

(案)

飼料添加物評価書

ジブチルヒドロキシトルエン

2019年9月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目 次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 食品安全委員会委員名簿.....	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	4
○ 要約.....	6
I. 評価対象飼料添加物の概要.....	7
1. 用途.....	7
2. 有効成分の一般名.....	7
3. 化学名.....	7
4. 分子式.....	7
5. 分子量.....	7
6. 構造式.....	7
7. 使用目的及び使用状況.....	7
II. 安全性に係る知見の概要.....	9
1. 体内動態試験.....	9
(1) 体内動態試験（マウス、単回経口投与） <1984.....	9
(2) 体内動態試験（マウス、反復経口投与） <1984.....	10
(3) 体内動態試験（ラット、単回経口投与①）.....	11
(4) 体内動態試験（ラット、単回経口投与②）.....	11
(5) 体内動態試験（ラット、単回経口投与③）.....	12
(6) 体内動態試験（ラット、反復経口投与①）.....	13
(7) 体内動態試験（ラット、反復経口投与②）.....	14
(8) 体内動態試験（ウサギ）.....	14
(9) 体内動態試験（ヒト、単回経口投与）.....	15
(10) 体内動態試験（ラット及びヒトの比較試験）.....	15
(11) 体内動態試験（ヒト、反復経口投与）.....	17
(12) 体内動態試験（代謝物の概要）.....	17
2. 残留試験.....	18
(1) 残留試験（牛）GLP.....	18
(2) 残留試験（豚）.....	19
(3) 残留試験（鶏①）.....	20
(4) 残留試験（鶏②）.....	21
(5) 残留試験（鶏卵①）.....	22
(6) 残留試験（鶏卵②）.....	23
(7) にじます、こい、うなぎ、あゆ及びまだい.....	23
(8) 残留試験（くるまえば①）.....	25
(9) 残留試験（くるまえば②）.....	25

1	3. 遺伝毒性試験.....	26
2	(1) BHT の遺伝毒性試験	26
3	4. 急性毒性試験.....	28
4	5. 亜急性毒性試験.....	28
5	(1) 30 日間亜急性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1992	28
6	(2) 7 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料>	29
7	(3) 10 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料>	29
8	(4) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料>	30
9	(5) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料>	30
10	(6) 7 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料>	30
11	(7) 10 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料>	31
12	(8) 16 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料>	31
13	(9) 4 週間亜急性毒性試験 (サル、経口)	31
14	6. 慢性毒性及び発がん性試験.....	32
15	(1) 10 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1986 年.....	32
16	(2) 11 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1986	33
17	要検討 (3) 1 年間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1986	33
18	要検討 (4) 12 か月間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1973	34
19	要検討 (5) 16 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1974	34
20	(6) 100 週間慢性毒性・発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1976	34
21	(7) 96 週間発がん性試験 (マウス、混餌) <1982	35
22	(8) 108 週間発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1979	36
23	(9) 104 週間発がん性試験 (マウス、混餌) <1988	38
24	(10) 24 か月慢性毒性試験 (ラット、混餌投与) <1977	39
25	(11) 105 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1979	40
26	(12) 104 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1981	41
27	(13) 子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1986	42
28		42
29	(14) 子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験試験 (ラット、混餌投与) <	44
30	1994・1997.....	44
31	(15) 76 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1990	46
32	(16) 110 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1990	47
33	7. 生殖発生毒性試験.....	47
34	(1) 3 世代繁殖毒性試験 (マウス、混餌投与) <1993	47
35	(2) 発生毒性試験 (マウス、混餌投与) <参考資料>	48
36	(3) 発生毒性試験 (マウス、経口投与)	48
37	(4) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)	50
38	(5) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)	50
39	(6) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)	52
40	(7) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料>	53

1	(8) 発生毒性試験 (サル、混餌投与) <参考資料>	54
2	8. その他の毒性試験	54
3	(1) 血液凝固系への影響に関する試験	54
4	(2) 肝臓への影響に関する試験	56
5	(3) 甲状腺への影響に関する試験	58
6	(4) 発がん性に関する促進作用又は抑制作用	59
7	9. ヒトにおける知見	63
8	(1) 経口摂取による急性毒性についての知見	63
9	(2) 胃がんに関する疫学的知見	64
10		
11	Ⅲ. 国際機関等における評価	65
12	1. EU における評価 (1987 年)	65
13	2. JECFA における評価 (1986 年、1996 年)	65
14	3. 国際がん研究機関 (IARC) における評価 (1986 年、1987 年)	65
15	4. EFSA における評価 (2012 年)	65
16	5. 環境省による環境リスク初期評価	66
17		
18	Ⅳ. 食品健康影響評価	67
19	表 36 JECFA、EFSA 及び食品安全委員会における無毒性量等の比較	69
20		
21	・ 別紙 1 : 検査値等略称	70
22		
23	・ 別紙 2 : 代謝物略称	72
24	・ 参照	73
25		
26		

1 〈審議の経緯〉

2005 年	11 月	29 日	暫定基準告示（参照 1）
2013 年	8 月	20 日	厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0821 第 16 号）、関係資料の接受
2013 年	8 月	26 日	第 486 回食品安全委員会（要請事項説明）
2019 年	9 月	4 日	厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0821 第 16 号）、関係資料の接受（対象動物に牛及びくるまえびを追加）
2019 年	9 月	11 日	第 756 回食品安全委員会（要請事項説明）
2019 年	9 月	30 日	第 148 回肥料・飼料等専門調査会

2

3 〈食品安全委員会委員名簿〉

（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

4

5 〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2017 年 10 月 1 日から）

今井 俊夫（座長*）

山中 典子（座長代理*）

新井 鐘蔵 下位 香代子

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 中山 裕之

川本 恵子 宮島 敦子

桑形 麻樹子 山田 雅巳

小林 健一 吉田 敏則

佐々木 一昭

* : 2017 年 10 月 25 日から

1

2

3

要 約

抗酸化剤である「ジブチルヒドロキシトルエン」(CAS No.128-37-0) について、JECFA、EFSA の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は、体内動態 (マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト)、残留 (牛、豚、鶏、にじます、こい、うなぎ、あゆ、まだい及びくるまえび)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット及びモルモット)、亜急性毒性 (マウス及びラット)、慢性毒性及び発がん性 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (マウス、ラット、ウサギ及びサル)、血液凝固系、肝臓並びに甲状腺に対する影響 (ラット) に関する試験等の成績である。

[以下、審議後記載]

1. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

抗酸化剤

2. 有効成分の一般名

和名：ジブチルヒドロキシトルエン

英名：Dibutylhydroxytoluene

3. 化学名

IUPAC

英名：2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol

CAS (No. 128-37-0)

英名：2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-methoxyphenol

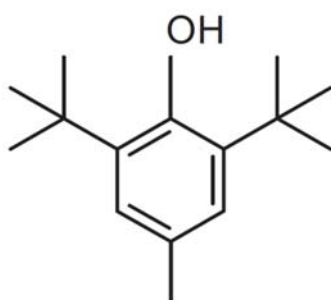
4. 分子式

$C_{15}H_{24}O$

5. 分子量

220.36

6. 構造式



(参照1)

7. 使用目的及び使用状況

ジブチルヒドロキシトルエン（BHT）は、抗酸化作用を有し、飼料添加物としては、主に魚粉の酸化変敗を防ぐ目的で添加される。飼料添加物以外としても、食品添加物、化粧品及び工業製品としても酸化防止剤として広く用いられている。

飼料添加物としての添加目的は、品質の保持の他に、船舶輸送時の油脂の酸化反応による火災防止がある。特に油脂分が多い魚粉の海上輸送においては、国際海上危険物規則により BHT、エトキシキン又はローズマリー抽出物（トコフェロール：ビタミン E）のいずれかの添加が義務付けられており、国内においては危

1 除物船舶運送及び貯蔵規則（昭和 32 年運輸省令第 30 号）において規定されてい
2 る。

3 日本における飼料添加物としての規制としては、飼料安全法に基づき、飼料中
4 含有量は飼料 1 t 当たり 150 g 以下と規定されている（参照2）。

5 なお、食品添加物としては、油脂、魚介乾製品、チューインガム、乾燥裏ごしい
6 も等の添加可能な食品が定められており、食品含有量の規定がある（参照3）。

7 飼料添加物としての食品中の残留基準としては、豚肉、鶏肉、鶏卵（卵白中）、
8 魚類の肉等において、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が設定されて
9 おり（参照4）、これについては、2013 年に食品安全基本法第 24 条第 2 項に基づ
10 き評価要請が行われている。また、2019 年 9 月に牛（乳肉等）及び甲殻類につい
11 て新たに残留基準値を設定するために、別途、食品安全基本法第 24 条第 1 項に基
12 づき評価要請が行われた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 及び EFSA の評価書等を基に BHT の毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称及び代謝物略称をそれぞれ別紙 1 及び 2 に示した。

1. 体内動態試験

(1) 体内動態試験（マウス、単回経口投与）＜1984＞

マウス（DDY/Slc 系、6 週齢、雌雄各 4 匹/時点）に ^{14}C 標識 BHT¹ を単回経口投与（20 又は 500 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。投与後 168 時間まで全身オートラジオグラフィーを行い、経時的に採取した排泄物（尿、糞及び呼気）及び投与 168 時間後に採取した各器官・組織について、液体シンチレーションカウンター（LSC）を用いて放射活性が測定された。また、採取した尿及び糞について薄層クロマトグラフィー（TLC）及び高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による代謝物分析が実施された。さらにマウス（DDY/Slc 系、雄 50 匹）に ^{14}C 標識 BHT を単回経口投与（20 又は 500 mg/kg 体重）後、採取した尿及び糞中の代謝物について、核磁気共鳴（NMR）法による構造推定が実施された。

20 mg/kg 体重投与群の雄の全身オートラジオグラフィーでは、投与 3 及び 16 時間後で胃、腸、胆嚢及び膀胱に高い放射活性がみられ、次いで肝臓、腎臓、脾臓及び唾液腺であり、副腎、肺、心臓及び血液は低く、脳、脊髄、眼球、筋肉、骨、皮膚及び精巣ではみられなかった。投与 24 及び 48 時間後では、胆嚢、膀胱、肝臓、腎臓、脾臓及び消化器に痕跡程度の放射活性が検出されたが、これらは投与 168 時間後には非検出となった。

単回経口投与後の血液又は組織の $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 及び $T_{1/2}$ を表 1 に示した。

放射能濃度は肝臓、腎臓及び血液では投与後 3 時間で、肺及び精巣では投与 16 時間後でピークに達し、その後速やかに減少した。

尿、糞及び呼気への累積排泄率を表 2 に示した。

20 mg/kg 体重投与群では、投与後 2 日までに投与量の 62.5～63.6% が糞中に、25.0～25.3% が尿中に排泄され、投与後 7 日までの糞及び尿への総排泄量は、20 mg/kg 体重投与群では 97.2～97.7%、500 mg/kg 体重投与群では 96.0～97.3% であり、呼気中への排泄はわずかであった。性差はみられなかった。

^{14}C 標識 BHT を単回経口投与（20 又は 500 mg/kg 体重）後 1 日間の尿中及び 3 日間の糞中の代謝物分析では、BHT を含め 43 種類を超える代謝物が検出された。BHT の主要な代謝は、*tert*-ブチル基の酸化及びベンゼン環の *p*-メチル基の酸化であった。マウスでは *tert*-ブチル基の酸化物が主要代謝物であり、*p*-メチル基酸化の主要代謝物である BHT の安息香酸体（BHT-COOH）はグルクロン酸抱合体として主に尿中へ、遊離酸として糞中へそれぞれ排泄された。（参照 5、6、7）

¹ *p*-メチル基を ^{14}C で標識した BHT

表1 マウス（雄）における ^{14}C 標識 BHT の単回経口投与後の血液又は組織の $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 及び $T_{1/2}$

血液又は組織	$C_{\max}$ ($\mu\text{g eq/g}$)	$T_{\max}$ (h)	$T_{1/2}$ (日)
血液	2.2	3	0.4
肝臓	5.8	3	1.9
腎臓	2.5	3	3.2
肺	3.2	16	2.3
精巣	0.6	16	5.1

n=4

表2 マウスにおける ^{14}C 標識 BHT 単回経口投与後の尿、糞及び呼気中累積排泄率 (%) ^a

投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	投与後日数 (日)					
			0.4	1	2	3	5	7
20	雄	尿	4.2	23.9	25.3	25.6	25.8	25.9
		糞	39.8	61.1	62.5	62.8	63.0	63.1
		呼気	6.0	7.4	7.9	8.2	8.5	8.7
		合計	50.0	92.4	95.7	96.6	97.3	97.7
	雌	尿	10.6	23.9	25.0	25.4	25.6	25.7
		糞	37.7	62.6	63.6	64.1	64.4	64.6
		呼気	5.0	6.1	6.4	6.6	6.8	6.9
		合計	53.3	92.6	95.0	96.1	96.8	97.2
500	雄	尿	21.5	36.6	41.0	41.9	42.4	42.6
		糞	28.4	42.5	46.8	47.1	47.3	47.5
		呼気	2.6	4.6	5.2	5.5	5.8	5.9
		合計	52.5	83.7	93.0	94.5	95.5	96.0
	雌	尿	26.1	47.0	49.3	49.7	50.0	50.1
		糞	16.7	38.8	40.2	40.4	40.6	40.7
		呼気	3.2	5.5	6.0	6.2	6.4	6.5
		合計	46.0	91.3	95.5	96.3	97.0	97.3

n=4

a : 総投与放射能に対する割合

(2) 体内動態試験（マウス、反復経口投与） <1984>

マウス（DDY/Slc 系、6 週齢、雄 4 匹/時点）に ^{14}C 標識 BHT² を 10 日間経口投与（20 mg/kg 体重/日）する体内動態試験が実施された。投与初日から最終投与 21 日後まで、経時的に採取した血液及び組織の放射活性が LSC を用いて測定された。

血液、肝臓、腎臓、肺及び精巣の放射活性は、投与期間中に漸増し、最終投与 1 及び 2 日後にも軽度の増加がみられたが、その後速やかに減少した。血液、

² *p*-メチル基を ^{14}C で標識した BHT

肝臓、腎臓、肺及び精巣における消失半減期は、14.7、4.6、5.3、7.1 及び 7.6 日であった。(参照 5、6、7) [厚 1_FAS35, 2.1.1.1 の後段、厚 3_EFSA, p13、事 38_原著]

(3) 体内動態試験 (ラット、単回経口投与①)

ラット (SD 系、6 週齢、雄 4 匹/時点) に ^{14}C 標識 BHT³ を単回強制経口投与 (20 又は 500 mg/kg 体重) する薬物動態試験が実施された。経時的 (投与 1、2 及び 3 日後) に採取した排泄物 (尿及び糞) について、LSC による放射活性の測定並びに TLC 及び LSC による代謝物分析が実施された。

尿中及び糞中への累積排泄率を表 3 に示した。

20 mg/kg 体重及び 500 mg/kg 体重投与群において投与後 3 日の総排泄量はそれぞれ投与量の 85.9% (尿 : 16.1%、糞 : 69.8%) 及び 82.9% (尿 : 19.2%、糞 : 63.7%) であった。

投与後 1 日の尿中及び 3 日の糞中の代謝物分析では、BHT を含め 43 種類を超える代謝物が検出された。ラットでは *tert*-ブチル基の酸化は乏しく、ベンゼン環の *p*-メチル基の酸化による BHT-COOH が主要代謝物であり、主に糞中に遊離酸として、尿中へは遊離酸及び抱合体として排泄された。(参照 5、6、7)

[厚 1_FAS35, 2.1.1.2、厚 3_EFSA, p13、事 38_原著]

表 3 ラット (雄) における ^{14}C 標識 BHT 単回経口投与後の尿及び糞中累積排泄率 (%) ^a

投与量 (mg/kg 体重)	試料			
		1	2	3
20	尿	9.2	13.6	16.1
	糞	46.9	64.1	69.8
	合計	56.1	77.7	85.9
500	尿	12.2	16.9	19.2
	糞	37.9	59.4	63.7
	合計	50.1	76.3	82.9

n=4

a : 総投与放射能に対する割合

(4) 体内動態試験 (ラット、単回経口投与②)

ラット (Wistar 系、雌雄各 3 匹) に ^{14}C -標識 BHT⁴ を単回経口投与 (1 mg (2.4 mCi) /匹あるいは 2.4 mg (5.8 mCi) /匹) し、尿中及び糞中の放射能が測定された。

結果を表 4 及び表 5 に示した。

1 mg/匹投与では、投与後 4 日までに、雄で約 66% (尿 : 24%、糞 : 42%)、雌で約 72% (尿 : 37%、糞 : 35%) が、2.4 mg/匹投与では、投与後 8 日までに、

³ *p*-メチル基を ^{14}C で標識した BHT

⁴ *tert*-ブチル基を ^{14}C で標識した BHT

雄で約 68～73% (尿：24～29%、糞：44%)、雌で約 65～80% (尿：43～48%、糞：21～32%) が排泄された。(参照 5、6、8) [厚 1_FAS35, 2.1.1.2、厚 3_EFSA, p14、事 39_原著]

表 4 ラットにおける ^{14}C 標識 BHT (1mg (2.4 μCi)) 単回経口投与後の尿及び糞中累積排泄率 (%) ^a

試料	性別		雄				雌		
尿	投与後日数	1	5.8	6.7	6.3	6.7	19.8	28.6	4.8
		2	5.1	8.3	11.6	12.4	13.7	15.8	5.0
		3	2.7	3.8	6.6	8.3	5.6	9.3	1.7
		4	2.4	1.4	3.0	2.4	2.4	3.4	0.6
		5～7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3
	合計		16.6	20.8	28.1	30.4	41.8	57.4	12.4
	平均		24.0				37.2		
糞 ^b	投与後日数	1	5.2				7.9		
		2	20.2				13.5		
		3	11.7				11.5		
		4	5.0				2.0		
		合計	42.1				34.9		
合計（尿+糞）			66.1				72.1		

a：総投与放射能に対する割合

b：雌雄各々のプール試料

表 5 ラットにおける ^{14}C 標識 BHT (2.4 mg (5.8 μCi)) 単回経口投与後の尿及び糞中累積排泄率 (%) ^a

性別	投与後日数								合計 ^b	
	1	2	3	4	5	6	7	8	小計	合計
雄	7.3	10.5	2.0	1.4	2.1	0.34	0.32	0.05	24.0	67.6
	10.5	18.0	8.5	4.1	1.6	0.7	0.06	0.16	43.6	
	6.2	11.5	6.4	2.6	1.1	0.46	0.82	0.21	29.3	72.8
	7.1	21.2	10.0	2.7	1.7	0.65	0.03	0.09	43.5	
雌	16.3	18.2	7.4	2.9	1.3	0.58	0.57	0.28	47.5	79.7
	0.0	19.6	6.2	3.45	1.47	1.37	0.05	0.04	32.2	
	17.2	17.8	3.6	2.8	1.0	0.54	0.26	0.08	43.3	64.5
	0.0	15.1	0.0	3.1	2.2	0.7	0.05	0.02	21.2	

a：総投与放射能に対する割合 (上段は尿中、下段は糞中の排泄率)

b：投与後 8 日までの尿中及び糞中排泄率の合計

(5) 体内動態試験 (ラット、単回経口投与③)

ラット (Wistar 系、雌雄匹数不明) に ^{14}C 標識-BHT⁵を単回経口投与 (1.16 mg (2.8 mCi) /匹) し、投与 2 日後及び 4 日後における主要器官・組織中の放射能が測定された。

投与 2 日後における主要器官・組織中の放射能は、合計で投与量の 14.8%で、そのうち消化管は 11.3%、投与後 4 日には合計で 3.8%に減少したが、そのうち

⁵ *tert*-ブチル基を ^{14}C で標識した BHT

2.1%が消化管で保持されていた。

また、ラット（Wistar 系、雌雄各 1 匹）に、¹⁴C 標識 BHT を単回経口投与（雄：1.75 mg (4.2 μCi) /匹、雌：2.25 mg (5.4 μCi)）後の胆汁中の放射能（投与量に対する割合）は、投与 40 時間後においても、雄で 53%/20 ml、雌で 17%/30 ml であった。

試験実施者は、BHT の排出が比較的遅延しているのは、組織内残留よりも腸肝循環が原因であると考察している（参照 5、6、8）。[厚 1_FAS35, 2.1.1.2、厚 3_EFSA, p14、事 39_原著]

（6）体内動態試験（ラット、反復経口投与①）

ラット（Nelson 系、雌雄各 1 匹/群）に ¹⁴C 標識 BHT⁶ (0.2 mmol/kg 体重 (44 mg/kg 体重相当)) を 1～5 回反復経口投与する体内動態試験が実施された。各々投与後 24 時間ごとに尿及び糞中の放射能が測定され、各々最終投与後 24 時間（5 回投与動物のみ最終投与後 8 日）に剖検し、胃腸管（内容物を含む）、肝臓、腎臓、脳、肺、心臓、生殖腺（精巣・卵巣）、副腎、脾臓、血液、皮膚、筋肉、脂肪の各組織及び躯体の放射能が測定された。

結果を表 6 及び表 7 に示した。

総排泄率（雄：92.0～103.5%、雌：92.6～98.6%）は、投与回数及び性別による顕著な差はみられず、雌雄とも主に糞中（雄：57.8～82.5%、雌：22.6～50.6%）及び尿中（雄：2.8～15.1%、雌：18.6～43.1）に排泄されたが、それぞれの排泄率にやや性差がみられた。反復投与による各臓器、組織への蓄積傾向はみられなかった。（参照 5、6、9） [厚 1_FAS35, 2.1.1.2、厚 3_EFSA, p14、事 40_原著]

表 6 ラットにおける ¹⁴C 標識 BHT 経口投与後の放射能分布 (%) ^a

投与回数	糞		尿		胃腸管		躯体		総排泄量	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	57.8	22.6	2.8	18.6	27.5	35.5	4.4	15.9	92.0 ^b	92.6
2	69.6	30.9	6.2	36.5	23.2	17.5	4.5	8.8	103.5	93.7
3	79.5	45.9	4.0	25.4	12.9	18.5	2.3	6.8	98.7	98.6 ^b
4	82.5	-	3.9	-	10.0	-	2.5	-	98.9	-
5	76.9	50.6	15.1	43.1	0.4	3.7	0.3	0.6	92.7	98.0

a：総投与放射能に対する割合

b：合計値と異なるが、原著の数値のママ記載。

-：逃走によりデータなし

⁶ *tert*-ブチル基を ¹⁴C で標識した BHT

表7 ラットにおける ^{14}C 標識 BHT 経口投与後の放射能分布 (%) ^a

組織	投与回数				
	1	2	3	4	5
肝臓	0.050	0.100	0.086	0.088	0.008
	0.137	0.162	0.135	-	0.011
腎臓	0.012	0.025	0.014	0.023	0.003
	0.039	0.042	0.038	-	0.007
脳	0.0017	0.0034	0.0017	0.0057	0.0004
	0.0095	0.0091	0.0095	-	0.0010
肺	0.013	0.011	0.015	0.023	0.004
	0.059	0.045	0.067	-	0.013
心臓	0.006	0.016	0.010	0.013	0.003
	0.039	0.040	0.033	-	0.005
生殖腺（精巣、卵巣）	0.004	0.007	0.005	0.006	0.0003
	0.056	0.150	0.077	-	0.016
副腎	0.021	0.016	0.033	0.022	0.012
	0.065	0.089	0.196	-	0.012
脾臓	0.005	0.009	0.008	0.009	0.006
	0.015	0.016	0.016	-	0.010
血液	0.010	0.015	0.015	0.017	0.012
	0.051	0.066	0.052	-	0.021
皮膚	0.017	0.025	0.019	0.042	0.004
	0.120	0.117	0.185	-	0.018
筋肉	0.003	0.009	0.004	0.005	0.001
	0.020	0.033	0.019	-	0.002
脂肪	0.023	0.069	0.044	0.065	0.009
	0.161	0.123	0.243	-	0.054

a : 組織 1g 当たりの総投与放射能に対する割合（値は上段が雄、下段が雌）

- : 逃走によりデータなし

（7）体内動態試験（ラット、反復経口投与②）

ラット（SD 系、雄、匹数不明）に、BHT を 2 週間混餌投与（1.2%）する体内動態試験が実施された。投与後、肺、腎臓、肝臓、脾臓、脳及び精巣上体周囲脂肪を採取し、GC-MS による各組織中（アセトン抽出物）の代謝物分析が行われた。

非抱合型 BHT が、肺、腎臓、脾臓、脳及び精巣上体周囲脂肪でみられたが、肝臓ではみられなかった。肝臓のマススペクトルでは、2,6-di-*tert*-butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadienone と一致するピークがみられ、試験実施者は、BHT-QM（キノンメチド）の生成が示唆されたと考察している。（参照10）**【事5_原著】**

（8）体内動態試験（ウサギ）

ウサギ（NZW 系、1.33～2.0 kg）に BHT の 800 mg/匹を単回経口投与あるいは反復経口投与（4 日間及び 5 日間）する体内動態試験が実施され、尿中の

代謝物が測定された。

投与量の 54.1%が代謝物として排泄され、そのうち 16.0%がエステルグルクロナイド (BHT-COOH のグルクロン酸抱合体) として、19.4%がエーテルグルクロナイド (BHT-BuOH のグルクロン酸抱合体) として排泄された。また、非抱合フェノール体として 8.4%、エーテル硫酸体として 8.0%、グリシン抱合体として 1.8%が排泄された。単回投与及び反復投与では、これらの比率に顕著な差はみられなかった。(参照 5、11) [厚 1_FAS35, 2.1.2.3、事 21_原著]

(9) 体内動態試験 (ヒト、単回経口投与)

男性 2 名の被験者に ^{14}C 標識 BHT⁷ (2.4 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$) と非標識 BHT の混合物 40 mg をゼラチンカプセルで単回投与する体内動態試験が実施され、尿中及び糞中の放射活性が測定された。

尿中の測定結果を表 8 に示した。

表 8 ヒトにおける BHT 単回投与後の尿中排泄率 (%) ^a

投与後日数	被験者	
	A	B
1	49.5	50.7
2	5.5	5.6
3	2.8	2.8
4	1.8	2.0
5	1.3	1.5
6	1.0	1.7
7	0.7	0.9
8	-	0.5
9	-	0.5
10	-	0.7
11	0.6	-
合計	63.2	66.9

a : 総投与放射能に対する割合

尿中では投与した放射能の約 50%が投与後 1 日までに排泄され、以後排泄量は漸減し、投与後 11 日までに約 63%~67%が排泄された。投与 10、18 及び 31 日後における糞中の放射活性はそれぞれ 0.3、0.15 及び 0.02%であった。(参照 5、6、12) [厚 1_FAS35, 2.1.1.4、厚 3_EFSA, p15、事 41_原著]

(10) 体内動態試験 (ラット及びヒトの比較試験)

ラット (Wistar 系、雄、入荷時平均体重 : 326 ± 36 g) 及びヒト (健常男性、平均年齢 : 31 歳、平均体重 : 73 kg) に、BHT を単回経口投与 (ラット : 20、63 又は 200 mg/kg 体重、ヒト : 0.5 mg/kg 体重) する体内動態試験が実施された。投与 0、15、30、45、60、75、90、120、150、180 及び 240 分後に血液

⁷ 二つの *tert*-ブチル基のメチル基を ^{14}C で標識した BHT

1 を採取し、血漿中の BHT 濃度が測定された。

2 結果を表 9 に示した。

3 ラットにおける BHT の血漿中濃度は、63 及び 200 mg/kg 体重投与では、投
4 与 2～4 時間後にピークを示し、用量依存性に増加したが、20 mg/kg 体重投与
5 の血漿中濃度は、各測定時点において LOD 付近であり明確なピークはみられ
6 なかった。ヒトでは血漿中濃度は投与後およそ 1.5 時間でピークを示したが、
7 濃度には個体差がみられた。

8 次に、ラット（Wistar 系、雄、5 匹、平均体重：275±7 g）及びヒト（健常
9 男性、平均年齢：31 歳、平均体重：73 kg）に、BHT を単回経口投与（ラット：
10 200 mg/kg 体重、ヒト：0.5 mg/kg 体重）後、ラットでは 4 日間、ヒトでは 2 日
11 間にわたって採取した尿及び糞中の代謝物分析が実施された。また、2 日間に
12 わたって採取した尿及び糞中の代謝物分析が実施された。

13 結果を表 10 に示した。

14 ラットでは、投与後 4 日までに投与量の約 2%が BHT-COOH（抱合型と非抱
15 合型ともそれぞれ投与量の約 1.0%）として尿中に排泄され、10%が BHT（未
16 変化体）として糞中に排泄された。ヒトでは、投与後 2 日までに、投与量の約
17 2.6%が BHT-COOH の抱合型として、投与量の約 0.2%が BHT-COOH の非抱
18 合型として、尿中に排泄された。BHT（未変化体）は糞中に検出されなかった。

19 （参照 5、13） [厚 1_FAS35, 2.1.1.4、事 4_原著]

21 表 9 ラット及びヒトにおける BHT 単回経口投与後の $C_{\max}$ 及び AUC

測定 対象	投与量 (mg/kg 体重)	$C_{\max}^a$ ($\mu\text{g/mL}$)	AUC ^a ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)
ラット	20	0.2 ± 0.3	300 ± 400
	63	0.8 ± 0.3	$2,000 \pm 1,400$
	200	2.3 ± 0.9	$7,700 \pm 2,700$
ヒト	0.5	0.09 ± 0.1	76 ± 65

22 a：平均±標準偏差

表 10 ラット及びヒトにおける BHT 単回経口投与後の尿・糞中代謝物排泄率 (%) ^a

測定対象 ^b	試料	代謝物	LOD (%)	投与後日数 (日)				合計 (1~4)
				1	2	3	4	
ラット	糞	BHT	<0.1	7.3 ± 7.9	2.4 ± 1.6	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	9.9 ± 9.1
	尿	BHT-COOH (非抱合型)		0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	1.0 ± 0.4
		BHT-COOH (抱合型)		0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	1.1 ± 0.4
ヒト	糞	BHT	3~5	ND	ND	-	-	ND
	尿	BHT-COOH (非抱合型)	0.1	0.2 ± 0.1	ND	-	-	0.2 ± 0.1
		BHT-COOH (抱合型)	0.1	2.6 ± 2.2	0.0 ± 0.1	-	-	2.6 ± 2.2

a : 総投与量に対する割合 (平均±標準偏差)

b : ラット 5 例、ヒト 7 例

LOD : 検出限界、ND : 非検出、- : 未測定

(1 1) 体内動態試験 (ヒト、反復経口投与)

男性 8 名に 100 mg の BHT を 4 日間隔で 2 回経口投与する体内動態試験が実施され、投与 24 時間後まで尿を採取し、尿中の代謝物分析が行われた。

初回エーテル抽出では、TLC により BHT-COOH のみが検出されたが、2 回目のエーテル抽出では、赤外及び核磁気共鳴分光分析法と融点測定により、ベンゾイル-グリシンが同定された。さらに 2 名の成人に 1.0 g の BHT を経口投与し、投与後 24 時間にわたって採取した尿の TLC により、代謝物として BHT-COOH のグルクロニドエステルが検出された。

これらの結果から、ヒト尿中の主要代謝物は BHT-COOH 及びそのグルクロン酸抱合体であることが示唆された。(参照 5、14) **[厚 1_FAS35, 2.1.2.5、事 8_原著]**

(1 2) 体内動態試験 (代謝物の概要)

各種総説等を踏まえ、BHT の生体内推定代謝経路を図 1 に整理した。(参考 6、15、16、17) **[厚 3_EFSAp12-15、事 42_総論、事 43_総論、事 44_総論]**

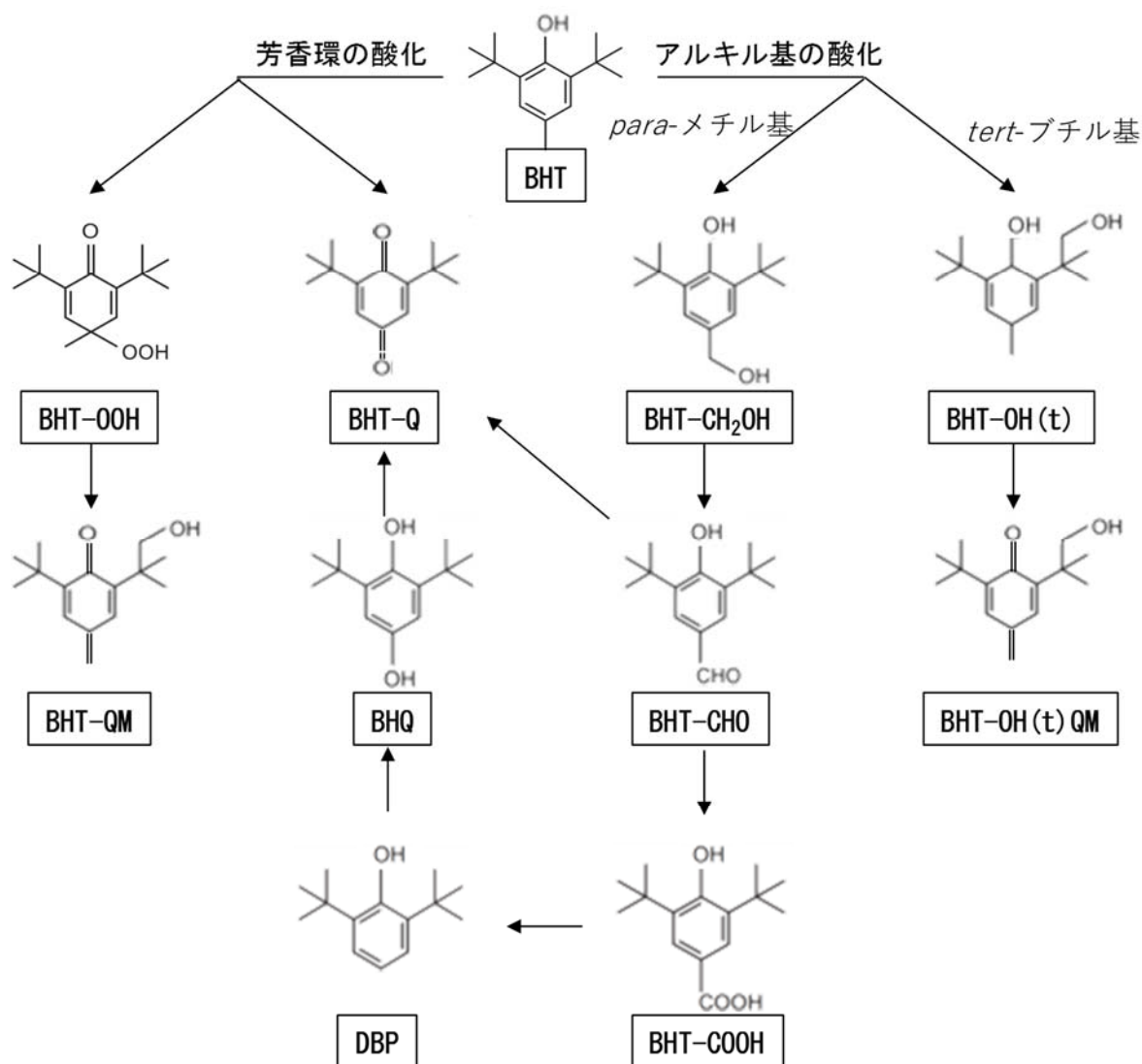


図 1 BHT の生体内推定代謝経路

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛) GLP⁸

牛 (ホルスタイン種、雌、44～100 か月齢、3 頭/群) に BHT を 28 日間混餌投与 (30、150 又は 300 mg/kg 飼料) する残留試験が実施された。投与前～投与 28 日後まで経時的に採取した乳汁 (朝夕の搾乳のプール乳汁) 及び投与 28 日後に剖検し、採材した肝臓、腎臓、筋肉 (ロース、モモ並びにバラ) 及び脂肪について、HPLC によって組織中 BHT 濃度を測定した (LOQ : 0.01 µg/g)。結果を表 11 及び表 12 に示した。

乳汁は、各投与群の全ての検体で LOQ 未満であった。肝臓及び腎臓は 300 mg/kg 飼料群において、それぞれ 0.01～0.02 µg/g (3 例全て) 及び 0.01 µg/g (1 例のみ) が検出されたが、30 及び 150 mg/kg 飼料群では全て LOQ 未満であった。脂肪は 30 mg/kg 飼料群では全て LOQ 未満であったが、150 及び 300 mg/kg

⁸ 動物試験部分 (測定機関へ検体送付まで) のみ適用

飼料群ではそれぞれ全例に 0.01～0.04 µg/g 及び 0.10～0.18 µg/g が検出された。
 筋肉はいずれの投与群においても全例で LOQ 未満であった。(参照18、19) [厚
 労 5_農水事業 1、厚 6_農水事業 2]

表 11 牛における BHT28 日間混餌投与時の乳汁中残留濃度 (µg/g)

乳汁採取		投与群 (mg/kg 飼料) 及び個体番号								
		30			150			300		
		001 ^c	002	003	004	005	006	007	008	009
投与開始前 ^a		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
投与開始日 ^b		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
投与開始後 日数	1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	21	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	27 ^a	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-
	27 ^b	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ : 定量限界 (0.01 µg/g) 未満

a : 朝方採取の乳汁 b : 夕方採取の乳汁 c : 投与開始 27 日の朝夕に乳汁採取

- : 未実施

表 12 牛における BHT28 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg/g)

投与群 (mg/kg 飼料)	個体番号	肝臓	腎臓	脂肪	筋肉		
					ロース	モモ	バラ
30	001 ^a	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	002	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	003	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
150	004	<LOQ	<LOQ	0.04	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	005	<LOQ	<LOQ	0.03	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	006	<LOQ	<LOQ	0.01	<LOQ	<LOQ	<LOQ
300	007	0.02	<LOQ	0.18	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	008	0.01	0.01	0.10	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	009	0.02	<LOQ	0.12	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ : 定量限界 (0.01 µg/g) 未満

a : 投与開始 27 日後に剖検し採材した

(2) 残留試験 (豚)

豚 (LW 系、SPF、去勢雄、1 頭/時点) に BHT を 91 日間混餌投与 (150 又は 600 mg/kg 飼料 (315 又は 1,334 mg/頭/日相当)) する残留試験が実施された。投与開始後 6 週並びに最終投与後 0、1、2、3、5 及び 7 日に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸を採材し、GC-MS によって組織中 BHT 濃度を測定した

(LOD : 0.025 µg/g)。

結果を表 13 に示した。

肝臓は、150 mg/kg 飼料投与群及び 600 mg/kg 飼料投与群とも最終投与 0 日後以降、LOD 未満であった。腎臓は 150 mg/kg 飼料投与群で最終投与 3 日後以降、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 5 日後以降で、LOD 未満であった。筋肉は、150 mg/kg 飼料投与群で最終投与 1 日後以降、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 5 日後以降で LOD 未満であった。一方、脂肪及び小腸の残留濃度は、最終投与後、漸減傾向がみられたが、最終投与 7 日後においても LOD 未満にはならなかった。(参照20) [厚 8_農水事業 (1980)]

表 13 豚における BHT 91 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg/g) ^a

組織	投与開始後 6 週	最終投与後日数(日)					
		0	1	2	3	5	7
肝臓	<LOD 0.04	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD
腎臓	0.04 0.05	0.08 0.09	0.08 0.08	0.04 0.09	<LOD 0.07	<LOD <LOD	<LOD <LOD
筋肉	<LOD <LOD	0.03 0.07	<LOD 0.05	<LOD 0.07	<LOD 0.03	<LOD <LOD	<LOD <LOD
脂肪	0.44 0.56	0.50 1.5	0.45 0.88	0.40 0.51	0.36 0.35	0.36 0.18	0.13 0.16
小腸	0.38 1.0	0.30 0.71	0.39 1.5	0.27 0.82	0.17 0.86	0.09 0.70	0.07 0.17

a : 同一試料について分析を 2 回実施し、それらの平均値を算出

上段は 150 mg/kg 飼料投与群、下段は 600 mg/kg 飼料投与群

<LOD : 検出限界 (0.025 µg/g) 未満

(3) 残留試験 (鶏①)

鶏 (肉用種、初生雛、雌、10 羽/時点 (投与開始 4 週後のみ 16 羽/時点)) に BHT を 56 日間混餌投与 (150 又は 600 mg/kg 飼料 (12 又は 49 mg/羽/日相当)) する残留試験が実施された。投与開始 4 週後並びに最終投与 0、1、2、3、5 及び 7 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び皮膚を採材し、GC-MS によって組織中 BHT 濃度が測定された (LOD : 0.025 µg/g)。なお、分析用試料は 5 羽分 (投与開始 4 週後のみ 8 羽分) をまとめて 1 試料とした。

結果を表 14 に示した。

肝臓は、150 mg/kg 飼料投与群及び 600 mg/kg 飼料投与群とも最終投与 5 日後以降、筋肉は 150 mg/kg 飼料投与群で最終投与 1 日後以降、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 5 日後以降、LOD 未満であった。腎臓は 150 mg/kg 飼料投与群で最終投与 5 日後以降、LOD 未満であったが、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 7 日後においても LOD 未満とならなかった。脂肪及び皮膚では、特に 600 mg/kg 飼料投与群で高い残留がみられ、脂肪は最終投与 2 日後に 56 µg/g、皮膚は投与終了 0 日後に 57 µg/g を示し、最終投与 7 日後においても、それぞれ比較的高い残留がみられた。(参照 20) [厚 8_農水事業 (1980)]

表 14 鶏における BHT 56 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (μg/g) ^a

組織	投与開始後 4 週	最終投与後日数(日)					
		0	1	2	3	5	7
肝臓	0.03	0.21	0.13	0.03	0.06	<LOD	<LOD
	0.03	0.75	0.78	0.18	0.10	<LOD	<LOD
腎臓	0.02	0.13	0.06	0.05	0.07	<LOD	<LOD
	<LOD	0.83	0.78	0.72	0.72	0.62	0.54
筋肉	<LOD	0.02	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	<LOD	0.16	0.06	0.08	0.02	<LOD	<LOD
脂肪	0.02	3.0	1.9	1.4	0.60	0.62	0.26
	0.03	30	40	56	23	21	20
皮膚	<LOD	1.6	1.3	1.2	0.16	0.62	0.94
	0.02	57	31	33	32	7.4	3.7

^a : 同一試料について分析を 2 回実施し、それらの平均値を算出

上段は 150 mg/kg 飼料投与群、下段は 600 mg/kg 飼料投与群

<LOD : 検出限界 (0.025 μg/g) 未満

(4) 残留試験 (鶏②)

鶏 (肉用鶏、1 日齢、雌雄各 1 羽/時点) に ¹⁴C 標識 BHT⁹を添加した飼料を 10 週間混餌投与 (200 mg/kg 飼料) する残留試験が実施された。投与開始 1、2、4 及び 10 週間後に、雌雄各 1 羽から採取した各組織の放射能濃度を LSC で測定した。また、産卵鶏に前述の飼料を 4 週間混餌投与した。投与 1、3、7、14、21、28 日に採取した鶏卵、並びに投与 4 週間後に当該産卵鶏から採取した各組織の放射能濃度を LSC で測定した。

結果を表 15 及び表 16 に示した。

肉用鶏では、BHT 及びその代謝物の濃度は投与開始 1 週間後に最高値を示し、脂肪、皮膚、砂嚢及び内臓で比較的高い濃度を示したが、これらも含め各組織とも、2 週間後以降は概ね経時的に減少した。産卵鶏では、肉用鶏と比較して脂肪中の濃度がやや高かったが、その他の組織に顕著な差はみられなかった。鶏卵中の BHT 及びその代謝物の濃度は、投与 7 日後に最高値 (2.5 μg/g) を示し、以降、投与 28 日後まで概ね 2 μg/g で維持された。(参照21) [厚 9_原著

(1965)]

⁹ 詳細は不明であるが、ベンゼン環を ¹⁴C で標識した BHT と考えられる。

表 15 ^{14}C 標識 BHT の混餌投与試験（鶏）における各組織の放射能濃度
($\mu\text{g/g}$)

組織 ^a	投与開始後期間（週）				
	肉用鶏				産卵鶏
	1	2	4	10	4
脂肪	11.2	7.4	2.2	3.9	17.5
胸部	2.4	1.0	0.9	0.9	0.2
脚部	2.8	1.3	1.2	0.6	1.4
翼部	2.7	2.0	1.3	0.8	1.8
肝臓	5.6	4.9	5.4	4.4	6.8
腎臓	4.4	4.0	2.8	3.6	3.9
心臓	4.6	4.0	3.0	1.3	1.0
皮膚	14.1	9.1	6.1	3.5	14.3
砂嚢	9.1	7.1	6.9	0.9	4.8
内臓 ^b	12.1	9.1	7.0	5.7	7.1

a：測定試料の詳細（サンプル量、試料プールの有無等）不明

b：原文では Viscera。腹腔内の臓器全体と考えられる。

表 16 ^{14}C 標識 BHT の混餌投与試験（鶏）における鶏卵中の放射能濃度
($\mu\text{g/g}$)

投与後日数	1	3	7	14	21	28
鶏卵中濃度	0.2	1.0	2.5	2.1	2.3	2.2

a：測定試料の詳細不明（サンプル量、試料プールの有無等）

（5）残留試験（鶏卵①）

採卵鶏（4羽/群）に BHT を混餌投与（5 mg/kg 飼料を 8 週間混餌投与後、100 mg/kg 飼料の混餌投与変更し継続飼育、又は 50 mg/kg 飼料を 8 週間混餌投与後 500 mg/kg 飼料の混餌投与に変更し継続飼育）する残留試験が実施された。投与開始時及び投与開始 4、8、10、12、16、20 及び 26 週後に採卵し、鶏卵から抽出した脂肪分における BHT 濃度が測定された。

結果を表 17 に示した。

5 mg/kg 飼料から 100 mg/kg 飼料に給与変更した投与群では、BHT の残留はみられなかった。50 mg/kg 飼料及び 500 mg/kg 飼料投与群では、500 mg/kg 飼料に変更後 2 週間以降 26 週まで、約 20 $\mu\text{g/g}$ 前後の BHT が鶏卵の脂肪分から検出された。（参照22）**[厚 10_原著 (1965)]**

表 17 採卵鶏混餌投与試験における鶏卵中の BHT 濃度 (μg/g) ^a

飼料中の BHT 濃度 (mg/kg 飼料)	投与開始後期間 (週)							
	0	4	8	10	12	16	20	26
5 → 100	0	0	0	0	0	0	0	T
50 → 500	0	0	0	24	20	18	18	24

a : 測定試料 : 鶏卵 4 個のプール試料 (1 個/羽を 4 羽分プール)

T : 痕跡程度

(6) 残留試験 (鶏卵②)

採卵鶏 (白色レグホン種、9 か月齢、8 羽/群) に BHT を 21 日間混餌投与 (150 又は 600 mg/kg 飼料 (16 又は 68 mg/羽/日相当)) する残留試験が実施された。投与開始 7 及び 14 日後並びに最終投与 0、1、2、3、5 及び 7 日後に採卵し、GC-MS で卵黄及び卵白中 BHT 濃度を測定した (LOD : 0.025 μg/g)。

結果を表 18 に示した。

卵白は、150 mg/kg 飼料投与群及び 600 mg/kg 飼料投与群ともに全ての時点で BHT は検出されなかった。一方、卵黄では、150 mg/kg 飼料群で最終投与 1 日後に 1.45 μg/g、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 0 日後に 34 μg/g の最高値を示し、最終投与 7 日後においても、150 mg/kg 飼料投与群では 0.16 μg/g、600 mg/kg 飼料投与群では 4.1 μg/g で検出された。

BHT は卵白への移行はみられないが、卵黄へは移行がみられ、また、最終投与 7 日後においても残留がみられた。(参照23) [厚 11_農水事業 (1980)]

表 18 採卵鶏における BHT 21 日間混餌投与後の卵白及び卵黄中残留濃度 (μg/g) ^a

検体	投与日数(日)		最終投与後日数(日)					
	7	14	0	1	2	3	5	7
卵白	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD	<LOD <LOD
卵黄	0.93 29	0.95 33	0.82 34	1.45 20	0.71 20	0.67 16	0.26 13	0.16 4.1

a : 同一試料について分析を 2 回実施し、それらの平均値を算出

上段は 150 mg/kg 飼料群、下段は 600 mg/kg 飼料群

<LOD : 検出限界 (0.025 μg/g) 未満

(7) にじます、こい、うなぎ、あゆ及びまだい

にじます、こい、うなぎ、あゆ又はまだい (10 尾以上/時点) に BHT をそれぞれ 63、76、62、65 又は 60 日間混餌投与 (全魚種において 150 又は 450 mg/kg 飼料) する残留試験が実施された。投与期間中に 1 回 (にじます : 投与 32 日目、こい : 投与 43 日目、うなぎ : 投与 30 日目、あゆ : 投与 30 日目) 並びに最終投与 1、2、3 及び 7 日後に筋肉及び内臓 (消化管内容物および腎臓を除く。) を採

取¹⁰し、GC-MS によって残留濃度を測定した (LOD : 0.1 µg/g (にじます、こい、うなぎ、あゆ)、0.05 µg/g (まだい))。なお、150 及び 450 mg/kg 飼料の BHT 投与量は、にじますで 1.1 及び 3.2 mg/kg 体重/日相当、こいで 1.4 及び 4.7 mg/kg 体重/日相当、うなぎで 1.8 及び 5.1 mg/kg 体重/日相当、あゆで 3.7 及び 9.8 mg/kg 体重/日相当、まだいで 1.9 及び 5.8 mg/kg 体重/日相当とされている。

結果を表 19 に示した。

筋肉における BHT の残留は 150 mg/kg 飼料投与群及び 450 mg/kg 飼料投与群とも、うなぎが最も高く、次いでにじますであり、それらと比較してこい及びまだいは低かった。いずれの魚種でも投与終了後、減少がみられたが、450 mg/kg 飼料投与群ではこいを除いて最終投与 7 日後でも LOD 未満とならなかった。内臓における BHT の残留はまだいが最も高く、次いでにじます、こいであった。いずれの魚種でも、最終投与 7 日後には残留濃度は減少したが、LOD 未満とならなかった。あゆ (全魚体) の残留は比較的高く、最終投与 7 日後でも減少はみられなかった。(参照24) [厚 12 農水事業 (1981)]

表 19 にじます、こい、うなぎ、あゆ及びまだいにおける BHT 混餌投与後の筋肉及び内臓中濃度 (µg/g)

魚種	添加量 (mg/kg 飼料)	組織 ^a	投与期間中	最終投与後日数(日)			
				1	2	3	7
にじます	150	筋肉	0.7	0.7	0.9	0.9	0.3
		内臓	4.1	7.6	7.4	7.9	3.9
	450	筋肉	2.8	2.9	2.8	2.2	2.0
		内臓	19.5	28.1	25.0	21.2	19.2
こい	150	筋肉	0.3	0.2	<LOD	0.1	<LOD
		内臓	3.1	1.4	0.9	1.0	0.7
	450	筋肉	1.2	1.4	1.2	0.9	<LOD
		内臓	11.4	6.2	11.1	4.1	1.5
うなぎ	150	筋肉	1.4	1.9	1.9	1.7	1.3
	450	筋肉	10.7	12.3	11.3	6.4	4.2
あゆ	150	全魚体	1.9	1.6	1.6	2.9	2.0
	450	全魚体	6.0	2.9	3.7	2.6	3.4
まだい	150	筋肉	—	0.27	0.1	0.08	<LOD
		内臓	—	6.5	2.6	1.5	0.72
	450	筋肉	—	1.3 1.2	0.91	0.48	0.3
		内臓	—	47 45	36	27	18

a : 各時点で 10 尾以上から採取 (測定試料数は不明)

<LOD : 検出限界 (0.1 µg/g (にじます、こい、うなぎ、あゆ)、0.05 µg/g (まだい)) 未満

— : 未実施

¹⁰ うなぎの分析試料は筋肉のみ、あゆの分析試料は全魚体 (消化管内容物を除く)

（８）残留試験（くるまえば①）

くるまえばに BHT を 60 日間混餌投与（0、150 又は 450 mg/kg 飼料）¹¹する残留試験が実施された。最終投与 1、2、3 及び 7 日後に肉質部を採取¹²し、GC-MS によって残留濃度を測定する残留試験が実施された（LOD:0.05 µg/g）。結果を表 20 に示した。

対照群及び BHT 投与群とも、全ての時点で LOD 未満であった。（参照25）

[厚 7_山口県水産試験場（1980）]

表 20 くるまえばにおける BHT 混餌投与後の肉質部中濃度（µg/g）

投与群 (mg/kg 飼料)	投与開始前	投与終了後日数（日）			
		1	2	3	7
0	<LOD ^a	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
150	-	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
450	-	<LOD ^b	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD：検出限界（0.05 µg/g）未満

a：3 検体を分析し、全て<LOD

b：2 検体を分析し、全て<LOD

-：未実施

（９）残留試験（くるまえば②）

くるまえばに BHT を 7 日間混餌投与（0、200、400、800 又は 1,600 mg/kg 飼料）する残留試験が実施された最終投与 24 時間後に肉質部を採取して、GC-MS によって残留濃度を測定した（LOD：0.05 µg/g）。分析検体の採取は前述の（くるまえば①）の試験と同様に行った。

結果を表 21 に示した。

対照群及び全ての BHT 投与群で LOD 未満であった。（参照 25）

[厚 7_山口県水産試験場（1980）]

表 21 くるまえばにおける BHT 混餌投与後の肉質部中濃度（µg/g）

群	対照群	BHT 投与群			
mg/kg 飼料	0	200	400	800	1,600
BHT 濃度	<LOD ^a	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD：検出限界（0.05 mg/g）未満

a：2 検体を分析し、全て<LOD

¹¹ 給餌は 1 日 1 回夕方に行い、投与終了日を除く日曜日は無給餌とした。

¹² 10 尾以上から頭胸部、外骨格、脚及び腸管を除いて肉質部を細断し 50 g 以上を採取したものを 1 検体とした。

3. 遺伝毒性試験

(1) BHT の遺伝毒性試験

BHT の遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 22 に示した。

BHT は、マウスリンフォーマ (L5178Y *Tk*^{+/+}) 細胞やチャイニーズハムスターV79 細胞を用いる細胞突然変異試験において S9mix 添加条件下で陽性を示し、染色体異常試験では一部の細胞で陽性を示したが、細菌を用いる復帰突然変異試験、姉妹染色分体交換試験及び DNA 修復試験を含むその他の *in vitro* 試験ではいずれも陰性であった。また、*in vivo* 試験では優性致死試験の一部や DNA 損傷試験 (コメット試験) を除いて、いずれも陰性であった。

BHT は生体内における代謝の過程で、酸化代謝物やキノン化合物が生成されるが、これらから生じる活性酸素種により DNA 損傷が生じることが報告されている (参照 17、26) [事 48_原著] ことから、前述の S9mix 添加条件下でみられた細胞突然変異試験、染色体異常試験及びコメットアッセイにおける陽性結果は、BHT の代謝物が関与する間接的な影響であると考えた。

以上より、食品安全委員会肥料・飼料専門等調査会は、BHT には、飼料添加物として適切に使用された場合において、食品を介してヒトに対して特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

表 22 BHT の遺伝毒性試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA1538	0.015～0.6% (±S9)	陰性	5 [厚 1_FAS35]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	1～100 µg/plate (±S9)	陰性	5
		<i>S. typhimurium</i> TA97、TA102、TA104、TA100	1～1,000 µg/plate (±S9)	陰性	5
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	10～10,000 µg/plate (±S9)	陰性	5
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	100～1,000 µg/plate (±S9)	陰性	5
		<i>S. typhimurium</i> TA98	10 µg/plate (±S9)	陰性	5
	細胞突然変異試験	マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y <i>Tk</i> ^{+/+})	2～28 µg/mL (+S9) 1.25～40 µg/mL (-S9)	陽性 (+S9)	27 [事 35_SIDS]
		チャイニーズハムスターV79 細胞	1、5、10 µg/mL (+S9)	陽性	27

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
	酵母を用いる有糸分裂組換え試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4	0.6～2.4%	陰性	5
	培養細胞を用いる体細胞突然変異試験	Rat liver epithelial cell (line 18)、HGPRT locus	60～90 µg/mL	陰性	5
	染色体異常試験	Human WI-38 (embryonic lung cells)	2.5～250 µg/mL	陽性	5
		チャイニーズハムスター卵巣由来 (CHO) 細胞	1.6～15 µg/mL (±S9)	陰性	27
		CHO 細胞	0.1～0.5 µg/mL (±S9)	陽性	27
	姉妹染色分体交換	CHO 細胞	1～1,000 µg/mL	陰性	5
	DNA 修復試験	初代培養肝細胞	0.01～10 µg/mL	陰性	5
<i>in vivo</i>	宿主経路試験	ICR Swiss mouse/ <i>S. typhimurium</i> G46、TA1530	acute 30～1,400 mg/kg subacute 30～500 mg/kg	陰性	5
	酵母を用いる有糸分裂組換え試験 (宿主経路)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D3/ICR Swiss マウス	30、900、1,400 mg/kg 体重 (単回) 30、250、500 mg/kg 体重/日 (反復)	陰性	5
	相互転座試験	雄マウス	1% (混餌)	陰性	5
	伴性劣性致死致死試験	ショウジョウバエ	2.0×10 ⁻⁶ µg	陰性	5
		ショウジョウバエ	5% (混餌)	陰性	5
	性染色体欠失	ショウジョウバエ	2.0×10 ⁻⁶ µg	陰性	5
	染色体異常試験	骨髓細胞 (ICR マウス、Wistar ラット又は SD ラット)	1.5% (混餌、9 か月)	陰性	28 [厚 4 都衛研 1977]
		骨髓細胞 (アルビノスイスラット)	3 mg/kg 体重 (経口、3 か月)	陰性	5
	小核試験	骨髓細胞 (C57BL/6×C3H/He マウス)	0、125、250、500、1,000 mg/kg 体重 (5 日間腹腔内投与)	陰性	27
		ラット骨髓細胞	30、90、1,400 mg/kg (急性及び亜急性)	陰性	5
	優性致死試験	SD ラット	30、900、1,400 mg/kg 体重 (急性)	陰性	5
			30、250、500 mg/kg 体重/日 (亜急性)	陽性	
		雄 SD ラット	50、150、500 mg/kg 体重/日	陽性	5
		雄マウス	10,000 mg/kg 飼料	陰性	5

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
	DNA 損傷試験 (コメットア ッセイ)	雄 ddY マウス	10～1,000 mg/kg (単 回)	陽性 (脳、腺 胃、結腸、 膀胱)	29 [事 47_原 著]

4. 急性毒性試験

マウス、ラット、ウサギ及びモルモットにおける BHT の急性毒性試験の結果を表 23 に示した。

表 23 BHT の急性毒性試験結果

動物種	雌雄	投与経路	LD ₅₀ 又は概略の致死量 (mg/kg 体重)	参照
マウス	不明	経口	2,000	5
ラット	不明	経口	>1,700～1,970	
	不明	経口	2,450	
ウサギ	不明	経口	2,100～3,200	
モルモット	不明	経口	10,700	

5. 亜急性毒性試験

(1) 30 日間亜急性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1992>

マウス (ddY 系、雄 10 匹/群) に BHT を 30 日間混餌投与 (0、13,500、17,500、22,800、29,600、38,500 又は 50,000 mg/kg 飼料、(0、1,570、1,980、2,630、3,370、4,980 又は 5,470 mg/kg 体重/日相当)) する亜急性毒性試験が実施された。

試験の結果みられた毒性所見を表 24 に示す。

22,800 mg/kg 飼料以上の投与群で、最終体重の有意な低値がみられた。腎臓重量は体重の低値と相関するように用量依存性の絶対重量減少及び相対重量増加がみられ、肉眼的に 50,000 mg/kg 飼料群の 10 匹中 7 匹に腎臓形態異常がみられた。

血液凝固系検査では、13,500 mg/kg 飼料以上の投与群で PT の有意な減少 (対照群の 73～78%) が、13,500、22,800 及び 50,000 mg/kg 飼料投与群でカオリン加 APTT の有意な減少 (対照群の 60～70%) がみられた。

病理組織学的検査では、肝臓に異常はみられなかった。腎臓では尿細管病変を伴う中毒性腎症病変の発生頻度及び重篤度の増加が用量依存性にみられ (対照群を含む各投与群の発生数 : 0/10、2/10、3/10、6/10、8/10、10/10、10/10) その ED₅₀ は 2,300 mg/kg 体重/日と算出された。(参照 5、27、30) [厚 1_FAS35, 2.2.8, p22、事 35_SIDS, p96-97、事 27 原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、血液凝固系 (PT 及び APTT) の変動¹³及び腎臓の尿細管病変がすべての BHT 投与群で認められたことから、本

¹³ 血液凝固系の毒性については、「Ⅱの 8 の (1) 血液凝固系への影響に関する試験」を参

試験の LOAEL を 13,500 mg/kg 飼料 (1,570 mg/kg 体重/日) と判断した。

表 24 マウスを用いた 30 日間亜急性毒性試験でみられた毒性所見

投与濃度 (mg/kg 飼料)	毒性所見
50,000	腎臓の形態異常
22,800 以上	体重低下、腎臓重量減少、腎臓相対重量の増加
13,500 以上	PT 減少、カオリン加 APTT の減少 (1,570、1,980 及び 5,470 mg/kg 体重で観察)、腎臓尿細管病変

<事務局より>

出血性の影響については、このキノンメチドが関係しているということが同じ著者により確認されているが、BHT が低濃度ではほぼ影響がないようである。

参照→Ⅱの 8 の (1) 血液凝固系への影響に関する試験

(2) 7 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料¹⁴>

マウス (B6C3F1、雌雄各 5 匹/群) に BHT を 7 週間混餌投与 (0、3,100、6,200、12,500、25,000 又は 50,000 mg/kg 飼料) する亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中、25,000 mg/kg 飼料 投与群の雌 1 匹、50,000 mg/kg 飼料 投与群の雄 1 匹及び雌 4 匹が死亡した。すべての BHT 投与群で用量依存性の体重増加抑制がみられた。病理組織学的検査では、25,000 mg/kg 飼料 投与群の雄で軽微な小葉中心性肝細胞空胞化がみられたが、これは 12,500 mg/kg 飼料 投与群の雌ではみられなかった。

試験実施者は体重に対する影響を考慮し、発がん性試験の投与量を 3,000 及び 6,000 mg/kg 飼料とした。(参照 5、31) [厚 1_FAS35, 2.2.2.1 p8、事 37_NCI TR150, p9-11]

(3) 10 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料¹⁵>

マウス (B6C3F1、雌雄各 20 匹/対照群、雌雄各 10 匹/BHT 投与群) に、BHT を混餌投与 (0、2,500、5,000、10,000、20,000 又は 40,000 mg/kg 飼料 (雄/雌 : 0/0、410/438、820/875、1,640/1,750、3,480/4,130 又は 6,960/8,260 mg/kg 体重/日相当¹⁶)) する亜急性毒性試験が実施された。

40,000 mg/kg 飼料 投与群の雌雄で体重増加抑制 (対照群との比較で 10% 以

照。

¹⁴ 発がん性試験の用量設定試験であることから参考資料とした。

¹⁵ 発がん性試験の用量設定試験であることから参考資料とした。

¹⁶ OECD SIDS (参照 27) による換算。

上) がみられ、同群の病理組織学的検査では、脾臓、心臓及び腎臓の萎縮がみられた。

試験実施者らはBHTの混餌投与における最大耐容量を20,000 mg/kg飼料と判断した。(参照5、27、37) [厚1_FAS35, 2.2.2.1, p8、事35_SIDS, p95～96、事11原著]

(4) 6週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料¹⁷>

ラット(離乳後、雌雄各3匹/群)にBHTを6週間混餌投与(ラードサプリメント20%含有飼料にBHTを0、1,000、2,000、3,000、4,000又は5,000 mg/kg飼料添加)する亜急性毒性試験が実施された。

3,000 mg/kg飼料投与群以上の雄で有意な成長率抑制がみられた。雌雄とも肝臓重量(絶対及び相対重量)の増加がみられ、肝臓相対重量は2,000 mg/kg飼料以上の投与群で有意に増加した。また、雄では左副腎相対重量が増加したが組織学的変化はみられなかった。雌では一貫した変化はみられなかった。全てのBHT投与群で、用量依存性の血清コレステロール値の増加がみられた。また、副腎コレステロール濃度の有意な増加がみられた。一方、肝臓中のエステル型肝コレステロールの総濃度又は濃度比、肝脂質濃度、多価不飽和脂肪酸の総濃度には有意な変化はみられなかった。(参照5) [厚1_FAS35, 2.2.2.2, Johnson & Hewgill 1961, p9]

(5) 6週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料¹⁸>

ラットにBHTを6週間混餌投与(ラードサプリメント20%含有飼料にBHTを0、2,000、4,000又は5,000 mg/kg飼料を添加)する亜急性毒性試験が実施された。

BHT投与群の雄では成長率の有意な抑制及び副腎相対重量の増加がみられた。また、BHT投与群では肝脂質の増加と並行して肝重量増加もみられた。血清コレステロール値は用量依存性に増加した。(参照5) [厚1_FAS35, 2.2.2.2, Johnson & Hewgill 1961, p9]

(6) 7週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料¹⁹>

ラット(F344、雌雄各5匹)にBHTを7週間混餌投与(0、6,200、12,500、25,000又は50,000 mg/kg飼料)する亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中、50,000 mg/kg飼料投与群の雌雄全て及び12,500 mg/kg飼料投与群の雄1匹が死亡した。BHT投与群では投与7週後に用量依存性の体重減少がみられ、25,000 mg/kg飼料投与群の体重は対照群の38～48%であった。12,500 mg/kg飼料投与群の雌雄で軽度の造血亢進がみられた。(参照5、31)

¹⁷ 基礎飼料にラードサプリメントが添加されていることから参考資料とした。

¹⁸ 基礎飼料にラードサプリメントが添加されていることから参考資料とした。

¹⁹ 発がん性試験の用量設定試験であることから参考資料とした。

[厚 1_FAS35, 2.2.2.2, NCI, p10、事 37_NCI TR150, p9～11]

(7) 10 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料²⁰>

ラット (雌雄各 16 匹/群) に BHT を 10 週間混餌投与 (脂肪を 20%含有する飼料に BHT を 0、300、1,000 又は 3,000 mg/kg 飼料添加) する亜急性毒性試験が実施された。

投与期間中、対照群の雄 1 匹、0.1%群の雄 2 匹、3,000 mg/kg 飼料投与群の雄 4 匹及び雌 2 匹が死亡した。3,000 mg/kg 飼料 投与群の雄で軽度の体重増加抑制がみられたが、雌ではいずれの群にも BHT 投与の影響はみられなかった。雌雄とも血清コレステロール値に有意な変化はみられなかった。(参照 5) [厚

1_FAS35, 2.2.2.2, Frawley 1965, p10]

(8) 16 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料²¹>

ラット (離乳後、雌雄各 12 匹/群) に BHT を 16 週間混餌投与 (0 又は 1,000 mg/kg 飼料) する亜急性毒性試験が実施された。

成長率、体重、飼料摂取量、病理組織学的検査では対照群と BHT 投与群との差はみられなかった。組織学的変化を伴わない肝相対重量及び副腎重量の増加がみられた。生化学及び組織化学的検査では、肝グルコースリン酸及びグルコース 6 リン酸デヒドロゲナーゼ活性について対照群と BHT 投与群との差はみられなかった。(参照 5) [厚 1_FAS35, 2.2.2.2, Gaunt 1965a, p10]

(9) 4 週間亜急性毒性試験 (サル、経口)

サル (アカゲザル、哺乳期 3 頭/群又は幼若期 3 頭/群又は 2 頭/群) に BHT (溶媒: コーンオイル) を 4 週間経口投与 (哺乳期: 500 mg/kg 体重、幼若期: 50 又は 500 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。対照群にはコーンオイル投与又は非投与群が設定された。また、並行して BHA 投与試験が実施された。

血液及び血液生化学検査 (全血球数、血清ナトリウム、血清カリウム、ビリルビンコレステロール及び AST) 及び尿検査については毎週実施した。若齢サルでは投与 2 週後に 24 時間絶食させた上で肝生検を実施した。全動物について、投与期間終了後 24 時間絶食させた上で、剖検し、主要器官及び組織を採取し、病理組織学的検査 (電顕検査を含む) を実施した。また、肝組織中のタンパク質量、RNA、DNA 及びチトクローム P450 の分析並びに調製ミクロソームのニトロアニソール脱メチル化酵素及びグルコース-6-ホスファターゼ活性の測定が実施された。

投与期間中、すべての群で死亡個体はみられなかった。血液及び血液生化学検査並びに尿検査で異常はみられなかった。病理組織学的検査では、コーンオ

²⁰ 基礎飼料が脂肪を 20%含有していることから参考資料とした。

²¹ BHT 投与群が 1 用量のみのため参考資料とした。

イルを投与したすべての幼若期の投与群（BHT 投与群及び BHA 投与群並びに
コーンシロップ投与対照群）において、肝細胞質に軽度又は中等度の脂肪滴の
増加がみられた。BHT 及び BHA 投与群では、巨大肝細胞 (hepatocytomegaly)
及び核小体肥大がみられた。核小体について、電子顕微鏡観察を行った結果、
それぞれ 500 mg/kg 体重/日投与群でのみ、肝細胞の 15% に核小体の断片化が
みられた。肝組織中のタンパク質量、RNA、DNA 及びチトクローム P450 につ
いては、影響はみられず、BHT を投与した若齢期のサルでは、経時的なニトロ
アニソール脱メチル化酵素活性の増加及びグルコース-6-ホスファターゼ活性
の減少を示したが、哺乳期のサルでは影響はみられなかった。

以上の所見から、試験実施者は、BHA 及び BHT は、28 日間 50 mg/kg 体重
の用量で非ヒト霊長類に投与した場合、明らかな有害影響はないと仮定するこ
とが妥当であり、これは、ヒトでの使用量であるとしている。(参照 5、27、32)

[厚 1_FAS35, 2.2.2.4, p10、事 35_SIDS, p100, FR p42、事 34 原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、BHT は本試験において霊長類に
対して肝臓に適応性変化を誘導し、高用量投与においては核小体の断片化など
の所見がみられたが、NOAEL の設定はできないと判断した。

<事務局より>

本試験に食安委の見解は必要か。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 10 か月慢性毒性試験（マウス、混餌投与） <1986 年>

マウス（C3H、6～10 週齢、雌雄各 17～39 匹/群）に BHT を 10 か月間混餌
投与（0、500 又は 5,000 mg/kg 飼料（0、39、390 mg/kg 体重/日相当²²））す
る慢性毒性試験が実施された。対照群には市販飼料又は BHT 非添加の半合成
飼料が与えられた。投与期間終了後、肝臓と肺の増殖性病変を肉眼的に観察し、
明らかに腫瘍と判定された病変の約 50% について組織学的検査が実施された。

体重については、対照群より BHT 投与群は低値であった。

各群肝及び肺腫瘍の発生頻度を表 25 に示した。

雄では BHT 投与群で肝腫瘍（肝細胞腺腫）の発生が有意に増加したが、雌で
は増加はみられなかった。肺腫瘍（肺腺腫）の発生頻度は、対照群と BHT 投与
群との間で有意な差はみられなかった。

試験実施者は BHT 投与により、C3H マウスの雄に自然発生性の肝腫瘍の発
現が促進されたと結論している。

JECFA は、C3H マウスにおける自然発生性の肝腫瘍の発現は、性別、個体
密度、飼料中蛋白量及び摂取カロリーにより修飾されることが過去に示されて
いること、また、12 か月試験の背景データによると、肝腫瘍の発生率は雄で 41
～68%、雌で 6～13%であったことから、本試験で報告されている肝腫瘍発生率
についても、ほぼ同週齢の対照動物と顕著な差はなかったとしている。(参照 5、

²² *OECD SIDS の記載。原著には記載なし。

27、33、49) [厚 1_FAS35, 2.2.2.1, p9、事 35_SIDS p140-141、事 9_原著、厚 2_FAS21, p1]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、情報が限定されていること及びデータの傾向が明確でないことを踏まえ、本試験において、マウスへの発がん性については判断が困難であると考えた。

表 25 10 か月間慢性毒性試験（マウス）における肝及び肺の腫瘍発生頻度

群	肝腫瘍		肺腫瘍	
	雄	雌	雄	雌
市販飼料	7/38 (8)	2/28 (7)	2/38 (5)	4/28 (14)
BHT 非添加半合成飼料	2/37 (5)	0/39 (0)	2/37 (5)	4/39 (10)
BHT 500mg/kg 飼料添加飼料	15/26 ^b (58)	1/29 (3)	5/26 (19)	3/29 (10)
BHT 5,000mg/kg 飼料添加飼料	10/36 ^b (28)	2/46 (4)	5/36 (14)	9/46 (20)

a : 発生例数/検索動物数（括弧内は%）

b : BHT 非添加半合成飼料群と有意差あり（ $p < 0.05$ ）

（2）11 か月慢性毒性試験（マウス、混餌投与） <1986>

マウス（C3H、各群の雌雄・動物数の詳細不明）に、BHT 添加飼料（0 又は 5,000 mg/kg 飼料（390 mg/kg 体重/日相当²³））又は BHT 非添加半合成飼料を 1 か月間投与後、市販飼料で 10 か月間飼育する慢性毒性試験が実施された。

BHT 投与群及び BHT 非投与群の雄における肝腫瘍発生頻度は、それぞれ 3/35 匹（9%）及び 5/29 匹（17%）、肺腫瘍発生頻度は 2/35 匹（6%）及び 2/29 匹（7%）であった。（参照 33、33、49） [厚 2_FAS21, p1、事 35_OECD SIDS p141-142、事 9_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験において、マウスに対して発がん性は認められないと判断した。

要検討（3）1 年間慢性毒性試験（マウス、混餌投与） <1986>

マウス（BALB/c、雄、各群の供試動物数不明）に、BHT を 1 年間混餌投与（0、0.05%又は 0.5%）する慢性毒性試験が実施された。

各群における肝腫瘍の発生頻度（発生数/観察動物数）は、それぞれ、13%（4/30）、14%（6/43）及び 7%（2/28）であった。（参照 5、33） [厚 1_FAS35, p9、事 9_原著]

<事務局より>

JECFA モノグラフ FAS35 に単体投与の項目として、掲載されていることか

²³ OECD SIDS による変換

ら本項目に記載。しかし、原著を確認したところ、以下の問題点があることから削除することで良いか。

本試験では、10%～20%の腫瘍発生率になるように DMH 及び MNU 投与によるイニシエーションを行うプロモーション試験が行われている。複合作用は、後述しているところ。また、内容的にも、DMH 投与の BHT500mg/kg 飼料投与群で結腸腫瘍の発生がない、DMH の投与回数と BHT の濃度に一貫性がみられない。なお、(1) ～ (3) は同一文献に記載されている試験結果である。

要検討 (4) 12 か月間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1973>

マウス (BALB/c、8 週齢、18 匹/群) に BHT を 12 か月間混餌投与 (0.75%) する慢性毒性試験が実施された。

亜急性胆管炎を伴う重度の胆管過形成がみられた。(参照 5、34) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1, p10、事 28_原著]

要検討 (5) 16 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1974>

マウス (BALB/c、11 匹/群) に、BHT を 10 か月間又は 16 か月間混餌投与 (0 又は 0.75%) する慢性毒性試験が実施された。なお、本試験は (4) 12 か月間慢性毒性試験を踏まえた試験である。

投与 16 か月後において、いずれの群でも胆管過形成はみられなかった。

肺腫瘍の発生率は、投与 16 か月後の対照群 (BHT 非添加) で 24% (6/25 匹)、BHT 投与群で 63.6% (7/11 匹) であった。なお、JECFA FAS35 によると、供試動物数を増やした再試験が実施され、その結果、雌雄とも肺腫瘍発生率への影響はみられなかったとされている。(参照 5、35) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1, p10、事 10_原著]

<事務局より>

原著によれば (4) は (5) の試験の一部として実施されたもの。(5) の試験では、(4) で報告されている胆管過形成が 16 か月投与で全くみられていない。著者らは、このような所見を示すマウスの未成熟での死亡による可能性に言及しているが、機序は判然としない。原著では再試験が実施中とあるが、FAS35 によると JECFA に提出された追加資料では影響がなかったことが確認されたとされている。これを踏まえ、FAS35 の p10 及び原著をご確認の上、(4) 及び (5) の取扱についてご検討をお願いします。(例：①そのまま、②結合、③削除。また、①・②の場合は、位置づけを参考資料とするかどうか。)

(6) 100 週間慢性毒性・発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1976>

マウス (CFI、雌雄各 24 匹/群) に BHT を混餌投与 (0 mg/kg 飼料、10,000 mg/kg 飼料 (150 mg/kg 体重/日)、10,000 mg/kg 飼料を 4 週間投与後 25,000 mg/kg 飼料 (375 mg/kg 体重) に変更又は 10,000 mg/kg 飼料を 8 週間投与後

50,000 mg/kg 飼料（750 mg/kg 体重）に変更）する慢性毒性・発がん性試験が実施された。対照群には基礎飼料を投与した。いずれの投与群も 100 週齢に達するまで投与を継続した。

BHT 投与群に生存率の有意な低下はみられなかった。試験期間中の死亡又は途中安楽死動物では、小葉中心性の巨大肝細胞（greater centrilobular cytomegaly）及び巨大核がみられた。胆管過形成は試験動物 141 匹中 3 匹にみられた。悪性腫瘍の発生率については、対照群と 50,000 mg/kg 飼料 投与群に有意差はみられなかった。

肺腫瘍発生率を表 26 に示した。

BHT 投与群では肺腫瘍の発生率が増加したが、対照群と BHT 投与群の肺腫瘍を区別する組織形態学的特徴はみられなかった。また、良性卵巣腫瘍が BHT 投与群の雌では増加したが、対照群での発生はみられなかった。

OECD の SIDS（Screening Information Data Set）では、本試験の結果について、肺腫瘍発生率の背景値が高いことから、BHT が発がん物質として関与しているかを明らかにすることは困難であったとコメントしている。EFSA は、本試験における肺腫瘍発生頻度について BMD の試算を実施し、BMDL₁₀ を 38 mg/kg 体重/日と算出している。しかしながら、同様の試験でより検体数の多い試験において影響がないことを付記しており、ADI 設定においても直接的な参照をしていない。（参照 5、6、27） [厚 1_FAS35, 2.2.3.1 p10-11、事 35SIDS, p144、厚 3_EFSA p18]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、肺腫瘍発生率の背景値が高いことから、本試験において、マウスへの発がん性については判断できなかった。

表 26 BHT の慢性毒性試験（マウス、混餌投与）における肺腫瘍発生率

群		動物数	肺腫瘍発生率 (%)
BHT 濃度 (mg/kg 飼料)	BHT 摂取量 ^a (mg/kg 体重/日相当)		
0	0	48	47
10,000	100	48	53
25,000 ^a	250	48	74
50,000 ^b	500	48	75

a：1%を4週間投与後、2.5%に変更

b：1%を8週間投与後、5%に変更

（7）96 週間発がん性試験（マウス、混餌） <1982>

マウス（B6C3F1、雌雄各 51 又は 52 匹）に BHT を 96 週間混餌投与（0、200、1,000 又は 5,000 mg/kg 飼料。飼料分析値ではそれぞれ 200、800 又は 4000 mg/kg 飼料（0、30、120 又は 600 mg/kg 体重/日相当²⁴））する発がん性

²⁴ JECFA の変換式を用いて食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会にて算出。

試験が実施された。体重及び摂餌量測定を定期的に行い、BHT 投与期間終了後、すべての生存動物をさらに基礎飼料で 8 週間飼育した後、剖検した。剖検時に各群 31 匹から血液及び尿を採取し、血液検査（赤血球数、白血球数、血小板数、Hgb 並びに Ht）、血液生化学検査（AST、GPT、ALP、TB、TCHOL、TP、Glu、BUN 及び A/G 比）及び尿検査（尿比重及び尿定性（pH、蛋白、Glu、ケトン、ビリルビン、潜血及びウロビリノーゲン））が実施され、さらに全剖検例について、脳、肺、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、唾液腺、精巣、卵巣及び下垂体の重量を測定し、全身各組織について病理組織検査が実施された。

毒性所見を表 27 に示した。

死亡率及び摂餌量について対照群との顕著な差はみられなかった。5,000 mg/kg 飼料投与群の雄及び 1,000 mg/kg 飼料以上の投与群の雌で体重増加抑制がみられた。血液及び尿検査では異常はみられなかった。5,000 mg/kg 飼料投与群の雄で AST の有意な増加がみられた。試験実施者は、絶対又は相対器官重量の変動が散見されたが、用量依存性に乏しく、関連する病理組織学的変化もみられなかったことから、毒性学的意義はないとしている。病理組織学的検査では、腫瘍性病変として、肺腺腫、肝細胞がん及び悪性リンパ腫が比較的高い発生頻度を示したが、いずれも対照群と BHT 投与群に有意差はみられなかった。

試験実施者は、本試験において発がん性はみられないとしている。（参照 5、27、36） [FAS35, 2.2.3.1 p11、SIDS, p143-144、事 30_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、雌雄で認められた体重増加抑制及び雄で認められた AST の増加を毒性所見と考え、本試験における NOAEL は、雄で 800 mg/kg 飼料（120 mg/kg 体重/日）、雌で 200 mg/kg 飼料（30 mg/kg 体重/日）と判断した。また、本試験では、発がん性は認められないと判断した。

表 27 マウスの 96 週間発がん性試験（混餌投与）

投与量（mg/kg 飼料）	雄	雌
4,000	体重増加抑制 GOT の有意増加	体重増加抑制
800	毒性所見なし	
200		毒性所見なし

（8）108 週間発がん性試験（マウス、混餌投与） <1979>

マウス（B6C3F1、雌雄各 20 匹/対照群、雌雄各 50 匹/BHT 投与群）に BHT を 107～108 週間混餌投与（0、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料（0、450、又は 900 mg/kg 体重/日相当²⁵⁾）する発がん性試験が実施された。

投与期間中は一般状態観察（1 日 2 回）、腫瘍の触診（月 1 回）及び体重測定（少なくとも月 1 回）を行い、投与終了時生存例及び途中死亡例（可能な限り）

²⁵⁾ OECD SIDS による。JECFA の変換式による値と一致する。

1 について剖検及び主要器官・組織の病理組織学的検査が実施された。

2 発がん性に係る病理組織学的検査結果を表 28 に示した。

3 BHT 投与群の雌雄に用量依存性の体重増加抑制がみられた。投与期間終了時
4 の生存率は、対照群、3,000 mg/kg 飼料投与群及び 6,000 mg/kg 飼料投与群に
5 おいて、それぞれ雄では 60%、86%及び 92%、雌では 85%、82%及び 90%であ
6 り、雄では死亡率の有意な減少がみられた。病理組織学的検査では、雄で肝臓
7 の肥大肝細胞巣、ペリオシス、肝細胞変性・壊死及び肝細胞空胞化の用量依存
8 性の増加が、雌で肺胞/細気管支腺腫又はがんの発生頻度の有意な増加が 3,000
9 mg/kg 飼料投与群でみられた。

10 試験実施者は、雄の肝臓における非腫瘍性傷害性所見の増加は BHT 投与に
11 関連したものである可能性があると考えしている。一方、雌の肺における肺胞/
12 細気管支腺腫又はがんの発生頻度は 3,000 mg/kg 飼料投与群では有意に増加し
13 たが、6,000 mg/kg 飼料投与群では有意差がなく、用量依存性がみられなかつ
14 たことから、BHT 投与との関連性は明らかでないとして、マウスに対する発がん
15 性はないとしている。(参照 5、31) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1 p11、事 37_NCI
16 TR150]

17 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、雌の肺胞/細気管支腺腫又はがん
18 の発生頻度については、3,000 mg/kg 飼料投与群では、対照群ではみられなか
19 ったがんの発生が認められたこと、また、肺胞/細気管支腺腫又はがんの発生頻
20 度が、当該試験場所の背景値 21/440 例 (4.7%) を超えているが、用量依存性は
21 認められず、6,000 mg/kg 飼料の高用量投与群では有意差が認められないこと
22 から、本試験の雌マウスにおける BHT の肺発がん性については判断できな
23 いと考えた。また、3,000 mg/kg 飼料以上の投与群の雄では、肝臓の傷害性所見の
24 増加が認められたことから、本試験の LOAEL を 3,000 mg/kg 飼料 (450 mg/kg
25 体重/日) と判断した。
26

表 28 BHT の発がん性試験（マウス、混餌投与）における
腫瘍性及び非腫瘍性病変発生頻度^a

性別		雄			雌		
投与量		0	3,000	6,000	0	3,000	6,000
肝臓	検査動物数	20	48	49	20	46	49
	増殖性病変						
	肝細胞腺腫	2 (10)	11 (23)	7 (14)	0 (0)	3 (7)	2 (4)
	肝細胞がん	9 (45)	12 (25)	6 (12) ^c	1 (5)	1 (2)	3 (6)
	肝細胞腺腫又はがん	11 (55)	23 (48)	13 (27) ^b	1 (5)	4 (9)	5 (10)
	非増殖性病変						
	肥大肝細胞巣	0 (0)	9 (19)	20 (41)	0 (0)	1 (2)	1 (2)
	ペリオシス	0 (0)	34 (71)	43 (88)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肝細胞変性・壊死	2 (10)	34 (71)	45 (92)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肝細胞空胞化	3 (15)	29 (42)	22 (45)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肺	検査動物数	20	50	49	20	46	50
	増殖性病変						
	肺泡/細気管支腺腫	5 (25)	12 (24)	7 (14)	1 (5)	4 (9)	4 (8)
	肺泡/細気管支がん	2 (10)	9 (18)	10 (20)	0 (0)	12 (26)	3 (6)
	肺泡/細気管支腺腫 又はがん	7 (35)	21 (42)	17 (49)	1 (5)	16 (35) ^c	7 (14)

a : 発生例数（カッコ内は発生率（%））

b : 対照群と有意差あり（ $p < 0.05$ 、Fischer exact test）

c : 対照群と有意差あり（ $p < 0.01$ 、Fischer exact test）

（9）104 週間発がん性試験（マウス、混餌）＜1988＞

マウス（B6C3F1、8 週齢、雌雄各 50 匹）に BHT を 104 週間混餌投与（0、10,000、又は 20,000 mg/kg 飼料（雄/雌：0/0、1,640/1,750、3,480/4,130 mg/kg 体重/日相当））する発がん性試験が実施された。剖検・病理組織学的検査は、BHT 投与期間終了後、基礎飼料で 16 週間継続飼育した後、実施された。

肝腫瘍の発生頻度を表 29 に示した。

摂餌量について対照群と BHT 投与群との顕著な差はみられなかった。BHT 投与群の雌雄で平均体重の低値がみられ、体重増加抑制は雌でより顕著であった。生存率は BHT 投与群で高く、対照群、0.3%群及び 0.6%群において、それぞれ雄では 40%、64%及び 72%、雌では 58%、81%及び 89%であった。

BHT 投与群の雄で、用量依存性を伴った肝細胞腺腫あるいは変異肝細胞巣の発生頻度の有意な増加がみられた。一方、リンパ腫及びリンパ性白血病の発生率は、雌雄ともに用量依存性に低下した。（参照 5、27、37）**[厚 1_FAS35, 2.2.3.1 p11、事 35_SIDS、事 11_原著]**

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、BHT 投与群の雄で、肝細胞腺腫

の発生頻度が用量依存性を伴って増加し、20,000 mg/kg 飼料 投与群では有意差が認められたことから、本試験において雄マウスの肝臓に対し発がん性が認められると判断した。

表 29 マウス 104 週間発がん性試験（混餌投与）における肝臓の変異肝細胞
巣数^a及び腫瘍性所見発生頻度^b

	雄			雌		
投与量 (mg/kg 飼料)	0	10,000	20,000	0	10,000	20,000
被検動物数 ^c	32	42	47	41	44	40
変異肝細胞巣	1 (0.03)	25 (0.60) ^d	42 (0.89) ^d	0 (0)	1 (0.02)	1 (0.03)
肝細胞腺腫	6 (19)	16 (38)	25 (53) ^d	5 (12)	7 (16)	2 (5)
肝細胞がん	7 (22)	11 (26)	8 (17)	2 (5)	1 (2)	0 (0)

a：総発生個数（括弧内は個数/匹）

b：例数（括弧内は発生率（%））

c：生存期間が投与開始後 62 週を超えた個体

d：対照群と有意差あり（ $p < 0.01$ 、カイ二乗試験）

(10) 24 か月慢性毒性試験（ラット、混餌投与） <1977>

ラット（JCL、4 週齢、雌雄各 40 匹/群）に BHT を 24 か月間混餌投与（0、50、620 又は 3,200 mg/kg 飼料（雄/雌：0/0、2.14/2.49、9.61/10.26 又は 144.8/170.9 mg/kg 体重/日相当））する慢性毒性・発がん性試験が実施された。各群は投与開始後 3、6、12 か月にそれぞれ 5 匹を、24 か月に 10 匹を中間検査に供し、残り 15 例は終生まで投与を継続した。各中間検査及び最終剖検例について血液及び血液生化学検査、尿検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査が実施された。

死亡率、平均寿命、体重及び摂餌量に BHT 投与による影響はみられなかった。3,200 mg/kg 飼料投与群の雌雄で、投与後 3 か月において血清カリウム値の増加が、50 mg/kg 飼料投与群の雌で、投与後 12 か月において血清コレステロールの増加がみられた。また 3,200 mg/kg 飼料投与群の雌雄で、投与後 6 か月及び 12 か月において肝重量の増加もしくは増加傾向がみられ、肝臓では、肝細胞の軽度腫脹並びに細胞質での好塩基性物質の凝集が、腎臓では投与後 3 か月及び 6 か月において尿細管上皮の空胞化が散見されたが、これらの組織変化は投与後 24 か月及び終生投与動物にはみられなかった。また、BHT 投与に起因すると考えられる腫瘍の発生もみられなかった。

試験実施者は、肝臓及び腎臓の組織所見は適応性変化と考え、本試験における NOAEL を 3,200 mg/kg 飼料としている。また、発がん性はみられないとしている。（参照 5、28） [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、厚 3_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、血液生化学検査における血清カリウム及び血清コレステロールの変動は一過性であり、投与後 3 か月から 12 か

月に散見された肝臓及び腎臓の組織学的変化も投与後 24 か月以降には認められなかったことから毒性学的意義に乏しく、その他 BHT 投与に起因すると考えられる組織学的異常は認められていないことから、本試験における NOAEL は最高投与量である 3,200 mg/kg 飼料(雄/雌:144.8/170.9 mg/kg 体重/日相当)と判断した。また、本試験においてラットに対して発がん性は認められないと判断した。

(11) 105 週間発がん性試験（ラット、混餌投与） <1979>

ラット（F344、雌雄各 50 匹/BHT 群、雌雄各 20 匹/対照群）に、BHT を 105 週間混餌投与（0、3,000 及び 6,000 mg/kg 飼料（0、225 及び 450 mg/kg 体重/日相当²⁶））する発がん性試験が実施された。投与期間中は一般状態観察（1 日 2 回）、腫瘤の触診（月 1 回）及び体重測定（少なくとも月 1 回）を行い、投与終了時生存例及び途中死亡例（可能な限り）について剖検及び主要器官・組織の病理組織学的検査が実施された。

肺胞組織球症及び下垂体腫瘍発生頻度を表 30 に示した。

死亡率に有意な差はみられなかった。BHT 投与群の雌雄で用量依存性の体重増加抑制がみられた。病理組織学的検査では、非腫瘍性病変として、肺胞組織球症が対照群を含む全ての群で観察されたが、その発生頻度は特に 6,000 mg/kg 飼料投与群の雌で高かった。腫瘍性病変として、BHT 投与群の雌で下垂体腫瘍発生頻度の低下がみられたが、その他の腫瘍性病変の発生頻度については対照群と BHT 投与群で有意な差はみられなかった。

試験実施者は、雌に認められた肺胞組織球症の発生頻度の増加は、BHT 投与に関連したものである可能性があると考えしている。また、本試験において発がん性はみられないとしている。（参照 5、31、31） [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、事 35_SIDS, p127、事 37_NCI TR150]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、肺胞組織球症の発生頻度の増加が 6,000 mg/kg 飼料投与群の雌で認められたことから、本試験における NOAEL を 3,000 mg/kg 飼料（225 mg/kg 体重/日）と判断した。また、本試験においてラットに対して発がん性は認められないと判断した。

²⁶ OECD SIDS による変換。

表 30 ラット 105 週間発がん性試験（混餌）における肺胞組織球症及び下垂体腫瘍発生頻度^a

	雄			雌		
投与量 (mg/kg 飼料)	0	3,000	6,000	0	3,000	6,000
肺胞組織球症 (限局性)	1/20 (5)	4/49 (8)	7/49 (14)	2/18 (11)	12/48 (25)	21/49 (43)
下垂体腫瘍 ^b	7/19 (37)	9/47 (19)	9/47 (19)	8/18 (44)	9/48 (19) ^c	5/49 (10) ^d

a : 発生例数/検査動物数（括弧内は発生率(%)）

b : 雄は腺腫又はがん、雌は腺腫

c : 対照群と有意差あり（ $p<0.05$ ）

d : 対照群と有意差あり（ $p<0.01$ ）

<事務局より>

原著では、肺胞組織球症が対照群を含む全群でみられたが、高用量群の雌でもっとも高頻度（most often observed in the high dose）であり、結論では、雌の肺胞組織球症の増加は BHT 投与に関連したものかもしれない（may have been related）としている。

非腫瘍性病変についての統計学的評価は未実施

(12) 104 週間慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与） <1981>

ラット（Wistar 系、7 週齢、雌雄各 57 匹/群、雌雄各 36 匹/対照群）に BHT を 104 週間混餌投与（0、2,500 又は 10,000 mg/kg 飼料）する慢性毒性・発がん性試験が実施された。

体重及び摂餌量は定期的に測定し、投与期間終了後、血液を採取し、血液検査（赤血球数、白血球数、Hgb 並びに Ht）及び血液生化学検査（AST、GPT、 γ -GTP、ALP、CHE、TP、TChol、TG、BUN、CRE、UA、TB、A/G、 β -LP 比、Na、Cl 及び IP）が実施された。剖検後、主要器官（肝臓、脾臓並びに腎臓）の重量を測定し、全身諸器官について病理組織学的検査が実施された。

毒性所見を表 31 に示した。

投与開始後 96 週以降、10,000 mg/kg 飼料投与群の雄で死亡率が有意に増加し、投与終了時の生存率は 40%（対照群は 68%）であった。摂餌量に影響はみられなかったが、有意な体重増加抑制が 10,000 mg/kg 飼料 投与群の雄で投与開始後 60 週まで、雌は投与期間中にわたってみられた。

BHT 投与群の雄に TG の用量依存性の有意な低下及び GGT の有意な増加が、雌に TChol の有意な増加がみられた。

臓器重量では、BHT 投与群の雌雄に肝臓の絶対及び相対重量増加が、雌に脾臓の絶対及び相対重量低下がみられた。

BHT 投与群の雌で肝臓結節性過形成及び脾臓がん並びに雌雄で下垂体腺腫及び腺がんの発生頻度が増加したが対照群との有意差はみられなかった。

試験実施者は、本試験において発がん性はみられないとしている。(参照 5、27、38) [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、事 35_SIDS、事 31_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験において BHT 投与に起因すると考えられる腫瘍発生頻度の増加はみられなかったことから、本試験においてはラットに対して発がん性は認められないと判断した。また、本試験の LOAEL は、雄でみられた TG の低下及び GGT 増加並びに雌で見られた TChol 増加、肝臓重量の増加及び脾臓重量の低下に基づき、最小投与量である 2,500 mg/kg 飼料であると判断した。

表 31 108 週間ラット慢性毒性・発がん性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 飼料)	雄	雌
10,000	死亡率増加(96 週以降)、 体重増加抑制 (60 週まで)	体重増加抑制 (全期間)
2,500	TG 低下、GGT 増加 肝臓重量の増加	TChol 増加 肝臓重量の増加 脾臓重量の低下

<事務局より>

雌においてコレステロールの増加を伴っていることを踏まえ、本試験での肝臓重量の増加は、毒性所見としてよい。

(13) 子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与） <1986>

>

ラット（Wistar 系、P 世代：雌雄各 40～60 匹/群）に、BHT を 13 週間混餌投与（0、25、100 又は 500 mg/kg 体重/日相当）後、各群の雌雄を交配させて得られた児動物（F₁ 世代：雌雄各 80～100 匹/群）に、BHT を離乳後から 144 週齢まで混餌投与（0、25、100 又は 250 mg/kg 体重/日相当）する慢性毒性及び発がん性試験が実施された。なお、本試験の生殖・発生毒性に関する部分については、「7（4）繁殖毒性試験（ラット、混餌投与）」にて後述する。

慢性毒性・発がん性に関する毒性所見を表 32 及び表 33 に示した。

子宮内ばく露を受けた F₁ 世代において、一般症状及び血液検査で BHT 投与の影響はみられなかった。

BHT 投与群では対照群と比較して生存率の増加及び体重増加抑制がみられ、投与 138 週時の体重は、各投与群それぞれ、雄で 7、11 及び 21%、雌で 5、10 及び 16%の低値を示した。

血液生化学検査では、250 mg/kg 体重投与群の雌雄でコレステロール増加及

1 びトリグリセライドの減少が、雌でリン脂質の増加がみられた。

2 病理組織学的検査では、雄で肝細胞がんの、雌雄で肝細胞腺腫の発生頻度の
3 増加がみられた。その他の腫瘍について有意な増加はみられなかった。非腫瘍
4 性病変として、雄では胆管増殖及び嚢胞が、雌では限局性肝細胞肥大が、用量
5 依存性の発生頻度の増加を示した。

6 JECFA は、児動物の体重及び「7 の (4) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)」
7 に後述する本試験の生殖・発生毒性試験における、非発がん性の毒性として、
8 同腹児数の減少、性比²⁷及び児動物の授乳期間における体重増加抑制への影響
9 から、本試験における NOAEL を 25 mg/kg 体重/日としている。発がん性につ
10 いては、対照群と比較して BHT 投与群では、生存率が高く、BHT 投与群でみ
11 られた肝腫瘍の多くは通常の発がん性試験のばく露期間を超えた投与 141～
12 144 週間後の剖検時に発見されたものであった。このため、BHT の発がん性を
13 評価することは困難であるとしている。(参照 5、6、27、39) [厚 1_FAS35、事
14 35_SIDS,p126-127、厚 3_EFSA, p19-21、事 12_原著]

15 EFSA は、一般毒性については、JECFA と同様の見解であり、本試験におけ
16 る NOAEL を NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断している。また、ラットの子
17 宮内ばく露相を伴った慢性毒性試験における肝腫瘍発現には閾値があるものと
18 みなし、BMD 分析により、肝細胞がんの発生率に関する BMDL₁₀ を 247 mg/kg
19 体重/日と推定した。

20 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、F₁ 世代動物の経時的な体重増加
21 量の抑制及び後述する生殖・発生毒性試験の結果に基づき、本試験の NOAEL
22 を 25 mg/kg 体重/日と判断した。発がん性については、JECFA と同様の見解か
23 ら、本試験において評価することは困難であると考えた。しかしながら、仮に
24 本試験において発がん性が認められるとした場合であっても、NOAEL である
25 25 mg/kg 体重/日を超えると考えた。また、肝細胞がんの発がん性に関して
26 EFSA において算出された BMDL₁₀ については、考慮することとした。

27 原著論文には記載がない。

表 32 子宮内ばく露相を含む慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）における F1 世代の毒性所見

投与量 (mg/kg/日)	雄	雌
250	- 遊離コレステロール増加（投与 9、19 及び 43 週時） - トリグリセライド減少（投与 19 及び 43 週時）	- 体重低値 - 遊離コレステロール増加（投与 9、19 及び 43 週時） - 総コレステロール増加（投与 9 及び 19 週時） - リン脂質増加（投与 19 及び 108 週時） - トリグリセライド減少（投与 43 及び 108 週時）
100	・体重増加抑制	毒性所見なし
25		

表 33 子宮内ばく露相を含む慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）の肝臓における増殖性及び非増殖性病変発生頻度^a

性別	雄				雌			
投与量 (mg/kg 体重/日)	0	25	100	250	0	25	100	250
検査動物数	100	80	80	99	100	79	80	99
増殖性病変								
結節性過形成	2	0	2	2	2	0	4	5
腺腫	1	1	5	18 ^b	2	3	6	12 ^d
がん	1	0	1	8 ^c	0	0	0	2
非増殖性病変 ^e								
限局性肝細胞肥大	6	7	14	8	1	7	11	16
胆管増生	1	2	5	12	5	5	2	4

a：発生例数

b：対照群と有意差あり（ $p<0.001$ ）、かつ傾向検定で有意差あり（ $p<0.001$ ）

c：対照群と有意差あり（ $p<0.05$ ）、かつ傾向検定で有意差あり（ $p<0.01$ ）

d：傾向検定で有意差あり（ $p<0.05$ ）

e：非増殖性病変について、統計学的評価は行われていない

<事務局より>

机上配布資料を参照

(14) 子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験試験（ラット、混餌投与） 1994・1997>

ラット（Wistar 系、P 世代：雄 6 匹（13 週齢）及び雌 48 匹（9 週齢）/群）に BHT を 3 週間混餌投与（0、25、100 又は 500 mg/kg 体重/日相当）後、各群の雌雄を 8：1 の組み合わせで最長 21 日間にわたって交配させ得られた児動物（F1 世代：雄 37～52 匹/群）に BHT を離乳後から 22 か月間混餌投与（0、

25、100、250 mg/kg 体重/日相当) する慢性毒性試験が実施した。なお、離乳後 1、6、11 及び 16 か月時に 5～13 匹/群について中間検査を実施した。本試験は、「(13) 子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与)」の検証試験の一つとして実施された。なお、本試験の生殖・発生毒性に関する検討については、「7 の (6) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)」にて後述する。

慢性毒性・発がん性に関する毒性所見を表 34 に示した。

一般状態及び摂餌量に影響はみられなかった。対照群と比較して 250 mg/kg 体重/日投与群で体重の低値がみられた。器官重量では、肝臓相対重量が用量依存性に増加し、250 mg/kg 体重/日投与群で有意な増加を示したが、絶対重量に影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、用量依存性に小葉中心性の肝細胞好酸性肥大が、離乳後 6 か月以降から観察された。肝臓の免疫組織化学では、250 mg/kg 体重/日投与群でチトクローム P450-2B の細胞内量増加及び分布拡大がみられた。

P450-1A 及びエポキシド加水分解酵素の染色性に変化はみられなかった。また、門脈周囲肝細胞における GGT の顕著な発現が離乳後 11 か月以降からみられ、その程度は弱いものの 100 mg/kg 体重/日投与群でも観察された。グルコース-6-ホスファターゼの分布に変化はみられず、BHT 投与に起因する胆管過形成及び門脈周囲炎症性細胞浸潤もみられなかった。変異肝細胞巣は散見され、25 mg/kg 体重/日投与群でも 11 か月時に 1 頭のみでみられたが、16 か月以降ではみられなかった。離乳後 22 か月時において、250 mg/kg 体重/日投与群で、好酸性及び好塩基性細胞巣が高頻度にみられた。また、グルコース-6-ホスファターゼ欠損変異肝細胞巣が少数例にみられ、その差は有意であった。また、GGT 陽性変異肝細胞巣の増加はみられなかったが、肝細胞結節を伴う個体が増加 (6/19 例) した。離乳 4 週以降、肝細胞増殖活性の増加はみられなかった。

異物代謝関連の肝酵素活性については、250 mg/kg 体重/日投与群で、総チトクローム含量が 21 日齢で 30～60%まで増加し、さらにエポキシド加水分解酵素、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ及び PROD (ペントキシレゾルフィン-O-デペンチラーゼ) 活性も 100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で有意に増加した。肝グルタチオン量及びグルコース-6-ホスファターゼ活性に影響はみられなかった。

腎臓の病理組織学的検査では、離乳 11 か月以降で顕著となる慢性腎症の重篤度の減弱がみられた。副腎に影響はみられなかった。また、濾胞の縮小、コロイドの消失又は減少、濾胞の不規則性、充血及び濾胞細胞数増加を特徴とする甲状腺機能亢進像が、100 mg/kg 体重/日投与群 (75～82%が中等度の変化) 及び 250 mg/kg 体重/日投与群 (全例が高度な変化) でみられた。血清サイロキシン濃度に変化はみられなかった。

JECFA は、100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で肝酵素誘導及び甲状腺機能亢進像が認められていること、並びに子宮内ばく露相を伴う F1 世代における前がん病変がみられた用量及びその病理所見を踏まえ、閾値を有する毒性評価が

可能であるし、本試験の NOEL を 25 mg/kg 体重/日と判断している。(参照 5、6、27、40) [厚 1_FAS35 2.2.3.2 p13-15、厚 3_EFSA, p21-22、事 35_SIDS89-95、事 13_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、JECFA における本試験の見解を支持し、本試験において閾値を有する毒性評価が可能であると考え、肝酵素誘導及び肝臓の門脈周囲肝細胞 GGT 発現増加像並びに甲状腺機能亢進像に基づき本試験の NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断した。

表 34 子宮内ばく露相を伴うラットの慢性毒性試験（混餌）における毒性所見

投与量 (mg/kg/日)	毒性所見
250	体重低値 好酸性・好塩基性細胞巣増加 G6P 欠損変異肝細胞巣増加 肝細胞結節増加（6/19 例）
100 以上	肝相対重量増加 門脈周囲肝細胞 GGT 発現増加 エポキシド加水分解酵素活性増加 甲状腺：濾胞縮小・不規則、コロイドの消失又は減少、充血及び濾胞細胞数増加
25 以下	所見なし

(15) 76 週間慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与） <1990>

ラット（F344 系、雄、BHT 投与群：21 匹、対照群：36 匹）に BHT を 76 週間混餌投与（0、100、300、1,000、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料（0、7.5、23、75、225 又は 450 mg/kg 体重/日相当））する慢性試験が実施された。投与 12、36 及び 48 週時点で各群 4 匹を、投与 76 週時に全ての生存ラットについて剖検の上、病理組織学的検査が実施された。貯蔵鉄欠乏変異肝細胞巣の検討のため、各剖検時の 2 週間前から鉄が負荷（鉄 12.5 mg/kg 体重を 3 回/週、皮下投与）された。

毒性所見を表 35 に示した。

投与期間中に死亡はみられなかった。3,000 mg/kg 飼料以上の投与群で最終体重の有意な低値（約 10%）がみられた。また、6,000 mg/kg 飼料投与群で肝臓絶対及び相対重量は有意に増加した。貯蔵鉄欠乏変異肝細胞巣は、投与 48 週及び 78 週で軽度な増加傾向がみられた。肝細胞腺腫は全群でみられたが、発生頻度に用量依存性はみられなかった。肝細胞がんの発生はみられなかった。(参照 5、27、41) [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p15、厚、事 35_SIDS, p84-85、事 32_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験においては BHT について発がん性はみられないとし、体重の減少に基づき、NOAEL は 1,000 mg/kg 飼料（75 mg/kg 体重/日）であると判断した。

表 35 76 週間慢性毒性・発がん性試験（ラット）における毒性所見

投与量 (mg/kg 飼料)	毒性所見
6,000	肝臓重量の増加
3,000 以上	体重減少
1,000 以下	所見なし

(16) 110 週間慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）＜1990＞

ラット（F344 系、雄、27 匹/群）に BHT を 110 週間混餌投与（0 又は 12,000 mg/kg 飼料（0 又は 900 mg/kg 体重/日相当））する慢性毒性・発がん性試験が実施された。投与期間終了後、生存している全てのラットについて剖検の上、病理組織学的検査が実施された。

毒性所見を表 36 に示した。

生存率は投与 80 週以降、対照群及び BHT 投与群とも低下したが、両群の差はみられなかった。BHT 投与群で有意な体重増加抑制及び肝臓絶対重量減少がみられた。BHT 投与群で変異肝細胞巢の発生頻度及び大きさは軽度に低下し、肝細胞腺腫の発生頻度の低下がみられた。また、主要臓器において肉眼的に確認された腫瘍の発生頻度に用量依存性はみられなかった。（参照 5、27、41）

1_FAS35, 2.2.3.2 p15、事 35_SIDS, 事 32_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験においてはラットに対して発がん性は認められないと判断した。

表 36 110 週間慢性毒性・発がん性試験（ラット）での毒性所見

投与量 (mg/kg 飼料)	毒性所見
12,000	体重増加抑制、肝臓重量減少

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖毒性試験（マウス、混餌投与）＜1993＞

マウス（Crj:CD-1 系、P 世代：5 週齢、雌雄各 10 匹/群）に BHT を混餌投与（0、150、450、1,350 又は 4,050 mg/kg 飼料（0、22.5、67.5、202.5 又は 607.5 mg/kg 体重/日相当²⁸））する 3 世代繁殖毒性試験が実施された。P 世代の雌雄には交配の 4 週間前から投与を開始し、9 週齢時に 5 日間交配して得られた児動物（F₁ 世代：雌雄各 10 匹/群）は、生後 4 週で離乳し、9 週齢時に交配した。さらに、得られた児動物（F₂ 世代：雌雄各 10 匹/群）も同様に交配し、得られた児動物は 21 日齢まで飼育を継続した。

毒性所見を表 37 に示した。

F₁ 及び F₂ 世代では、同腹児数及び同腹児重量、性比、哺育児体重の他、機能

²⁸ JECFA による換算式を用いて算出。

及び神経行動学的パラメーターが測定された。

P 世代では、哺育期間中に 150 及び 450 mg/kg 飼料投与群で、それぞれ 1 例が死亡した。

F₁ 及び F₂ 世代では、同腹児数、同腹児体重並びに性比への影響はみられなかった。授乳期の 7～21 日間における体重増加抑制が、4,005mg/kg 飼料 投与群の F₁ 世代でみられたが、F₂ 世代では体重に差はみられなかった。F₂ 世代の雄では、オープンフィールド試験での 180 度転回スコアが低値であったが、雌では影響はみられなかった。

試験実施者は、本試験において繁殖性及び児動物に対して有害な影響はみられないとしている。

EFSA の ANS パネルは、本試験における NOAEL を F₁ 世代の授乳期にみられた体重増加抑制の所見に基づき、0.135%と判断している。（参照 5、6、27、42）**[厚 1_FAS35, 2.2.4.1 p15、厚 3_EFSA p25、事 35_SIDS, p147-149、事 33_原著]**

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、F₁ 世代の授乳期にみられた体重増加抑制の所見に基づき、本試験の NOAEL を 0.135%（202.5 mg/kg 体重）と判断した。

表 37 3 世代繁殖毒性試験（マウス、混餌投与）における毒性所見

投与量 (mg/kg 飼料)	毒性所見
4,005	体重増加抑制（F ₁ 世代の授乳期の 7～21 日間）
1,350	所見なし

（2）発生毒性試験（マウス、混餌投与）＜参考資料＞²⁹

マウス (outbred albino、動物数不明) に 10%又は 20%ラード含有飼料に BHT を添加（0、1,000 又は 5,000 mg/kg 飼料（0、150 又は 750 mg/kg 体重/日相当））し、出産前 64～92 日間混餌投与する発生毒性試験が実施された。

1,000mg/kg 飼料 投与群に影響はみられなかった。5,000mg/kg 飼料 投与群では、出産までの日数増加並びに同腹児重量、生後 12 日の平均生存児動物数及び体重の有意な低下がみられた。

EFSA の ANS パネルは、本試験の NOAEL を 1,000mg/kg 飼料（150 mg/kg 体重/日相当）と判断している。（参照 6）**[EFSA p24]**

（3）発生毒性試験（マウス、経口投与）

妊娠マウス（JCl-ICR 系、7 日間投与：26～30 匹/群、単回投与：19～20 匹）に BHT を経口投与（7 日間**[妊娠 7～13 日]**投与：0、70、240 又は 800 mg/kg

²⁹ 基礎飼料にラードプリメントが添加されていること及び試験内容に不明な多く認められることから参考資料とした。

体重/日、単回（妊娠 9 日）投与：0、1,200 又は 1,800 mg/kg 体重/日相当）する発生毒性試験が実施された。対照群は無処置とした。

毒性所見を表 38 及び表 39 に示した。

7 日間投与では、母動物において BHT 投与に起因すると考えられる死亡はみられず、一般状態、体重及び剖検所見にも異常はみられなかった。800 mg/kg 体重/日投与群において脾臓絶対及び相対重量の有意な増加並びに腎臓相対重量の有意な減少がみられた。帝王切開時子宮内状況では、妊娠黄体数、着床痕数、生存胎児数、胚死亡（早期、後期）、性比及び胎児重量に BHT 投与の影響はみられなかった。また、胎児の外表、骨格及び内臓検査において、奇形及び変異の発現並びに化骨進行度に BHT 投与の影響はみられなかった。

単回投与では、母動物において、1,200 mg/kg 体重/日投与群で 2/20 例、1,800 mg/kg 体重/日投与群で 5/20 例が死亡し、投与後の体重増加抑制は 1,200 及び 1,800 mg/kg 体重/日投与群でみられた。肺については、絶対重量は 1,200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で、脾臓絶対重量は 1,800 mg/kg 体重/日投与群で有意に増加したが、剖検では異常はみられなかった。帝王切開時の生殖器の状況は、妊娠黄体数、着床痕数、生存胎児数、胚死亡（早期、後期）、性比及び胎児重量に BHT 投与の影響はみられなかった。また、胎児の外表、骨格及び内臓検査において、1,200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で、腰椎後椎骨の化骨進行度の低下がみられたが、奇形及び変異の発現に BHT 投与の影響はみられなかった。

試験実施者は、BHT はマウスに対して催奇形性を示さないとしている。（参照 28）[厚 4 都衛研 1977]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験における母動物及び胎児の NOAEL を脾臓重量の増加及び腎臓相対重量の増加に基づき、240 mg/kg 体重/日と判断した。また、催奇形性は認められないと判断した。

表 38 発生毒性試験（マウス・7 日間経口投与）における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
800	脾臓重量の増加及び腎臓相対重量の減少	所見なし
240 以下	所見なし	

表 39 発生毒性試験（マウス・単回経口投与）における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
1,800	脾臓重量増加	
1,200 以上	体重増加抑制 肺重量増加	腰椎後椎骨の化骨進行の低下

(4) 繁殖毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット（Wistar 系、P 世代：雌雄各 40～60 匹/群）に、BHT を 13 週間混餌投与（0、25、100 又は 500 mg/kg 体重/日相当）後、各群の雌雄を交配させて得た児動物（F1 世代）についての検討が、「6 の（13）子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）＜1986＞」の一部として実施された。

毒性所見を表 40 に示した。

母動物では、500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で投与 6 週間以降、有意な体重増加抑制がみられた。妊娠率に影響はみられなかった。同腹児数は 500 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少した。出生児の体重は 100 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に低下した。離乳時では 25 mg/kg 体重/日以上投与群で用量依存性の体重増加抑制がみられた。

JECFA 及び EFSA は、非発がん性の毒性として、同腹児数の減少、性比³⁰及び児動物の授乳期間における体重増加抑制への影響から、本試験における NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断している。

（参照 5、6、27、39）[厚 1_FAS35、事 35_SIDS,p149、厚 3_EFSA, p25、事 12_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25 mg/kg 体重/日でみられた増体重の減少については、軽度であり、有意差（ $p<0.05$ ）が生じていることについては分析手法について留意し毒性所見とはせず、本試験における母動物及び胎児・哺育児の NOAEL を胎児の体重増加抑制に基づき 25 mg/kg 体重/日と判断した。

表 40 繁殖毒性試験（ラット）における毒性所見^a

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児・哺育児
500	体重増加抑制	同腹胎数減少
100 以上		体重増加抑制
25 以下	所見なし	所見なし

a：原著論文に基づく。

＜事務局より＞

机上配布資料を参照

(5) 繁殖毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット（Wistar 系、P 世代：雄 8 匹/群、雌 64 匹/群）に BHT を 5 週間混餌投与（0、500、750 又は 1,000 mg/kg 体重/日相当）後、各群の雌雄を交配させて得た児動物（F1 世代）についての検討が「7 の（6）繁殖毒性試験（ラット、

³⁰ 原著論文には記載がない。

混餌投与)」の用量設定試験として実施された。なお、本試験は「7の(4)繁殖毒性試験(ラット、混餌投与)」の補足試験として設計された。

BHTの混餌投与は雌雄の交配期間中も継続され、さらに母動物は妊娠から授乳期間まで継続された。母動物は離乳時に剖検し、全例から肝、腎、副腎、甲状腺、脾臓、膵臓及び肺が採取された。児動物は離乳時(出生後21日)に各群の同腹子の1例から肝、腎及び副腎を採取して病理組織学的検査に供し、児動物14例は離乳後から基礎飼料で4週間飼育が継続された。

主な毒性所見を表41に示す。

交配率に影響はみられなかった。

母動物では妊娠までの体重増加及び摂餌量に影響はみられなかった。500 mg/kg 体重/日群で哺育期間中に、750 mg/kg 体重/日以上以上の群では妊娠最終週から体重増加抑制がみられた。妊娠19又は20日の剖検例では1,000 mg/kg/日群まで肝臓に病理組織学的変化はみられなかったが、離乳時剖検では、500 mg/kg 体重/日以上以上の群で肝臓重量が有意に増加し、750 mg/kg 体重/日以上以上の群で高度の小葉中心性肝細胞肥大(何例かでは典型的なすりガラス様変化[sERの増加を電顕で確認]を伴う)、肝細胞質空胞化、小葉中心性のグリコーゲン減少、類洞拡張及び胆管増生(門脈領域に炎症・線維化なし)がみられた。

児動物では、同腹子数について群間で顕著な差はみられなかった。500 mg/kg 体重/日以上以上の群で同腹子重量は低値を示したが、出生児個体重量は750 mg/kg 体重/日群のみ有意に低値であった。発生異常はみられなかった。出生後2週目から全てのBHT投与群で、対照群と比較して発育遅延がみられ、離乳時には500 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で体重の有意な低値が、750 mg/kg 体重/日以上以上の投与群では顕著な発育不全、被毛粗剛及び活動低下がみられた。離乳後剖検例の肝臓では、500 mg/kg 体重以上の投与群でグリコーゲン減少がみられた。しかしながら離乳4週間後の剖検例では肝相対重量は対照群と顕著な差はみられず、病理組織学的異常もみられなかった。

試験実施者は、500 mg/kg 体重/日以上からみられた児動物の体重増加抑制は母乳産生抑制によるものと考察している。(参照5、27、40) [厚1_FAS35 2.2.3.2 p13-15、事35_SIDSp150-151、事13_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、500 mg/kg 体重/日群において、母動物では哺育期間中から体重増加抑制が、児動物では離乳時体重の低値が認められたことから、本試験における母動物及び児動物のLOAELをいずれも500 mg/kg 体重/日と判断した。

表 41 繁殖毒性試験（ラット）における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児・哺育児
1,000		同腹胎数減少
750 以上	小葉中心性肝細胞肥大 (典型的なすりガラス 様変化(電顕により sER の増加)を伴う)、肝細胞 空胞化、小葉中心性のグ リコーゲン減少、類洞拡 張及び胆管増生(門脈領 域に炎症・線維化なし)	出生児体重低下、発育不 全・被毛粗剛
500 以上	体重増加抑制、肝臓重量 の増加	発育遅延・離乳時の体重 低値、肝臓重量の増加、 肝臓グリコーゲン減少

(6) 繁殖毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット（Wistar 系、P 世代：雄（13 週齢）6 匹/群及び雌（9 週齢）48 匹/群）に BHT を 3 週間混餌投与（0、25、100 又は 500 mg/kg 体重/日相当）後、各群の雌雄を交配させた。各群 5 匹の母動物は妊娠 19 又は 20 日に帝王切開を行い、胎児体重測定及び観察を行い、組織学的検索が実施された。F1 世代の群分けについては、生後 6 日に各母動物の出生児を 8 匹かつ雄の数が最大となるようにした。5 匹の母動物は離乳時に哺育児とともに剖検し、母動物及び各母動物あたり 4 匹の哺育児動物が各検査に供された。

毒性所見を表 42 に示す。

親動物では、体重増加、摂餌量及び交尾率に影響はみられなかった。帝王切開時の肝臓絶対重量及び相対重量は増加傾向を示し、離乳時剖検の 500 mg/kg 体重/日投与群では、有意な増加がみられた。病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大及び甲状腺機能亢進病変が 100 mg/kg 体重/日以上投与群でみられ、500 mg/kg 体重/日群の肝臓の電子顕微鏡観察では、顕著な滑面小胞体の増生がみられた。また、同群の肝臓の生化学的分析では、グルコース-6-ホスファターゼ、総グルタチオン及び EROD(エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ) 有意な減少並びに GST (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ) 及び PROD (ペントキシレゾルフィン-O-デペンチラーゼ) の有意な増加がみられ、チトクローム P450 は増加傾向がみられた。

児動物では、帝王切開時の胎児では、胎児吸収、同腹児数、体重、肝臓重量、並びに病理組織学的検査及び生化学的分析（肝臓）について、影響はみられなかった。離乳時（生後 21 日齢）の哺育児では、500 mg/kg 体重/日投与群で、体重の有意な低値及び肝臓相対重量の増加がみられた。生化学的分析では、GST、

EROD、benzphetamine *N*-demethylase 及びエポキシド加水分解酵素が有意に増加した。また、総グルタチオン及びチトクローム P450 に影響はみられなかったが、グルコース-6-ホスファターゼは 100 mg/kg 体重/日以上 の投与群で減少がみられた。

試験実施者は、500 mg/kg 体重/日投与群の哺育児の体重増加抑制は母乳産生抑制によるものと考察している。

EFSA は、哺乳動物について体重増加抑制があり、これは母動物の母乳産生減少による可能性があること、及び母動物において肝肥大並びに PROD 及び GST の誘導がみられることを踏まえ、本試験から生殖・繁殖毒性について NOAEL の設定は困難であるとしている。(参照 5、6、27、40) [厚 1_FAS35 2.2.3.2 p13-15、事 35_SIDS, p150-151、厚 3_EFSA, p25、事 13_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、離乳時の哺育児の低体重は生殖・発生毒性に由来しない可能性を考慮し、本試験における生殖・発生毒性についての NOAEL は 100 mg/kg 体重/日以上となると判断した。

表 42 繁殖毒性試験（ラット）でみられた毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児・哺育児
500	肝臓重量の増加、肝臓における滑面小胞体の増生、グルコース-6-ホスファターゼ・総グルタチオン・EROD の減少、GST・PROD の増加	体重の低値、肝臓相対重量の増加、GST、EROD、benzphetamine <i>N</i> -demethylase 及びエポキシド加水分解酵素の増加
100 以上	小葉中心性肝細胞肥大及び甲状腺機能亢進病変	肝臓におけるグルコース-6-ホスファターゼの減少
25 以下	所見なし	所見なし

<事務局より>

- ・ 100 mg/kg 体重/日の肝臓におけるグルコース-6-ホスファターゼの減少
- ・ 500 mg/kg 体重/日の肝臓相対重量の増加、GST、EROD、benzphetamine *N*-demethylase 及びエポキシド加水分解酵素の増加を所見とするか。
- ・ 500 mg/kg 体重/日の肝臓相対重量の増加を判断が困難とするならば、表にはしないのはどうか。

(7) 発生毒性試験（ウサギ）<参考資料³¹>

妊娠ウサギ（ダッチベルテッド、雌 12～18 羽/群）に BHT を妊娠 6 日から

³¹ 子宮内状況のデータが不明であることから参考資料とした。

18日まで強制経口投与（0、3.20、14.9、69.1又は320 mg/kg 体重/日）する発生毒性試験が実施された。妊娠29日に帝王切開を行い、子宮内状況及び胎児の観察を実施した。

0、14.9、69.1及び320 mg/kg 体重/日投与群で、それぞれ1例、3例、4例及び3例が妊娠29日以前に死亡あるいは流産となった。BHT投与群で胎児吸収が増加したが、生存胎児の内臓及び骨格検査では異常発現に对照群との差はみられなかった。

試験実施者は、BHTに催奇形性はみられないとしている。（参照17）

（8）発生毒性試験（サル、混餌投与）＜参考資料³²＞

サル（アカゲザル、雌、6頭/群）を、BHTとBHAの混合物含有飼料（BHT：50 mg/kg 体重/日相当、BHA：50 mg/kg 体重/日相当）又はBHT及びBHAを含まない飼料で1年間飼育後、雄と交配させ、その後、さらに妊娠期間165日を含む1年間、同じ飼料で飼育する試験が実施された。母動物には、定期的な体重測定、血液学的検査及び血液生化学検査並びに月経周期の記録が実施され、児動物には生後1、5、15、30及び60日に血液学的検査が実施された。児動物の観察は2歳まで継続し、生後3か月時には对照群及びBHT/BHA投与群の児動物から各々2頭が選択され、母動物から隔離し1か月間のホームケージ内での心理学的観察が実施された。

試験期間中、母動物及び児動物に臨床的異常はみられなかった。对照群及びBHT/BHA投与群とも、各々6頭の児動物を出産し、1頭がBHT/BHA投与以外の原因で死亡したが、その他の児動物は健康で、生後3か月時の観察でも行動学的異常はみられなかった。（参照5、43） [FAS35, 2.2.4.4 p18、事23_原著]

8. その他の毒性試験

（1）血液凝固系への影響に関する試験

① 40日間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）＜参考資料＞

ラット（SD系、4週齢、雄10匹/群）に、BHTを40日間混餌投与（0、5,800、6,900、8,200、10,000、12,000又は14,400 mg/kg 飼料（0、436、526、663、713、774又は874 mg/kg 体重/日相当³³））する亜急性毒性試験が実施された。投与9～37日間に、6,900 mg/kg 飼料以上の投与群で用量依存性の死亡（21/50例）がみられ、死亡動物では胸腹腔内出血が観察された。プロトロンビン指数はBHT投与群で5,800 mg/kg 飼料から用量依存性に低下し、それぞれ对照群の35、25、18、20及び15%であった。（参照5、27） [厚1_FAS35, 2.2.10.2 p24, 事35_SIDS p82, Takahashi & Hiraga 1978]

② 4週間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）

³² BHTとBHAの混合物が投与されていることから参考資料とした。

³³ OECD SIDSによる換算。

ラット (SD 系、雄) に、BHT を 4 週間混餌投与 (0、85、170、330、650、1,300、2,500 又は 5,000 mg/kg 飼料) する亜急性毒性試験が実施された。

投与 1 週では、170 mg/kg 飼料以上の投与群から、投与 4 週では 5,000 mg/kg 飼料投与群のみにプロトロンビン指数の有意な低下がみられた。また、5,000 mg/kg 飼料投与群では肝相対重量が増加した。(参照 5、27) [厚 1_FAS35, 2.2.10.2 p24, Takahashi & Hiraga1979、事 35_SIDS]

③ 出血作用抑制検討 (ラット、混餌投与)

ラット (SD 系、雄) に、BHT を単独あるいはフィロキノンと同時に 3 週間混餌投与 (0、BHT (12,000 mg/kg 飼料)、BHT (12,000 mg/kg 飼料) + フィロキノン (5 mg/kg 飼料) 又は BHT (12,000 mg/kg 飼料) + フィロキノン (500 mg/kg 飼料)) する出血作用抑制検討試験が実施された。

BHT の 12,000 mg/kg 飼料投与に発現した死亡 (出血による)、出血及びプロトロンビン指数の低下はフィロキノン同時投与によって抑制された。(参照 5、27) [厚 1_FAS35, 2.2.10.2 p24, Takahashi & Hiraga 1979、事 35_SIDS]

④ 血液凝固因子に対する影響検討 (ラット、混餌投与)

ラット (SD 系、雄 4~5 匹/群) に、BHT を 7 日間混餌投与 (12,000 mg/kg 飼料 (1,000 mg/kg 体重/日相当)) し、血液凝固因子及び血小板凝集が測定された。

血漿中の血液凝固因子 II、VII、IX 及び X は投与 2~7 日にわたって経時的に減少を示し、投与 4 日~7 日には精巣上体の出血がみられた。血小板については、トロンビンあるいはカルシウム要求性の凝集はみられなかった。(参照 5、27)

[厚 1_FAS35, 2.2.10.2 p25, Takahashi 1986、事 35_SIDS]

⑤ 血液凝固に関する急性毒性試験 (ラット、単回経口投与)

ラット (SD 系、4 週齢、雄 5~6 匹/群) に、BHT 又は BHT のキノンメチド体を単回経口投与 (BHT : 0 又は 160 mg/kg 体重、BHT キノンメチド体 : 75 又は 150 mg/kg 体重) する急性毒性試験が実施された。

キノンメチド体 150 mg/kg 体重 投与群において、投与 24 時間後に 6 匹中 5 匹で鼻出血及び 3 匹で肺出血がみられ、ビタミン K 依存性の血液凝固因子である第 II 及び第 VII 因子が有意に減少し、投与 48 時間後には 2 匹で精巣上体内部及び 1 匹で胸腺に出血がみられた。キノンメチド体投与群において、血漿中の第 II、VII、IX 及び X 因子が有意に低下した。一方で、BHT 投与群では、160 mg/kg 体重投与群において、第 II 因子が軽度低下したが、出血はみられなかった。

試験実施者は、出血はキノンメチド体によるもので、ビタミン K の還元サイクルを阻害するためと考察した。(参照 44) [事 45_原著]

⑥ BHT のビタミン K 依存性凝固因子に対する影響検討 (ラット、混餌投与)

ラット (Wistar 系、雄 5~6 匹/群) に、BHT を単独あるいはビタミン K と

同時に3週間混餌投与（0、BHT3,000 mg/kg 飼料、BHT 3,000 mg/kg 飼料 + ビタミン K 250 mg/kg 飼料）し、プロトロンビン時間とビタミン K 依存性凝固因子が測定された。

BHT 投与では、プロトロンビン時間に影響はみられなかったが、ビタミン K 依存性凝固因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ及びⅩを低下させた。

ラット（Wistar 系、雄 5～6 匹/群）に、BHT 及び Vitamin K をそれぞれ単独又は同時に 14 日間混餌投与（BHT 3,000 mg/kg 飼料、ビタミン K 250 mg/kg 飼料又は BHT 3,000 mg/kg 飼料 + ビタミン K 250 mg/kg 飼料）し、トロンボテスト時間、プロトロンビン時間（PT）、活性化トロンボプラスチン時間（APTT）、血清フィブリノーゲン濃度が測定された。

投与 7 日に、BHT 単独投与群では、トロンボテスト時間、PT 及び APTT が有意に延長したが、ビタミン K の添加はそれらを抑制した。BHT の投与は血清フィブリノーゲン濃度に影響しなかった。

ラット（Wistar 系、雄 5～6 匹/群）に、BHT を単独（0、12.5、125 又は 600 mg/kg 飼料）あるいはビタミン K と同時（BHT 600 mg/kg 飼料+ ビタミン K 0.3 mg/kg 飼料）に 28 日間混餌投与し、トロンボテスト時間、PT 及び APTT が測定された。

BHT の 600 mg/kg 飼料投与におけるトロンボテスト時間の有意な延長は、ビタミン K 添加により抑制された。（参照 5、27、45）**[厚 1FAS35 2.2.10.2 p25、事 35SIDS、事 15_原著]**

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、これらの試験の結果から、血液凝固に関する NOAEL を 125 mg/kg 体重/日であると判断した。

（2）肝臓への影響に関する試験

① 7 日間及び 28 日間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット（Wistar 系、雄、5 匹/群（7 日間投与）、10 匹/群（28 日間投与））に BHT を 7 日間又は 28 日間経口投与（0、25、250 又は 500 mg/kg 体重/日）する亜急性毒性試験が実施された。

結果を表 43 及び表 44 に示した。

7 日間投与では、投与 3 日まで体重増加抑制がみられたが、その後回復した。**肝相対重量は 7 日間投与及び 28 日間投与とも用量依存性に増加した。**

肝臓の生化学的分析では、肝マイクロソーム蛋白量及びグルコース-6-ホスファターゼ活性は、7 日間投与では 500 mg/kg 体重/日投与群で減少したが、**28 日間投与では 250 mg/kg 体重/日以上**の投与群で増加した。また、**7 日間投与群及び 28 日間投与群とも、EROD（エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ）活性の変動は軽微であったが、ECOD（エトキシクマリン-O-エチラーゼ）活性及びエポキシドハイドロラーゼ（エポキシド加水分解酵素）活性は用量依存性に増**

加した。チトクローム P450 濃度に顕著な変動はみられなかった。

肝臓の病理組織学的検査では、7 日間投与及び 28 日間投与とも 250 mg/kg 体重/日投与群で門脈周囲にグリコーゲン蓄積がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群では、7 日間投与で肝細胞肥大、肝細胞壊死、肝細胞過形成及び線維化が認められ、これらに加えて 28 日間投与では、胆管増生、褐色色素貪食マクロファージの出現及びグリコーゲン減少がみられた。

試験実施者は、7 日間投与及び 28 日間投与において、25 mg/kg 体重/日の投与では肝障害はみられなかったとしている。(参照 5、46) [厚 1_FAS35, 2.2.7.2 p21、事 12_原著]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25mg/kg 体重/日では肝臓において肝酵素の変動及び肝障害を示唆する組織学的変化が認められなかったことから、本試験における肝臓に対する影響についての NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断した。

表 43 BHT の 7 日間及び 28 日間反復投与試験（ラット、強制経口）における肝重量及び肝酵素

投与量 (mg/kg/日)	肝重量及び肝酵素変化	
	7 日間投与	28 日間投与
500	肝相対重量増加	肝相対重量増加
250	ECOD 活性増加 エポキシド加水分解酵素活性増加	肝マイクロソーム蛋白量増加 G6P 活性増加 ECOD 活性増加 エポキシド加水分解酵素活性増加
25	所見なし	所見なし

表 44 BHT の 7 日間及び 28 日間反復投与試験（ラット、強制経口）の肝臓
（門脈領域）における組織所見^a

	7 日間投与			28 日間投与		
投与量(mg/kg 体重/日)	25	250	500	25	250	500
検査動物数	5	5	5	10	10	10
肝細胞肥大	0	0	3	0	0	2
グリコーゲン蓄積	0	4	4	0	8	5 ^b
グリコーゲン減少	0	0	0	0	0	7
肝細胞壊死	0	0	2	0	0	6
肝細胞過形成	0	0	4	0	0	3
色素食食マクロファージ の出現	0	0	0	0	0	3
胆管上皮増生	0	0	0	0	0	4
線維化	0	0	3	0	0	5

a : 発生例数

b : 肝小葉中間帯にみられた

（3）甲状腺への影響に関する試験

ラット（MOL/Wistar 系、雄）に、BHT をヨード含有飼料（12 mg/kg 基礎飼料）に添加し 90 日間混餌投与（BHT : 0、500 又は 5,000 mg/kg 飼料（0、25 又は 250 mg/kg 体重/日相当））し、投与 8、26 及び 90 日に甲状腺の ¹²⁵I の取り込みが測定された。

いずれの測定時点においても、BHT 投与群では ¹²⁵I 取り込みの顕著な増加がみられた。

また、ラット（MOL/Wistar 系、雄）に、BHT をヨード含有飼料（12、150 又は 300 mg/kg 基礎飼料）添加し 30 日間混餌投与（BHT : 0、500 又は 5,000 mg/kg 飼料）した。

甲状腺重量の有意な増加が 500 mg/kg 飼料以上の投与群で、肝臓重量の有意な増加は 5,000 mg/kg 飼料 投与群でみられた。血中 T3 及び T4 の変動はみられなかった。T4 の生物学的半減期は BHT 投与群で投与 13 日に増加し、75 日後に正常に回復した。電子顕微鏡による観察では、BHT の 5,000 mg/kg 飼料投与群の投与 28 日後の甲状腺で濾胞細胞の増加がみられた。

試験実施者は本試験では NOEL は設定できなかったと考察している。

EFSA の ANS パネルは本試験における NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 5、6、47）**[厚 1_FAS35, 2.2.11 p26、厚 3_EFSA, p28、事 17_原著]**

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、甲状腺における濾胞細胞の増加に基づき、本試験の NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断した。

（４）発がん性に関する促進作用又は抑制作用

既知の発がん性物質等の発がんに対する BHT 投与の影響を JECFA の資料を基に表 45 に整理した。（参照 5） [厚 1_FAS35, p26-33]

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、これらの試験結果から、BHT は実験動物において、発がん促進又は抑制作用を有すると考えた。

表 45 BHT の発がんに対する促進又は抑制作用

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
マウス (A 系、雄)	ウレタン：500 mg/kg 体重、単回腹腔内投与	500 mg/kg 体重、週 1 回×8 週間、経口投与（投与 1 週間後から）	腫瘍	促進
マウス (BALB/c、雄)	MNU：直腸内投与	混餌投与（投与期間不明）	消化管腫瘍	促進
マウス (Swiss-Webster、雄)	ウレタン：1000 mg/kg 体重、単回腹腔内	250 mg/kg 体重、週 1 回×9～13 週間、注入（投与開始時期不明）	肺腫瘍	促進
マウス (スイス、性別不明)	ウレタン：50、250 又は 1000 mg/kg 体重	300 mg/kg 体重、13 回/週、腹腔内投与（投与 7 日後から）	肺腫瘍	促進
	ウレタン（投与量不明）：BHT 投与 1 週間後に投与	13 回投与（投与量不明）	肺腫瘍	影響なし
マウス (A/J、雄)	ウレタン：単回腹腔内投与（投与量不明）	0.75%混餌、8 週間（投与開始時期不明）	肺腫瘍	促進
マウス (A/J、性別不明)	ウレタン（投与量不明）：ミニポンプ留置持続投与（BHT 投与と同時期）	400 mg/kg 体重、単回腹腔内投与	肺腫瘍	影響なし
	ウレタン（投与量不明）	腹腔内投与（BHT 単独あるいは SKF525A を同時投与、投与量不明）	肺腫瘍	促進

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
マウス (A/J、 SWR/J、 BALB/cByJ、 129/J、 C57BL/6J)	ウレタン：1,000 mg/kg 体重、単回 注入（BHT 投与 6 時間後）	200 mg/kg 体重、 単回腹腔内投与	肺腫瘍	抑制：A/J 系 促進： SWR/J、 129/J、 C57BL/6J 影響なし： BALB/cByJ 系
マウス (A/J 系、性別 不明)	ウレタン：1,000 mg/kg 体重(投与 経路不明)	400 mg/kg 体重、 注入（投与経路及 び投与開始時期 不明）	肺腫瘍	促進
	3-メチルコラン ンソレン：投与 量及び投与経路 不明	300 mg/kg 体重、 反復注入（投与経 路及び投与開始 時期不明）	肺腫瘍	促進
マウス (MA/MyJ)	ウレタン：50 mg/kg 体重、単 回注入	BHT 及びその代 謝物の 50 又は 200 mg/kg 体 重、6 回/週、腹 腔内投与（投与 開始時期不明）	肺腫瘍	促進 (BHT・ BuOH)
マウス (B6C3F1、 雄)	DEN：100 又は 200 mg/kg 体重 (1 回/週 × 10 週)	0.5% 混餌投与 (DEN 投与終了 後 4 週間経過後か ら 24 週間)	変異肝細胞 巣及び肝細胞 腺腫	影響なし
ラット (系統不明、 雌雄)	2-AAF 又は FAA：混餌 (1/30 mol) (雄：24 週 間、雌 36 週間)	0.6% 混餌 (同時 期)	肝腫瘍 (雄)	抑制

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
ラット (F344、雄)	MNNG : 100 mg/kg 体重、単 回経口 EHEN : 750 mg/kg 体重、単 回経口 MBN : 0.5 mg/kg 体重、皮 下 2 回 上記それぞれに DBN を 0.1%混 餌投与 (4 週 間) 後、さらに DHPN を 0.1% 飲水投与 (2 週 間)	0 又は 0.7%混餌 (36 週 間) (DHPN 投与終 了の 3 日後から)	腫瘍	抑制 : 腎 促進 : 甲状 腺 影響なし : 舌、食道、 前胃、十二 指腸、小 腸、肝、 肺、膀胱
ラット (F344 系、 雄)	BBN : 0.01 又は 0.05%飲水投与 (4 週間)	0 又は 1%混餌投 与 (32 週間) (投 与開始時期不明)	膀胱の乳頭 腫及びがん	促進 : BBN 0.05%群
ラット (系統、性別 不明)	FAA : 0.02%混餌 投与 (25 週間)	0 又は 0.6%混餌 投与 (25 週間) (投 与開始時期不明)	膀胱腫瘍	促進 : BHT0.6% 群
ラット (系統、性別 不明)	FAA : 0.02%混餌 投与 (25 週間)	0.03、0.1、0.3 又 は 0.6%混餌 (25 週間) (同時投与)	膀胱腫瘍	促進 : BHT0.3 及 び 0.6%群
ラット (F344、雄)	MNU : 2 回/週× 4 週間投与 (投与 量及び投与経路 不明)	1%混餌投与 (32 週間) (投与開始 時期不明)	膀胱腫瘍及 び過形成、甲 状腺腺腫	促進
ラット (F344、雄)	BBN : 0.05%飲 水投与 (2 週間)	0、0.25、0.5 又は 1%混餌投与 (22 週間)、投与 8 日 に左側尿管下部 を結紮処置	膀胱の前腫 瘍性病変、乳 頭腫又は結 節性過形成	促進 : BHT1%群
ラット (F344、雄)	N,N-ジブチルニ トロサミン : 0.05%飲水投与 (16 週間)	0 又は 0.7%混餌 投与 (16 週間) (同 時期)	前胃過形成 結節	抑制
ラット (F344、雄)	BBN : 0.05%飲 水投与 (4 週間)	0 又は 0.8%混餌 投与 (36 週間) (投 与開始時期不明)	膀胱上皮過 形成 (乳頭状 又は結節性)	促進

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
ラット (F344、雄、4 及び54週齢)	DMBA : 50 mg/kg 体重、皮下 投与 (週 1 回× 10 週間)	0 又は 1%混餌投 与 (11 週間) (同 時期)、DMBA 投 与開始後 55 週間 飼育	腫瘍性病変 発生頻度	促進：膀胱 乳頭腫及び がん 抑制：肝細 胞巣及び膵 腺房細胞巣
ラット (F344、 性別不明)	AAF : 0.005%混 餌 (76 週間)	0.6%混餌 (76 週 間) (同時期)	膀胱腫瘍	促進
	AAF : 0.005%混 餌 (76 週間)	0.01 ~ 0.6% 混 餌 (76 週間) 同時期	肝腫瘍発生	抑制：腺 腫、がん
ラット (系統、 性別不明)	1,2-DMH : 1 回/ 週×4 回 (投与 量、投与経路不 明)	0.5%混餌 (4 回投 与後から36週間)	結腸腫瘍	抑制：発生 数 (結腸遠 位部)
ラット (Wistar、性 別不明)	MNNG : 飲水投 与 (1.0 mg/mL) (25 週間)	1.0%混餌投与 (25 週間) (同時期)	胃がん	抑制
ラット (Wistar、 雄、7 週齢)	MNNG : 飲水投 与 (100 mg/mL) (8 週間)	1%混餌投与 (32 週間)	前胃及び腺 胃の腫瘍	影響なし
ラット (F344 系、雄、21 匹 /群)	DBN : 飲水投与 (0.5 g/L、4 週 間)	1%混餌投与 + ビタミン K 0.0007% (32 週 間)	腫瘍	促進：食道 腫瘍、膀胱 乳頭腫 影響なし： 前胃がん
ラット (F344 系、雄)	DMH : 皮下投与 (2 又は 4 回)	0、0.5 又は 1.0% 混餌投与 (皮下投 与直後から 5~6 か月間)	消化管腫瘍	促進：小腸 及び結腸腫 瘍
	NMU : 経口投与 (90 mg/kg 体 重)	0.5%混餌投与 (投与開始時期 不明)	胃、結腸腫瘍	影響なし
ラット (系統/ 性別不明、22 日齢)	AAF : 0.02%、18 日間	0 又は 0.5%混餌 投与、407 日間 (投 与終了後から)	肝腫瘍	促進
ラット (系統/ 性別不明)	AAF : 0.02%混餌 投与 (25 週間)	0 又は 0.6%混餌 投与 (同時に 25 週 間)	肝腫瘍	抑制
ラット (系統/ 性別不明)	AAF : 0.02%混餌 投与 (25 週間)	0.03、0.1、0.3 又 は 0.6%混餌投与 (同時に 25 週間)	肝腫瘍	抑制 (用量 依存性の発 生率低下)

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
ラット（系統/性別不明）	AAF:0.02%混餌投与（8週間）	300、0.1、0.3 又は 0.6%混餌投与（22週間）（投与終了後から）	変異肝細胞巣及び肝腫瘍	促進
ラット（系統/性別不明）	DEN : 200 mg/kg 体重、腹腔内投与	1% 混餌投与（DEN 投与後から 6 週間）及び部分的肝切除（投与 3 週時）	GGT 陽性肝細胞巣	抑制
ラット（Wistar 系、雄）	アザセリン：30 mg/kg 体重、腹腔内投与（1回/週×2回）	1%混餌投与（投与後から 26 週間）	膵臓：GST-A 陽性腺房細胞巣 肝臓：GST-P 陽性肝細胞巣	膵臓：促進（前腫瘍性病変の発生頻度は減少） 肝臓：抑制
ラット（SD 系、雌）	DMBA 又は MNU（投与量及び投与経路不明）	0.3%混餌投与（投与後から 30 週間）	乳腺腫瘍	抑制（DMBA 投与群） 影響なし（MNU 投与群）
ラット（SD 系、雌）	DMBA：5 mg/ラット（投与経路不明）	0.03、0.1、0.3 及び 0.6%混餌投与（投与 14 日前から投与後 210 日まで）	乳腺腫瘍	抑制（用量依存性の腫瘍発生率低下）
ラット（LEW 系、雄）	アザセリン：1回/週×3回	0.45% 混餌投与（投与後から 4 か月間）	膵臓変異細胞巣	抑制（好酸性変異巣）

a：発がん性物質の投与に対する BHT の投与時期

9. ヒトにおける知見

（1）経口摂取による急性毒性についての知見

BHT 4 g を空腹時に摂取した 22 歳の女性が、同日夕刻から上腹部に激しい痙攣、全身倦怠感、嘔気及び嘔吐に続いて、めまい、混乱及び軽度の意識消失を示し、翌日の受診で胃腸炎と診断された。

また、BHT 80 g をベニバナ油に懸濁し空腹時に摂取した 24 歳の女性が、意識朦朧、失調性歩行及び発語不明瞭を示し、受診時には、構音障害、広い歩隔による失調性歩行、ロンベルグ徴候陽性、思考障害を伴わない精神緩慢及び左腕測定障害がみられた。（参照 6）[\[厚 3_EFSA p26-27\]](#)

1 (2) 胃がんに関する疫学的知見

2 BHT の食物を介した摂取と胃がん発症リスクの関連性について、55～69 歳
3 の男女 128,852 人を対象として「オランダコホート研究 (NLCS)」による調査
4 が、1986 年から開始された。6.3 年にわたる追跡調査により、192 例の胃がん
5 発生例及び男女 2,035 例についてサブコホート研究が可能となった。

6 サブコホートにおける BHT の平均摂取量は 0.351 mg/日で、胃がん発生と
7 BHT を含むマヨネーズやドレッシング摂取との関連はみられず、有意差はない
8 が、BHT の摂取量増加にともなって胃がん発生リスクは減少する傾向がみられ
9 た。本研究では、食物を介した BHT の低レベルの摂取と胃がん発生リスクとの
10 間には有意な関連性は見いだされなかった。(参照 6) [厚 3_EFSA p7]

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EU における評価 (1987 年)

食品科学委員会 (SCF: Scientific Committee for Food) は、ラット 90 日間混餌投与試験において 500ppm (25 mg/kg 体重/日相当) 投与群でみられた甲状腺重量増加、ラット子宮内暴露相を伴う慢性毒性・発がん性試験において 25 mg/kg 体重/日 (500 ppm 相当) 以上でみられた哺育児体重 (離乳時) 低値及びラット血液凝固検討試験におけるプロトロンビン指数減少 (無作用量は 85 ppm) を考慮し、BHT の NEL (No effect level) は概ね 100ppm (5 mg/kg 体重/日相当) と判断し、これに安全係数 100 を適用して、ADI は 0~0.05 mg/kg と設定された。(参照 48) [事 51_p22-23]

2. JECFA における評価 (1986 年、1996 年)

JECFA は、1986 年の評価において、7. (4) に記載したラット一世代繁殖試験での同腹児数、性比及び哺育期間中の体重増加に対する無影響量である 25 mg/kg 体重/日に基づいて、暫定 ADI が 0~0.125 mg/kg 体重/日と設定されたが、その後、当該試験での子宮内ばく露を伴う長期投与において肝腫瘍発生の増加がみられたため、子宮内ばく露後の肝臓への毒性影響についての追加検討が求められ、その結果も踏まえた再評価を行うこととした。

1996 年の評価において、BHT の肝障害の発現には肝薬物代謝酵素が関与する可能性があり、肝酵素誘導が最も鋭敏な指標であると考えられたことから、ラット子宮内ばく露の追加検討試験での肝酵素誘導並びに甲状腺に対する影響に基づいて、NOAEL は 25 mg/kg 体重/日と判断された。なお NOAEL の判断にあたっては、先に実施された子宮内ばく露相を含む慢性毒性試験における繁殖試験部分でみられた所見も考慮された。JECFA はこの 25 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 を適用し、ADI は 0~0.3 mg/kg 体重/日と設定された。(参照 5、49) [厚 1_FAS35, COMMENT p34, 厚 2_FAS21, COMMENT p6]

3. 国際がん研究機関 (IARC) における評価 (1986 年、1987 年)

IARC は、ラットの子宮内ばく露相を伴った慢性毒性試験における肝腫瘍発生について検討を行ったが、対照群と BHT 投与群との生存率の差が大きく、肝腫瘍発生率に関して評価は困難であると判断され、BHT のヒトに対する発がん性を評価することはできなかった。試験動物において、BHT の発がん性についての限られた証拠 (limited evidence) があるが、ヒトに対する発がん性について分類できない (Not classifiable as to its carcinogenicity to humans) としている。(参照 50、51) [事 49_IARC、事 50_IARC]

4. EFSA における評価 (2012 年)

2012 年に食品添加物としての BHT の再評価を実施した。

ANS パネルは、遺伝毒性試験の結果、BHT は変異原性や DNA 反応性を有しないことから、ラットの子宮内ばく露相を伴った慢性毒性試験における肝腫瘍発現

1 には閾値があるものとみなした。また、当該試験における BMD 分析により、肝
2 細胞がんの発生率に関する BMDL₁₀ は 247 mg/kg 体重/日と推定された。

3 EU の SCF による評価後、新たに報告された 2 つの子宮内ばく露を伴った慢性
4 毒性試験についての JECFA の評価及び NOAEL 25 mg/kg 体重/日は同意できる
5 ものであり、SCF によって設定された ADI を改定する根拠となるとした。また、
6 この NOAEL は上記の BMDL₁₀ の値である 247 mg/kg 体重/日を下回るものであ
7 り、肝発がんの BMDL₁₀ も包含されるとしている。

8 ANS パネルはこの NOAEL 25 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 を適用し、ADI
9 は 0.25 mg/kg 体重/日と設定された。(参照 6) [厚 3_EFSA p33]

10 11 5. 環境省による環境リスク初期評価

12 2008 年に、環境省中央環境審議会環境保健部会化学物質評価専門委員会は、
13 BHT に関する環境リスク初期評価を実施した。

14 BHT の非発がん影響については、一般毒性及び生殖・発生毒性等に関する知見
15 が得られているとされた。遺伝毒性については、全体として概ね陰性の結果が優
16 位であるとされた。また、発がん性試験では、陽性がみられた報告であっても、
17 その用量は非発がん影響よりも大きく上回っていた。以上より、閾値を前提とす
18 る有害性について、非発がん影響に関する知見に基づき無毒性量等が設定可能と
19 判断され、ラットの慢性毒性に関する 2 試験での NOAEL である 25 mg/kg 体重/
20 日が、BHT の無毒性量等と設定された。

21 本評価では、BHT に関する経口ばく露評価が実施されている。BHT の食品に
22 よる BHT の経口ばく露量については、マーケットバスケット方式による試験に
23 よる摂取量に基づき算定された。公共用水地域・淡水及び食物を摂取すると仮定
24 した場合、BHT の経口ばく露量の平均値は 1.0 µg/kg 体重/日程度、予測最大値
25 は 1.7 µg/kg 体重/日程度とされた。

26 この予測最大ばく露量から、BHT の NOAEL である 25 mg/kg 体重/日を除し、
27 さらに、当該 NOAEL が実験動物を用いた結果であることから 10 を除した結果、
28 MOE (Margin of Exposure) は 1,500 と算出された。

29 以上より、MOE が 100 を超えていることから、BHT の経口ばく露による健康
30 リスクについては、情報収集等の作業を要しないと評価された。(参照52) [事 46]

31 [環境省]

IV. 食品健康影響評価

抗酸化剤として飼料添加物に使用される BHT について食品健康影響評価を実施した。

薬物動態試験では、マウス、ラット及びヒトにおいて、BHT は消化管から速やかに吸収され、BHT 及びその代謝物の大部分が尿・糞中（マウス及びラットでは主に糞中、ヒトでは主に尿中）に排泄された。BHT の代謝には種差が示唆された。また、ラットでは ^{14}C 標識 BHT の単回経口投与後 40 時間においても胆汁中に比較的高い放射能が検出されたことから、腸肝循環の関与が示唆された。BHT の代謝はアルキル置換基及びベンゼン環の酸化による 2 つの経路をとるが、さらにアルキル置換基は *p*-メチル基の酸化、又は一つあるいは両方の *tert*-ブチル基の酸化に分かれると考えられる。マウスでは *tert*-ブチル基の酸化が主であり、*p*-メチル基の酸化代謝物 BHT-COOH は遊離酸として主に糞中へ、又はグルクロン酸抱合体として尿中へ排泄されるが、ラットでは *tert*-ブチル基の酸化は乏しく、*p*-メチル基酸化による BHT-COOH が主要代謝物であり、糞中へは主に未変化体及び BHT-COOH の遊離酸が、尿中へは BHT-COOH の遊離酸及びグルクロン酸抱合体が排泄されることが考えられた。ヒトでの排泄経路は主に尿中であり、BHT-COOH のエステル型グルクロン酸抱合体及び遊離酸が尿中へ排泄されることが考えられた。

残留試験では、BHT の日本での最大投与量である 150 mg/kg 飼料の混餌投与において、牛、豚及び鶏ともに肝臓及び筋肉中の残留は、投与終了後後比較的速やかに LOD 未満となった。一方、牛及び豚の脂肪並びに小腸や鶏の脂肪及び皮膚については、経時的な減少傾向はみられたものの、最終投与 7 日後においても検出された。また、採卵鶏への 150mg/kg 飼料の混餌投与では、鶏卵において卵白には検出されなかったが、卵黄では検出され、最終投与 7 日後においても検出されたことから、脂肪組織への残留傾向が示された。魚類の混餌投与では、いずれの魚種でも投与終了後に漸減したが、筋肉における BHT の残留はうなぎで最も顕著で、次いでにじますで、いずれも 150 mg/kg 飼料での最終投与 7 日後では LOD 未満とはならなかった。一方、こい及びまだいは比較的低く、いずれも最終投与 7 日後は LOD 未満となった。

遺伝毒性については、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験とも概ね陰性の結果が示されている。*in vitro* の細胞突然変異試験や染色体異常試験の一部及び *in vivo* の DNA 損傷試験（コメット試験）において陽性結果が認められたが、これらは BHT の生体内代謝過程で生成される酸化代謝物やキノン化合物から生じる活性酸素種による間接的な影響と考えた。したがって BHT には特段問題となる遺伝毒性は無いと考えられ、ADI を設定することは可能であると判断した。

亜急性毒性試験及び慢性毒性試験では、主に血液凝固系、肝臓並びに甲状腺に毒性影響が認められている。血液凝固系への影響は、BHT のビタミン K 拮抗作用によるビタミン K 依存性凝固因子の阻害に起因するものであり、出血傾向がマウス及びラットにおいて、いずれも短期の試験で認められ、その NOAEL は 125 mg/kg 体重/日であると判断された。一方、長期の試験では血液凝固系に関する毒性影響は認められなかった。肝臓及び甲状腺に対する生化学的あるいは組織学的

1 変化を伴った毒性影響は主にラットで認められた。

2 発がん性については、マウスの発がん性試験の一部で肺腫瘍又は肝腫瘍の増加
3 が、ラットの子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験で肝腫瘍の増加が認
4 められた。これらの腫瘍発生に至る機作は明らかではないが、前述したとおり
5 BHT には特段問題となる遺伝毒性はないことから、腫瘍発生は非遺伝毒性メカニ
6 ズムと考えられ、その用量には閾値があるものと考えられた。

7 生殖発生毒性については、ラットの子宮内ばく露相を伴った慢性毒性・発がん
8 性試験の一部で一世代繁殖性が検討され、出生児及び哺育児において、一腹あた
9 りの胎児数の減少や体重増加抑制が認められた。ラット及びウサギを用いた発生
10 毒性試験では催奇形性は認められなかった。

11 各種毒性試験のうち、肝臓における毒性影響（肝傷害又は肝酵素の変動）及び
12 甲状腺における毒性影響（甲状腺機能亢進）並びに出生児及び哺育児における毒
13 性影響（一腹あたりの胎児数の減少及び体重増加抑制等）についての最も低い
14 NOAEL は、いずれも、ラット子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験並
15 びにラット子宮内ばく露相を伴う慢性毒性試験における 25 mg/kg 体重/日であっ
16 た。また、この NOAEL は、マウスの肺腫瘍及び肝腫瘍それぞれの発生頻度の有
17 意な増加及びラットの肝腫瘍発生頻度の有意な増加を認めた投与量並びに EFSA
18 において算出された肝臓がんに係る BMDL₁₀ の値をいずれも下回っている。

19 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、BHT の ADI の設定に当たっては、
20 この NOAEL 25 mg/kg を根拠として、これを安全係数 100 で除した 0.25 mg/kg
21 体重/日を ADI と設定することが適当であると判断した。

22
23 以上から、BHT 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
24 ことが適当と考えられる。

25
26 ADI 0.25 mg/kg 体重/日
27

28 ばく露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確
29 認することとする。
30
31

1 表 36 JECFA、EFSA 及び食品安全委員会における無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/ 日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA	EFSA	食品安全委員会

2

整理中

3
4
5

1 〈別紙 1：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
Alb	albumin：アルブミン
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANS パネル	Food additives and Nutrient Sources added to food パネル：(EFSA) 食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネル
AP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the blood concentration-time curve：血中薬物濃度－時間曲線下面積
BBN	<i>N</i> -butyl- <i>N</i> -butan-4-ol-nitrosamine： <i>N</i> -ブチル- <i>N</i> -(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン
BCS	bathocuproinedisulfonic acid：バソクプロインジスルホン酸
BMDL	Benchmark Dose Lower Confidence Level：ベンチマーク用量信頼下限値
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine：5-ブromo-2'-デオキシウリジン
BUN	blood urea nitrogen：血液尿素窒素
CL	clearance：クリアランス
C _{max}	maximum drug concentration：最高血（漿）中濃度
DEN	diethylnitrosoamine：ジエチルニトロソアミン
DMBA	7,12-dimethylbenz[a]anthracene：7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン
DMH	1,2-dimethylhydrazine：1,2-ジメチルヒドラジン
E ₂	17β-estradiol：17β-エストラジオール
EC ₁₀	10% effective concentration：10%効果濃度
EDTA	ethylenediamine tetra acetic acid：エチレンジアミン四酢酸
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EHEN	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -nitroso-2-aminoethanol： <i>N</i> -エチル- <i>N</i> -ヒドロキシエチルニトロソアミン
ER	estrogen receptor：ヒトエストロゲン受容体
GC	gas chromatography：ガスクロマトグラフィー
GC-MS	gas chromatography - mass spectrometry：ガスクロマトグラフィー・質量分析
Glb	globulin：グロブリン
HPLC	High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマ

	トグラフィー
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	50% lethal dose : 半数致死量
LDH	lactate dehydrogenase : 乳酸脱水素酵素
LOAEL	Lowest-Observed-Adverse-Effect Level : 最小毒性量
LOEL	Lowest-Observed-Effect Level : 最小影響量
LSC	liquid scintillation counter : 液体シンチレーションカウンター
MNNG	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidine : <i>N</i> -メチル- <i>N</i> ² -ニトロ- <i>N</i> -ニトロソグアニジン
MNU	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -nitrosourea : <i>N</i> -メチルニトロソウレア
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (Reduced Form) : ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (還元型)
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level : 無毒性量
NOEL	No-Observed-Effect Level : 無作用量
8-oxodG	7-hydroxy-8-oxo-2'-deoxyguanosine : 7-ヒドロキシ-8-オキソ-2'-デオキシグアノシン
RBC	red blood cell : 赤血球
SCE	sister chromatid exchange : 姉妹染色分体交換
T _{1/2}	half-life period : 消失相半減期
TLC	thin-layer chromatography : 薄層クロマトグラフィー
T _{max}	maximum drug concentration time : 最高血 (漿) 中濃度到達時間
Vd	volume of distribution : 分布容積
WBC	white blood cell 白血球

1
2

1 <別紙 2：代謝物略称>

略称	代謝物名
BHT-OH(t)	3- <i>tert</i> -butyl-2-hydroxy-β,β,5-trimethylbenzeneethanol
BHT-OH(t)QM	2- <i>tert</i> -butyl-6-(2-hydroxy <i>tert</i> -butyl)-4-methylene-2,5-cyclohexadien-1-one
BHT-CH ₂ OH	3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxy-benzyl alcohol
BHT-CHO	3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxybenzaldehyde
BHT-COOH	3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxy-benzoic acid
BHT-Q	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-1,4-benzoquinone
BHQ	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-1,4-benzenediol
DBP	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-phenol
BHT-OOH	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-methyl-4-hydroperoxy-2,5-cyclohexadien-1-one
BHT-QM	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadien-1-one

2 (参照 6、15、16、17)

3

4

1 <参照>

- 1 The Merk Index, 15th Edition
- 2 農林水産省：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）
- 3 第 9 版食品添加物公定書（2018）、2018 年 2 月 1 日、厚生労働省・消費者庁
- 4 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 日厚生労働省告示第 499 号）
- 5 JECFA: Butylated hydroxytoluene WHO Food Additives Series 35 1995[厚 1_FAS35]
- 6 EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E321) as a food additive EFSA Journal 2012; 10(3): 2588.[厚 3_EFSA],
- 7 Matsuo M, Mihara K, Okuno M, Ohkawa H, Miyamoto J Comparative metabolism of 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) in mice and rats Food Chem Toxicol 1984; 22: 345-54.[事 38_原著]
- 8 Daniel JW, Gage JC : The absorption and excretion of butylated hydroxytoluene (BHT) in the rat Food Cosmet Toxicol 1965; 3(3): 405-15.[事 39_原著]
- 9 Tye R, Engel JD, Rapien I : Summary of toxicological data Disposition of butylated hydroxytoluene (BHT) in the rat Food Cosmet Toxicol 1965; 3(3): 547-51. [事 40_原著]
- 10 Takahashi O, Hiraga K 2,6-Di-tert-butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadienone: a hepatic metabolite of butylated hydroxytoluene in rats Food Cosmet Toxicol 1979; 17(5): 451-4. [事 5_原著]
- 11 Dacre JC: The metabolism of 3:5-di-tert -butyl-4-hydroxytoluene and 3:5-di-tert -butyl-4-hydroxybenzoic acid in the rabbit Biochem J 1961; 78(4): 758-66. [事 21_原著]
- 12 Daniel JW, Gage JC, Jones DI, Stevens MA : Excretion of butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) by man Food Cosmet Toxicol 1967; 5(4): 475-79. [事 41_原著]
- 13 Verhagen H1, Beckers HH, Comuth PA, Maas LM, ten Hoor F, Henderson PT, Kleinjans JC : Disposition of single oral doses of butylated hydroxytoluene in man and rat Food Chem Toxicol 1989; 27(12): 765-72. [事 4_原著]
- 14 Holder GM, Ryan AJ, Watson TR, Wiebe LI The metabolism of butylated hydroxytoluene, (3,5-di-t-butyl-4-hydroxytoluene) in man J Pharm Pharmacol 1970; 22(5): 375-6. [事 8_原著]
- 15 Madhavi, DL , Deshpande, SS and Salunkhe, DK (1996) Food antioxidants Technological, toxicological, health perspective Marcel Dekker, New York. [事 42_総論]
- 16 Barbara Nieva-Echevarría, María J Manzanos, Encarnación Goicoechea, and María D Guillen 2,6-Di-Tert-Butyl-Hydroxytoluene and Its Metabolites in Foods Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2015; 14: 67-79 [事 43_総論]
- 17 Lanigan RS, Yamarik TA Final report on the safety assessment of BHT(1) Int J Toxicol 2002; 21 Suppl 2: 19-94. [事 44_総論]
- 18 平成 23 年度生産資材安全確保調査・試験事業 試験報告書 BHT の牛への移行調査確認試験 株式会社 NAS 研究所 平成 24 年 3 月[厚労 5_農水事業 1]

- 19 平成 24 年度生産資材安全確保調査・試験事業「畜産物等における BHT の含有量調査委託事業」 結果報告書 社団法人 県中央研究所 2012 年 7 月 **[厚 6_農水事業 2]**
- 20 飼料安全性及び有用性確認調査委託事業 BHA 及び BHT の残留試験報告書 (肉用鶏及び肥育豚) 財団法人 畜産生物科学安全研究所 昭和 55 年 9 月 **[厚 8_農水事業 (1980)]**
- 21 Frawley JP, Kay JH, Calandra JC The residue of butylated hydroxyl-toluene (BHT) and metabolites in tissue and eggs of chickens fed diets containing radioactive BHT Food Cosmet Toxicol 1965; 3(3): 471-4. **[厚 9_原著 (1965)]**
- 22 van Stratum PGC, Vos HJ The transfer of dietary butylated hydroxyl-toluene (BHT) into the body and egg fat of laying hens Food Cosmet Toxicol 1965; 3(3): 475-7. **[厚 10_原著 (1965)]**
- 23 飼料安全性及び有用性確認調査委託事業 BHA 及び BHT の残留試験報告書 (鶏卵への移行) 財団法人 畜産生物科学安全研究所 昭和 55 年 9 月 **[厚 11_農水事業 (1980)]**
- 24 養殖水産動物における BHT の残留試験報告書 (にじます、こい、うなぎ、あゆ、及びまだい) 水産庁 昭和 56 年 1 月 **[厚 12_農水事業 (1981)]**
- 25 養魚飼料添加物使用基準検討試験委託事業報告書 (クルマエビ) 山口県内海水産試験場 昭和 55 年 3 月 **[厚 7_山口県水産試験場 (1980)]**
- 26 Oikawa SI, Nishino K, Oikawa S, Inoue S, Mizutani T, Kawanishi S Oxidative DNA damage and apoptosis induced by metabolites of butylated hydroxytoluene Biochem Pharmacol 1998; 56(3): 361-70. **[事 48_原著]**
- 27 2,6-DI-TERT-BUTYL-P-CRESOL(BHT), OECD SIDS Initial Assessment Report For SIAM 14 2002 UNEP PUBLICATIONS **[事 35_SIDS]**
- 28 研究報告 ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) の慢性毒性、催奇形性ならびに突然変異誘起性試験 東京都立衛生研究所 毒性部 昭和 52 年 10 月 **[厚 4_都衛研 1977]**
- 29 Sasaki YF1, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives Mutat Res 2002; 519(1-2): 103-19. **[事 47_原著]**
- 30 Takahashi O Haemorrhages due to defective blood coagulation do not occur in mice and guinea-pigs fed butylated hydroxytoluene, but nephrotoxicity is found in mice Food Chem Toxicol 1992 Feb; 30(2): 89-97. **[事 27_原著]**
- 31 BIOASSAY OF BUTYLATED HYDROXYTOLUENE (BHT) FOR POSSIBLE CARCINOGENICITY National Cancer Institute Carcinogenesis Technical Report Series No 150 1979. **[事 37_NCI TR150]**
- 32 Allen JR and Engblom JF Ultrastructural and biochemical changes in the liver of monkeys given butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole Modifications Food Cosmet Toxicol 1972 Dec; 10(6): 769-79. **[事 34_原著]**
- 33 Lindenschmidt RC, Tryka AF, Goad ME, Witschi HP The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice Toxicology 1986; 38(2): 151-60 **[事 9_原著]**
- 34 Clapp NK, Tyndall RL, Cumming RB Hyperplasia of hepatic bile ducts in

- mice following long-term administration of butylated hydroxytoluene Food Cosmet Toxicol 1973; 11(5): 847-9. [事 28_原著]
- 35 Clapp NK, Tyndall RL, Cumming RB, Otten JA Effects of butylated hydroxytoluene alone or with diethylnitrosamine in mice Food Cosmet Toxicol 1974; 12(3): 367-71. [事 10_原著]
- 36 Shirai T, Hagiwara A, Kurata Y, Shibata M, Fukushima S, Ito N Lack of carcinogenicity of butylated hydroxytoluene on long-term administration to B6C3F1 mice Food Chem Toxicol 1982; 20(6): 861-5. [事 30_原著]
- 37 Inai K, Kobuke T, Nambu S, Takemoto T, Kou E, Nishina H, Fujihara M, Yonehara S, Suehiro S, Tsuya T Hepatocellular tumorigenicity of butylated hydroxytoluene administered orally to B6C3F1 mice Jpn J Cancer Res 1988; 79(1): 49-58. [事 11_原著]
- 38 Hirose M, Shibata M, Hagiwara A, Imaida K, Ito N Chronic toxicity of butylated hydroxytoluene in Wistar rats Food Cosmet Toxicol 1981; 19(2): 147-51. [事 31_原著]
- 39 Olsen P, Meyer O, Bille N, Würtzen G Carcinogenicity study on butylated hydroxytoluene (BHT) in Wistar rats exposed in utero Food Chem Toxicol 1986; 24(1): 1-12. [事 12_原著]
- 40 McFarlane M, Price SC, Cottrell S, Grasso P, Bremmer JN, Bomhard EM, Hinton RH Hepatic and associated response of rats to pregnancy, lactation and simultaneous treatment with butylated hydroxytoluene Food Chem Toxicol 1997; 35(8): 753-67. [事 13_原著]
- 41 Williams GM, Wang CX, Iatropoulos MJ Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene II Chronic feeding studies Food Chem Toxicol 1990; 28(12): 799-806. [事 32_原著]
- 42 Tanaka T, Oishi S, Takahashi O Three generation toxicity study of butylated hydroxytoluene administered to mice Toxicol Lett 1993; 66(3): 295-304 [事 33_原著]
- 43 Allen JR Long-term antioxidant exposure effects on female primates Arch Environ Health 1976; 31(1): 47-50. [事 23_原著]
- 44 Takahashi O 2,6-di-tert-butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadienone (BHT quinone methide): an active metabolite of BHT causing haemorrhages in rats Arch Toxicol 1988; 62(4): 325-7. [事 45_原著]
- 45 Cottrell S1, Andrews CM, Clayton D, Powell CJ The dose-dependent effect of BHT (butylated hydroxytoluene) on vitamin K-dependent blood coagulation in rats Food Chem Toxicol 1994; 32(7): 589-94 [事 15_原著]
- 46 Powell CJ, Connelly JC, Jones SM, Grasso P, Bridges JW Hepatic responses to the administration of high doses of BHT to the rat: their relevance to hepatocarcinogenicity Food Chem Toxicol 1986; 24(10-11): 1131-43. [事 12_原著]
- 47 Søndergaard D, Olsen P The effect of butylated hydroxytoluene (BHT) on the rat thyroid Toxicol Lett 1982; 10(2-3): 239-44 [事 17_原著]
- 48 Commission of the European Communities Reports of the Scientific Committee for Food 1989; ANNEX: 22-3 [事 51_EU]
- 49 JECFA: Butylated hydroxytoluene WHO Food Additives Series 21 1986 [厚 2_FAS21]
- 50 WHO IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic risk of

- chemicals to humans 1986; Volume 40: 161-206. [事 49_IARC]
- 51 WHO IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans Overall Evaluation of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Voulume 1 to 42 1987; Supplement 7: 47-8. [事 50_IARC]
- 52 環境省中央環境審議会環境保健部会化学物質評価専門委員会 環境省化学物質の環境リスク評価 2,6-ジ-t-ブチル-4-メチルフェノール. 第6巻 2008年5月 [事 46_環境省]