

（案）

動物用医薬品評価書

酢酸トレンボロン

【事務局より】

青字：第223回調査会資料からの修正。第223回調査会開催の前に頂いたご意見は反映しています。

赤字：事前送付以降の修正。

2019年6月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目 次

	頁
資料 2	1
○ 審議の経緯	5
○ 食品安全委員会委員名簿	5
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	6
○ 要約	7
I. 評価対象動物用医薬品の概要	8
1. 用途	8
2. 有効成分の一般名	8
3. 化学名	8
4. 分子式	8
5. 分子量	8
6. 構造式	8
7. 使用目的及び使用状況	8
II. 安全性に係る知見の概要	10
1. 薬物動態試験	10
(1) 薬物動態試験（ラット）	10
(2) 薬物動態試験（牛、TBA 単独投与）	11
(3) 薬物動態試験（牛、エストラジオールとの併用）	14
(4) 代謝試験（牛）	14
(5) 薬物動態試験（牛、TBA 単独）	15
(6) 薬物動態試験（牛、TBA 単独及び他ホルモン剤併用）	16
(7) 薬物動態試験（豚、TBA 単独又は他ホルモン剤併用）	17
(8) 残留物のバイオアベイラビリティ（ラット）	17
(9) 代謝試験（ヒト、標識 β -TBOH）	19
2. 残留試験	19
(1) 残留試験（子牛）	19
(2) 残留試験（未経産牛）	21
(3) 残留試験（去勢雄牛）	24
(4) 残留試験（去勢雄牛及び未経産牛）	31
3. 遺伝毒性試験	32
4. 急性毒性試験	35
(1) 急性毒性試験（マウス及びラット）	35
5. 亜急性毒性試験	35
(1) 8 週間亜急性毒性試験（マウス、TBA）	35
(2) 10 週間亜急性毒性試験（マウス、TBA）	36

1	(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	37
2	(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	38
3	(5) 23 週間亜急性毒性試験 (ラット、 α -TBOH)	39
4	(6) 皮下投与試験	41
5	(7) 移植投与試験	43
6	6. 慢性毒性及び発がん性試験	44
7	(1) 95~104 週間慢性毒性試験 (マウス)	44
8	(2) 112 週間慢性毒性試験 (ラット)	46
9	(3) 長期投与慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	49
10	7. 生殖発生毒性試験	49
11	(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)	49
12	(2) 生殖発生毒性試験 (ラット) ①.....	52
13	(3) 生殖発生毒性試験 (ラット) ②.....	54
14	(4) 生殖毒性試験 (ラット) ①.....	55
15	(5) 生殖毒性試験 (ラット) ② <参考資料>	56
16	(6) 発生毒性試験 (ラット) ①.....	56
17	(7) 発生毒性試験 (ラット) ②.....	56
18	8. ホルモン作用に関する試験	57
19	(1) 14 日間投与試験 (豚、 β -TBOH 又は α -TBOH)	57
20	(2) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ①	58
21	(3) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ②	60
22	(●) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ③	63
23	(4) 30 日間投与試験 (サル、 β -TBOH)	64
24	(5) 8 週間投与試験 (サル、TBA) <参考資料>	65
25	(6) 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル、TBA)	65
26	9. その他の試験	67
27	(1) タンパク質結合に対する影響	67
28	(2) ハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験 (ラット)	67
29	(3) 体組成及び循環代謝に対する影響 (ラット)	70
30	(4) アンドロゲン作用及び同化作用に対する影響 (ラット)	70
31	(5) エストロゲン作用に対する影響 (ラット)	70
32	(6) E2 の排泄及び窒素貯留に対する影響 (牛)	71
33	(7) 免疫応答に関する特殊試験 (牛、プラセボ (乳糖)、E2、TBA 又は TBA+E2) ..	71
34	(8) 残留物の毒性に関する特殊試験 (牛、TBA)	71
35	(9) 細胞形質転換試験	72
36	(10) DNA 共有結合試験	72
37	(11) 肝イニシエーション作用検討試験 (ラット、 α -TBOH 又は β -TBOH)	73
38	10. 臨床試験	74
39	(1) 忍容性試験 (牛、TBA)	74
40	(2) 安全性試験 (牛、TBA)	74

1	1 1. ヒトにおける知見（ヒト、TBA）	74
2	1 2. 薬理学的試験（イヌ、TBA）	74
3		
4	Ⅲ. 国際機関等における評価について	76
5	1. JECFA の評価	76
6	2. 欧州の評価	76
7	3. 米国の評価	77
8	4. 豪州の評価	77
9		
10	Ⅳ. 食品健康影響評価	78
11	表 58 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	
12	較	80
13		
14	・ 別紙 1：代謝物/分解物略称	84
15		
16	・ 別紙 2：検査値等略称	85
17	・ 参照	87
18		
19		

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

2019 年 6 月 19 日 第 224 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 洌子
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

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 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。

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 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (ラット) の試験成績である。

[以降は審議後に記載。]

1. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

合成ホルモン剤

2. 有効成分の一般名

和名：酢酸トレンボロン

英名：Trenbolone Acetate

3. 化学名

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

CAS No.：10161-34-9

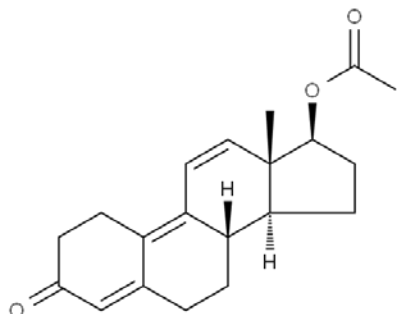
4. 分子式

$C_{20}H_{24}O_3$

5. 分子量

312.41

6. 構造式



(参照 2) [2:Merck Index]

7. 使用目的及び使用状況

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。分子の 17 位の立体配置により α と β の 2 種類のエピマーが存在する。し、市販品はβ-エピマーである。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る。投与は、TBA 単独で、又は 17β-エストラジオール (E2β) 又はゼラノールと併用して、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 (subcutaneous implant in the ear) する。(参照 3) [3:TRS763]

石川専門委員

海外では、米国、カナダ 及び豪州 において一定の処方に基づき TBA 等のホルモン剤

の使用が認められている。欧州では、1988年に成長促進を目的とした使用が禁止され、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が禁止された。その後、ホルモン剤についてリスク評価が実施され、E2βを永続的に使用禁止、その他の物質については、さらなる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。

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。TBAを主剤とするホルモン剤については、これまで承認、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認・使用されたことはない。

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)

【事務局より】

本評価書中の「E2B」を、「E2」に修正してもよいでしょうか。

【石川専門委員、島田美樹専門委員】

修正して問題ありません。

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）

II. 安全性に係る知見の概要

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整理した。

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 に示した。

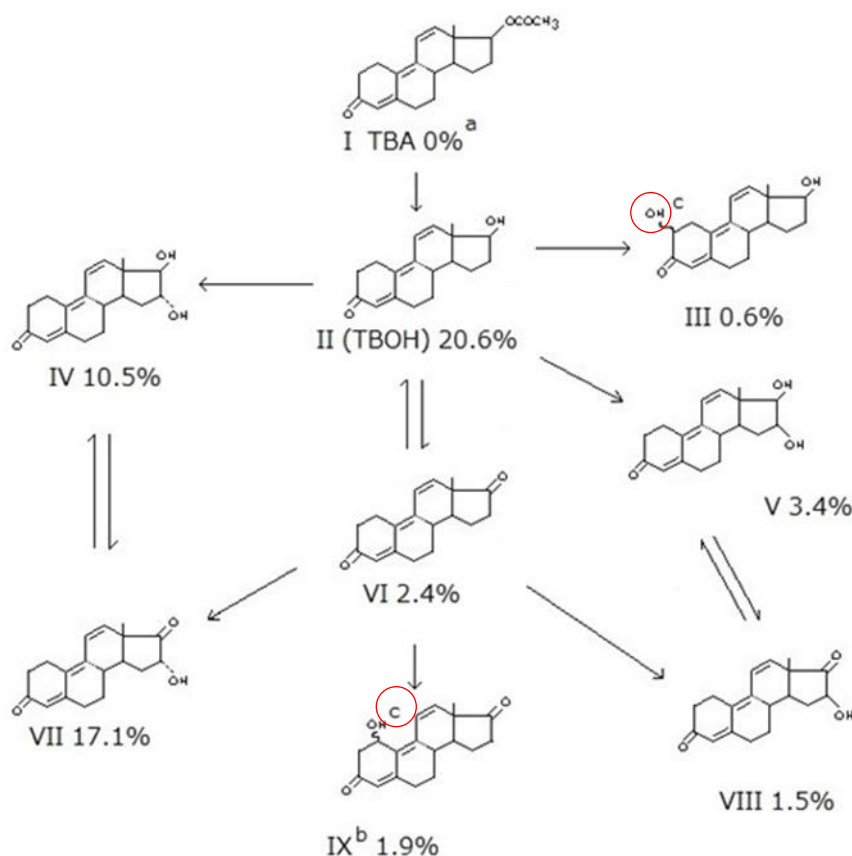
1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（ラット）

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 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。

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 TBOH、37%がグルクロン酸抱合体、37%が硫酸抱合体であった。3-Ketotrienic 構造体は胆汁中放射活性の 66%を占めた。17 α -ヒドロキシトレンボロン（ α -TBOH）は、胆汁中から検出されなかった。

同定された 3-Ketotrienic 代謝物を図 1 に示した。（参照 5、6） [5:5:FAS23 p1] [6:NADA 138-612, 1986 IV-F (Pottier et al., 1978)]



- 化合物IXは 暫定的に同定された構造物を表示している
- 化合物IXの 1 位 及びIIIの 1又は2位の 水酸ヒドロキシ基 のは立体配置 はの 詳細不明
- 両方向の二重矢印は可逆的に構造が変化する性の可能性を意味する [石川専門委員]

図 1 ラットの胆汁における TBA の胆汁中代謝物²

第 223 回：代謝物Ⅲの 2 位の「-CH」を水酸基に修正

(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（300 mg/頭）し、薬物動態試験が実施された。試料は、1 頭からは 60 日間移植投与終了直後に 1 頭から、別の 1 頭からは 60 日間移植投与終了後にインプラントを除去し、そのから 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 可溶物 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。（参照 5）[5:5:FAS23 p2 (Ryan & Hoffman, 1978)] **事務局**

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

² JECFA 評価書（参考 5）の Figure 1 を一部改変

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: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 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、又は組織構造と結合状態であった。

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。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み得られた。(参照 5、7) [5:FAS23 p3][7:FNP41-1, 1987 p31(Hoffman et al., 1984)]

単位修正 : 「 $\mu\text{g/kg}$ 」→「ng eq/g」

⑤ ^3H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑤

不妊牛 (barren cows) (月齢不明、雄雌 2 頭) に ^3H 標識 TBA を静脈内投与 (10 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。第 223 回

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 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。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 5) [5:FAS23 p3(Pottier et al., 1975)]

【事務局より】

原文の表現を残して「不妊牛 (barren cows) (…、雌、…)」としています。Barren cows の和訳として、どのような表現が適切か、ご検討をお願いいたします。(⑥も同様)

【島田美樹専門委員】

不妊牛で良いかと思います。

⑥ ³H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑥

不妊牛 ([barren cows](#)) (月齢不明、[雄雌](#) 2 頭) の耳根部に ³H 標識 TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。 [第 223 回](#)

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、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、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)

[5:FAS23 p3(Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)] [単位修正 : 「ppb」 → 「ng/g」](#)

⑦ ³H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑦

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、薬物動態試験が実施された。

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 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。乳汁中に排泄された放射活性は 1%未満であつた。乳汁中の放射活性の 10%が抽出可能であり、そのうちの 25%が TBOH であつた。移植投与 5 か月後の組織中濃度は、肝臓 (3.4 ng eq/g) 及び腎臓 (2.7 ng eq/g) を除き、約 1 ng eq/g 又は ng eq/mL であつた。肝臓及び腎臓 (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、そのうちの約 40%は TBOH であつた。対照的に、腎臓周囲脂肪においては総放射活性の 88%が抽出可能で、そのうち 50%は TBA であつた。未変化の TBA は他の組織ではみられなかった。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%であつた。(参照 5) [5:FAS23 p4(Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)]

[単位修正 : 「ppb」 → 「ng eq/g」 又は 「ng eq/mL」](#)

⑨ 非標識 TBA 投与試験 (牛) ①

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、薬物動態試験が実施された。

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 時間以内では、比較的高濃度が測定された (50～80 ng/mg ~~クレアチニン~~ Cre)。投与 10 時間後に TBOH は最高濃度 (約 120 ng/mg ~~クレアチニン~~ Cre) に達し、その後 2 日以内に急激に低下した。E2 β 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) [5:FAS23 p1(Bouffault, 1977)]

⑩ 非標識 TBA 投与試験（牛）②

未経産牛（頭数不明、15 か月齢、雌）に TBA を 9 週間経口投与（0.4 又は 8 mg/頭）する試験が実施された。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 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。（参照 5） [5:FAS23 p2(Stephany et al., 1976)]

（3）薬物動態試験（牛、エストラジオールとの併用）

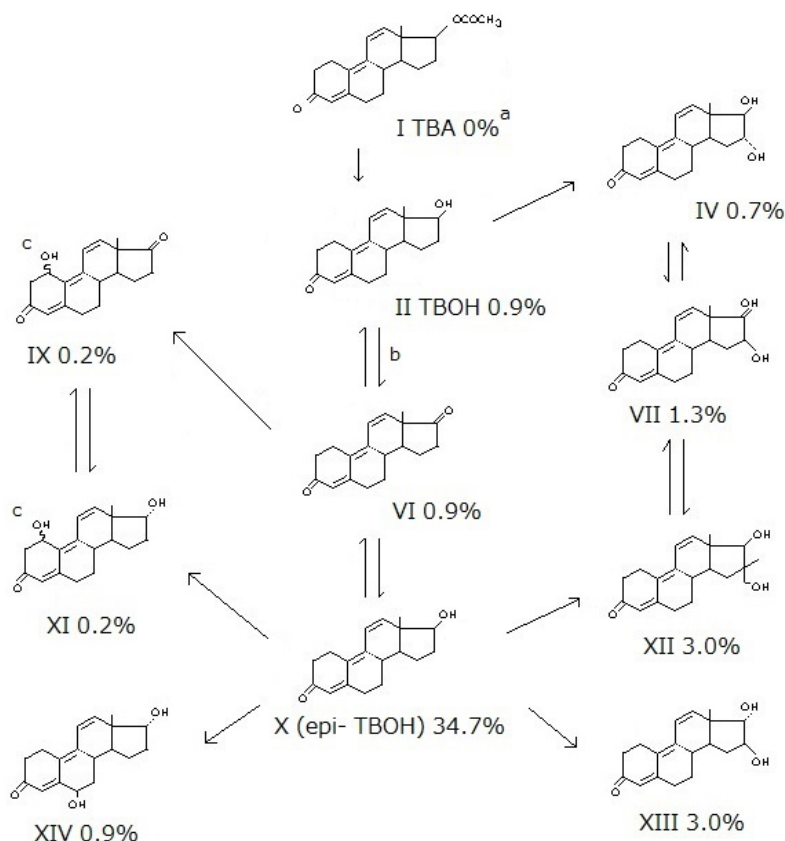
牛（月齢不明、去勢雄 2 頭）に ^3H 標識 TBA を E2 β (estradiol)（40 mg/頭）と併用して単回皮下移植投与（300 mg/頭）し、薬物動態試験が実施された。インプラントは投与 60 日後に除去され、1 頭からは移植投与終了直後に、もう 1 頭からはインプラント除去から 16 日後に試料を採取した。

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）

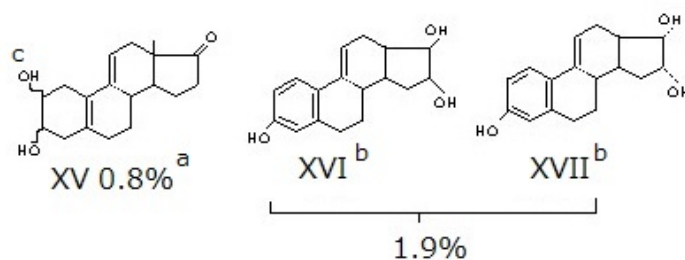
未経産牛（頭数不明、14 か月齢）に ^3H 標識 TBA を静脈内投与（10 mg/kg 体重）し、代謝試験が実施された。

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 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)]



- a 胆汁活性のパーセンテージを意味する
b 二重矢印は可逆性を示す
c 構造物 IX 及び XI の 1-位ヒドロキシ基の 立体 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 石川専門委員

図 2 未経産牛の胆汁中の 3-ketotrienic 代謝物



- 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 水酸ヒドロキシ 基の 立体 配置は詳細不明 石川専門委員

図 3 未経産牛の胆汁中の非 3-ketotrienic 代謝物

調査事業

(5) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独)

牛 (未成熟雌、20 頭) に TBA を皮下移植投与 (3 個又は 4 個/頭、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、首) の筋肉中 (臀部、腰、肩、首) の TBA 代謝物が検討された (定量限界 0.2 ng/g、検出限界 0.09 ng/g)。

結果を表 1 に示した。 **事務局**

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。 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 未満であった。(参照 8) [8:MacNeil et al., 2008]

表 1 TBA を皮下移植投与した牛の肝臓及び筋肉中における
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

*: ND : <LOD 未満

調査事業

(6) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独及び他ホルモン剤併用)

TBA (200 mg) とエストラジオール (40 mg) の合剤³を皮下 移植投与された牛 (去勢雄、体重 255~404 kg 体重、8 頭) から、移植前 (0 日) 及び移植後経時的 (1、3、7、14、28、56、70、84 及び 112 日) に血液、尿及び糞 を採取しから、TBA 代謝物がメチルtert-ブチルエーテルで抽出された後、LC-APCI-MS 法によって解析された。

血清中の主要な代謝物は β -TBOH であり、TBA を投与された全ての牛の血清から検出された。血清中 β -TBOH 濃度は、移植後 1 日で最高値 450 ± 130 pg/mL を示し、移植後 112 日までの平均濃度は 180 ± 95 pg/mL であった。一方、血清中 α -TBOH 及び TBO (トレンジオン) は少数例で検出され、平均濃度はそれぞれ 26 pg/mL 及び 12 pg/mL であった。

尿及び糞では、 α -TBOH が主要な代謝物であり、尿中ではほとんど抱合体で存在し (総濃度の $92.0 \pm 7.4\%$)、糞中では総濃度と遊離型濃度に有意な差はみられなかった。尿中 α -TBOH 濃度は移植後 7 日に最高値 (2.0 ng/mL)、28 日に最小値 (0.5 ng/mL) を示し、移植後の平均濃度は 1.0 ± 0.11 ng/mL であった。糞中 α -TBOH 濃度は移植後 7 日に最高値 (7.8 ng/mL)、56 日に最小値 (4.1 ng/mL) を示し、移植後の平均濃度は 5.9 ± 0.37 ng/mL であった。(参照 9) [9:Blackwell et al., 2014] **事務局**

【事務局より】

³ 20 mg TBA 及び 4 mg estradiol のペレット各々 10 個から構成され、各々 4 個は速やかに溶解し、残り 6 個は移植後 70~80 日をかけて吸収されるようポリマーコーティングされている。

試験結果の詳細を追記しました（黄色マーカー）。ご確認をお願いします。

（７）薬物動態試験（豚、TBA 単独又は他ホルモン剤併用）

豚（雄、雌及び去勢雄）に TBA（1～2ppm）を単独又は E2~~β~~（2ppm）若しくはエチニルエストラジオール（2ppm）と併用して 5～8 週間混餌投与した。

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

（８）残留物のバイオアベイラビリティ（ラット）

³H 標識 TBA を皮下移植投与（300 mg/頭）60 日後に採取した牛（雌 2 頭）の肝臓、腎臓又は筋肉を凍結乾燥した試料又は酢酸エチル抽出した試料がラット（系統、日齢及び雌雄不明、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 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)]

表 2 ³H 標識 TBA を移植投与された牛由来の組織を
経口投与した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

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） [5:FAS23 p4(Hawkins et al., 1979)]

表 3 ³H 標識 TBA を移植投与された牛由来の組織を
経口投与したラット（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

調査事業

(9) 代謝試験 (ヒト、標識 β -TBOH)

ヒト (性別不明、人数不明) に、[6,7- 3 H]標識 β -TBOH (0.04 mg/kg 体重、3.6 mCi/mmol) を 経口投与 (ハンバーガーに注入して食させることで経口投与した) 後、尿を72 時間に渡って採取した 尿の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

放射活性の排泄率は、24 時間までに約 50%であった。投与放射活性の 50%が投与後 24 時間までに、63%が 72 時間までに排泄された。投与後 3 時間までの採取尿から尿を、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 された し、分画毎の放射活性の割合を測定した結果、 主要な 分画の 放射活性は、グルクロン酸抱合体 分画 (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~~ TBO 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 -TBOH と少量の β -TBOH より構成されていた。(参照 10) [10:Spranger and Metzler, 1991] **事務局**

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- 3 H]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。

総放射活性濃度と不揮発性放射活性濃度の比較から、トリチウム水の生成は僅かであることが判明した。 **島田美樹専門委員** 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 り、胆汁排泄の寄与が示唆され た。 **事務局** 総放射活性濃度と不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ていなかったことが判明した。 **島田美樹専門委員**

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」

【事務局より】

(p18, L30～L32) 組織中放射活性濃度については、総放射活性濃度(表 4)と非揮発性放射活性濃度(表 5)があります。現在、総放射活性(表 4)の数値を記載していますが、それで問題ないか、ご確認をお願いいたします。

【島田美樹専門委員】

上のように文章を移動した方がわかりやすいと思います。

表 4 [\[6,7-³H\]標識 TBA を皮下移植投与した子牛における](#)
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

*：平均値±標準偏差

表 5 [\[6,7-³H\]標識 TBA を皮下移植投与した子牛における](#)
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

*：平均値±標準偏差

表 6 [\[6,7-³H\]標識 TBA を皮下移植投与した子牛の](#) 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

② 子牛②

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 -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 及び総 β -TBOH (いずれも遊離体+抱合体) が測定された。

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 に示した。(参照 7、11) [7:FNP41-1, 1987 p34~35][11:FNP41-2, 1989 p95] (Roberts and Cameron, 1986) 表の単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

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

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

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

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

(2) 残留試験 (未經産牛)

① 未經産牛①

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 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、腎臓、脂肪及び血漿中の β -TBOH 及び α -TBOH それぞれの遊離体及び抱合体を測定した。

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

移植 15 日後における筋肉、肝臓及び腎臓中の β -TBOH 遊離体の濃度は、同様同程度である。脂肪中濃度は、その他の組織中濃度のほぼ 2 倍であった。移植 60 日後には β -TBOH 遊離体の濃度は、移植 15 又は 30 日後の濃度と比較して有意に減少した。検出可能な程度の β -TBOH 抱合体は肝臓及び腎臓のみ でみられたから検出された。 α -TBOH 遊離体は、筋肉及び腎臓では移植 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。(参照 7、11) [7:FNP41-1, 1987 p33~34][11:FNP41-2, 1989 p92~93] (Arts,

et al., 1986)

事務局

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)

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 回移植投与 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、第 2 回目の移植投与は、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 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・同程度 であった。

β -TBOH 抱合体は肝臓で 検出可能な程度であった みられた。[事務局]

α -TBOH 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 に達した。

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 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 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 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 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おける内因性の濃度 事務局 と比較すると、食品中の動物用医薬品の 許容可能な安全値 4-(allowable incremental increase) よりも大幅な低値を示した。第 223 回 : 誰/何に対する安全値が分かるよう記載

配合剤移植投与 15 及び 30 日後の組織中の α -TBOH 及び β -TBOH の組織中残留濃度と、既存の TBA の単剤移植投与 (200 mg/頭) 後の組織中残留濃度を比較し、表 18 に示した。

配合剤を投与された 動物-本試験 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、単剤投与における肝臓、腎臓及び脂肪中の β -TBOH 濃度よりも低値であった。筋肉中の 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

⁴ FDA で設定されている安全とされる残留上限値 (21 CFR 556.240.)

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)]

表の単位修正 : 「ppt」 → 「pg/g」

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 E2 β 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 $\pm$ 23.9	<LOQ	28.6
腎臓	360	61.2 $\pm$ 9.1	60.4 $\pm$ 20.7	98.6 $\pm$ 15.7	64.9 $\pm$ 22.2
筋肉	120	<LOQ	13.4 $\pm$ 2.4	<LOQ	13.6 $\pm$ 3.7
脂肪	480	<LOQ	67.1 $\pm$ 16.9	<LOQ	59.4 $\pm$ 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 ^a	240 $\pm$ 83.0	<LOQ	216 $\pm$ 30.1	<LOQ ^b	762 $\pm$ 161	<LOQ	498 $\pm$ 67.8
	腎臓	<LOQ	176 $\pm$ 21.5	<LOQ	130 $\pm$ 4.9	<LOQ	387 $\pm$ 35.3	<LOQ	337 $\pm$ 66.0
	筋肉	<LOQ	279 $\pm$ 38.5	<LOQ	234 $\pm$ 47.2	<LOQ	211 $\pm$ 39.5	<LOQ	139 $\pm$ 63.1
	脂肪	<LOQ	378 $\pm$ 61.9	<LOQ	260 $\pm$ 81.1	<LOQ	847 $\pm$ 73.2	<LOQ	661 $\pm$ 127
α - TBOH	肝臓	<LOQ ^a	1,550 $\pm$ 932	<LOQ	802 $\pm$ 240	<LOQ ^b	4,020 $\pm$ 2420	<LOQ	1,770 $\pm$ 470
	腎臓	<LOQ	178 $\pm$ 45.2	<LOQ	167 $\pm$ 23.7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	19.14 $\pm$ 3.25	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	60.2 $\pm$ 11.7	<LOQ	43.9 $\pm$ 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 125 pg/g、腎臓 250 pg/g

② 去勢牛②

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(140
mg/頭)+E2 β (28 mg/頭)) 又は TBA 単剤 (200 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、脂肪、肝臓及び腎臓中の E2 β 、 α -TBOH 及び β -TBOH の濃度が測定された。E2 β の濃度は、対照群及び TBA 配合剤投与群においてのみ測定された。

結果を表 19 及び 20 に示した。

組織中残留濃度は、投与 15 及び 30 日後の両時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。

TBA 配合剤投与群及び対照群における E2 β の濃度は、[食品中の動物用医薬品の](#) 許容可能な安全値 [5-\(acceptable safe incremental levels\)](#) より大幅に低値であった。[第 223 回：誰/何に対する安全値が分かるよう記載](#)

2 種の TBA 代謝物 ([trenbolone metabolite](#)) (α -TBOH 及び β -TBOH) の残留濃度を TBA 配合剤投与群及び TBA-200-mg単剤投与群と比較すると、TBA 配合剤投与群の濃度の方が TBA 200-mg単剤投与群より常に低値であった。[事務局](#) (参照 12)

[12:NADA140-992, 2001 Steer Study #4667-01-07-95] [表の単位修正：「ng/kg」→「pg/g」](#)

表 19 TBA [製剤配合剤](#) *移植投与後の去勢雄牛における
[組織中の E2 \$\beta\$ 濃度](#)** (pg/g)

組織	許容可能な安全値	TBA 製剤配合剤 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 $\pm$ 2.6	6.1 $\pm$ 1.7

投与群 n=8 対照群 n=4 * : TBA (140 mg/頭) + E2 β (28 mg/頭) を含有 ** : 投与 15 日後と 30 日後の平均値 a : LOQ : 筋肉及び脂肪 6 pg/g、肝臓及び腎臓 25 pg/g

表 20 TBA 配合剤*又は TBA [200-mg単剤](#) 移植投与後の去勢雄牛における
[組織中の \$\alpha\$ -TBOH 及び \$\beta\$ -TBOH の濃度](#) (pg /kg)

残留物質	組織	対照	TBA 配合剤	TBA 200-mg単剤
α -TBOH	肝臓	<LOQ ^a	285 $\pm$ 14.8	2,8902.990 $\pm$ 2,010
	腎臓	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	<LOQ	127 $\pm$ 102
β -TBOH	肝臓	<LOQ ^b	200 $\pm$ 50.1	630 $\pm$ 182
	腎臓	<LOQ	<LOQ	362 $\pm$ 56.0
	筋肉	<LOQ	75.6 $\pm$ 14.6	175 $\pm$ 62.3
	脂肪	<LOQ	177 $\pm$ 48.1	754 $\pm$ 138

投与群 n=8 対照群 n=4 * : TBA (140 mg/頭) + E2 β (28 mg/頭) を含有 a : LOQ (α -TBOH) : 筋肉 15 pg/g、脂肪 30 pg/g、肝臓 125 pg/g、腎臓 250 pg/g b : LOQ (β -TBOH) : 筋肉及び脂肪 30 pg /kg、肝臓 125 pg /kg、腎臓 250 pg /kg

⁵ FDA で設定されている、安全とされる残留上限値 (21 CFR 556.240.)

③ 去勢牛③

牛（月齢不明、去勢雄 6 頭/群）に TBA の配合剤（TBA (200 mg/頭) + E2 β (40 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合体の濃度が HPLC/RIA により測定された。

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。

筋肉、肝臓及び脂肪中の β -TBOH 遊離体の濃度は、互いに同じような濃度いずれも同程度であったが、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 抱合体が検出可能であった。

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

本試験の結果、TBOH の検出限界は 70 ng/kg と考えられた⁶。(参照 7、11) [7:FNP41-1, 1987 p31~33] [11:FNP41-2, 1989 p89~90] (Arts, et al., 1986(a))

表の単位修正：「ng/kg」→「pg/g」

表 21 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
組織中の β -TBOH 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 $\pm$ 162	323 $\pm$ 131	180 $\pm$ 105	83 $\pm$ 52
腎臓	8	78 $\pm$ 41	67	78 $\pm$ 24	52
筋肉	17	254 $\pm$ 62	272 $\pm$ 80	108 $\pm$ 29	71 $\pm$ 32
脂肪	21	392 $\pm$ 147	293 $\pm$ 171	120 $\pm$ 106	111 $\pm$ 86

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 22 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
組織中の β -TBOH 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 $\pm$ 568	772 $\pm$ 618	695 $\pm$ 337	401 $\pm$ 177
腎臓	15	35	36	33	33
筋肉	34	66	43	38	43
脂肪	34	27	31	32	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

⁶ 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。

表 23 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
組織中の α -TBOH 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

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 24 TBA 配合剤*を移植投与した牛における
組織中の α -TBOH 抱合体の濃度** (pg/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

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

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 E2 β (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。単回移植投与群では移植投与 60 日後に、2 回移植投与群では第 2 回移植投与 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 回移植投与は、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。

単回移植投与に比べて、2 回移植投与の方が、筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の β -TBOH 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 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 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) + 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 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 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 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** (pg/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 $\pm$ 475	3,090 $\pm$ 2,180	4,650 $\pm$ 1,510	2,060 $\pm$ 575
腎臓	183 $\pm$ 104	191 $\pm$ 90	163 $\pm$ 81	95 $\pm$ 18
筋肉	63	80 $\pm$ 37	88 $\pm$ 21	87 $\pm$ 21
脂肪	29	35	76 $\pm$ 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。移植投与 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び硫酸抱合体) が合わせて測定された。

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。

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 遊離体の濃度は、移植投与 30 日後の方が、移植投与 15 日後の濃度に比べて有意に高かった。腎臓中からは β -TBOH は検出されなかった。

α -TBOH 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、肝臓中においてのみであった。(参照 11) [11:FNP41-2, 1989 p92] (Herschler, R. C., 1988)

単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

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
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 $\pm$ 39	596 $\pm$ 108
腎臓 ^a	<250	<250
筋肉 ^b	147 $\pm$ 15	241 $\pm$ 40
脂肪 ^b	421 $\pm$ 53	505 $\pm$ 52

a : 遊離体及び抱合体の合計 b : 遊離体のみ * : TBA (140 mg/頭) を含有

** : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 β (20 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 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

a : 遊離体及び抱合体の合計 b : 遊離体のみ * : TBA (140 mg/頭) を含有
 ** : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 β (20 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)

(4) 残留試験 (去勢雄牛及び未経産牛)

去勢雄牛及び未経産牛 (各 3 頭/投与群、各 1 頭/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 60 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。組織中の E2 β 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。

投与動物における E2 β の濃度を未処置の対照群における 天然に生じた内因性の 濃度と比較すると、許容可能な安全値よりも大幅な低値であった。

移植投与 60 日後の主要組織中の α -TBOH 及び β -TBOH の濃度は、去勢雄牛のみを用いた試験Ⅱ. 2. (3) ① の試験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様に検出され、肝臓では α -TBOH の濃度が高く、筋肉及び脂肪では 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, 2001 Heifer and Steer Study #97U-040] 表の単位修正 : 「ng/kg」 → 「pg/g」

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 E2 β の濃度 (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

投与群のみ n=3 (対照 : n=1) * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有 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) b : 1 例を除き定量限界未満

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 -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

投与群のみ n=3 (対照 : n=1) * : TBA (200 mg/頭) + E2 β (20 mg/頭) を含有 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、腎臓及び脂肪 100 pg/g) b : 1 例を除き定量限界未満

3. 遺伝毒性試験

-(1) 遺伝毒性試験

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 5、10)

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 μ g/plate : TBA 又は配合剤 (TBA+E2 β (7 : 1)) ($\pm$ 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 μ g/plate : TBOH ($\pm$ S9)	1,000 μ g/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 μ g/plate : α -TBOH 15~1,500 μ g/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 μ g/plate : TBOH	陰性 (参照 5)	(Schiffman et al., 1985) [5:FAS23 p7]
	<i>S. typhimurium</i> TA100、TA98、TA102	0~1,000 μ g/plate ^b : β -TBOH 333 μ g/plate : TBA	TA100 : 陽性 ^c TA98 : 陰性 TA102 : 陰性 (参照 13)	(Lutz et al., 1988) [13:FAS25 p2]
染色体異常試験	ヒトリンパ球	6、30、60 μ g/mL : α -TBOH 又は β -TBOH ($\pm$ 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)	<u>調査事業</u> 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 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>EHgprt</i> 遺伝子座) <u>第 223 回</u>	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>Hgprt</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>Hgprt</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 <u>第 223 回 : 形質転換試験。「その他の試験」に移動。</u>	— : 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 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]
	<u>調査事業</u> ヒト MCL-5 細胞 (遺伝子改変あり ^f)	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 ^{ig} (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]
<i>in vivo</i>	細胞遺伝 学的試験	ラット骨髓細胞 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 **疑**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>15µg/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 **優位有意** であること示された。 **能美専門委員**

13 ~~—(2) DNA 共有結合試験—~~ **第 223 回 : 「その他の試験」に移動。**

14 ① ~~—in vitro 試験~~

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

19 ② ~~—in vitro 試験~~

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 でラット~~
21 ~~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により調べ~~
22 ~~られた。最大 DNA 結合は、S9 非存在下で認められた。非活性 S9 (補酵素なし) の添加~~
23 ~~により、DNA 結合は約 1/20 に低下した。中間的結果が活性 S9 存在下でみられた。(参照~~
24 ~~13) [13:FAS25 2.2.5] (Lutz et al., 1988)~~

26 ③ ~~—in vivo 試験~~

27 ~~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*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19~25g、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 100ppm）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 に示した。

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。50ppm 以上投与群の雌では、卵巣の絶対及び相対重量が有意な低値、100ppm 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、精嚢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、100ppm 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 50ppm (7.5 mg/kg 体重/日に相当⁷)、雌の LOAEL を 25ppm (3.75 mg/kg 体重/日に相当⁸) と設定した

表 35 8 週間亜急性毒性試験（マウス）の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・精巣の絶対及び相対重量の低値	・卵巣の絶対及び相対重量の低値
50 以上	毒性影響なし	・肝臓の絶対及び相対重量低値 ・子宮の絶対及び相対重量増加 ・卵巣の 周期的活動 性周期 第 223 回の抑制 (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) ・子宮内の 子宮内膜腺 の数の減少
25 以上		事務局

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

⁷ 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

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。

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., 1976b)

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 を最高用量である 10ppm (1.51.2 mg/kg 体重/日に相当⁹⁾) と設定した。[事務局]

第 223 回：ハーシュバーガーアッセイ。「その他の試験」に移動

（3）10 日間亜急性毒性試験（ラット、TBA）＜参考資料＞

~~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。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%）及び精囊の絶対重量の増加（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 p13] (Schroeder, 1971a)――~~

（3）13 週間亜急性毒性試験（ラット、TBA）

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 100ppm（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 に示した。

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った。

~~25ppm 投与群において、形態学的変化はみられなかったが、前立腺重量が低下（－36%）であった。50ppm 投与群では、形態学的又は子宮の変化はみられなかったが、2 例で前立腺及び精囊重量の低下（それぞれ－50%又は－30%）がみられた。100ppm 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が低値（－35%）を示した。形態学的変化を伴わない、精囊重量の低下（－60%）、前立腺重量の低下（－80%）がみられ、5 例の前立腺は立方上皮に覆われる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減少が特徴的であった。（参照 5）[5:FAS23 p13] (Hunter et al., 1976c)――~~

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低値が、100ppm 投与群の雌で子宮内膜間質の減少がみられたことから、雄は LOAEL を 25ppm (1.25 mg/kg 体重/日に相当¹⁰⁾)、雌は NOAEL を 50ppm (2.5 mg/kg 体重/日に相当

⁹ 通常、JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値（参照 5）を採用した。

¹⁰ 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	摂餌量	摂餌量
-----	------	-----	-----

11) と設定した。 [第 223 回](#)

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 ・ 前立腺腺房小型（立方上皮に覆われる） 第 223 回	・子宮内膜間質の減少（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	・精囊重量の低値	毒性影響なし
25 以上	・前立腺重量の低値	

（4）3 か月間亜急性毒性試験（ラット、TBA）

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、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。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（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表 37 に示した。

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~~。

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。

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/日以上投与群において、T.Chol が減少した。~~1,000 µg/kg 体重/日投与群では、Glu が僅かに減少したが、この群の雌のみで、尿素が僅かに増加した。~~

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高値となった。~~雌において、~~卵巣重量が 1,000 µg/kg 体重/日投与群で高値となり、100 及び 200 µg/kg 体重/日投与群で子宮重量が低値となった。~~雄において、~~100 µg/kg 体重/日以上投与群で精囊重量が、100 及び 1,000 µg/kg 体重/日投与群で前立腺重量が低値となった。~~剖検では、~~1,000 µg/kg 体重/日投与群において、前立腺、精囊及び精巣の萎縮がみられた。~~

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、全投与群において嚢胞及び放出された卵胞がみられた。~~子宮では、200 µg/kg 体重/日以上投与群において子宮の菲薄化（dentelle uterine）がみられた。~~1,000 µg/kg 体重/日投与群の雄では、~~精子形成遅延並びに精囊及び前立腺の形成不全がみられた。~~（参照 5） [\[5:FAS23 p13~14\]](#) (Seeger, 1971a, b) [第 223 回](#)

	(kg)	(g/動物/日)	(g/kg 体重/日)
Rat (old)	0.40	20	50

¹¹ JECFA で用いられている換算値（IPCS : EHC240）を用いて摂取量を推定。

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重量が低値となり、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝臓及び脾臓重量の高値及び子宮重量の減少並びに子宮の菲薄化がみられたことから、雄に対する NOAEL を 50 µg/kg 体重/日、雌に対する NOAEL を 100 µg/kg 体重/日と設定した。

事務局：ボックス参照

表 37 3 か月間亜急性毒性試験の毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日)	雄	雌
1,000	・ Glu の軽度減少 ・ 腎臓重量高値 ・ 精嚢、前立腺重量低値 ・ 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	・ Glu の軽度減少、尿素の軽度増加 ・ 腎臓重量高値 ・ 卵巣重量高値
200 以上	・ 成長率減少 ・ 肝臓重量高値	・ 肝臓、脾臓重量高値 ・ 子宮の菲薄化 (dentelle uterine)
100 以上	・ 精嚢重量低値	・ 卵巣所見 (嚢胞、放出卵胞)
50以上	毒性影響なし	毒性影響なし 第 223 回

【事務局より】

子宮重量の減少は用量相関性がみられない (100 及び 200 のみ) ため、本文の NOAEL の根拠所見から除外しました。

(5) 23 週間亜急性毒性試験 (ラット、α-TBOH)

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、10、40、360 又は 3,600 µg/kg 体重/日、メチルセルロース (MC) 懸濁液として投与) 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-TBOH を投与 (40 µg/kg 体重/日) した。臨床徴候及び死亡の有無を観察し、体重、飲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、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 38 に示した。

360 µg/kg 体重/日投与群 (high dosed) の雄 1 例が投与 2 週に死亡したが、おそらく挿管ミスの結果と考えられた。

360 µg/kg 体重/日投与群 (high dosed) の雄で流涎が認められた。3,600 µg/kg 体重/日投与群の雄で摂餌量が有意に増加した。

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、全投与群の雄で有意に減少した。MCV 及びトロンボテスト時間は、3,600 µg/kg 体重/日投与群 (highest dose) でのみ有意に減少した。雌では、3,600 µg/kg 体重/日投与群のみで Hb 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。360 µg/kg 体重

1 /日投与群 (high dosed) の雄では Na 及び K 濃度が有意に上昇し、雄及び雌で T.Chol
2 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 は有意に低下し、
3 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、雄の前立腺及び
5 精囊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、下垂
6 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、3,600 µg/kg 体重/日投
12 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少、下垂体重量の増加並
13 びに前立腺及び精囊重量の減少がみられ、360 µg/kg 体重/日投与群の雌で トロンボテ
14 スト時間の増加並びに下垂体及び子宮重量の減少 TP の低値及び ALP の高値 がみられ
15 たことから、雄に対する NOAEL を 360 µg/kg 体重/日、雌に対する NOAEL を 40
16 µg/kg 体重/日 と設定した。事務局：ボックス参照

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	・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 ・前立腺及び精囊重量減少	・Hb、RBC、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	毒性影響なし	・TP の有意低下 ・ALP の増加
40 以下		毒性影響なし
10 以上	・血小板数、PCV 及び Hb 減少 第 223 回	

19 【第 223 回 (吉田 (緑) 委員、青山座長、小川専門委員)】

評価書評価の場合、血液学的及び血液生化学的データ等で生データを確認できない場合、どこ
かの機関が評価したものを追認する／追認しないを考える。

【事務局より】

JECFA は、10 µg/kg 体重/日以上投与群で見られた所見と毒性影響としていないため、表 38
から削除しました。

【事務局より】

10 µg/kg 体重/日の血小板数、PCV 及び Hb 減少を削除したことにあわせて、結論を修正しま
した。ご確認ください。

21 第 223 回：詳細不明で参考資料としても不適。削除

~~（7）亜急性毒性試験（ラット、TBA）＜参考資料¹²＞~~

~~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、40、80又は160ppm、投与期間不明）し、亜急性毒性試験が実施された。~~

~~80ppm以上投与群で子宮重量の増加が示された。全群における膣スメアは陰性であったが、膣粘膜の僅かな増殖が160ppm投与群でみられた。（参照5）[5:FAS23-p14] (Huisin't Veld et al., 1973)~~

（6）皮下投与試験

第223回：ウテロトロピックアッセイ。「その他の試験」に移動

① ~~4日間亜急性毒性試験（ラット、TBA）＜参考資料＞~~

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

~~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%）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%未満であった。（参照5）[5:FAS23-p14] (Schroder, 1971b)~~

第223回：ハーシュバークアッセイ。「その他の試験」に移動

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＞~~

~~ラット（系統及び匹数不明、体重100g、去勢雄）に、TBA（4、20又は100μg/匹/日）、β-TBOH（4、20又は100μg/匹/日）又はα-TBOH（20、100、500又は1,000μg/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、100μg/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)~~

第223回：ハーシュバークアッセイ。「その他の試験」に移動

③ ~~10日間亜急性毒性試験（ラット、TBA）＜参考資料＞~~

~~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）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)~~

¹² 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。

④① 2 か月間亜急性毒性試験（ラット、TBA）＜参考資料¹³＞

ラット（系統不明、体重 123～131 g、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 µg/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 µg/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 僅かな軽度 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 µg/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 µg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 5,000 µg/kg 体重/日投与群の雄で BUN が減少した。また、1,000 µg/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 µg/kg 体重/日投与群の雌において、子宮重量が減少した。全投与群の雌が肝臓の絶対重量の増加を示した。全投与群の雄で精巣重量が、1,000 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で精嚢及び前立腺重量が減少した。

剖検では、胸腺、卵巣及び精巣に萎縮が、精嚢及び前立腺に肥大がみられた。（参照 5） [5:FAS23 p14~15] (Sovetal, 1970; Seeger, 1971a)

⑤② 4 日間亜急性毒性試験（ウサギ、TBA）＜参考資料¹⁴＞

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 僅かな軽度 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)

第 223 回：変化の具体的な内容が不明のため、削除

⑥ ~~単回皮下投与試験（牛、E2β 又は TBOH+E2β）＜参考資料＞~~

~~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、精嚢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 例に精嚢のごく僅かな変化がみられたが、3/7 例では精嚢の変化がみられず、アンドロゲン刺激が観察された。（参照 5） [5:FAS23 p15] (Kroes, 1972)――~~

¹³ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁴ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

(7) 移植投与試験

① 4～8 週間移植投与試験（牛、TBA+E2 β ）＜参考資料¹⁵＞

子牛（月齢不明、雄 8 頭/群）に TBA の配合剤（TBA (140 mg/頭)+E2 β (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）+E2 β （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 亢進 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) 事務局

② 56 日間移植投与試験（牛、E2 β 又は TBA+E2 β ）＜参考資料¹⁶＞

子牛（頭数不明、11 週齢、雄）に E2 β （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。

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の段階的 で長期化したかつ持続的な 排泄が起こったが、投与 56 日後には正常値に達した。E2 β の定性 試験検査 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、E2 β は、E2 β 単独 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、両投与群で腺上皮の扁平上皮化生が認められた。（参照 5）[5:FAS23 p15~16] (Kroes et al., 1976b) 事務局

③ 9 週間移植投与試験（牛、TBA 又は TBA+E2 β ）＜参考資料¹⁷＞

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、別の去勢牛（頭数不明）に TBA 配合剤（TBA (140 mg/頭)+E2 β (20 mg/頭)）を移植投与して、投与試験が実施された。

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。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）[5:FAS23 p16] (Heitzman, 1975)

④ 10 週間移植投与試験（牛、TBA 又は TBA+E2 β ）＜参考資料¹⁸＞

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 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。

全投与群において、血液パラメータ（Glu、AST、ALT、AP、LDH、Chol、Bil、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

¹⁵ 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。

¹⁶ 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。

¹⁷ 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。

¹⁸ 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。

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 僅かに、第 4、5 及び 6 群では 有意・顕著にみられたが、これらの群では子宮内腔が部分的に 液体・水溶液で満たされていた。投与群では、卵胞の小型化を伴う卵巢重量の減少がみられた。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胞の小型化は、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、異常はみられなかった。(参照 5) [5:FAS23 p16] (Gropp et al., 1975) **事務局**

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
E2 β (mg/頭)				20	200	500

⑤ 移植投与試験（牛、TBA 又は TBA+E2 β ）＜参考資料¹⁹＞

去勢牛及び雄牛（頭数不明）に、TBA（140 mg/頭）を単独又は E2 β （20 mg/頭）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、担体を投与した。

TBA+E2 β 投与群では、雄牛において外因性 E2 β の尿中への排泄に影響を与え、去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+E2 β 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)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）

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 95～104 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〔混餌投与：0、0.5、1、10 又は 100ppm（雄で 0、0.004、0.09、0.86 又は 8.6 mg/kg 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、慢性毒性試験が実施された。投与開始 13 週後、雄雌各 12 匹/群を用いて中間検査を実施した。

本試験でみられた非腫瘍性及び腫瘍性の毒性所見を表 40 及び 41 に示した。

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メータにおいて有意な差異はみられなかった。

中間検査では、100ppm 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加がみられた（20～40%増）。100ppm 投与群の雌では、脾臓重量の有意な低下がみられ

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%)、1ppm 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%)。100ppm 投与群の全ての雌において、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。100ppm 投与群の雄 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 (対照群で 0/12 例)。

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、10ppm 以上投与群で統計学的に有意であった。100ppm 投与群の雌では、肝腫瘍の発生頻度も増加し (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もみられた。100ppm 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加し、腎炎の発生頻度の僅かな増加を伴っていた。同投与群では、卵巢嚢胞の増加 (10/20 例に対し対照群 1/11 例) 並びに腫大化、膿瘍化及び/又は嚢胞性の包皮腺 (cystic preputial glands)²⁰ (雌 4/20 例に対し対照群 0/11 例) の増加がみられた。100ppm 投与群の雌 4/20 例に脾臓の小型化がみられた。(参照 5、6) [5:FAS23 p16~17] [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] (Hunter et al., 1981)

JECFA は、本試験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 によるものを介した影響 と判断した。(参照 5) [5:FAS23 p18] [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] **吉田委員**

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、10ppm 以上投与群の雄で肝臓の結節性過形成が、100ppm 投与群の雌で肝腫瘍発生頻度の増加、腎炎の増加、卵巢嚢胞の増加、腫大化、膿瘍化及び/又は嚢胞性の包皮腺²¹がみられたことから、NOAEL を雄で 1ppm (~~0.150.09~~ mg/kg 体重/日に相当²²)、雌で 10ppm (~~1.50.96~~ mg/kg 体重/日に相当²³) と設定した。**事務局** 10ppm 以上投与群 の雄 でみられた肝腫瘍の増加は、TBOH のホルモン作用 によるものを介した影響 と考えた。

²⁰ 原文ママ

²¹ 原文ママ

²² 通常、JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値 (参照 5) を採用した。

²³ 通常、JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値 (参照 5) を採用した。

表 40 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）の毒性所見（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	・腎臓の腫大の発生頻度が増加（腎炎の発生頻度の僅かな増加を伴う） ・卵巣嚢胞の増加、腫大化、膿瘍化及び/又は嚢胞性の包皮腺 ²⁴ (preputial glands) ・脾臓の小型化
10 以上	・肝臓の結節性過形成	毒性影響なし
1 以下	毒性影響なし	

表 41 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）の腫瘍性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・肝腫瘍発生頻度増加	・肝腫瘍発生頻度の増加
10 以上		腫瘍発生頻度の増加なし
1 以下	腫瘍発生頻度の増加なし	

【小川専門委員（第 223 回事前）】

「包皮腺」は雄の器官です。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」に脚注を付けました。

動物用医薬品専門調査会の結論として、「嚢胞性の包皮腺」を記載してよいでしょうか。

【事務局より】

本試験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。

動物用医薬品専門調査会の結論として、本試験でみられたこれらの所見を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。

（2）112 週間慢性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系 CFY、体重 150～200 g、雌雄各 65 匹/群）に TBA を 112 週間混餌投与（混餌濃度：0、0.5、1、4、16 又は 50ppm（雄で 0、0.02、0.04、0.14、0.56 又は 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））し、慢性毒性試験が実施された。被験動物は、交配 9 週前から分娩 21 日後まで同量を投与した親動物（50ppm 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。

本試験でみられた毒性所見を表 42 及び 43 に示した。

外観の変化として、4ppm 以上投与群の雌で、外陰部の隆起がみられた。全投与群の

²⁴ 原文ママ

雌で、肛門生殖 ~~器-突起~~ 間皮膚の下垂が用量依存的に発現した（最大発生頻度 85%）。
 1ppm 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%）。
 体重は、50ppm 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み
 られた（それぞれ－15%及び－10%）。
 飲水量は、50ppm 投与群の雄で、投与 51 週まで低下した（－15%）。
 尿検査では、投与に関連した変化はみられなかった。
 血液学的検査では、16ppm 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な
 軽微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。
 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。
 中間検査の剖検では、16ppm 投与群の雌 5/14 例及び 50ppm 投与群の雌 13/13 例で、
 陰核の隆起がみられた。50ppm 投与群の雄では、精巣、精囊及び前立腺の萎縮を示した。
 臓器重量では、16ppm 以上投与群の雄で、精巣及び前立腺の絶対重量の用量依存的な減
 少が明らかになった。50ppm 投与群の雌雄で副腎及び脳下垂体重量が減少した。全投与
 群で、卵巢重量が用量に関係なく増加した。
 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
 られた。50ppm 投与群の雄では、脳下垂体（－30%）、甲状腺（－20%）、腎臓（－30%）、
 脾臓（－30%）及び肝臓（－20%）重量の減少が認められた。卵巢重量は、50ppm 投与
 群の雌で著しく減少した（－60%）。
 剖検及び病理組織学的検査では、50ppm 投与群の雌で、肝細胞巢の発生頻度及び肝細
 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。50ppm 投与群の雌で、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。雌雄両方の生
 殖器官で影響がみられ、16ppm 以上投与群の雄で、精巣、前立腺及び精囊の萎縮が、
 50ppm 投与群の雌では、黄体の欠如、膣の炎症及び粘液産生亢進、子宮内膜炎、子宮拡
 張、子宮内膜厚の減少及び陰核骨の発達（the development of clitoral bone）がみられ
 た。16ppm 以上投与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、
 50ppm 投与群におい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, 1986 IV-A] (Hunter et al., 1982)
 JECFA 及び FDA は、50ppm 投与群でみられた腓島細胞腫瘍の発生頻度の増加は ~~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~~ を介した影響 と判断し
 た。（参照 5）[5:FAS23 p17][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、1ppm 以上投与群の雄で精巣の小型化、
 全投与群の雌で肛門生殖 ~~器-突起~~ 間皮膚の下垂がみられたことから、本試験における雄
 に対する NOAEL 及び雌に対する LOAEL を 0.5ppm (~~0.025~~0.02 mg/kg 体重/日に相
 当²⁵⁾ と設定した。50ppm 投与群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 ~~によるもの~~ を介した影響 と考えた。[事務局]

²⁵ 通常、JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定しているが、本
 試験については、JECFA 評価書に示されている既報値（参照 5）を採用した。

【事務局より】

本試験のでみられた睪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のか、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。

表 42 112 週間慢性毒性試験（ラット）の毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (ppm)	雄	雌
50	・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	・副腎重量が減少 ・卵巣重量減少 ・肝細胞巢の発生頻度増加、肝細胞のす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、膣の炎症及び粘液産生亢進、子宮内膜炎、子宮拡張、子宮内膜の厚さの低下及び陰核骨の発達 (the development of clitoral bone)
16 以上	・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	・陰核の肥大
4 以上	・精巣の小型化	・外陰部の隆起
1 以上		
0.5	毒性影響なし	・肛門生殖 器突起 間皮膚の下垂 (pendulous anogenital skin) が用量依存的に発現

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	睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加	睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加
16 以下	腫瘍発生頻度の増加なし	腫瘍発生頻度の増加なし

【事務局より】

本試験でみられた睪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よいでしょうか？

【小川専門委員（第 223 回事前）】

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

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.

(3) 長期投与慢性毒性試験（ラット）＜参考資料²⁶＞

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（混餌濃度：0、0.5、1、4、16.0 及び 50.0ppm）し、慢性毒性試験が実施された。

主要な変化は、生殖器等に関連したものであり、16ppm 以上投与群の大部分の雌で、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。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。若干の加齢性変化の発現率が 50ppm 投与群の雌で減少した。50ppm 投与群の雄では、対照群に比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。16ppm 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。50ppm 投与群の雌では、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、膣の炎症及び **変形適応性変化**（炎症に伴う **膣粘膜上皮の粘液産生細胞への化生による粘液産生亢進** や **筋層等の過形成や損傷組織の線維化などに伴う形態変化**）（inflammation and modification of the vagina）、子宮の炎症、内腔の拡張及び内膜の菲薄化、陰核の肥大並びに陰核 **骨**の発達を含む顕著な病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た。50ppm 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、涙腺におけるハーダー腺化生（Harderianisation）の発現率の増加、乳腺線維腺腫（mammary 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） [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] **島田章則専門委員**

【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ありますが、確証が得られないため、別の試験として記載しました。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験（ラット）

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 18ppm）し、2 世代繁殖試験が実施された。投与は、F₀世代の雄では交配 9 週間前から、雌では交配 2 週間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 3 週齢の時点で投与を中止した（休薬群）。

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 138-612, 1986 IV-C] (James et al., 1985)

投与継続群の繁殖成績²⁷について、18ppm 投与群では顕著な影響が、3ppm 投与群で

²⁶ 投与期間が不明であることから、参考資料とした。

²⁷ 親動物が児動物を出産し維持する能力で評価

は軽微な影響がそれぞれみられた。0.5ppm 投与群の F₁世代では、膣開口の僅かな遅延がみられ、6 週齢時には精巣上体又は精巣/前立腺重量への影響が認められた。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った。0.5ppm 投与群の繁殖成績は、対照群とほぼ同等であった。休薬後の F₁世代の全群における繁殖成績には、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, 1986 IV-C] [5:FAS23 p10~11] (James et al., 1985)

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が、精巣、精巣上体、精囊及び前立腺の組織学検査で異常は何もみられなかった。投与動物はまだ完全には性成熟に達しておらず、精巣においては精子の尾部が形成されているものの、精巣上体に精子が存在しない状態であったが、その週齢では正常であると考えられた。(参照 5) [5:FAS23 p11] (Offer, 1985)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雄では 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、雌では 0.5ppm 投与群の F₁世代の児動物で膣開口の僅かな遅延がみられたことから、児動物に対する LOAEL を 0.5ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当²⁸⁾) 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) の毒性所見

混餌濃度 (ppm)	世代	雄	雌
18	F ₀	- 被毛粗剛、皮膚の変色 - 前胃部上皮抑制の発生頻度増加 - 精囊/前立腺重量の低下	- 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 - 妊娠期間の僅かな延長 - 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
	F ₁	- 前胃部上皮抑制の発生頻度増加<投与継続群> - 精囊/前立腺重量の低下<投与継続群> - 精囊/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突起間距離の減少、骨格変異発生頻度微増<F₀世代の 2 回目の交配られた胎児>	- 被毛粗剛、皮膚の変色<投与継続群> - 陰核の隆起<投与群、休薬群の児動物> - 膣の閉塞、早熟/不完全な膣口<投与継続群の児動物> - 妊娠率の顕著な低下<投与継続群> - 交配までに要する時間の延長<投与継続群> - 妊娠期間の僅かな延長<投与継続群> - 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<投与継続群>

²⁸ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

			続群＞ ・同腹児数及び同腹児体重の低下＜投与継続群＞ ・着床後/出産前の胎児死亡増加＜投与継続群＞ ・卵巣重量の増加＜投与継続群の児動物＞ ・副腎重量の低下＜6 週齢離乳児＞
	F ₂	・精巣下降の遅延＜投与継続群の児動物＞ ・精嚢/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低下＜6 週齢離乳児＞	・陰核の隆起＜投与継続群の児動物＞ ・膣の閉塞、早熟/不完全な膣開口＜投与継続群の児動物＞ ・副腎重量の低下＜6 週齢離乳児＞
3	F ₀	・体重増加抑制	・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	・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＞	・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＜投与継続群の児動物＞
0.5	F ₀		
	F ₁	・精嚢/前立腺の重量の低下＜投与継続群の 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	・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

〔参考〕

18ppm 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/不完全な膣開口がみられた。
- 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僅かな延長がみられた。
- j) F₁世代の投与群で分娩延長及び全同腹児死亡母体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) 最終剖検時には、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3ppm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) F₁世代の生後6週における剖検例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) F₁世代の投与群における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0.5ppm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等）
- 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」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。

★FDAがADIを設定する根拠となった試験★

(1) のフォローアップ試験

(2) 生殖発生毒性試験（ラット）①

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。児動物（F₁世代）は、離乳時まで飼育し、生後22日に雄を、生後

24 日に雌を剖検した。

本試験でみられた毒性所見を表 45 に示した。

親動物の体重は、3ppm 以上投与群の雌で、軽度の高値を示したが、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、軽度の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、保育児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 投与群の全ての雌で約 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~~ホルモン作用としての無作用量（hormonal no-effect level）を 0.5ppm と設定している。（参照 6） [6:NADA 138-612, 1986 IV-C, p15]

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軽度の体重増加抑制及び雌親動物で妊娠期間の延長及び軽度の体重増加 ~~抑制~~が、児動物で同腹児数の減少、精巣重量の低下、精囊/前立腺重量の増加等がみられたことから、親動物及び児動物に対する ~~ホルモン影響に対する~~ホルモン作用としての NOAEL をともに 0.5ppm（0.025 mg/kg 体重/日に相当^{29）} と設定した。[事務局]

【事務局より】

FDA 及び JECFA 評価書では、NOAEL、NOEL、NHEL（hormonal no-effect level、no hormonal effect level 等）が使い分けられています。NHEL は、「ホルモン作用としての無作用量」と表記しましたが、この表現でよいかご検討をお願いいたします。

表 45 生殖発生毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌	児動物（F ₁ ）
18	・軽度の体重増加抑制	・軽度の体重増加抑制（妊娠中） ・陰核の隆起（22/29） ・妊娠期間延長（有意）	・全同腹児動物死亡（4/29） ・1 腹当たりの重量低下 ・陰核の隆起（雌）
3 以上		・軽度の体重増加 ・妊娠期間の僅かな延長	・同腹児数減少、哺育児死亡率の僅かな高値、哺育児体重増加（雌雄） ・精巣重量低下、精囊/前立腺重量増加（雄）
0.5 以下	毒性影響なし	毒性影響なし	毒性影響なし

²⁹ 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) 生殖発生毒性試験（ラット）②

ラット（系統不明、雌雄各 12 匹/群）に TBA を交配前、交配期間、妊娠期間及び授乳期間を通じて混餌投与（混餌濃度：0、1、2、5 又は 10ppm）し（繁殖相）、この試験で得られた児動物（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投与する（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性所見を表 46 に示した。

繁殖相では、交配前の期間において、10ppm 投与群の雄で摂餌量の低下を伴う軽度の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かった。

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

血液生化学的検査では、10ppm 投与群の雌で血清中 ALP が上昇した。

臓器重量では、10ppm 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値を示した。また、5ppm 以上投与群の雄で、離乳 4 週後に精嚢重量の低値（形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等であった。

FDA は、本試験における NOEL を 1ppm と設定した。（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、繁殖成績に投与に関連した影響はみられず、5ppm^{以上}投与群の児動物の雄に精嚢の相対重量の低値が、2ppm^{以上}投与群の児動物の雌に摂餌量及び体重の増加がみられたことから、親動物並びに児動物の雄及び雌に対する NOAEL をそれぞれ ~~10ppm 並びに 1ppm 及び 5ppm (0.5 mg/kg 体重/日並びに 0.1 mg/kg 体重/日及び 0.5 mg/kg 体重/日に相当)~~ 10ppm (0.5 mg/kg 体重/日³⁰) 並びに 2ppm (0.2 mg/kg 体重/日に相当³¹) 及び 1ppm (0.1 mg/kg 体重/日³²に相当) と設定した。事務局

³⁰ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

³¹ 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

³² JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

表 46 生殖発生毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (ppm)	繁殖相 (F ₀)	発達・成長相 (F ₁)	
		雄	雌
10	毒性影響なし	・精嚢重量の低値 (離乳 4 週後)	・血清中 ALP 上昇 ・肝臓の絶対及び相対重量増加 (離乳 4 週後)
5 以上		・精嚢相対重量の低値 (離乳 4 週後)	・摂餌量増加、体重増加
2 以上		毒性影響なし	毒性影響なし
1 以上			

【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。

(4) 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 16ppm）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（50ppm）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 47 に示した。

4ppm 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%）、50ppm 投与群では交配後に増加した（10%）。1ppm 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 16ppm 投与群（最大約－10%）、並びに 50ppm 投与群（約－25%）で減少した。児動物の平均体重は、50ppm 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 1ppm 以上投与群に用量依存的な妊娠率の低下がみられたことから、親動物に対する NOAEL を 0.5ppm（0.025 mg/kg 体重/日に相当³³）と設定した。一方、全ての投与群で哺育児死亡率が上昇したことから、児動物に対する NOAEL は得られなかった。

³³ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

表 47 生殖毒性試験（ラット）の毒性所見

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

【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。

(5) 生殖毒性試験（ラット）② <参考資料³⁴⁾>

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 100ppm）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)

(6) 発生毒性試験（ラット）①³⁵⁾

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³⁶⁾、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。

【事務局より】

本試験は（7）の試験の用量設定試験のため、削除してもよいでしょうか？

(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（0³⁷⁾、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

³⁴⁾ 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。

³⁵⁾ II. 7. (7) の予備試験として実施された。

³⁶⁾ 1%MC 及び 2.5%エタノールの溶液

³⁷⁾ 溶媒：1%MC 及び 2.5%エタノールの溶液

び肛門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 に示した。

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。全投与群で用量依存的な体重増加抑制がみられた (最大 20%)。

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、大奇形の発生頻度、小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る肛門生殖突起間距離は、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/日投与群において統計学的有意差 ($P < 0.05$) の境界線上となった。20 mg/kg 体重/日投与群の胎児における肛門生殖突起間距離のばらつきは対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、固定後の胎児重量及び頭殿長の範囲も高値であった。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, 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、全投与群の母動物で用量依存的な体重増加抑制がみられたことから、母動物に対する LOAEL を 5 mg/kg 体重/日、20 mg/kg 体重/日投与群の胎児において、胎児体重範囲高値及び肛門生殖突起間距離低値がみられなかったことから、胎児に対する NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。事務局

表 48 発生毒性試験 (ラット) の毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
20	・ 体の弛緩 (relaxed bodytone)	・ 胎児重量及び頭殿長の範囲高値及び肛門生殖突起間距離低値 (雄、固定後)
10 以上	・ 脱毛 ・ 流涎 (軽度)	毒性影響なし
5 以上	・ 体重増加抑制	

8. ホルモン作用に関する試験

(1) 14 日間投与試験 (豚、 β -TBOH 又は α -TBOH)

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、16、24 又は 36 μ g/kg 体重/日) 又は α -TBOH (0.1、10、100、160、240 又は 360 μ g/kg 体重/日) を、去勢後 14 日間経口投与し、最終投与後 14 日間休薬した。血液は、去勢前 (投与 0 日)、投与開始後 7、14、21 及び 28 日に採取した。 α -TBOH 投与群では投与 0 日及び投与開始後 14 日に、 β -TBOH 投与群では投与 0 日及び投与開始後 14 及び 28 日

後に LH を測定した。休薬期間終了後（投与開始後 28 日）に剖検し、下垂体、前立腺及び精囊について肉眼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 49 及び 50 に示した。

体重及び臓器重量に投与の影響はみられなかった。

β -TBOH 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群では、LH 値の減少に投与開始後 14 日と投与 0 日の間で差がみられ、投与開始後 28 日と 14 日ではより顕著な有意差がみられた。 α -TBOH 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群では、投与開始後 14 日と投与 0 日の間で LH 値の差が減少した。

剖検及び病理組織学検査では、 β -TBOH 16、24 及び 36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群において、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、2/7 及び 6/7 例）。（参照 5、13） [5:FAS23 p6 (Roberts & Cameron, 1985)] [13:FAS25 p2~3 (Roberts et al. 1983)]

JECFA は、本試験における ホルモン影響に対する NOEL ホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal effect level) を、 β -TBOH で 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、 α -TBOH で 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定した。（参照 13） [13:FAS25 p2~3 (Roberts et al. 1983)] **事務局**

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、 β -TBOH 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群及び α -TBOH 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群で LH 値の 明らかな変化減少 がみられたことから、ホルモン影響に対するホルモン作用としての NOAEL を、 β -TBOH 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、 α -TBOH 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定した。

表 49 生殖発生毒性 14 日間投与試験（豚）の毒性所見（ β -TBOH 投与群）

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 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	毒性影響なし

表 50 生殖発生毒性 14 日間投与試験（豚）の毒性所見（ α -TBOH 投与群）

投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	雄
160 以上	・ LH 値の減少
100 以下	毒性影響なし

事務局：8.（2）は、8.（3）の試験の補完的なデータとして 1989 年の JECFA 評価の際に提出された試験。8.（3）と統合。

（2）14 週間投与試験（豚、TBA）①

豚（5～6 か月齢、雌雄各 5 頭/群）に TBA を 14 週間経口投与³⁸（0、5、7.5 又は 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日）し、臨床徴候の観察、体重測定、摂餌量測定、血漿中のテストステロン、

³⁸ 溶媒：コーン油を溶媒とし、カプセルに入れて餌とともに投与したもの。

E2β及びプロゲステロンの測定（血液は毎週採取）並びに剖検及び病理組織学的検査（精巣、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 に示した。

対照群の雌 1 例が心筋破裂により、投与 11 週に死亡した。

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。

血漿中ホルモン値では、対照群と比較して雄のテストステロンの一過性の増加がみられた。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、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かった。雌ではプロゲステロンは、発情周期に伴う変動により、投与群と同様に対照群でもばらつきがみられた。

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低値及び肝臓重量の高値がみられた。10 µg/kg 体重/日投与群の雄で精巣上体重量の低値が、雌で脾臓重量の高値がみられた。

病理組織学的検査では、肝細胞の細胞質の組織学的変化（部分的なすりガラス様変化）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 及び 5/5 例）。この所見はいかなる変性変化もを伴わず、試験者らは、恐らく適応反応によるものであると考えられた。（参照 5、13） [5:FAS23 p8- 9(Roberts & Cameron, 1985)] [13:FAS25 p3] (Cherry, 1986; Roberts et al., 1986)

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） [13:FAS25 p3 (Cherry, 1986; Roberts et al., 1986)] 事務局

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 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 体重/日及び 7.5 µg/kg 体重/日と設定した。

表 51 14 日間投与試験（豚）の毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日)	雄	雌
10	・精巣上体重量減少	・脾臓重量増加
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	毒性影響なし
5 以上	・肝細胞の細胞質の組織学的変化 （部分的なすりガラス様変化。変性変化を伴わない）毒性影響なし 事務局	

（3）14 週間投与試験（豚、TBA）②

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 µg/kg 体重/日）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、E2β 及びプロゲステロンを RIA により測定した。最終投与後に剖検し、精巣、卵巣、精囊、子宮及び乳腺の病

理組織学的検査を実施した。

血漿中ホルモン値では、雄で、投与 1 及び 5 週後に対照群に比べてテストステロンレベルにある程度違いがみられ、7.5 µg/kg 体重/日以上投与群では有意な増加を示した。しかし、これらの変化は持続せず、投与量と逆相関の変化（用量依存性の低下）を示した。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。

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全群で全般的に低いままであった。

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はみられなかった。雌では性周期の変化のため、プロゲステロン値は変動し、一貫した群間の差は明確ではなかった。性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では、明らかな影響はみられなかった。

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みられなかった。（参照 5） [5: FAS23 p8-9] (Roberts & Cameron, 1985)

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/日と設定した。

★JECFA (1987, 1989) が ADI を設定する根拠となった試験★

事務局： 8. (4) は、8. (5) の試験の補完的なデータとして 1989 年の JECFA 評価の際に提出された試験。8. (5) と統合。

(4.3) 14 週間投与試験（豚、TBA）③②

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：0、0.1、2 又は 20ppm (0、2～3、40～100 又は 400～600 µg/kg 体重/日に相当) した。投与前並びに投与 6 及び 12 週後に血液を採取し、血清中のホルモンを測定した。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、血液生化学的検査、ステロイドホルモン分析、臓器重量測定（雄雌 ともにの区別をしない 平均値及び相対的データ が示されたのみ）、剖検、骨髓塗抹検査及び病理組織学的検査が実施された。

本試験でみられた毒性所見を表 52 に示した。

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

血液学的検査では、投与 12 週に 2ppm 以上投与群の雌で用量依存的な血小板数増加 （最大 +70%） がみられた。

血液生化学的検査では、2ppm 以上投与群の雌雄で投与 6 及び 12 週に T.Chol が有意に増加した。20ppm 投与群では、雌雄で BUN 及び AST が増加した。0.1ppm 投与群の雄で、テストステロン及び E2 は僅かで有意ではない減少が認められたが、この群の投与前の E2 は比較的 low だった。2ppm 以上投与群の雄でテストステロン及び E2β の有

意な減少が、雌で血清中プロゲステロンの有意な減少がみられた。

臓器重量では、20ppm 投与群でのみ精囊及び下垂体重量が増加した。2ppm 以上投与群で、用量依存的な肝臓及び腎臓重量の増加並びに子宮及び精巣重量の減少がみられた。

0.1ppm 投与群では、精巣重量にごく僅かな影響（marginal effect）がみられた。

病理組織学的検査では、2ppm 以上投与群において、肝臓ですりガラス様の細胞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、雌では卵巣における成熟卵胞及び又は成熟黄体又は早期退行黄体（mature or early regressing corpora lutea）の欠如を特徴とする性周期の抑制又は異常並びに子宮内膜腺発達の欠如がそれぞれ用量依存的に観察された。20ppm 投与群では乳腺の腺房発生（alveolar development）及び分泌の欠如がみられた。（参照 5、13） [5:FAS23 p14~15(Ross et al., 1980)-p8~9 (Robert & Cameron, 1985)] [13:FAS25 p3~4 (Ross et al., 1980)]

JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL ホルモン作用としての無作用量（marginal no hormonal effect level）を 0.1ppm（2～3 µg/kg 体重/日）と設定した³⁹。（参照 13） [13:FAS25 (Ross et al., 1980)]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、2ppm 以上投与群の雄でテストステロン及び E2β の有意な減少並びに、精巣重量の用量依存的な減少等が、雌で子宮重量の減少並びに、卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化等が用量依存的にみられたことから、ホルモン影響に対するホルモン作用としての NOAEL を 0.1ppm（0.004 mg/kg 体重/日 2～3 µg/kg 体重/日 に相当⁴⁰）と設定した。

表 52 14 日間投与試験（豚）の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
20	・ BUN 及び AST 増加 ・ 精囊及び下垂体重量増加	・ BUN 及び AST 増加 ・ <u>乳腺の腺房発生及び分泌の欠如</u>
2 以上	・ T.Chol が有意に増加 ・ テストステロン及び E2β 減少 ・ 肝臓及び腎臓重量の増加 ・ 精巣重量の減少 ・ 精巣の間質細胞の萎縮 ・ 肝細胞の <u>主眼腫大</u>（肝臓ですりガラス様の細胞質を伴う）	・ T.Chol が有意に増加 ・ 血清中プロゲステロン減少 ・ 肝臓及び腎臓重量の増加 ・ 子宮重量の減少、性周期の抑制又は異常（卵巣の成熟卵胞及び又は成熟黄体又は初期 <u>対抗退行</u> 黄体の欠如） ・ 子宮内膜腺発達の欠如
0.1 以上	毒性影響なし ^a	毒性影響なし ^a

Aa : JECFA は、0.1ppm 投与群でみられた精巣重量に対するごく僅かな影響（marginal effect）を毒性所見としてホルモン作用としても無作用量を設定した。

³⁹ 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。

⁴⁰ 通常、JECFA で用いられている換算値（IPCS : EHC240）を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値（参照 5）を採用した。

~~(5) 14 週間投与試験 (豚、TBA)~~

~~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 20ppm (0、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 に示した。~~

~~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かった。~~

~~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。~~

~~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、20ppm 投与群の投与 6 週後並びに 2 及び 20ppm 投与群の投与 12 週後の平均値は対照群よ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。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) とともに顕著な周期変動を示すが、測定試料は各動物の性周期を考慮せずに任意の時点で採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。E2 β については、全ての群で投与 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 6 及び 12 週後に用量依存的な減少が顕著であった。~~

~~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みられた。明らかに、最も感受性が高い臓器は、精巣及び卵巣であった。0.1ppm 投与群では、いずれの臓器重量にも影響は観察されなかった。~~

~~病理組織学的検査では、2ppm 以上投与群では精巣間質細胞の萎縮、卵巣の性周期的変化の抑制とその結果として子宮内膜腺発達 (granular development) の欠如が、20ppm 投与群では乳腺の腺房発生 (alveolar development) 及び分泌の欠如がみられた。0.1ppm 投与群では、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。[5:FAS23 p6~9] (Robert & Cameron, 1985)~~

~~JECFA は、本試験における NOEL を 0.1ppm (0.12 µg/kg 体重/日) 未満と設定した。(参照 5) [5:FAS23 p6~98] (Robert & Cameron, 1985)~~

~~食品安全委員会動物用医薬品専門調査会では、2ppm 以上投与群の雄でテストステロンの低値及び精巣間質細胞の萎縮が、雌で卵巣の性周期の抑制、子宮内膜腺発達の欠如がみられたことから、本試験におけるホルモン影響に対する NOAEL を 0.1ppm (0.004 mg/kg 体重/日 2 µg/kg 体重/日に相当) と設定した。~~

表 53—14 日間投与試験 (豚) の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
20	・テストステロン低値 ・精巣間質細胞の萎縮、	・乳腺の腺房発生及び分泌の欠如

2以上		・ 卵巣の性周期の抑制、子宮内 膜腺発達の欠如
0.1以上	毒性影響なし	毒性影響なし

(●) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ③

豚 (雄雌各 4 頭/群) に、TBA を 14 週間混餌投与 (混餌濃度 : 0、0.1、2 又は 20ppm (0、4、80 又は 800 µg/kg 体重/日に相当) した。投与 6 及び 12 週後に血液を採取した。

本試験でみられた毒性所見を表 52 に示した。

死亡率算出、体重測定、眼科学的検査、血液学的検査 (Hb、RBC、PCV、WBC、diff.WBC、及びプロトロンビン指数) 及び血液生化学的検査 (Glu、TP、Alb、A/G 比、SAP、Ca 及び Cre) に投与による影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、2ppm 以上投与群では、血小板 (最大+70%、有意差なし)、尿素 (最大+3%、有意) 及び T.Chol (最大+ 100%、有意) で用量関連の増加がみられた。

全ての投与群において、AST の用量依存的な増加 (最大+100%) が、雄でテストステロンと E2 の血中濃度の低値 (いずれも最大-95%) がみられた。2ppm 以上投与群の雌でプロゲステロンの低値がみられた (最大-99%)。

2ppm 以上投与群で、肝臓 (最大+ 30%) 及び腎臓 (最大+ 25%) の絶対及び相対重量の高値並びに子宮 (最大-50%) 及び精巣 (最大-55%) の絶対及び相対重量の低値がみられた。20ppm 投与群では、脳下垂体重量の低値 (-15%) 及び精嚢重量の高値 (+280%) がみられた。全ての投与群で、有意ではないが甲状腺重量の高値がみられた。

組織病理学的検査では、2ppm 以上投与群において、肝臓ですりガラス様の細胞質を伴う肝細胞の腫大が、雄では精巣の間性細胞萎縮 (精細管内の正常な精子形成を伴う) が、雌では卵巣における成熟卵胞及び/又は成熟黄体又は早期退行黄体 (mature or early regressing corpora lutea) の欠如を特徴とする性周期の抑制又は異常並びに子宮内膜腺発達の欠如がみられた。子宮内膜線の発達の欠如並びに 2ppm 投与群でみられた乳腺の腺房発生 (alveolar development) 及び分泌の欠如は、卵巣所見から示唆される非発情期の状態と関連していると考えられた。(参照 5、13) [5:FAS23 p14~15 (Ross et al., 1980)]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、0.1ppm 以上投与群の雄で AST の増加並びにテストステロン及び E2 の減少が、雌で AST の増加がみられたことから、LOAEL を 0.1ppm (4 µg/kg 体重/日に相当⁴¹⁾) と設定した。

⁴¹ 通常、JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値 (参照 5) を採用した。

1

表 53 14 日間投与試験（豚）の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
20	・脳下垂体重量低値（－15%）及び精嚢重量高値（+ 280%） - FAS25, Ross, 1980 では高値	・脳下垂体重量低値（－15%）
2 以上	・尿素（最大+3%）及び T.Chol（最大+ 100%）増加 - FAS25, Ross, 1980 では、尿素は 20ppm で増加 ・精嚢（最大－55%）の絶対及び相対重量低値	・尿素（最大+3%）及び T.Chol（最大+ 100%）増加 ・プロゲステロン低値（最大－99%） ・肝臓（最大+ 30%）、腎臓（最大+ 25%）の絶対及び相対重量高値、子宮（最大－50%）
0.1 以上	・AST 増加（最大+100%） ・テストステロンと E2 の血中濃度低値（最大－95%） - FAS25, Ross, 1980 では、0.1ppm の低値は有意差がなく、2ppm 以上で優位に低値	・AST 増加（最大+100%）

2

【事務局より】

本試験は、JECFA1987 評価書（FAS23）の Short-term studies の豚の試験 Ross *et al.*, 1980 を記載しました。JECFA1989 評価書の Special studies on no-hormonal effect levels の豚の試験 Ross *et al.*, 1980 とデータが逆に出ているなど齟齬があります（黄色マーカー） [13:FAS25, p3 下から 3 つ目のパラ (Ross *et al.*, 1980)]。この試験は削除してもよろしいでしょうか。

3

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

(-6.4) 30 日間投与試験（サル、β-TBOH）

去勢直後のサル（アカゲザル、8～17 歳齢、雄、2 匹/投与群、3 匹/対照群）に β-TBOH を 30 日間経口投与（0、1、20 又は 400 μg/匹/日）し、TBOH によっ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。最終投与日に精嚢の生検を実施した。去勢 17 日後から試験終了時までの間、最低用量（1 μg/匹/日）投与群には、1,600 μg/匹/日の β-TBOH を投与した（1+1,600 μg/匹/日投与群）。

本試験でみられた毒性所見を表 54 に示した。

精嚢摘出後に起こる LH 及び FSH 分泌の上昇は、β-TBOH 投与により抑制されなかった。この試験系では、TBOH 及びテストステロンは抗性腺刺激作用を示さなかったが、400 及び 1+1,600 μg/匹/日投与群では、アンドロゲン作用と一致した 部分的又は完全な精嚢の形態 精嚢の形態の部分的又は完全な回復（*partial or complete seminal vesicle morphology*）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び E2β（*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ーンに

変化はみられなかった。

JECFA は、本試験における ~~ホルモン影響に対する~~ NOEL β -TBOH のホルモン作用としての無作用量 (no hormonal effect level) 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。(参照 5) [5:FAS23 p9] (Hess, 1983)

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、 β -TBOH のホルモン影響に対するホルモン作用としての 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。事務局

表 54 30 日間投与試験 (アカゲザル) の毒性所見 青山座長

投与量 ($\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$)	雄
1+1,600 ^a	・ 部分的又は完全な精囊の形態 <u>精囊の形態が部分的又は完全に回復</u> (partial or complete seminal vesicle morphology)
400	・ 部分的又は完全な精囊の形態 <u>精囊の形態が部分的又は完全に回復</u> (partial or complete seminal vesicle morphology)
20 以下	毒性影響なし

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、1,600 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ の β -TBOH を追加投与。

【青山座長】

この試験は「去勢雄」を用いています (「intact」の動物を使った試験ではありません) ので、基本は参考資料にすべきと思います。

(~~7~~5) 8 週間投与試験 (サル、TBA) <参考資料⁴²>

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。

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 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-A]

★FDA が ADI を設定する根拠となった試験★

(~~8~~6) 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル、TBA)

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の間又は 30 日間

⁴² 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。

毎日、全動物から血液を採取し、血清中の E2 β (estradiol)、プロゲステロン、LH 及び FSH の濃度が RIA により測定された。

本試験でみられた毒性所見を表 55 に示した。

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) 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。

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。

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 $\mu\text{g}/\text{日}$ (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 p9] [6:NADA 138-612, 1986 VI-A] (Hess, 1984)

~~JECFA は、本試験におけるホルモン影響に対する NOEL を 60 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 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 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 未満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~~ ホルモン作用としての無作用量 (a conservative hormonal no effect level) を 240 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当) と設定している。(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-A] 事務局

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、240 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ 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ことから、~~ホルモン影響に対する~~ ホルモン作用としての NOAEL を 60 $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 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) の毒性所見

投与量 ($\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$)	雌
960	・脳下垂体性腺軸の阻害
240 以上	・無排卵
60	毒性影響なし

【事務局より】

FAS23 では、NOEL 等は明記されていないので、JECFA の記述を削除しました。

(参考)

No effects were observed at 60 $\mu\text{g}/\text{day}$, equivalent to 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w./day. [5:FAS23 p9]

第 223 回：読者がわかりやすいように項目立てを工夫する

9. その他の試験

【事務局より】

- ・中項目 ((1)~(12)) の分け方、順番をご確認ください。
- ・各試験の中項目又は小項目 (①、②、③等) は、投与物質がわかるように記載しています。

(1) タンパク質結合に対する影響

① *in vitro* 試験 (α -TBOH、 β -TBOH 及びテストステロン)

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 いずれも 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) 石川専門委員

② *in vivo* 試験 (ラット、TBA)

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 $\mu\text{g/kg}$ 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⁴³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、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、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-D]

(2) ハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験 (ラット)

ラットを用いたハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験の結果を表 56 に示した。
(参照 5、10) 吉田委員：ハーシュバーガー及び子宮肥大試験は表にまとめてはどうか

⁴³ 組織・臓器を取り除いた残渣

1 表 56 ハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験（ラット）の結果

試験	投与物質、投与量、投与方法	結果
ハーシュバーガーアッセイ	テストステロン プロピオネート： 12.5、25、50、100、200 µg/匹/日 TBA：50、100、200 µg/匹/日 10 日間皮下投与	テストステロンプロピオネート： 全投与群で球海綿体筋+肛門挙筋（LABC）、 腹側前立腺、精囊+凝固腺（SVCG）及び陰 茎亀頭の組織重量増加 TBA：全投与群で LABC の組織重量増加
	TBA：4、20 又は 100 µg/匹/日 β-TBOH：4、20 又は 100 µg/匹/日 α-TBOH：20、100、500 又は 1,000 µg/匹/日 9 日間皮下投与	TBA 及び β-TBOH：全投与量で臓器重量が 用量依存的に増加 α-TBOH：100 µg/匹/日以上投与群で臓器重 量増加
	TBA：0、0.75、3、12 又は 48 mg/ 匹/日 10 日間経口投与	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%）及び精囊の絶対重量の増加（最大+ 400%）が全投与群で認められた。3 mg/匹/ 日以上投与群では、肛門挙筋重量の用量依 存的な増加（最大+250%）
	TBA：0、0.02、0.1 又は 0.5 mg/匹/ 日 10 日間皮下投与	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%） の重量増加
子宮肥大 試験	TBA：0、0.2、1.0 又は 5.0 mg/匹/日 4 日間皮下投与	全投与群で子宮重量増加（最大+550%）

2 調査事業

3 第 223 回：亜急性毒性試験から移動。どの用量から影響がみられたか追記

4 ① TBA 又はテストステロンプロピオネート

5 ~~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~~
6 ~~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~~
7 ~~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~~
8 ~~ネート（12.5、25、50、100、200 µg/匹/日、4 匹/投与群）又は TBA（50、100、~~
9 ~~200 µg/匹/日、3 匹/投与群）が 10 日間皮下投与された。~~
10

11 ~~テストステロンプロピオネート皮下投与群においては、全投与群で球海綿体筋+肛~~
12 ~~門挙筋（LABC）、腹側前立腺、精囊+凝固腺（SVCG）及び陰茎亀頭の組織重量が有~~
13 ~~意に増加した。~~

14 ~~TBA 皮下投与群においては、全投与群で LABC の組織重量が有意に増加した。腹側~~
15 ~~前立腺、SVCG、カウパー腺及び陰茎亀頭の組織重量は、200 µg/匹/日投与群でのみ~~
16 ~~有意に増加した。~~

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 ~~10、50 mg/kg 体重/日、3 匹/投与群）が 10 日間経口投与された。~~

19 ~~TBA 経口投与群においては、10 mg/kg 体重/日以上投与群で LABC 及び SVCG の~~
20 ~~組織重量が、50 mg/kg 体重/日投与群で腹側前立腺、カウパー腺及び陰茎亀頭の組織~~
21 ~~重量が有意に増加した。~~

~~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弱く、LABC及び陰茎亀頭に対する作用は約100分の1、腹側前立腺及びSVCGに対する作用は約80分の1の力価であった。(参照17) [17:Wilson et al., 2002, Table 1 ~3]~~

第223回：亜急性毒性試験から移動

② —9日間亜急性毒性試験

② TBA、 β -TBOH又は α -TBOH

~~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 μ g/匹/日）、 β -TBOH（4、20又は100 μ g/匹/日）又は α -TBOH（20、100、500又は1,000 μ g/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)~~

第223回：亜急性毒性試験から移動

—(3)—10日間亜急性毒性試験

③ TBA①

~~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。~~

~~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%）及び精囊の絶対重量の増加（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 p13] (Schroder, 1971a)~~

第223回：亜急性毒性試験から移動

③ —10日間亜急性毒性試験

④ TBA②

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

~~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)~~

第 223 回：亜急性毒性試験から移動

—4日間亜急性毒性試験

~~（3）子宮肥大試験（ラット、TBA）~~

~~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 日間皮下投与（0、0.2、1.0 又は 5.0 mg/匹/日）し、亜急性毒性試験が実施された。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%）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%未満であった。（参照 5） [5:FAS23 p14] (Schroeder, 1971b)~~

調査事業

（3）体組成及び循環代謝に対する影響（ラット）

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（Wistar 系、雄、32 週齢、6 匹/群）に TBA（2 mg/kg/day）または溶媒（コントロール群）を、浸透圧ミニポンプにより 6 週間、連続皮下投与し、体組成変化、臓器重量、血清脂質プロファイル及び組織学的形態が調べられた。

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

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 78%減少した。

前立腺の組織学検査では、TBA 投与群で前立腺組織重量の増加（コントロール群比で 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は観察されなかった。（参照 18） [18:Donner et al., 2016]

【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。

（4）アンドロゲン作用及び同化作用に対する影響（ラット）

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 mg/匹/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。最終投与 1 日後の肛門挙筋⁴⁴、腹側前立腺及び精囊の重量が測定し、TBA のアンドロゲ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。

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） [6:NADA 138-612, 1986 IV-D]

（5）エストロゲン作用に対する影響（ラット）

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

⁴⁴ 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。

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 日後の子宮重量を測定し、対照群又は E2 β 投与群と比較された。

TBA は本質的にエストロゲン活性を示さず、E2 β の約 1/1,000 の活性が確認された。
(参照 6) [6:NADA 138-612, 1986 IV-D]

(6) E2 β の排泄及び窒素貯留に対する影響 (牛)

① *in vivo* 試験 (牛、TBA)

牛では、TBA の皮下移植投与により、血漿中の E2 β 濃度に影響がみられた。去勢牛では、TBA (200 mg/頭) 及び E2 β (40 mg/頭) を併用した場合、血漿中の E2 β 濃度は 0.05 ppb 以上を 9 週間にわたり維持したが、E2 β (40 mg/頭) のみを移植投与した場合は、E2 β 濃度は 0.05 ppb 未満に低下した。(参照 5) [5:FAS23 p5] (Heitzman & Hardwood, 1977)

牛 (11~16 週齢、雄) の胸垂に TBA を移植投与 (40 mg/頭) したところ、窒素貯留に影響はみられなかった。しかし、同じ部位に E2 β (20 mg/頭) 及び TBA (140 mg/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, 1975)

② *in vivo* 試験 (豚、TBA)

豚 (雌雄及び去勢雄、頭数不明) に E2 β 単独 (20 mg/頭) 又は E2 β (20 mg/頭) 及び TBA (140 mg/頭) 併用で皮下移植投与した。

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 E2 β 濃度は両投与群ともに極めて低かった。尿中の E2 β 濃度は、E2 β 投与群で 6~82 μ g/L、TBA + E2 β 投与群で 16~135 μ g/L であった。(参照 5) [5:FAS23 p5] (Kroes et al., 1976a)

(7) 免疫応答に関する特殊試験 (牛、プラセボ (乳糖)、E2 β 、TBA 又は TBA + E2 β)

子牛 (雌雄約 25 頭/群) にプラセボ (乳糖)、E2 β (20 mg)、TBA (140 mg) 又は TBA (140 mg) + E2 β (20 mg) を皮下移植投与し、抗体産生が検討された。

軽度で有意ではない免疫抑制作用が E2 β 又は TBA の単独投与群の雄でみられた。TBA + E2 β 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かった。(参照 5) [5:FAS23 p6] (Gropp et al., 1975)

(8) 残留物の毒性に関する特殊試験 (牛、TBA)

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、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。

230 ppb TBA 混餌投与群のラットで、軽微な体重増加抑制 (growth depression) がみられた。死亡率、摂餌量、成長 (growth)、受胎能、生殖 (交配、受胎率、妊娠期間、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、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

られなかった。(参照 5) [5:FAS23 p10] (Gropp et al., 1978)

第 223 回：「遺伝毒性試験」から移動

(9) 細胞形質転換試験

α -TBOH 及び β -TBOH の細胞形質転換試験の結果を表 57 に示した。(参照 5、10)

表 57 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>	シリアンハムスター胚線維芽細胞	5、10、15 $\mu\text{g/mL}$: TBOH	疑陽性 (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 $\mu\text{g/mL}$: β -TBOH 1.0~7.5 $\mu\text{g/mL}$: 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 $\mu\text{g/mL}$: β -TBOH (- S9) 5~20 $\mu\text{g/mL}$: β -TBOH (+ S9)	疑陽性 (Equivocal) (- S9) 陽性 (+S9) (参照 5)	(Henderson et al., 1987a) [5:FAS23 p7]
	マウス C3H10T1/2 細胞	1~10 $\mu\text{g mL}$: β -TBOH	陰性 (参照 13)	(Schiffmann et al, 1988) [13:FAS25 p2]
	BHK21 細胞	— : TBA ($\pm$ S9)	陽性 ($\pm$ S9) (参照 6)	[6:NADA 138-612, 1986 p11]

第 223 回：「遺伝毒性試験」から移動

(10) DNA 共有結合試験

① *in vitro* 試験 (β -TBOH)

β -TBOH (純度>97%) は、 ^3H 標識 β -TBOH とインキュベーションした *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 2.2.5] (Lutz et al., 1988)

② *in vitro* 試験 (β -TBOH)

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 存在下でみられた。(参照 13) [13:FAS25 2.2.5] (Lutz et al., 1988)

③ *in vivo* 試験（ラット、 β -TBOH）

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 ジメチルニトロソメチルアミンのそれぞれの CBI 10,000 及び 6,000 と比較すると低いかった。（参照 13） [13: FAS25 p1~2] (Lutz et al., 1988) 石川専門委員

④ *in vivo* 試験（ラット、 β -TBOH）

ラット（Wistar 系、雄、匹数不明）に標識 TBA（57.0 Ci/mmol、17 μ g/kg 体重）を腹腔内投与した。被験物質は、95%エタノール溶液として投与した。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指数（CBI）[Lutz, 1979] が定量された。

TBA の CBI は、5.62 であった[Lutz, 1979]⁴⁵。陽性対照の *N*-ヒドロキシアセチルアミノフルオレンの CBI は 262 であった。（参照 5） [5:FAS23 p5] (Barraud et al., 1983)

⑤ *in vivo* 試験

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 μ g/kg 体重）し、経時的に TBA の CBI を測定した。投与 4、8、12、20、24、36、48 及び 96 時間後に測定した結果、CBI の最高値は投与 24 時間後の 7.82 で、投与 96 時間後には 1.11 となった。（参照 5） [5:FAS23 p5] (Barraud et al., 1983)

(11) 肝イニシエーション作用検討試験（ラット、 α -TBOH 又は β -TBOH）

ラット（F344 CDF、雌雄各 5 匹/群）に α -TBOH 又は β -TBOH（2.5、5 又は 10 mg/kg 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、溶媒のみ投与する 2 群及び無処置の 1 群を用いた。腹腔内投与の 13 日後から、0.02% の 2-AAF（2-アセチルアミノフルオレン）を含有する粉末飼料を 7 日間投与した後、さらに四塩化炭素（2 mL/kg 体重）の強制経口投与を実施した⁴⁶。その 7 日後に、肝臓を採取し顕微鏡検査を実施した。

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投与に関連した影響は報告されなかった。

α -TBOH 及び β -TBOH については、いずれの試験用量においても、前がん肝細胞巢の誘発はみられなかった。著者らは、これらのステロイドについて、本試験において肝腫瘍イニシエーターである証拠は認められなかったと結論した。（参照 5） [5:FAS23 p6] (Allen & Proudlock, 1987)

⁴⁵ Lutz (1979) によると、弱い発がん物質は CBI が約 10 又は 10

⁴⁶ 溶媒対照の 1 群については、2-AAF と四塩化炭素の投与は未実施

10. 臨床試験

(1) 忍容性試験（牛、TBA）

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 mg/頭）⁴⁷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、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。

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。両投与群で、卵巢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響がみられた（*with minimal adverse effect noted*）ものの、この影響は、TBA のホル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 138-612, 1986 V-A]

(2) 安全性試験（牛、TBA）

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 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。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び屠体（*carcass*）の格付けが実施された。

体重増加量は対照群に比べて増加した。屠体の重量は投与群の方が重く、屠体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付けられた。

（参照 6）[6:NADA 138-612, 1986 III-B]

11. ヒトにおける知見（ヒト、TBA）

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 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への影響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ロニンビン時間）への影響はみられなかった。（参照 5）[5:FAS23 p17] (Kruskemper et al., 1967)

12. 薬理学的試験（イヌ、TBA）

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%アセチルメチルアミン溶液で 20 mL/mg 投与⁴⁸）すると、2 mg/kg 体重以上投与群では、軽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）

[5:FAS23 p13] (Seeger, 1971a)

⁴⁷ 投与量 3,500 mg/頭は、TBA の推奨用量（200 mg/頭）の 17.5 倍

⁴⁸ 原文ママ

1

【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。

2

Ⅲ. 国際機関等における評価について

1. JECFA の評価

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疑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 [Ⅱ. 6.(1)] が、ラットにおいて脾臓細胞における腫瘍発生頻度の僅かな上昇が生じた [Ⅱ. 6.(2)] が、これらは TBOH のホルモン活性によるものと考えられ、~~ホルモンの影響に対する NOEL~~ホルモンの作用としての無作用量を設定することにより安全性の評価を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 [Ⅱ. 8.(4)] 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、~~ホルモンの影響に対する NOEL~~ホルモンの作用としての無作用量 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 [Ⅱ. 8.(3)] でも、TBA の ~~ホルモンの影響に対する NOEL~~ホルモンの作用としての無作用量 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日が設定された。これらの ~~NOEL~~ホルモンの作用としての無作用量 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]

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。追加資料が提出された豚を用いた 14 週間経口投与試験のうち、最も感受性の高い試験 [Ⅱ. 8.(3)] における ~~ホルモンの影響に対する NOEL~~TBA のホルモンの作用としての無作用量を 1ppm (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当) 及びサルを用いた経口投与試験 [Ⅱ. 8.(4)] における β -TBOH のホルモンの作用としての無作用量 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日とし、豚に対する NOEL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] 事務局

2. 欧州の評価

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、E2、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]

EFSA は、2007 年に、E2 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。リスク判定の特徴付け (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]

3. 米国の評価

FDA は、1987 年⁴⁹⁾には TBA の安全性について、マウスを用いた 95～104 週間投与試験 [II. 7.(1)] 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 [II. 7.(2)] で脾臓細胞腫瘍がみられたことについて、TBA の 発がんホルモン作用を介した影響によるものではない と結論付け たてている。混餌投与試験 [II. 6.(2)] 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であると考えられた。[6:NADA 138-612, 1986⁷⁾, p7-8] ラットを用いた生殖発生毒性試験 [II. 7.(2)] で得られた NOEL 0.5ppm はアカゲザルを用いた試験 [II. 8.(6)] で得られた ホルモン影響に対する NOEL ホルモン作用としての無作用量 40 µg/kg 体重/日（飼料経由で 240 µg/日）より大きい。（参照 6）[6:NADA 138-612, 1986, p14] これらのことから、FDA では、TBOH の ADI は 0.4 µg/kg 体重/日と設定された。残留許容量については、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る。（参照 23）
[23:FDA 21CFR556. 739] 事務局

4. 豪州の評価

豪州は 1988 年に、α-TBOH 及び β-TBOH について評価を行った。α-TBOH については、豚に対するホルモン影響 (試験の詳細不明) の NOEL 0.01 mg/kg 体重/日 [-II. 8.(4)] に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.0001 mg/kg 体重/日 0.1 µg/kg 体重/日、β-TBOH については、豚に対するホルモン影響の NOEL 0.001 mg/kg 体重/日 [-II. 8.(4)] に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.00001 mg/kg 体重/日 0.01 µg/kg 体重/日 と設定した（β-TBOH は、α-TBOH の約 10 倍 以上 のホルモン活性を示すとした。）。（参照 24）[24:Review Australia 2003, p29-30, p141] 単位修正：「mg/kg 体重/日」→「µg/kg 体重/日」
日 事務局

⁴⁹⁾米国における TBA を主成分とする新規承認動物用医薬品の評価のうち、今回の評価において確認することができた最も古いものは 1987 年の NADA 138-612 であった。

IV. 食品健康影響評価

合成ホルモン剤である TBA について食品健康影響評価を実施した。

ラット及び牛を用いた ^3H 標識 TBA の単回静脈内投与による代謝試験の結果、投与後 24 時間までに胆汁中に排泄された投与放射活性は、ラットで 84%、牛で 80%であり、いずれも胆汁が主な排泄経路であることが示された [II. 1.(1)、(4)]。

ヒトに[6,7- ^3H]標識 β -TBOH を経口投与した代謝試験では、投与放射活性の 50%が投与後 24 時間までに、63%が 72 時間までに尿中排泄された。投与後 3 時間までの採取尿から分離された放射活性は、グルクロン酸抱合体分画 54.7%、硫酸抱合体分画 20.9%、遊離型分画 24.4%であった。硫酸抱合体分画は主に 2 つの未知代謝物、遊離型分画は β -TBOH、 α -TBOH 等、グルクロン酸抱合体分画は主に α -TBOH と少量の β -TBOH から構成されていた [II. 1.(9)]。

牛を用いた TBA とエストラジオール合剤の皮下移植による薬物動態試験では、血清中では β -TBOH が、尿及び糞では α -TBOH が主要代謝物として検出された [I. 1.(6)]。

牛における TBA 皮下移植投与 30 日後の主要な組織中代謝物は、肝臓では α -TBOH、筋肉では β -TBOH であり [I. 1.(5)]、最も高濃度の残留が認められたのは、肝臓における α -TBOH 抱合体 $4,650 \pm 1,510 \text{ pg/g}$ [II. 2.(3) ③ 表 24] 及び筋肉における β -TBOH 遊離体 $645 \pm 328 \text{ pg/g}$ 及び β -TBOH 抱合体 75 pg/g [II. 2.(1)① 表 9, 10] であった。

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 倍強く [II. 9.(2)④、(5)]、TBA のエストロゲン活性は E_2 の 0.1%未満であった [II. 9.(3)、(6)]。 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は、テストステロンに対する親和性の 1%であった [II. 9.(1)①]。ラットを用いたハーシュバーガーアッセイでは、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弱かった。 ~~球海綿体筋+肛門挙筋 (LABC) 及び陰茎龟头に対する作用は約 100 分の 1、腹側前立腺及び精囊+凝固腺 (SVCC) に対する作用は約 80 分の 1 の力価であった~~ [II. 9.(2)①]。

各種遺伝毒性試験の結果、TBA 並びにその代謝物である α -TBOH 及び β -TBOH には、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられたことから、ADI を設定することは可能であると判断した。

TBA の投与による主な影響として、生殖器の機能的又は器質的な所見等、ホルモン影響を示唆する所見が、各種毒性試験に共通してみられた。催奇形性はみられなかった。

吉田委員

亜急性毒性試験では、TBA を 3 か月間経口投与したラットの雄で精囊重量の減少がみられたことから、雄に対する NOAEL を $50 \text{ } \mu\text{g/kg}$ 体重/日とした [II. 5.(4)]。

発がん性試験では、マウスを用いた 95~104 週間慢性毒性試験では、肝臓の結節性過形成及び肝腫瘍が [II. 6.(1)]、ラットを用いた 112 週間慢性毒性試験では、睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加がみられたが、これらは TBOH の ~~発がん影響によるものでなく、~~ ホルモン活性によるホルモン作用を介した影響と考えた。

ラットを用いた 2 世代繁殖試験では、 F_1 及び F_2 世代の雄児動物に精巣/前立腺又は精巣上体の重量の低下が、 F_1 世代の雌児動物に膣開口の僅かな遅延がみられたことから、児動物に対する LOAEL を ~~0.025 mg~~ $25 \text{ } \mu\text{g}$ /kg 体重/日とした [II. 7.(1)]。

ホルモン作用に関する試験では、~~雄のサルを用いた 30 日間経口投与試験〔II. 8.(4)〕において、部分的又は完全な精嚢の形態がみられたことから、ホルモン影響に対する NOAEL を 0.002 mg/kg 体重/日とした。豚を用いた 14 週間混餌投与試験〔II. 8.(3)〕において雄にみられたテストステロン及び E2 の減少並びに精嚢重量の減少、雌でみられた子宮重量の減少並びに卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化がみられたことから、TBA のホルモン作用としての NOAEL は 2~3 µg/kg 体重/日であった。~~
~~TBA の投与による主な影響として、生殖器の機能的又は器質的な所見等、ホルモン影響を示唆する所見が、各種毒性試験に共通してみられた。~~

各種毒性試験の結果、最も低い用量で認められた影響は、~~〔II. 8.(3)〕サルを用いた 30 日間経口投与試験〔II. 8.(4)〕でみられた雄の精嚢への影響~~豚を用いた 14 週間混餌投与試験〔II. 8.(3)〕において雄雌にみられたホルモン影響であり、NOAEL は 2~3 µg/kg 体重/日であった。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、TBA の ADI の設定に当たっては、この NOAEL の下限値である 2 µg/kg 体重/日を根拠とし、安全係数 100 で除した 0.02 µg/kg 体重/日を ADI として設定することが適当と考えた。【青山座長】

以上から、TBA の食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ADI 0.02 µg/kg 体重/日

ばく露量については、当該評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

【青山座長】

- (1) ホルモン作用に関する試験について、サルの試験 (II. 8.(4)) は「去勢雄」を用いています (「intact」の動物を使った試験ではありません) ので、基本は参考資料であって、ADI 設定の根拠には適しません。したがって、ホルモン作用に関する試験は豚の試験 (II. 8.(3)) を記載すべきでしょう。
- (2) 最も低い NOAEL が「2~3 µg/kg 体重/日」だとすると、ADI を計算する際に迷いが生ずるかもしれません。しかし、「2~3」であれば、その低い方の数値 (「2」) を取ってその 1/100 を ADI としても問題は生じないと思います。

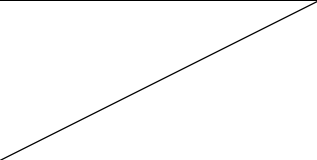
1 表 58 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比較

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、100ppm (TBA、混餌投与)	—		雄：7.5 精巣の絶対及び相対重量減少 雌：3.75 (LOAEL) 肝臓の絶対及び相対重量低値、子宮の絶対重量及び相対重量高値
	10 週間亜急性毒性 Ⅱ. 5. (2)	0、1、2、5、10ppm (TBA、混餌投与)	—		雌雄：1.2 投与による影響なし
	95～104 週間慢性毒性 Ⅱ. 6. (1)	0、0.5、1、10、100ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄：0.09 肝臓の結節性過形成 雌：0.96 肝腫瘍発生頻度増加、腎炎の増加、卵巣嚢胞の増加、腫大化、膿瘍化及び又は嚢胞性の包皮腺
ラット	13 週間亜急性毒性 Ⅱ. 5. (3)	0、25、50、100ppm (TBA、混餌投与)	—		雄：1.25 (LOAEL) 前立腺重量低値 雌：2.5 子宮内膜間質減少（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 Ⅱ. 5. (4)	0、0.05、0.1、0.2、1 (TBA、経口投与)	—		雄：0.05 精囊重量低値 雌：0.1 肝臓及び脾臓重量高値、子宮菲薄化

2

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	23 週間亜急性毒性 Ⅱ. 5. (5)	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		雄 : 0.36 摂餌量増加、MCV 及びトロンボテスト時間減少、下垂体重量高値、前立腺及び精嚢重量低値 雌 : 0.04 TP 低値、ALP 高値
	112 週間慢性毒性 Ⅱ. 6. (2)	0、0.5、1、4、16、50ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄 : 0.02 精嚢の小型化 雌 : 0.02 (LOAEL) 肛門生殖突起間皮膚の下垂
	2 世代繁殖 Ⅱ. 7. (1)	0、0.5、3、18ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄(F ₁ 児, F ₂ 児) : 0.025 (LOAEL) 精嚢/前立腺又は精嚢上体重量低下 雌(F ₁ 児) : 0.025 (LOAEL) 膣開口遅延
	生殖発生毒性 Ⅱ. 7. (2)	0、0.1、0.3、0.5、3、18ppm (TBA、雌雄に交配 2 週前～妊娠終了まで混餌投与)	—	0.5ppm (ホルモン作用としての無作用量)	親動物 : 0.025 雄 : 体重増加抑制 雌 : 妊娠期間延長、体重増加 児動物 : 0.025 同腹児数減少、精嚢重量低下、精嚢/前立腺重量増加等
	生殖発生毒性 Ⅱ. 7. (3)	0、1、2、5、10ppm (混餌投与)		1ppm (NOEL)	親動物 : 0.5 繁殖成績に投与に関連した影響なし 児動物 (雄) : 0.2 精嚢の相対重量低値 児動物 (雌) : 0.1 摂餌量増加、体重増加

1

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	生殖毒性 Ⅱ. 7. (4)	0、0.5、1、4、16、50(雌のみ)ppm (TBA、交配9週間～分娩21日後まで混餌投与)	—	—	母動物：0.025 妊娠率低下
	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：10 胎児重量範囲高値、肛門生殖突起間距離低値
サル	<ホルモン影響> 30日間投与(去勢雄) Ⅱ. 8. (4)	0、1+1,600、20、400 µg/日 (β-TBOH、去勢雄に経口投与)	β-TBOH：0.002 (ホルモン作用としての無作用量)		去勢雄、β-TBOH：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. (6)	60、240、960 µg/日 (TBA、性成熟雌に混餌投与)	—		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日間経口投与)	β-TBOH：0.01 (ホルモン作用としての無作用量) α-TBOH：0.1 (ホルモン作用としての無作用量) 血漿中LHの変化		β-TBOH：0.01 α-TBOH：0.1 LH減少

2
3
4

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	＜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		雄：0.005 血漿中プロゲステロンの低値 雌：0.0075 脾臓重量増加
	＜ホルモン影響＞ 14 週間投与（雌雄） Ⅱ． 8．（3）	0、0.1、2、20ppm （TBA、混餌投与）	0.002（ホルモン作用としての無作用量） 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：0.002～0.003 雄：テストステロン、E2 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．（●）	0、0.1、2、20ppm （TBA、混餌投与）	0.1ppm（2 μg/kg 体重/日）未満（ホルモン作用としての無作用量）		雌雄：0.004（LOAEL） 雄：AST の増加、テストステロン、E2 の減少 雌：AST の増加
毒性学的 ADI			NOEL：0.002 SF：100	NOEL：0.04 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．（3）	サルを用いた 3 月経周期又は 122 日間投与試験 Ⅱ． 8．（6）	
ADI			0.00002	0.0004	

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
EC	欧州諸共同体：European Communities
EFSA	欧州食品安全機関：European Food Safety Authority
FDA	米国食品医薬品庁：Food and Drug Administration
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：Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
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	精囊+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

＜参照＞

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
（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 15th Ed., 2013. [2:Merck Index]
3. JECFA: Trenbolone acetate. Technical Report Series 763, 1988 [3:TRS763, 1988]
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（肥育ホルモン剤）. ファクトシート, 2007. [4:食安委 ファクトシート, 2007]
5. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 23, 1987, nos 645 on INCHEM. [5:FAS23, 1987]
6. FDA: Freedom of Information Summary, NADA 138-612 Finaplix® (trenbolone acetate), 1987. [6:NADA138-612, 1987]
7. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41: 29-37 [7:FNP41-1, 1987]
8. MacNeil JD, Reid J, Fedeniuk RW.: Distribution of trenbolone residues in liver and various muscle groups of heifers that received multiple implants at the recommended site of application. J AOAC Int., 2008; 91(3):670-4 [8: MacNeil et al., 2008]
9. Blackwell BR, Brown TR, Broadway PR, Buser MD, Brooks JC, Johnson BJ, Cobb GP, Smith PN.: Characterization of trenbolone acetate and estradiol metabolite excretion profiles in implanted steers. Environ Toxicol Chem, 2014; 33(12):2850-8 [9:Blackwell et al., 2014]
10. Spranger B, Metzler M: Disposition of 17 beta-trenbolone in humans. J Chromatogr, 1991; 564(2):485-92. [10:Spranger and Metzler, 1991]
11. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41-2: 88-98 [11:FNP41-2, 1989]
12. FDA: Freedom of Information Summary, Supplemental New Animal Drug Application, 9:NADA140-992, REVALOR®- 200 (trenbolone acetate and estradiol), 2001 [12:NADA140-992, 2001]
13. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 25, 1989, nos 672 on INCHEM. [13:FAS25, 1989]
14. Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC: Effects of testosterone, testosterone propionate, 17 beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis, 1995; 16(6):1329-33 [14:Tsutsui et al., 1995]
15. Kayani MA, Parry JM: The detection and assessment of the aneugenic potential of selected oestrogens, progestins and androgens using the in vitro cytokinesis blocked micronucleus assay. Mutat Res, 2008; 651 (1-2):40-5 [15:Kayani and Parry, 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 (HGP)
27 used in cattle. 2003 [24:Review Australia 2003]
- 28