投与が経口投与と比べて力価が 100 分の 1 になっているという点は参考になる。

24 調査事業

25 (4) 体組成及び循環代謝に対する影響 (ラット)

26 TBA の投与が体組成及び循環代謝リスクに与える影響を理解するために、ラット
 27 (Wistar 系、雄、12 週齢、6 匹/群) に TBA (2 mg/kg/day) または溶媒 (コントロ
 28 ール群) を 6 週間連続で皮下投与し、体組成変化、臓器重量、血清脂質プロファイル
 29 及び組織学的形態が調べられた。

30 DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry) 法による体組成測定では、対照群で
 31 は、脂肪が増加 (34±7%) した。TBA 投与群では、脂肪が減少 (37±6%) し、脂
 32 肪を除いた体重は 11±4%増加した。

33 血清トリグリセリド、HDL、LDL は TBA 投与群ではそれぞれ 62%、57%及び
 34 78%減少した。

1 TBA 投与群の前立腺の組織学検査では、前立腺組織重量の増加（コントロール群
2 比で 149%）を伴った、良性の過形成が観察された。心臓及び肝臓に対する有害影響
3 は観察されなかった。（参照 18） [18:Donner et al., 2016]

4 **【調査事業有識者検討会結論】（分類結果 A）**

・薬物動態ではなく、薬理的及び毒性的な内容を採用することであれば、評価書に採用してもよい。評価書全体を見て、採否を決めることとしたい。

5
6 **（5）E2β の排泄及び窒素貯留に対する影響（牛）**

7 牛では、TBA の皮下移植投与により、血漿中の E2β 濃度に影響がみられた。去勢
8 牛では、TBA（200 mg/頭）及び E2β（40 mg/頭）を併用した場合、血漿中の E2β 濃
9 度は 0.05 ppb 以上を 9 週間にわたり維持したが、E2β（40 mg/頭）のみを移植投与し
10 た場合は、E2β 濃度は 0.05 ppb 未満に低下した。（参照 5） [5:FAS23 p5] (Heitzman &
11 Hardwood, 1977)

12
13 牛（11～16 週齢、雄）の胸垂に TBA を移植投与（40 mg/頭）したところ、窒素貯
14 留に影響はみられなかった。しかし、同じ部位に E2β（20 mg/頭）及び TBA（140 mg/
15 頭）を併用した場合、窒素貯留が 47%減少した。（参照 5） [5:FAS23 p5] (van der Wal,
16 1975)

17
18 **（6）E2β の排泄及び窒素貯留に対する影響（豚）**

19 豚（雌雄及び去勢雄、頭数不明）に E2β 単独（20 mg/頭）又は E2β（20 mg/頭）及
20 び TBA（140 mg/頭）併用で皮下移植投与した。

21 投与 5 週後にエストロゲンは糞中からほとんど検出されず、血清中の E2β 濃度は両
22 投与群ともに極めて低かった。尿中の E2β 濃度は、E2β 投与群で 6～82 µg/L、TBA
23 +E2β 投与群で 16～135 µg/L であった。（参照 5） [5:FAS23 p5] (Kroes et al., 1976a)

24
25 **（7）アンドロゲン作用及び同化作用に対する影響（ラット）**

26 ラット（系統不明、去勢雄 75 匹）に TBA を 10 日間皮下投与（0、0.02、0.1 又は 0.5
27 mg/kg 体重/日）し、TBA のアンドロゲン様作用及びタンパク質同化作用が検討された。
28 最終投与 1 日後の肛門挙筋⁴⁹、腹側前立腺及び精囊の重量が測定し、TBA のアンドロゲ
29 ン作用による同化作用をテストステロンによる参照標本と比較した。

30 TBA の同化及びアンドロゲン様作用はテストステロンの約 5 倍強かった。（参照 6）
31 [6:NADA 138-612, 1986 IV-D]

32
33 **（8）エストロゲン作用（ラット）**

34 幼若ラット（系統不明、去勢雌 40 匹）に TBA を 4 日間皮下投与（0、0.2、1.0 又は
35 5.0 mg/匹）し、TBA のエストロゲン様作用について調べるため、最終投与 1 日後の子

⁴⁹ 肛門挙筋の重量の増加は被験物質の一定量の同化作用を示し、腹側前立腺重量及び精囊重量の増加は一定量のアンドロゲン作用を示す。

1 宮重量を測定し、対照群又は E2β 投与群と比較された。
 2 TBA は本質的にエストロゲン活性を示さず、E2β の約 1/1,000 の活性が確認された。
 3 (参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-D]

4
 5 (9) 免疫応答に関する特殊試験 (牛)

6 子牛 (雌雄約 25 頭/群) にプラセボ (乳糖)、E2β (20 mg)、TBA (140 mg) 又は TBA
 7 (140 mg) + E2β (20 mg) を皮下移植投与し、抗体産生が検討された。
 8 軽度で有意ではない免疫抑制作用が E2β 又は TBA の単独投与群の雄でみられた。
 9 TBA+E2β 投与群の雄では、この作用が大きかった。雌では免疫反応に影響はみられな
 10 かった。(参照 5) [5:FAS23 p6] (Gropp et al., 1975)

11
 12 (10) 残留物の毒性に関する特殊試験

13 子牛 (雌) に、TBA を皮下移植投与 (0、140 又は 3,500 mg/頭) し、投与 10 週後の
 14 筋肉及び組織 [舌、心臓、肺、脾臓、肝臓 (一部) 及び片方の腎臓] のホモジネートを、
 15 2 世代繁殖試験のラットに 114 週間混餌投与する試験が実施された。

16 230 ppb TBA 混餌投与群のラットで、僅かな体重増加抑制 (growth depression) が
 17 みられた。死亡率、摂餌量、成長 (growth)、受胎能、生殖 (交配、受胎率、妊娠期間、
 18 平均同腹児重量、同腹児数、胎児体重、死亡率及び 3 週後の胎児体重)、血液学的検査、
 19 生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査等のパラメータに投与の影響はみ
 20 られなかった。(参照 5) [5:FAS23 p10] (Gropp et al., 1978)

21
 22 (11) 細胞形質転換試験

23 α-TBOH 及び β-TBOH の細胞形質転換試験の結果を表 56 に示した。(参照 5、10)

24
 25 表 56 TBOH の細胞形質転換試験結果

試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i> 細胞形質 転換試験	シリアンハムスター胚線維 芽細胞	5、10、15 µg/mL : TBOH	擬陽性 (Equivocal) ^e (参照 5)	(Schiffman et al., 1985) [5:FAS23 p7]
	シリアンハムスター胚線維 芽細胞	1.0~7.5 µg/mL : β-TBOH 1.0~7.5 µg/mL : α-TBOH	陽性 陽性 (参照 13)	(Schiffmann et al, 1988) [1310:FAS25 p2]
	マウス C3H10T1/2 細胞	2~25 µg/mL : β-TBOH (- S9) 5~20 µg/mL : β-TBOH (+ S9)	擬陽性 (Equivocal) (- S9) 陽性 (+S9) (参照 5)	(Henderson et al., 1987a) [5:FAS23 p7]

		マウス C3H10T1/2 細胞	1~10 µg mL : β-TBOH	陰性 (参照 13)	(Schiffmann et al, 1988) [13:FAS25 p2]
--	--	------------------	---------------------	---------------	---

1

2 10. 臨床試験

3 (1) 忍容性試験 (牛)

4 未経産牛 (体重約 140 ポンド、3 頭/群) に TBA を皮下移植投与 (0、140 又は 3,500
5 mg/頭) ⁵⁰し、忍容性試験が実施された。移植投与 10 週間後に、一般状態の観察、剖検、
6 病理組織学的検査、臨床化学的検査、血液学的検査及び臓器重量測定が実施された。

7 3,500 mg/頭投与群では、陰核の異常な発達及び胸腺重量の減少がみられた。両投与群
8 で、卵巣重量の減少がみられた。→投与群の数例で子宮腺組織の増殖等ごく僅かな悪影
9 響はみられた (with minimal adverse effect noted) もの、この影響は、TBA のホル
10 モン活性に基づくものであると考えられ、忍容性が認められた。(参照 6) [6:NADA 138-
11 612, 1986 V-A]

12

13 (2) 安全性試験 (牛)

14 肉用牛 (1 歳、体重約 500 ポンド、去勢雄及び未経産牛各 4 頭/群) の耳に TBA を 63
15 日間間隔で 2 回皮下移植投与 (0、200 又は 1,000 mg/頭) し、安全性試験が実施された。
16 初回投与 126 日後まで、臨床徴候及び健康状態の観察、体重測定、臨床生化学的検査及
17 び ~~カーカス~~屠体の格付けが実施された。

18 体重増加量は対照群に比べて増加した。~~カーカス~~屠体の重量は投与群の方が重く、カ
19 ーカスの品質に悪影響はみられなかった。血液学的検査及び生化学的検査のパラメータ
20 は正常値の範囲内であった。TBA 投与は牛の臨床上の健康に悪影響を及ぼさないと結論
21 付けられた。(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 V-B] 寺岡専門委員

22

23 11. ヒトにおける知見

24 ボランティア (男性及び女性) に、TBA を 1 日おきに 14 日間筋肉内投与 (5 又は 10
25 mg/人) した。5 mg/人投与群では、窒素保持を含めた窒素バランスが崩れた。10 mg/人
26 投与群では、一部の女性で月経周期の乱れがみられ、軽度ではあるが有意な 17-ケトス
27 テロイドの排泄の減少がみられた。投与による 17-ヒドロキシコルチコステロイド排泄
28 への影響は及び血液のパラメータ (TP、T.Chol、凝固因子並びにプロトロンビン及びト
29 ロンビン時間) への影響はみられなかった。(参照 5) [5:FAS23 p17] (Kruskemper et al.,
30 1967)

31

32 12. 薬理学的試験

33 麻酔処置を施したイヌに TBA を静脈内投与 (1、2、5 又は 10 mg/kg 体重、92%アセ
34 チルメチルアミン溶液で 20 mL/mg 投与 ⁵¹) すると、2 mg/kg 体重以上投与群では、軽

⁵⁰ 投与量 3,500 mg/頭は、TBA の推奨用量 (200 mg/頭) の 17.5 倍である。

⁵¹ 原文ママ

1 度の徐脈を伴う用量依存性の血圧低下を示した。10 mg/kg 体重投与群では、アドレナ
2 リン及びノルアドレナリン投与後、血圧が低下し、アセチルコリン投与後は血圧が上昇
3 した。いずれの投与群も、ヒスタミンに対する反応変化はみられなかった。(参照 5)
4 [5:FAS23 p13] (Seeger, 1971a)

5

【寺岡専門委員】

(投与量「20 mL/mg」について) 参照 5 にもこのように書いてありますが、何か間違っているように思います。

【事務局より】

脚注を付けました。

6

7

1 Ⅲ. 国際機関等における評価について

2 1. JECFA の評価

3 JECFA では、第 32 回会合（1987 年）において、*in vivo* 及び *in vitro* の広範囲にわたる遺伝毒性試験の一部で擬陽性の結果が得られたことが考慮された。また、TBA の長期混餌投与試験の結果、マウスで肝臓の過形成及び腫瘍が、ラットにおいて臍島細胞における腫瘍発生頻度の僅かな上昇が生じたが、これらは TBOH のホルモン活性によるものと考えられ、ホルモン影響に対する NOEL を設定することにより安全性の評価を
8 することが可能であると判断された。アカゲザル（去勢雄）を用いた β -TBOH の経口投与試験が評価され、アカゲザルが抗性腺刺激活性のある化合物に非常に感受性が高いことから、ヒトの ADI 設定の基準として、ホルモン影響に対する NOEL 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日を設定した。また、感受性の高いモデルである豚を用いた試験でも、TBA のホルモン影響に対する NOEL 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日が設定された。これらの NOEL 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に基づき、暫定的な ADI として 0～0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重が設定された。（参照 5） [5:FAS23 p18]

14 第 34 回会合（1989 年）では、追加の遺伝毒性試験並びにラット及びマウスを用いた長期混餌投与試験及び短期投与試験の結果から、TBA の遺伝毒性は起こり難いと結論付けられた。豚を用いた 14 週間混餌投与試験のうち最も感受性の高い試験におけるホルモン影響に対する NOEL 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に安全係数 100 を適用して、TBA の ADI 0～0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重が設定された。（参照 13） [13:FAS25 p4]

20 2. 欧州の評価

21 EC は、成長促進を目的とする、抗甲状腺、エストロゲン又は黄体ホルモン活性を有する物質の家畜への投与を禁止しており、食肉の生産において成長促進を目的として、エストラジオール-17 β 、プロゲステロン、テストステロン、ゼラノール、TBA 及び MGA を単独又は併用で使用することを禁止している。SCVPH は、1999 年に、これら 6 種類のホルモンのいずれにも閾値を設定することはできないとの意見を取りまとめた。（参照 19） [19:EC Opinion 1999, p.1, 73]その後、この意見について、EC は 2 度に渡って再検討したが、結論は変わらないとした。（参照 20、21） [20:EC Review 2000] [21:EC Opinion 2002, 21-22]

29 EFSA は、2007 年に、エストラジオール-17 β を除く 5 種類のホルモンについて、EC による再検討以降に得られた科学文献の評価を行った。リスクの特徴付け（**risk characterization**）に必要な定量的情報が不十分であったことから、SCVPH の意見の改訂は行われなかった。（参照 22） [22:EFSA Journal|2007]

34 2. 米国の評価

35 FDA では、TBA の安全性について、マウスを用いた 95～104 週間投与試験で雌雄における肝臓の増殖性病変（新生組織形成及び過形成）の有意な増加がみられたこと、ラットを用いた 112 週間投与試験で臍島細胞腫瘍がみられたことについて、TBA の発がん影響によるものではないと結論付けた。混餌投与試験の結果から、TBA の主要な影響はホルモン活性と関連があることが示唆されたため、ヒトの食品の安全性評価において、雌ザルのモデル系におけるホルモン影響を起こさない最も低い値を採用することが適切

1 であると考えられた。ラットを用いた生殖発生毒性試験で得られた NOEL 0.5 ppm は
2 アカゲザルを用いた試験で得られたホルモン影響に対する NOEL40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日（飼
3 料経路で 240 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）より大きい。（参照 6） [6:NADA 138-612, 1986] これらのことから、
4 FDA では、TBOH の ADI は 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定された。残留許容量については、
5 牛の未調理の食用組織における全 TBOH の残留許容量を設定する必要はないとしてい
6 る。（参照 23） [23:FDA 21CFR556. 739]

7 8 3. 豪州の評価

9 豪州は 1988 年に、 α -TBOH 及び β -TBOH について評価を行った。 α -TBOH について
10 は、豚に対するホルモン影響の NOEL 0.01 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、
11 ADI を ~~0.0001 mg/kg 体重/日~~ 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、 β -TBOH については、豚に対するホ
12 ルモン影響の NOEL 0.001 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI を ~~0.00001-~~
13 ~~mg/kg 体重/日~~ 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定した（ β -TBOH は、 α -TBOH の約 10 倍以上
14 のホルモン活性を示すとした。）。（参照 24） [24:Review Australia 2003、p29-30]

15 単位修正：「 mg/kg 体重/日」→「 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日」
16

1 IV. 食品健康影響評価

2

3

4 [現在、事務局にて作成中]

5

6

7

1 表 57 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
マウス	8 週間亜急性毒性 II. 5. (1)	0、25、50、100 ppm (TBA、混餌投与)	—		雄：7.5 精巢の絶対及び相対重量減少 雌：3.75 (LOAEL) 肝臓の絶対重量及び相対重量低値、子宮の絶対重量及び相対重量増加
	10 週間亜急性毒性 II. 5. (2)	0、1、2、5、10 ppm (TBA、混餌投与)	—		雌雄：1.5 投与による影響なし
	95～104 週間慢性毒性 II. 6. (1)	0、0.5、1.0、10、100 ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄：0.15 肝臓の結節性過形成 雌：1.5 肝臓の増殖性病変、腎炎の増加、脾臓の造血性低下、包皮腺の管の嚢胞性拡張及び又は膿瘍
ラット	13 週間亜急性毒性 II. 5. (4)	0、25、50、100 ppm (TBA、混餌投与)	—		雄：1.25 (LOAEL) 全投与群で前立腺重量低値 雌：2.5 子宮内膜間質の縮小（子宮腺の拡張、子宮内膜及び腺上皮の波形の外観を伴う）
	3 か月間亜急性毒性	0、0.05、0.1、0.2、1	—		雄：0.05

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
	II. 5. (5)	(TBA、混餌投与)			精囊重量減少 雌：0.1 肝臓及び脾臓重量増加、 子宮重量減少、子宮菲薄化
	23 週間亜急性毒性 II. 5. (6)	0、0.01、0.04、0.36、3.6 (α -TBOH、経口投与)	α -TBOH : 0.04 TP 減少、ALP 増加		雌雄：0.04 流涎等
	112 週間慢性毒性 II. 6. (3)	0、0.5、1.0、4.0、16、50 ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雌雄：0.025 雄：精巣の小型化、 雌：肛門性器皮膚の下垂
	生殖毒性 II. 7. (2)	0、0.5、1、4、16、50(雌のみ) ppm (TBA、交配 9 週前～分娩 21 日後まで混餌投与)	—	—	母動物：0.025 妊娠率低下 児動物：0.025 (LOAEL) 哺育児死亡率上昇
	2 世代繁殖 II. 7. (1)	0、0.5、3、18 ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄(F ₁ 児, F ₂ 児)：0.025 (LOAEL) 精巣/前立腺又は精巣上 体重量低下 雌 (F ₁ 児)：0.025 (LOAEL) 膣開口遅延
	生殖発生毒性 II. 7. (5)	0、0.1、0.3、0.5、3、18 ppm (TBA、雌雄に交配 2 週前 ～妊娠終了まで混餌投与)	—	0.5 ppm (NOEL)	雌：0.025 妊娠率低下 児動物：0.025 同腹児数減少、精巣及び 精囊/前立腺重量増加、陰

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
ラット					核の隆起等
	生殖発生毒性 II. 7. (4)	0、1、2、5、10		1 ppm (NOEL)	雌雄:0.5 ALP 増加 児動物:0.5 肝臓の絶対及び相対重量 の増加
	発生毒性 II. 7. (6)	0、2.5、5、10 (TBA、雌に妊娠6~15日 に強制経口投与)	—	—	母動物、胎児:10 投与による影響なし
	発生毒性 II. 7. (7)	0、5、10、20 (TBA、雌に妊娠6~15日 に強制経口投与)	—	—	母動物:5 (LOAEL) 体重増加抑制 胎児:20 投与による影響なし
サル	<ホルモン影響> 30日間投与(去勢雄) II. 8. (6)	0、1、20、400 µg/日 (β-TBOH、去勢雄に経口 投与)	0.002 (NOEL)		去勢雄:0.002 アンドロゲン作用と一致 した精囊の形態
	<ホルモン影響> 3月経周期又は122 日間投与(性成熟雌) II. 8. (8)	60、240、960 µg/日 (TBA、性成熟雌に混餌投 与)	0.01 (NOEL)	0.04 (NOEL) 投与による影響なし	雌:0.01 無排卵
豚	<ホルモン影響> 14日間投与(去勢雄) II. 8. (1)	0.0001、0.001、0.01、 0.016、0.024又は0.036(β- TBOH、去勢後14日間経 口投与) 0.0001、0.01、0.1、 0.16、0.24、0.36 (α-TBOH、去勢後14日	β-TBOH:0.01 (NOEL) α-TBOH:0.1 (NOEL) 血漿中LHの変化		β-TBOH:0.01 α-TBOH:0.1 LH減少

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
豚		間経口投与)			
	<ホルモン影響> 14 週間投与 (雌雄) II. 8. (4)	0、0.1、2、20 ppm (TBA、混餌投与)	0.002 (NOEL) 雄：血清中テストステロン低下、精巣重量の減少 雌：血清中プロゲステロンの低下		雌雄：0.004 雄：テストステロン、E2βの減少、精巣重量の減少 雌：子宮重量の減少、卵巣所見、子宮所見
	<ホルモン影響> 14 週間投与 (雌雄) II. 8. (5)	0、0.1、2、20 ppm (TBA、混餌投与)	0.002 (NOEL) 雄：？ 雌：？ 本試験における NOEL を 2 ppm (2 μg/kg 体重/日) 未満と設定した。 (FAS23)		雌雄：0.004 精巣間質細胞の萎縮化、周期的な卵巣活動の抑制、子宮内膜腺の発達の結果的な欠如
	<ホルモン影響> 14 週間投与 (雌雄) II. 8. (2)	0、0.005、0.0075、0.01 (TBA、経口投与)	0.005～0.0075 (NOEL) 雄：血漿中プロゲステロンの低下、精巣上体重量の減少 (FAS25)		雄：0.005 血漿中プロゲステロンの低下 雌：0.0075 投与による影響なし
	<ホルモン影響> 14 週間投与 (雌雄) II. 8. (3)	0、0.005、0.0075、0.01 (TBA、経口投与)	—		雌雄：0.01 投与による影響なし
毒性学的 ADI			NOEL : 0.002 SF : 100	NOEL : 0.4 SF : 100	NOEL : SF :
毒性学的 ADI 設定根拠資料			豚を用いた 14 週間混餌投与試験 II. 8. (4)	サルを用いた 3 月経周期又は 122 日間投与試験 II. 8. (8)	

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
	ADI		0.00002	0.0004	

1

ー：評価書に報告なし

1 <別紙1：代謝物/分解物略称>

略称	化学名
I (未変化体)	(17 β)-17-Acetoxyestra-4,9,11-trien-3-one
II	17 β -hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
III	
IV	16 α , 17 β -dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
V	16 β , 17 β -hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
VI	Estra-4,9,11-trien-3,17-dione
VII	16 α -hydroxyestra-4,9,11-trien-3,17-dione
VIII	16 β -hydroxyestra-4,9,11-trien-3,17-dione
IX	
X	17 α /17 β -hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
XI	
XII	16 α ,17 β -dihydroxy-16-methylestra-4,9,11-trien-3-one
XIII	16 α ,17 α -dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
XIV	6 β ,17 α -dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
XV	
XVI	
XVII	

2

1 <別紙2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
Alb	アルビミン
ALP	アルカリホスファターゼ
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)]
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)]
BUN	血液尿素窒素
BSP	ブロモスルホフタレイン
Ca	カルシウム
CBI	共有結合指数
Chol.	コレステロール
CMC	カルボキシメチルセルロース
Cre	クレアチニン
FDA	米国食品医薬品庁
FSH	卵胞刺激ホルモン
Glu	グルコース (血糖)
HPLC/RIA	高速液体クロマトグラフィー/紫外吸光検出器
Hb	ヘモグロビン量 (血色素量)
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LABC	球海綿体筋+肛門挙筋
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LH	黄体形成ホルモン
MC	メチルセルロース
MCV	平均赤血球容積
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
PCV	血中血球容積
RBC	赤血球数
RIA	ラジオイムノアッセイ
SVCG	精嚢+凝固腺
SCVPH	獣医公衆衛生に関する科学委員会 (The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health)

T _{1/2}	消失半減期
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TP	総タンパク質
WBC	白血球数

1
2

1 <参照>

- 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 日付、厚生労働省告示第 499 号）
- 4 2. The Merck Index, 15th Ed., 2013. [2:Merck Index]
- 5 3. JECFA: Trenbolone acetate. Technical Report Series 763, 1988 [3:TRS763, 1988]
- 6 4. 食品安全委員会. 牛の成長促進を目的として使用されているホルモン剤（肥育ホルモ
7 ン剤）. ファクトシート, 2007. [4:食安委 ファクトシート, 2007]
- 8 5. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug
9 residues in food. WHO Food Additives Series, No. 23, 1987, nos 645 on INCHEM.
10 [5:FAS23, 1987]
- 11 6. FDA: Freedom of Information Summary, 6:NADA 138-612 Finaplix® (trenbolone
12 acetate), 1986. [6:NADA138-612, 1987]
- 13 7. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41: 29-37
14 [7:FNP41-1, 1987]
- 15 8. MacNeil JD, Reid J, Fedeniuk RW.: Distribution of trenbolone residues in liver
16 and various muscle groups of heifers that received multiple implants at the
17 recommended site of application. J AOAC Int., 2008; 91(3):670-4 [8: MacNeil et
18 al., 2008]
- 19 9. Blackwell BR, Brown TR, Broadway PR, Buser MD, Brooks JC, Johnson BJ, Cobb
20 GP, Smith PN.: Characterization of trenbolone acetate and estradiol metabolite
21 excretion profiles in implanted steers. Environ Toxicol Chem, 2014; 33(12):2850-8
22 [9:Blackwell et al., 2014]
- 23 10. Spranger B, Metzler M: Disposition of 17 beta-trenbolone in humans. J
24 Chromatogr, 1991; 564(2):485-92. [10:Spranger and Metzler, 1991]
- 25 11. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41-2: 88-98
26 [11:FNP41-2, 1989]
- 27 12. FDA: Freedom of Information Summary, Supplemental New Animal Drug
28 Application, 9:NADA140-992, REVALOR®- 200 (trenbolone acetate and
29 estradiol), 2001 [12:NADA140-992, 2001]
- 30 13. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug
31 residues in food. WHO Food Additives Series, No. 25, 1989, nos 672 on INCHEM.
32 [13:FAS25, 1989]
- 33 14. Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC: Effects of testosterone, testosterone
34 propionate, 17 beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and
35 mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis, 1995; 16(6):1329-33
36 [14:Tsutsui et al., 1995]
- 37 15. Kayani MA, Parry JM: The detection and assessment of the aneugenic potential
38 of selected oestrogens, progestins and androgens using the in vitro cytokinesis
39 blocked micronucleus assay. Mutat Res, 2008; 651 (1-2):40-5 [15:Kayani and Parry,
40 2008]

- 1 16. Dorn SB, Bolt HM, Thevis M, Diel P, Degen GH: Induction of micronuclei in V79
2 cells by the anabolic doping steroids tetrahydrogestrinone and trenbolone. Arch
3 Toxicol., 2008; 82(4):257-63 [16:Dorn et al., 2008]
- 4 17. Wilson VS, Lambright C, Ostby J, Gray LE Jr.: In vitro and in vivo effects of
5 17beta-trenbolone: a feedlot effluent contaminant. Toxicol Sci., 2002; 70(2):202-11
6 [17:Wilson et al., 2002]
- 7 18. Donner DG, Beck BR, Bulmer AC, Lam AK, Du Toit EF: Improvements in body
8 composition, cardiometabolic risk factors and insulin sensitivity with trenbolone
9 in normogonadic rats. Steroids, 2016; 106:1-8 [18:Donner et al., 2016]
- 10 19. EC. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public
11 health; assessment of potential risks to human health from hormone residues in
12 bovine meat and meat products. 1999 [20:EC Opinion 1999]
- 13 20. EC. Review of specific documents relating to the SCVPH opinion of 30 April 99 on
14 the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and
15 meat products. 2000 [21:EC Review 2000]
- 16 21. EC. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public
17 health on review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on
18 the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and
19 meat products. 2002 [22:EC Opinion 2002]
- 20 22. EFSA. Opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from
21 the European commission related to hormone residues in bovine meat and meat
22 products. The 14:EFSA Journal, 2007; 510, 1-62. [14:EFSA Journal, 2007]
- 23 23. FDA. Title 21, Code of federal regulations, part 556.739, 2018. [23:FDA
24 21CFR556.739, 2018]
- 25 24. Department of Health and Ageing (Australia). A review to update Australia's
26 position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs)
27 used in cattle. 2003 [24:Review Australia 2003]
- 28