

（案）

飼料添加物

ブチルヒドロキシアニソール

2017年2月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○ 要約	4
I. 評価対象飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 体内動態試験	7
(1) マウス	7
(2) ラット	8
(3) イヌ	12
(4) ヒト	12
(5) 代謝物 TBHQ の体内動態試験	13
2. 残留試験	17
(1) 豚	17
(2) 鶏	18
(3) 鶏卵	20
(4) にじます、こい及びあゆ	20
3. 遺伝毒性試験 (P)	21
4. 急性毒性試験	21
(1) BHA に関する試験	21
(2) TBHQ に関する試験	21
5. 亜急性毒性試験	22
(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)	22
(2) 180 日間亜急性毒性試験 (イヌ)	23
(3) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)	24
(4) 110 日間亜急性毒性試験 (豚)	25
(5) TBHQ に関する亜急性毒性試験	25
6. 慢性毒性及び発がん性試験 (P)	28
7. 生殖発生毒性試験	28

1	(1) 生殖毒性試験（ラット）	28
2	(2) 3世代生殖毒性試験（ラット）＜参考資料＞	29
3	(3) 兎動物の一般行動試験（マウス）＜参考資料＞	30
4	(4) 発生毒性試験（ウサギ）	31
5	(5) 発生毒性試験（豚）	31
6	(6) 発生毒性試験（サル）＜参考資料＞	32
7	(7) TBHQに関する生殖発生毒性試験.....	32
8	8. その他の毒性試験.....	35
9	(1) 胃に対するBHAの影響に関する試験.....	35
10	(2) ラットの前胃に対するBHAの影響の可逆性に関する試験	42
11	(3) 胃に対するTBHQの影響に関する試験	44
12		
13	Ⅲ. 国際機関等における評価（P）	45
14		
15	Ⅳ. 食品健康影響評価（P）	45
16		
17	・ 別紙1：検査値等略称.....	46
18	・ 別紙2：代謝物略称.....	47
19	・ 参照	48
20		
21		

1 <審議の経緯>

2005年 11月 29日 暫定基準告示(参照1) **[厚労告示]**

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

2012年 8月 27日 第444回食品安全委員会(要請事項説明)

2017年 2月 24日 第119回肥料・飼料等専門調査会

2

3 <食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで) (2017年1月7日から)

熊谷 進 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理*)	山添 康 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理*)	吉田 緑
三森 国敏 (委員長代理*)	山本 茂貴
石井 克枝	石井 克枝
上安平 洸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常

* : 2012年7月2日から

4

5 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

(2016年10月1日から)

今井 俊夫 (座長)	
山中 典子 (座長代理)	
荒川 宜親	菅井 基行
今田 千秋	高橋 和彦
植田 富貴子	戸塚 恭一
川本 恵子	中山 裕之
桑形 麻樹子	宮島 敦子
小林 健一	宮本 亨
佐々木 一昭	山田 雅巳
下位 香代子	吉田 敏則

6

7 <第119回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿>

8 唐木 英明

要 約

1
2
3
4
5
6
7
8

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

[以降は審議後に記載。]

1 I. 評価対象飼料添加物の概要

2 1. 用途

3 抗酸化剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：ブチルヒドロキシアニソール

7 英名：Butylated Hydroxyanisole

8

9 3. 化学名

10 IUPAC

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

13

14 CAS (No. 25013-16-5)

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

16

17 4. 分子式

18 $C_{11}H_{16}O_2$ (参照 2) [Merck Index]

19

20 5. 分子量

21 180.25 (参照 2) [Merck Index]

22

23 6. 構造式

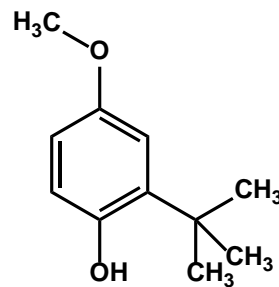
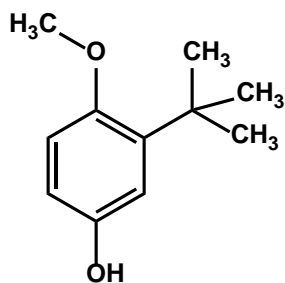
24 ブチルヒドロキシアニソール (BHA) は、2-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (2-BHA)
25 と 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (3-BHA)の混合物である。

26

27 (2-BHA)

(3-BHA)

28



29

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

31

32

33

1 7. 使用目的及び使用状況

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

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

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

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

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

17 なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値²が設定されている。(参照 1)
18 [厚労告示]

19
20

¹ BHA、ジブチルヒドロキシトルエン及びエトキシキンの合計量

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

1 II. 安全性に係る知見の概要

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

4

5 1. 体内動態試験

6 (1) マウス

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

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

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

17 投与後 8 時間の尿から投与量の 52% が回収され、48 時間では約 76% (BHA 0.3±
18 0.1%、グルクロン酸抱合体 72.3±7.6%、硫酸抱合体 3.0±2.4%) が回収された。糞
19 からは投与量の 2.3% しか回収されなかった。(参照 3、12) [EFSA 2011, 3.1.2] [Jpn
20 J Toxicol Environ Health 1992] (Hashizume et al.,1992)

21

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

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

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

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

2

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

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

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

6

7 (2) ラット

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

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

14 投与 48 時間後までにはほぼすべての被験物質が排泄され、尿には投与量の 41%、糞
15 便には 53% が排泄された。(参照 3、13) [EFSA 2011, 3.1.1] [Drug Metab Dispos
16 1985] (Ansari and Hendrix, 1985)

17

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

21 尿、糞便又は呼気への排泄率を表 3 に示した。投与後 48 時間で、投与量の 87~
22 96% が尿、糞便及び呼気に排出された。(参照 3) [EFSA 2011, 3.1.1] (Hirose et al.,
23 1987b)

24

25

26

1 表 3 ラットにおける ¹⁴C 標識 BHA 単回強制経口投与後の尿、糞便又は呼気中排泄率
 2 (%) 宮島専門委員修文

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

3 n=3

4 a : 合計は、参照 3 のデータから算出した。

5

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

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

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

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

20 2-BHA を投与した動物の尿における主な代謝物は、2-BHA の硫酸抱合体及びグ
 21 ルクロン酸抱合体並びに 4-*tert*-ブチル-5-メトキシ-1,2-ベンゾキノンであった。糞便
 22 には未変化体の 2-BHA がみられた。(参照 3、14) [EFSA 2011, 3.1.1] [Toxicology
 23 1988] (Hirose et al., 1988)

24

25 表 4 ラットにおける ¹⁴C 標識 BHA 単回強制経口投与後の尿及び糞便中排泄
 26 率 (%)^a 宮島専門委員修文

投与物質	¹⁴ C 標識部位	尿	糞便	合計
2-BHA	メチル基	<u>52.2 ± 8.1^b</u> 20.7 ± 3.1	20.7 ± 6.9^b 3.1	73.0 ± 6.9
	<i>tert</i> -ブチル基	72.2 ± 7.1	19.3 ± 2.5	91.5 ± 4.6
3-BHA	メチル基	45.6 ± 3.9	35.8 ± 3.8	81.3 ± 1.5
	<i>tert</i> -ブチル基	<u>54.0 ± 0.7^b</u> 54.7 ± 7.3	38.2 ± 4.6	92.2 ± 5.5

27 n=3 平均 ± 標準偏差

28 a : 投与量に対する割合

1 b: 参照 14 の表 3 及び 4 の数値を記載

2 **【宮島専門委員コメント】**

引用した論文（参照 14）において、この数値が間違っているようです。（合計が合わない。TABLE III と異なる。）集計方法が異なるようで SD の値が違うものもあるのですが、尿と糞の数値について、参照 14 の TABLE III 及び TABLE IV の値を引用してはいかがでしょうか。

3 **【事務局より】**

参照 14 の表 3 及び 4 の数値を評価書案の表 4 に記載し、脚注にも記載しました。

4 ラットにおける 2-BHA 及び 3-BHA の代謝について、前胃及び組織中巨大分子へ
5 の結合の点から検討した。

6 ラット（F344 系、雄 3 匹/群）に[butyl-¹⁴C]又は[methyl-¹⁴C]標識 3-BHA を単回
7 強制経口投与（1 g/kg 体重）し、投与 6 時間後に採取した前胃、腺胃及び胃内容を
8 TLC で比較した。前胃及び腺胃の上皮に有意な量が多い代謝物はみられなかつ
9 た。宮本専門委員修文

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

17
18 ラット（F344 系、雄、匹数不明）に ¹⁴C 標識 3-BHA を経口投与（0.01、0.1、1
19 又は 2%）し、前胃への結合を調べた。¹⁴C 標識 3-BHA の 0.01%は、約 2.25 mg/kg
20 体重に相当した。

21 投与 6 時間後の前胃の放射活性は、腺胃、肝臓、腎臓及び血漿より高かった。

22 0.1%投与群の前胃のタンパク質への共有結合率は低かったが、1 及び 2%投与群で
23 は高かった。3-BHA の経口投与後の前胃への結合率は、静脈内投与と比較して、54
24 倍高かった。（参照 3）[EFSA 2011, 3.1.1] (Morimoto et al., 1992)

25
26 ラット（Wistar 系、雌 7 匹/群）に 3-BHA を~~妊娠 6~15 日に~~強制経口投与（200、
27 400 又は 800 mg/kg 体重/日）し、最終投与 3 時間後の母動物の肝臓及び血清並びに
28 胎児について、HPLC によって 3-BHA の未変化体及び抱合体を測定した（定量限
29 界：肝臓 0.10 µg/g、血清 0.03 µg/g、胎児 0.05 µg/g）。宮本専門委員修文

30 結果を表 5 に示した。全投与群の胎児に 3-BHA が検出されたが、その濃度は肝臓
31 及び血清中濃度より低かった。また、全投与群の肝臓、血清及び胎児において、抱合
32 体と未変化体の比率（抱合体/未変化体）は、おおよそ一定であった（肝臓約 12、血

1 清約 60、胎児約 1.3~1.8)。(参照 3、15) [EFSA 2011, 3.1.1] [Jpn J Toxicol Environ
2 Health 1993] (Yamada et al., 1993)

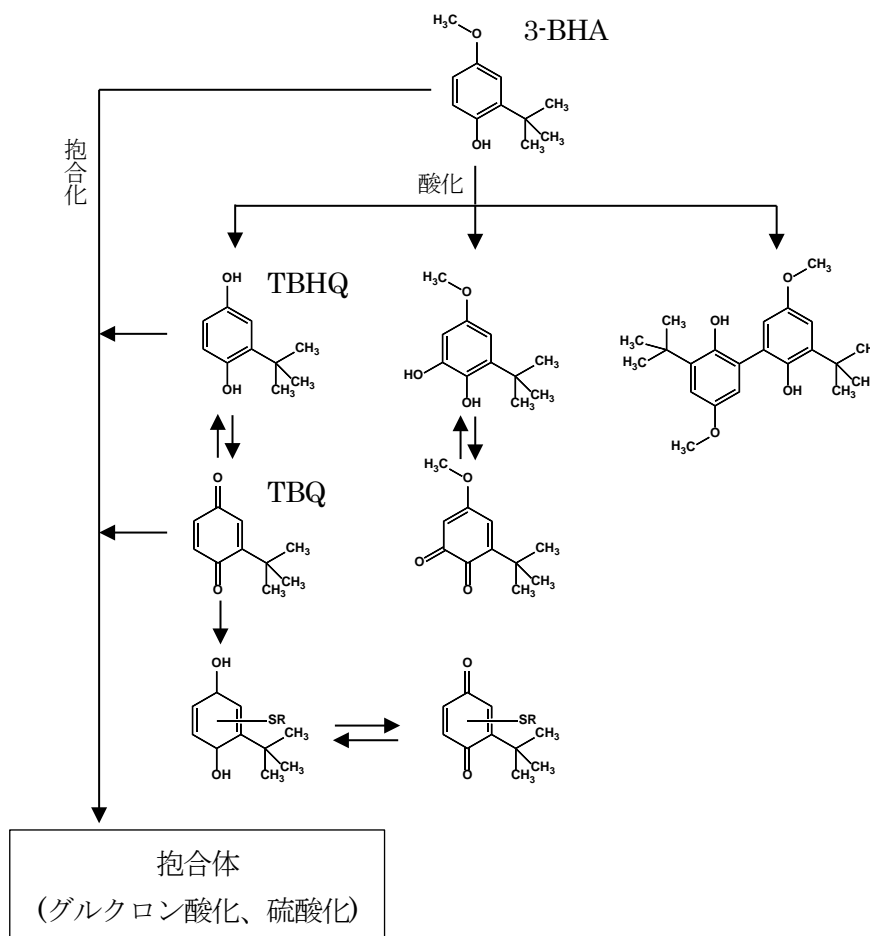
3
4 表 5 ラットにおける 3-BHA 反復経口投与後の母動物の肝臓及び血清並びに胎児中 3-
5 BHA の未変化体及び総 3-BHA^a濃度 (µg/g)

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

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

7 a：総 3-BHA は、未変化体及び抱合体の合計量

8
9 ラット体内における 3-BHA の推定代謝経路を図 1 に示した。(参照 16)
10 [Carcinogenesis 1991, Firue 1]



31
32
33 図 1 ラット体内における 3-BHA の推定代謝経路 (参照 16 の改変)

1
2 (3) イヌ

3 イヌ（ビーグル種、5 か月齢、雄3頭/群）に BHA を7日間混餌投与（0.03 又は
4 3%）し、その後[methyl-¹⁴C]標識 BHA を単回注射（用量不明）し、全身、血液、尿、
5 糞便及び数種類の組織（胃の異なる部位を含む）の放射活性を測定した。

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

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

10 放射標識した BHA の用量非依存的な分布及び排泄は、イヌに前胃がないためと
11 推察された。（参照 3） [EFSA 2011, 3.1.3]

12
13 (4) ヒト

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

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

21 BHA の血漿中動態パラメーターは、投与開始直後（1 日）及び 8 日後に測定した。
22 血液、唾液又は尿の BHA 及びその代謝物は、HPLC によって測定した。

23 BHA 経口投与時の動態パラメーターを表 6 に示した。

24 尿中から BHA の回収率は、投与 1 日後では 52±16%、投与 8 日後では 75±12%
25 であった。TBHQ の回収率は、投与 1、4 及び 8 日後でそれぞれ、7.4±1.8、10.5±
26 3.1%及び 13.0 ± 3.9%であった。BHA 及び TBHQ とともに、投与 1 日後より 4 又は
27 8 日の尿に有意に多く検出された。

28 このことは、ヒトにおける第 I 又は II 相における代謝酵素の誘導又は阻害による
29 か、又は体内における BHA とその代謝物の蓄積によるものと考えられた。（参照 3、
30 17） [EFSA 2011, 3.1.4] [Hum Toxicol 1989] (Verhagen et al., 1989b)

31
32
33
34
35
36

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

1 表6 ヒトにおける BHA10 日間経口投与時の動態パラメーター

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

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

3 平均 ± 標準偏差

4 a : 各投与日の投与後に血液を採取した。

5

6 (5) 代謝物 TBHQ の体内動態試験

7 ①ラット

8 ラット (系統、性別及び匹数不明) に ¹⁴C 標識 TBHQ を単回投与⁴ (15、48、
9 92、383、380 又は 400 mg/kg 体重) した。糞及び尿を毎日採取した。試験期間の
10 終わりに、血液、脳、腎臓、肝臓、消化管並びに腎臓周囲、大網及び皮下脂肪を採
11 取した。

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

16 92 mg/kg 体重投与群の組織にごく僅かの放射活性が検出されたが、92 mg/kg 体
17 重超の投与群では検出されなかった。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 1 つ目の試験]
18 (Astill et al., 1967a)

19

20 ラット (系統、性別及び匹数不明) に ¹⁴C 標識 TBHQ を 17 日間混餌投与
21 (0.029%(5.7 mg eq/kg 体重/日相当)) し、最終投与後に肝臓、腎臓、脳及び脂肪
22 を採取した。

23 肝臓、腎臓、脳及び脂肪中濃度はそれぞれ 0.06~0.34、0.09~0.38、0.06~0.56、
24 0.06~0.37 mg eq/g(湿重量)であった。(参照 10、18) [EFSAJ 2004, p8 の 2 段落
25 目] [FAS 40, 2.1.1.1 の 2 つ目の試験] (Astill et al., 1967a)

26

27 ラット (系統及び匹数不明、雌雄) に TBHQ を単回強制経口投与 (100、200、
28 300 又は 400 mg/kg 体重) し、尿を投与前 3 日間及び投与後 6 日間採取した。

29 400 mg/kg 体重投与群において、投与後に運動失調がみられたが、2~3 時間後
30 に回復した。

31 全投与群において、投与後 3~4 日間で関連物質の排泄が終了したようであった。
32 投与量の 66%が O-硫酸抱合体として、10%未満が O-グルクロン酸抱合体として

⁴ 経口投与と推察される。

1 回収された。100 mg/kg 体重投与群では、尿中排泄量がほぼ投与量に相当した。
2 200 mg/kg 体重以上投与群では、投与量の約 33%が尿ではなく、糞から回収され
3 た。

4 100 mg/kg 体重投与群では、TBHQ の未変化体の排泄は投与量の約 12%であっ
5 たが、より高用量では低下し、400 mg/kg 体重投与群では 2%であった。

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

8
9 ラット(系統、性別及び匹数不明)に TBHQ を長期間混餌投与(0.16 又は 0.5%)
10 した。投与 12 及び 20 か月後に 2 匹から尿を採取した。また、血清を投与 6、12、
11 20 か月後及び剖検時に 5 匹から採取した。また、剖検時に腎臓周囲、大網及び皮
12 下脂肪を採取し、性別及び用量ごとにプールした。

13 投与 12 か月後では、両投与群の雄の尿には、ほぼ等量の O-硫酸抱合体及び O-
14 グルクロン酸抱合体が検出された。雌では、検出された関連物質のうち約 3 分の
15 2 が O-硫酸抱合体で、残りが O-グルクロン酸抱合体であった。

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

18 ごく微量の TBHQ が血清及び脂肪に検出された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の
19 4 つ目の試験] (Astill et al., 1968)

20
21 妊娠ラット (SD 系、48 週齢、匹数不明) ⁵に帝王切開の前日、¹⁴C 標識 TBHQ
22 を単回経口投与 (40 mg/kg 体重) し、糞及び尿を帝王切開時 (投与後 7.6~16.7
23 時間) まで採取し、また胎児、子宮、羊水、消化管、肝臓、腎臓、脳及び脂肪を採
24 取し、放射活性を測定した。

25 投与後 16.7 時間の尿で投与量の放射活性の約 74%が回収された。

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

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

30 本試験の結果に基づいて、ヒトへのばく露の可能性を考えた場合、考えられる最高
31 量 (0.1 mg/kg 体重/日) を摂取すると、胎児は TBHQ として 1 日摂取量の 1%に
32 暴露され、またより高濃度の抱合体にばく露されることになることと推測された。(参
33 照 10、18) [EFSAJ 2004, p8 の 2 段落目] [FAS 40, 2.1.1.1 の 6 つ目の試験] (Astill
34 and Walton, 1968)

35
36 ラット (F344 系、雄、匹数不明) に BHA を経口投与 (0.01、0.1 又は 1.0%溶
37 液、4 mL) した。投与 3 時間後の 0.01、0.1 及び 1.0%投与群の前胃粘膜に TBQ

⁵ 生殖発生毒性試験の F₂ 母動物の第 3 産から選択した動物を用いた。離乳以降、TBHQ を混餌投与 (0.5%) されている。

1 がそれぞれ 0.00453、0.04504 及び 0.05520 µg/匹検出され、BHA は 1.77、18.84
2 及び 216.28 µg/匹検出された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 7 つ目の試験]
3 (Morimoto et al., 1991)

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

9 前胃粘膜のホモジネートの TBHQ 量は、BHA の投与量に比例していた。前胃
10 の ¹⁴C の共有結合の総量に対する TBHQ の総組織中残留量の割合は、0.1~2.0%
11 BHA のを 0.01~0.03% 経口投与した場合では 0.1~2.00.01~0.03%であった。(参
12 照 18) [FAS 40, 2.1.1.1 の 8 つ目の試験] (Morimoto et al., 1992)

14 ②イヌ

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

17 尿への排泄は、投与 48 時間後までにほぼ終了した。

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

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

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

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

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

【事務局より】

網掛け部分は、参照 18 では「0」と記載されていますが、検出限界未満と評価書案
には記載しました。

③ヒト

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

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

TBHQ の投与方法形式が、尿における回収率に大きく影響した。①及び③では、尿からは僅か 4～22～4%しか回収されなかった。②では 90～100%回収された。全投与方法形式の尿に同じ代謝物が検出された。宮本専門委員修文

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

④代謝試験

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

肝臓のミクロソーム試料を用いて、NADPH 生成系、酸素分子及びグルタチオンを含む試験条件下で TBHQ の 5-又は 6 位のグルタチオン抱合体の 2 種類の生成が確認された。この反応にグルタチオン S-トランスフェラーゼは必要ないようであった。チトクローム P450 の阻害物質は明らかに TBHQ のグルタチオン抱合体の形成を低下させことから、チトクローム P450 は TBHQ の TBQ への活性化における役割を示唆していたが、自動酸化もこの反応における部分的な役割を果たしていた。（参照 18） [FAS 40, 2.1.2 の 1 段落目] (Tajima et al., 1991) 宮本専門委員修文

tert-ブチルセミキノンラジカルが、好気性条件の NADPH 存在下でのラット肝ミクロソームで生成されたことが示された。500 µmol/L TBHQ と 5 µmol/L TBQ は、SOD で抑制され得るチトクローム C（過剰なスーパーオキシド陰イオンラジカルの生成の指標）の同程度の様な減少を引き起こした。キノンから形成されるセミキノンの自動酸化がスーパーオキシドの形成の原因であり、ヒドロキノンが自動酸化を通して酸化還元反応に加わると推測された。培地への LDH の放出によって示されたように、TBHQ ではなく TBQ がラットの肝細胞血漿膜への毒性傷

1 害を誘導した。セミキノン依存性スーパーオキシドの形成が毒性作用の原因と推
2 測された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.2 の 3 つ目の試験] (Bergmann et al., 1992)宮
3 本専門委員修文

4
5 ラット (Wistar 系、雄) に BHA を 14 日間混餌投与 (1.5% 添加) し、同時にプ
6 ロスタグランジン H 合成酵素の阻害剤であるアセチルサリチル酸 (0.2%) 又はイ
7 ンドメタシン (0.002%) を飲水投与した。両物質の投与によって、対照群と比較
8 して尿への TBQ の排泄量が有意に減少した。BHA 及びその代謝物の TBHQ 及
9 び TBQ の尿への合計排泄量は、各群同様であった (対照群: 46.9%、アセチルサ
10 リチル酸投与群: 45.4%、インドメタシン投与群: 43.5%)。これらの結果から TBHQ
11 から TBQ への代謝におけるプロスタグランジン H 合成酵素の *in vivo* でのにおけ
12 る役割が示唆された。(参照 18) [FAS 40, 2.1.2 の 6 つ目の試験] (Schilderman
13 et al., 1993a)

14
15 ラット (F344 系、雄) に TBHQ を腹腔内投与 (1.0 mmol/kg 体重) したとこ
16 ろ、胆汁に 3 種類のグルタチオン抱合体 (2-*tert*-ブチル-5-グルタチオン-S-イルヒ
17 ドロキノン、2-*tert*-ブチル-6-グルタチオン-S-イルヒドロキノン及び 2-*tert*-ブチ
18 ル-3,6-ビスグルタチオン-S-イルヒドロキノン) が検出された。TBHQ の硫黄を含
19 む代謝物が尿に検出された。本試験の結果、ラットを用いた *in vivo* 試験において
20 TBHQ が酸化及びグルタチオン抱合を受けたことが示された。これらの抱合体は
21 胆汁に排泄され、尿排泄の前にはさらに代謝される。TBHQ の硫黄を含む代謝物
22 が腎臓と膀胱に対する TBHQ の毒性に役割を果たすほど十分な量で存在すること
23 が示唆された。(参照 18) [FAS 40, p3, 2.1.2 の 7 つ目の試験] (Peters et al., 1996a)

25 2. 残留試験

【宮島専門委員コメント】

残留試験 (1) ~ (4) で、投与量の表記方法を、本文、表で統一した方が良いと
思います。(mg/kg に統一しましたが、混餌投与なので ppm に統一でも。)

【事務局より】

混餌投与でしたので、「ppm」に統一しました。

26 (1) 豚

27 豚 (交雑種(LW)、去勢雄 1 頭/時点) に 3-BHA を 91 日間混餌投与 (150 又は 600
28 ppmmg/kg 飼料(334 又は 1,260 mg/頭/日相当⁶⁾) し、投与開始 6 週後並びに最終投
29 与 0、1、2、3、5 及び 7 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸を採材し、GC-MS
30 又は HPLC によって組織中 BHA 濃度を測定⁷した (検出限界: GC-MS 0.025 µg/g、
31

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

⁷ 分析は 2 施設で実施しており、それぞれ GC-MS 又は HPLC によって測定した。宮島専門委員修

1 HPLC 0.02 µg/g)。宮島専門委員修文

2 結果を表 7 に示した。

3 150 ppm 投与群では、筋肉、脂肪及び小腸において最終投与 1 日後に BHA が検
4 出されたが、その後は全組織とも検出限界未満であった。

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

8
9 表 7 豚における BHA 91 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg/g) ^a

投与群 (ppm) (mg/kg 飼料)	組織	投与開 始 6 週 後	最終投与後日数(日)					
			0	1	2	3	5	7
150	肝臓	0.04 <LOD ^c	0.03 <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	腎臓	0.03 0.05	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	筋肉	0.03 <LOD ^c	0.03 <LOD ^c	0.03 <0.02 ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	脂肪	0.05 0.10	0.04 0.04	<LOD ^b 0.02	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	小腸	0.05 0.10	<LOD ^b <LOD ^c	0.03 <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
600	肝臓	0.06 <LOD ^c	0.06 <LOD ^c	0.04 <LOD ^c	0.03 —	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	腎臓	0.06 0.23	0.03 ^d 0.02	0.03 <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	筋肉	0.03 ^d <LOD ^c	0.03 ^d <LOD ^c	0.03 <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	脂肪	0.08 0.13	0.12 0.08	0.03 <LOD ^c	0.03 0.04	0.03 0.05	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	小腸	0.05 0.48	0.14 0.10	0.04 <LOD ^c	0.03 <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —

10 n=1 <LOD: 検出限界未満 —: 測定せず

11 a: 上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値 宮島専門委員修文

12 b: 検出限界 0.025 µg/g

13 c: 検出限界 0.02 µg/g

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

16
17 (2) 鶏

18 鶏 (肉用種、初生、雌 10 羽/時点(投与開始 4 週後のみ 16 羽)) に 3-BHA を 56 日
19 間混餌投与 (150 又は 600 ppm/mg/kg 飼料(13 又は 49 mg/羽/日相当⁸)) し、投与開
20 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

☐

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

皮膚を採材し、GC-MS 又は HPLC によって組織中 BHA 濃度を測定⁹した（検出限界：GC-MS 0.025µg/g、HPLC 0.02 µg/g）。なお、分析用試料として、5羽分（投与開始 4 週間のみ 8 羽分）をまとめて 1 試料とし、2 試料を作製した。[宮島専門委員

修正]

結果を表 8 に示した。

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

600 ppm 投与群では、肝臓及び腎臓では小腸において最終投与 12 日後に以降は検出されなかった。最後まで BHA が検出され、筋肉では全時点で検出されなかった。脂肪では最終投与 3 日後まで検出された。脂肪及び皮膚では最終投与 2 日後まで BHA が検出された。（参照 19） [鶏及び豚残留試験]

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

投与群 (ppm) (mg/kg 飼料)	組織	投与開始 4 週間 後	最終投与後日数(日)					
			0	1	2	3	5	7
150	肝臓	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	腎臓	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b <LOD ^c
	筋肉	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b 0.04	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	脂肪	0.04 <LOD ^c	<LOD ^b 0.11	<LOD ^b 0.02	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
	皮膚	0.05 <LOD ^c	<LOD ^b 0.04	<LOD ^b 0.02	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b 0.03	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c
600	肝臓	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b 0.02	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	腎臓	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b 0.02	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	筋肉	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —	<LOD ^b —
	脂肪	0.07 <LOD ^c	0.29 0.62	0.03 0.09	<LOD ^b 0.09	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —
	皮膚	0.12 0.04	0.19 0.25	<LOD ^b 0.04	<LOD ^b 0.04	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b <LOD ^c	<LOD ^b —

n=1 <LOD：検出限界未満 —：測定せず

a：上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値 [宮島専門委員修正]

b：検出限界 0.025 µg/g

c：検出限界 0.02 µg/g

⁹ 分析は 2 施設で実施しており、それぞれ GC-MS 又は HPLC によって測定した。[宮島専門委員修正]

1
2 (3) 鶏卵

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

7 宮島専門委員修文

8 結果を表 9 に示した。

9 150 ppm 投与群では、全時点の卵黄に BHA が検出され、投与開始 14 日後に最高
10 濃度（0.10 µg/g）がみられた。卵白では全時点で BHA は検出されなかった。

11 600 ppm 投与群でも、150 ppm 投与群と同様に、全時点の卵黄に BHA が検出さ
12 れ、投与開始 7 日後に最高濃度（0.34 µg/g）がみられた。卵白では全時点で BHA は
13 検出されなかった。（参照 20）[鶏卵残留試験]

14
15 表 9 採卵鶏における BHA 21 日間混餌投与後の卵黄及び卵白中残留濃度（µg/g）^a

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

16 n 数不明 <LOD：検出限界未満

17 a：上段は GC-MS、下段は HPLC の測定値 宮島専門委員修文

18 b：検出限界 0.025 µg/g

19 c：検出限界 0.02 µg/g

20
21 (4) にじます、こい及びあゆ

22 にじます、こい又はあゆ（10 尾匹以上/時点）に BHA をそれぞれ 63、59 又は 57
23 日間混餌投与（全魚種において 50 又は 150 ppm/mg/kg 飼料）し、最終投与 7 日後に
24 筋肉及び内臓（消化管内容物および腎臓を除く。）を採取¹²し、GC-MS によって残
25 留濃度を測定した（検出限界 0.05 µg/g）。なお、50 及び 150 mg/kg 飼料の投与量は、
26 にじますで 0.33 及び 0.98 mg/kg 体重/日相当、こいで 0.60 及び 1.8 mg/kg 体重/日

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

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

文

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

相当、あゆで 0.81 及び 2.6 mg/kg 体重/日相当であった。¹³ 宮島専門委員修文
結果を表 10 に示した。

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

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

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

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

n 数不明

3. 遺伝毒性試験 (P)

4. 急性毒性試験

(1) BHA に関する試験

マウス及びラットにおける BHA の急性毒性試験の結果を表 11 に示した。(参照 3、22) [EFSA 2011, 3.2.1] [FAS 10, p5]

表 11 BHA の急性毒性試験結果

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

(2) TBHQ に関する試験

マウス、ラット、モルモット及びイヌにおける TBHQ の急性毒性試験の結果を表

¹³ 参照 22 のデータから算出した。

1 12 に示した。(参照 18) [FAS 40, 2.2.1]

2
3 表 12 TBHQ の急性毒性試験結果

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

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

5
6 5. 亜急性毒性試験

7
【吉田緑委員コメント】

亜急性毒性試験のうち胃に関する影響のみを調べた試験は、「8. その他の試験」に移し、この「5. 亜急性毒性試験」には一般的な毒性試験のみを記載してはどうか。

【山中専門委員コメント】

(ラット(肝臓の部分切除)の 3 か月亜急性毒性試験について)

本試験は参考資料となっていますが、これは「II. 5. (22) ② 4 週間亜急性毒性試験 (ラット)」(これも 1 用量だがこちらは参考資料でない)と同様、毒性用量を決める試験というよりも、プロモーションに対する反応を見る試験(確実に過形成が起こる条件で行っている)なので、むしろ「II. 8 その他の毒性試験」に記述してはどうか。前胃に過形成が起こるような大量摂取で、部分肝切除や化学的プロモーターなどの条件によっては悪性化がありうる。一方、もともとこの項に書かれているような回復試験から、暴露を停止すれば過形成自体は可逆的に消失するという流れになります。

ただし、遺伝毒性、発がん性試験について未記載なので、参考資料にするかどうかという議論自体次回まで結論はできないかもしれません。

【事務局より】

胃への影響のみを調べたと考えられる試験を「8. その他の試験」に移しました。

8
9 (1-7) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) 1986 年

10 ラット (F344系、雄5匹/群) にBHA (粉末) を13週間混餌投与 (0、0.1、0.25、
11 0.5又は2%(0、50、125、250又は1,000 mg/kg体重/日相当)) し、亜急性毒性試験が

1 実施された。

2 2%投与群において、著しい体重増加抑制がみられた。また、本投与群の前胃上皮
3 に増殖性変化がみられ、これらの動物では扁平上皮の肥厚及び基底細胞の下方への
4 増殖 (downward proliferation) がみられた。角化症に加えてと同様に、真皮乳頭突
5 起及び上皮脚の伸長網状突起もみられたが、前胃の筋層は正常であった。0.5%投与
6 群の動物では標識指標は投与開始9日後には2.5倍になり、2%投与群では投与開始91
7 日後には5.3倍であった。投与終了1週間後には、被験物質の全投与群において動物
8 は正常に戻ったが、粘膜の病変の回復はより緩慢でに戻り、投与終了9週後において
9 も観察さみられた。[中山専門委員修文]

10 上述の追跡試験として、ラットに①BHAを3か月混餌投与 (2%) し、その後基礎
11 本飼料を12か月投与又は②BHAを6か月混餌投与 (2%) し、その後基礎本飼料を9か
12 月投与して、前胃を検査した。[吉田専門委員修文]両投与群の前胃は組織学的にほぼ
13 正常で、6か月投与群は外見的には正常な上皮からの下方伸長への突起が少数みられ
14 た。しかし、2%BHAを12か月投与した後に3か月基礎飼料本食を投与したラットの
15 2例は、前胃に扁平上皮癌がみられ、その他の動物には、標識指標で示されるように、
16 高い増殖率の乳頭状増殖がみられた。(参照23) [FAS 24, p3の3段落目] (Clayson et
17 al, 1986) [中山専門委員修文]

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

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

23 **【吉田専門委員コメント】**

(「乳頭突起及び網状突起の記載」について)

原文のとおりですが、意味が分かりづらいです。

(「外見的には正常な上皮からの下方への突起」について)

意味が分かりづらいです。

24
25 **(~~2-1-8~~) 180 日間亜急性毒性試験 (イヌ) [1986 年]**

26 イヌ (ビーグル種、雄 29 匹及び雌 30 匹/群) に BHA を混餌投与 (0、1.0 又は
27 1.3%(それぞれ雄/雌: 0/0、247/243、303/269 mg/kg 体重/日相当¹⁴) し、亜急性毒
28 性試験が実施された。

29 1.3%投与群では、摂餌量と体重増加量が減少した。また、両投与群において肝臓
30 の絶対重量が増加した。両投与群の肝臓の電子顕微鏡超微細構造[吉田専門委員修文]
31 検査によって、肝細胞の滑面小胞体及び肝細胞の細胞質のミエロイド小体の増殖を
32 示した。[中山専門委員修文]

33 光学又は電子顕微鏡検査では、胃と食道下部に増殖性又は過形成的病変及び細胞

¹⁴ 参照 26 のデータから体重 1kg 当たりの BHA 摂取量を算出した。

1 数の変化はもみられなかった。(参照 23、24、26) [FAS 24, p7 の一番下の段落]
2 [FAS 21, p6, Dogs の一つ目の試験] [Food Chem Toxicol 1986a](Ikeda et al., 1986)
3 中山専門委員修文
4 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1.0%以上投与群で肝臓に組織学的変
5 化がみられたことから、本試験における LOAEL を 243 mg/kg 体重/日と判断した。

【事務局より】

本試験を評価資料の扱いでよいかご検討お願いいたします。

また、BHA 摂取量は、参照 26 の表 1 (BHA 摂取量(g)/匹/日) から 1 日当たりの BHA 摂取量の平均値を求め、その数値を表 2 の試験終了時の体重(kg)で除して算出しました。

【吉田専門委員コメント】

検査項目が特殊な試験なので、参考資料としてはどうでしょうか。

6

【中山専門委員修文案】

…ミエロイド小体がの増殖を示した。

【吉田専門委員修文案】

…ミエロイド小体の増殖がみられを示した。

7

8 (3-1-9) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) 1986 年

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

12 用量依存的に体重増加抑制がみられた。摂餌量については、0.5%以上投与群で対
13 照群より有意に低かった。BHA全投与群の肝臓重量が増加したが、肝臓及びその他
14 の器官に病理組織学的変化はみられなかった。胃粘膜に変化はなく、食道遠位部の扁
15 平上皮の有糸分裂像にも指数において中山専門委員修文変化は惹起されなかった。

16 中山・吉田専門委員修文

17 投与1、3及び6か月後の血液生化学的検査では、1.0%投与群にAlbの僅かな減少並
18 びにAP及びロイシンアミノペプチダーゼ活性の増加がみられた。(参照23、24、27)
19 [FAS 24, p8の2段落目] [FAS 21, p6, Dogsの2つ目の試験] [Food Chem Toxicol
20 1986b] (Tobe et al., 1986)

21 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、用量依存的な体重増加抑制がみられた
22 ことから、本試験におけるLOAELを飼料添加濃度として0.25% (54 mg/kg体重/日相
23 当) と判断した。

24

【事務局より】

本試験を評価資料の扱いでよいかご検討お願いいたします。

現在の専門調査会の判断においては用量相関性のある体重増加抑制を毒性所見とし

て記載しています。しかし、統計学的な検定の記載はなく、また、摂餌量の低下も1.0%投与群の雄及び0.5%以上投与群の雌で見られています。

この体重増加抑制を毒性所見と捉えるかどうかご検討をお願いいたします。

【吉田専門委員コメント】

眼検査、尿検査がありませんが、血液・血液生化学検査が行われているので、評価可能かと思えます。

明らかな体重増加抑制は雌雄とも1%群だと思えます。

【事務局より】

明らかな体重増加抑制は1%群とした場合、専門調査会の判断については、以下の記載案でよいかご検討をお願いいたします。

(案)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、1.0%投与群で体重増加抑制がみられたことから、本試験におけるNOAELを飼料添加濃度として1.0% (219 mg/kg 体重/日相当) と判断した。

1

2 (4-2-0) 110日間亜急性毒性試験 (豚) 1986年

3 妊娠豚 (デンマークランドレース種、妊娠豚、9~13頭/群) にBHAを妊娠期間の
4 110日間混餌投与 (0、0.5、1.9又は3.7% (0、50、200又は400 mg/kg 体重/日相当))
5 し、亜急性毒性試験が実施された。

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

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

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

18

19 (5-2-2) TBHQに関する亜急性毒性試験

20 ①13週間亜急性毒性試験 (マウス) 1995年

21 マウス (B6C3F1系、雌雄各10匹/群) にTBHQを13週間混餌投与 (0、2,500、
22 5,000、10,000、20,000又は40,000 mg/kg 飼料(雄/雌: 0/0、440/500、870/1,075、
23 1,950/2,175、4,000/4,630又は8,425/9,040 mg/kg 体重/日相当) し、亜急性毒性試験
24 が実施された。

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

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

9 血液生化学的検査において BUN の用量相関的な減少が全測定時点の雌雄にみら
10 れたこと以外には、毒性学的に重要な変化はみられなかった。血液学的検査では、
11 20,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄に赤血球 WBC、網状赤血球 WBC、血小板、リ
12 ンパ球及び分葉核好中球数の増加が全測定時点でみられた（雌でより高頻度）が、分
13 葉核好中球の増加を除き、体重増加量の減少とこれに関連した脱水によるものと考え
14 られた。また、得られた血液学的及び血液生化学的検査値は CRC 毒性学ハンドブ
15 ック（1995）に掲載された B6C3F1 系マウスの参照値の範囲内であった。吉田専門
16 委員修文

17 臓器の絶対重量について、10,000 mg/kg 飼料以上投与群の雌雄では対照群より低
18 かったが、相対重量は対照群より高かったことから、体重の減少に起因した二次的な
19 変化と考えられた。生殖器についても同様の傾向がみられ、10,000 及び 40,000
20 mg/kg 飼料投与群の左側精巣上体尾部、左側精巣及び左側精巣上体でみられた。
21 40,000 mg/kg 飼料投与群の雌では対照群に比べて発情周期が有意に長くなったが、
22 体重減少による二次的なものと考えられた。

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

31 ②③6 か月間亜急性毒性試験（ラット） 1968 年

32 ラット（SD 系、雌雄各 15 匹/群）に TBHQ を 6 か月間混餌投与（0、10、50 又
33 は 250 mg/kg 飼料）し、亜急性毒性試験が実施された。TBHQ は 0、0.02、0.1 又は
34 0.5%濃度となるよう油に溶解（非加熱又は加熱(1 時間で 190°Cにし、その後 4 時間
35 190°Cに保温)）し、飼料にその溶液を 5%濃度で添加した。

36 試験期間中に死亡が 3 例みられたが、投与による影響とは考えられなかった。

37 250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の雄で体重増加の軽度の抑制がみられ、10
38 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の雄では対照群に比べて有意な体重増加がみられた。
39 このような影響は TBHQ 投与群（加熱油）の雌にはみられなかった。TBHQ 全投与
40 群の雌では対照群と同様の体重増加がみられた。

1 投与群の摂餌量は、対照群と同等又は増加していた。

2 血液学的検査では、250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群で投与 3 か月後に WBC の
3 増加がみられた以外、対照群と同様であった。250 mg/kg 飼料（非加熱油）投与群の
4 WBC 増加は投与 6 か月後にはみられなかった。~~投与群の尿検査値、AST 及び AP に
5 ついては、対照群と同様であり、正常値の範囲内であった。~~吉田専門委員修文

6 臓器の相対重量については、250 mg/kg 飼料（加熱油）投与群の雄の精巣と肝臓、
7 50 mg/kg 飼料以上投与群（加熱油）投与群の雌の肝臓に僅かな増加がみられたが、
8 TBHQ の影響よりも加熱油と非加熱油の違いに関連しているようであった。

9 病理組織学的検査では、投与に関連した影響はみられなかった。（参照 18）**[FAS**
10 **40, 2.2.2.2 の 2 つ目の試験]**（Terhaar and Krasavage, 1968b）

11 **【事務局より】**

肝臓の相対重量の増加がみられた雌の投与群（網掛け部分）については、参照 18 で
は 0.5% 及び 0.2% 投与群である旨が記載されていますが、「0.2%」は「0.1%」の誤記と
判断し、評価書案では「50 m/kg 飼料」と記載しました。

【吉田専門委員修文】

了解しました。

12
13 **③④13 週間亜急性毒性試験（ラット）** **1995 年**

14 ラット（F344/N 系、雌雄各 10 匹/群）に TBHQ を 13 週間混餌投与（0、2,500、
15 5,000 又は 10,000 mg/kg 飼料（雄/雌：0/0、190/190、370/360 又は 780/750 mg/kg
16 体重/日相当）し、亜急性毒性試験が実施された。本試験に供試した動物は、[II. 7.
17 (8) ⑥] の児動物であり、妊娠及び哺育期間中に TBHQ にばく露されており、さらに
18 離乳後 13 週間に本試験が実施された。

19 試験期間中に死亡はみられなかった。

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

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

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

31 平均精子細胞数、精巣当たりの精子細胞頭部数及び精巣 1 g 当たりの精子細胞頭
32 部数については、5,000 mg/kg 飼料投与群で有意な低下がみられたが、10,000 mg/kg
33 飼料投与群では影響はみられなかった。精巣上体の精子の濃度又は運動性に投与に

1 よる影響はみられなかった。5,000 mg/kg 飼料投与群でみられた所見は、用量相関性
2 がみられず、毒性学的な意義は不明であった。

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

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

11 臓器の絶対重量及び相対重量に変化がみられたが、体重減少に伴う二次的なもの
12 のようであった。5,000 mg/kg 以上投与群の雌雄の心臓の絶対重量は、対照群より低
13 かった。TBHQ 全投与群の雄及び 10,000 mg/kg 飼料投与群の雌の肺の絶対重量は、
14 対照群より低かった。TBHQ 全投与群において精巢の相対重量が、対照群より有意
15 に高かった。肝臓及び腎臓の相対重量について TBHQ 全投与群の雄で対照群より有
16 意に高かったが、絶対重量では 2,500 mg/kg 飼料投与群の雄の肝臓のみで高かった。
17 TBHQ 全投与群の雌の肝臓の相対重量が対照群より有意に高かったが、絶対重量に
18 違いはみられなかった。これらの臓器重量の変化に伴う病理学的な所見はみられな
19 かった。鼻呼吸器上皮の過形成の発生頻度の増加が、5,000 mg/kg 飼料投与群の雄及
20 び 10,000 mg/kg 飼料の雌雄にみられた。鼻腔滲出液が 10,000 mg/kg 飼料投与群の
21 雄でより高頻度~~に~~みられた。吉田専門委員修文

22 脾臓の色素沈着の発生頻度~~の~~が用量相関的な増加がみられた（対照群、2,500、
23 5,000 及び 10,000 mg/kg 飼料投与群の雄でそれぞれ 0/10、1/10、3/10 及び 5/10 例、
24 雌で 0/10、5/10、8/10 及び 10/10 例）。加えて、赤脾髄の萎縮の発生頻度が、5,000
25 及び 10,000 mg/kg 投与群の雌でそれぞれ 8/10 及び 10/10 例であった。腎臓の鉍質
26 沈着の発生頻度には TBHQ 投与群の雌において用量相関性~~の~~減少がみられた。吉田
27 専門委員修文

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

32 33 6. 慢性毒性及び発がん性試験（P）

34 35 7. 生殖発生毒性試験

36 （1）生殖毒性試験（ラット） 1979、1981 年

37 ラット（SD 系、雌雄、匹数不明）に BHA を混餌投与（0、0.125、0.25 又は 0.5%）
38 し、生殖毒性試験が実施された。親動物には交配前及び交配期間の 2 週間投与した。
39 さらに、雌ラットには妊娠期間から児動物の離乳まで、児動物には試験終了まで
40 BHA を投与した。児動物の中から選択した動物について、生後 21 日~~に~~に脳のニュー

1 一ロン数測定、また 90 日~~母~~に眼の大きさ及び~~脳~~の部位別~~場所~~重量の測定及び体性
2 運動野の組織学的検査を実施した。[桑形専門委員修文]

3 交配前~~及び交配期間~~中、妊娠~~期間~~中及び哺育~~期間~~中の各期間の BHA 投与量は、
4 0.125%投与群で 110、100 及び 220 mg/kg 体重/日、0.25%投与群で 220、210 及び
5 420 mg/kg 体重/日、0.5%投与群でそれぞれ 420、410 及び 800 mg/kg 体重/日に相
6 当した。児動物の行動試験は 3～90 日齢の間に標準的な~~バッテリーテストが手法で~~
7 実施された。[桑形専門委員修文]

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

10 児動物では、離乳前最終週で発育阻害がみられた。

【桑形専門委員修文案】発育~~抑制阻害~~

【小林専門委員修文案】発育~~不全阻害~~

11
12 生後 30 日までの離乳時死亡率は、生後 30 日の生存児数を基にして 0.5%投与群で
13 は 13.5%と増加し、0.25%投与群では 8.3%とやや増加した。0.5%投与群の児動物の
14 離乳前体重に有意な減少がみられ、これは離乳後の生後 42 日まで持続したが、0.25%
15 投与群の児動物の体重は対照群~~より高値以上~~[小林専門委員修文]であった。生後 90 日
16 ~~母~~の体重においては、投与に関連する有意な影響はみられなかった。行動試験では驚
17 愕反射の遅延が 0.25%以上投与群でみられた。眼の大きさ、~~又は場所~~脳の部位別
18 重量又は、~~脳組織構造に~~~~おける~~投与に関連する影響はみられなかった。[桑形専門委員
19 修文]

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

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

30 31 (2) ~~32~~世代生殖毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁵> [1962 年]

32 ラット (系統及び匹数不明) に BHA を 1 年間混餌投与 (0 ~~又は~~ 500～600 mg/kg 体
33 重/日、LD₅₀ の 1/5 量に相当) し、3 世代生殖発生毒性試験を実施した。F₁ 及び F₂ 世
34 代に 6 か月間混餌投与した。BHA は、同腹児数、出生児体重、~~再切歯萌出現日~~[桑形專
35 門委員修文]及び眼瞼開裂~~日に関して繁殖能~~[小林専門委員修文]への影響はみられなかつ
36 た。試験終了時の親動物及び児動物の剖検及び病理組織学的検査では、投与による影響

¹⁵ 用量の詳細が不明であることから、参考資料とした。

1 はみられなかった。(参照 25) [FAS 15, p9 の一番下の段落] (Karplyuk, 1962)

2

3 (3) 児動物の一般行動試験 (マウス) <参考資料¹⁶> 1974 年

タイトルについて

【桑形専門委員修文案】 児動物の一般行動への影響試験

【小林専門委員修文案】 児動物の一般行動機能試験

4

5 マウス (Swiss Webster 系、雌雄、匹数不明) に BHA を混餌投与 (0 又は 0.5%(0
6 又は 750 mg/kg 体重/日相当)) し、試験が実施された。出産時に各組の同腹児数を
7 から桑形専門委員修文 8 匹選択し、21 日齢で離乳させた。離乳した児動物には母動物
8 と同様に継続して給餌飼料を給与した。小林専門委員修文 児動物が 6 週齢から行動
9 試験を実施した。

【桑形専門委員修文案】 …8 匹に調整選択し、

【小林専門委員修文案】 …8 匹を選抜選択し、

10

11 その結果、いくつかの行動変化、すなわち、方向反射の低下、睡眠時間の減少低下、
12 身づくろいの低下、学習能力の低下の遅延桑形専門委員修文及び探索検行動小林專
13 門委員修文の亢進が認められた。(参照 3) [EFSA 2011, 3.2.5.2] (Stokes and
14 Schudder, 1974)

15

【桑形専門委員修文案】 帰巢反応 (orientation reflex) 方向反射の低下

【小林専門委員修文案】 正方向反射の低下

16

【事務局より】

本試験は、生殖発生毒性試験の項に記載すべきか、又は削除したほうがよいかご検討
お願いいたします。仮に、記載を残す場合、適切な試験名についてもご検討お願いいた
します。

【桑形専門委員コメント】

生殖発生毒性試験の項に、参考データとして記載は残していいと思います(ラットで
は驚愕反射の低下がみられ、マウスでも行動異常が観察されるという情報になりま
す。)

【小林専門委員コメント】

投与期間の詳細、母動物の毒性情報、児の身体的分化の記載がなく、一用量だけの
実験であることから、生殖発生毒性試験の項から削除してもよいかもかもしれませんが、
EFSA に記載があるので掲載する場合は、<参考資料>と記載するという考えがあり
ます。

¹⁶ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

【事務局より】

本試験を参考資料とし、その理由について追記いたしました。ご検討お願いいたします。

1
2 (4) 発生毒性試験 (ウサギ) 1978年

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

6 その結果、~~観察項目測定したパラメータ~~ (体重、内臓軟組織及び骨格異常発現率、
7 胎児の生存胎児数及び死亡胎児数、黄体数及び着床数、一般的な生殖パラメーター)
8 に投与による影響はみられなかった。桑形専門委員修文

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

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

15
【小林専門委員コメント】

帝王切開日の記載がありません。

【事務局より】

参照 25 の記載をもとに、妊娠 28 日に帝王切開した旨を追記しました。

16
17 (5) 発生毒性試験 (豚) 1982年

18 豚 (品種不明、雌、10 頭/群) に BHA を人工授精の 3 週間前小林専門委員修文か
19 ら妊娠 110 日まで混餌投与 (0、50、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試
20 験が実施された。妊娠 110 日に帝王切開した。

21 摂餌量に影響はみられなかった。400 mg/kg 体重/日投与群の母動物の体重が、対
22 照群に比べて著しい影響がみられた。

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

25 生殖及び発生毒性に関するパラメーターに BHA の影響はみられなかった。

26 ANS パネルは、本試験における母動物毒性に対する NOAEL を 200 mg/kg 体重/
27 日、発生毒性に対する NOAEL を 400 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 3) [EFSA
28 2011, 3.2.5.4] (Hansen et al., 1982)

29 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400 mg/kg 体重/日投与群の母動物の
30 体重に影響がみられたことから、母動物に対する NOAEL を 200 mg/kg 体重/日と

1 判断した。発生毒性に関するパラメーターに投与による影響がみられなかったこと
2 から、胎児発生毒性に対関する NOAEL を 400 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性
3 はみられなかった。 桑形専門委員修文

4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

【桑形専門委員コメント】

参考データにはいかがでしょうか？EFSA には、胎児観察項目の記載がなく、NOAEL の記載も「胎児に対する」とは記載されていません。胎児に対する NOAEL も催奇形性の有無も判断ができません。(あるいは原著に戻って確認をするかです。)

(6) 発生毒性試験 (サル) <参考資料¹⁷⁾> 1976 年

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

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

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

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

(7) TBHQ に関する生殖発生毒性試験

① 2 世代生殖毒性試験 (ラット) 1965 年

ラット (アルビノホルツマン系、雄 10 匹 小林専門委員修文、雌 24 匹/群) に TBHQ を混餌投与 (0 又は 0.5%) し、2 世代生殖発生毒性試験が実施された。投与 36 日 開後に F₀ を雄 1 匹に対して雌 3 匹で交配し、雌 10 匹が受精するまで交配した。F₁ 動物は 100 日齢で雄 5 匹に対して雌 15 匹で交配し、雌 8 匹が受精するまで交配した。

桑形専門委員修文

F₁ 世代及びその児動物の生存率は、コロニーにおける肺炎の発生のために、低かった。

両世代の親動物の体重は、各世代の対照群より低い傾向であり、F₁ 母動物のみが

¹⁷⁾ BHA 及び BHT の混合物の投与であり、一用量の試験であることから、参考資料とした。

1 有意に低かった。

2 両世代において、飼料効率が対照群より低かった。

3 両世代において、交配率、受胎率及び出産率、平均同腹児数、生存児数に投与による影響はみられなかった。 小林専門委員修文

5 両世代において、生存児動物の離乳までの生存率は、投与群と対照群で同等であったが、投与群及び対照群とも F₂ 児動物の生存率は肺炎のために低かった (31~41%)。

7 投与群の児動物の体重は、離乳時、離乳 1 及び 2 週間後には対照群より低かった。

8 投与群の F₁ 母動物の腎臓の絶対重量は、対照群より有意に低かったが、相対重量は同等であった。肝臓の絶対及び相対重量に投与による影響はなかった。病理組織学的検査においても、投与による影響はみられなかった。(参照 18) [FAS 40, p12, 2.2.4 の 1 つ目の試験] (Fassett et al., 1965) 桑形専門委員修文

12 【小林専門委員コメント】

(肺炎が発生していることから) 飼育環境が劣悪の中で実施された実験かもしれないと推測されます。この実験を削除ではいかがでしょうか。

13 ②3 世代生殖発生毒性試験 (ラット) 1968 年

14 ラット (SD 系、雌雄各 15 匹/群) に TBHQ を混餌投与 (0 又は 0.5%) し、3 世代生殖発生毒性試験が実施された。雌雄を 1 対 1 で交配させ、各 1 匹を 2 産するまで交配し、~~次世代動物には~~ 第 2 産の離乳児動物から次世代動物を 桑形専門委員修文
17 選抜 小林専門委員修文 した。F_{3b} 胎児は F₂ 母動物が妊娠 19 日 桑形・小林専門委員修文
18 員修文 の帝王切開によって得た。

20 各世代の 2 産とも、交配及び妊娠率、出産率及び 平均 同腹児数は正常であった。

21 小林専門委員修文

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

24 F₀ 親動物は、対照群より摂餌量が少なく、体重増加量も低かった。

25 離乳後の各測定時点における投与群の児動物の体重は、対照群より低かった。

26 離乳から離乳 5 週間までの死亡 率 (総動物数中の死亡数の割合) は、対照群において 常時多高 かった。F_{3b} 親動物の胎児 22 匹に異常所見がみられたが、このうち 13 匹は対照群であった。投与群の 2 匹に軽微な骨格異常がみられた。 桑形専門委員修文

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

33 ③生殖毒性試験 (ラット) 1970 年

34 ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) に TBHQ を 交配繁殖前 66 日間 混餌投与 (0、0.015、0.15 又は 0.5%) し、試験が実施された。 桑形専門委員修文

36 F₀ 動物は 2 産するまで交配した。F_{1a} 児動物は、継続してそのまま割り当てられた 添加飼料を投与された。F_{1b} 児動物は、生後 10 日まで F_{1a} 児動物と同様に処置され、

1 10 日齢で、~~同一投与群の母動物をと一組とし、1 組は無添加飼料を与える組と、残~~
2 ~~りの組は~~添加飼料を継続して与える組に分けられた。対照群の母動物及び哺育同腹
3 児については、半数は無添加飼料を与え、~~残りの半数は~~0.5%TBHQ 添加飼料を与え
4 た。生後 5 週齢で児動物は解剖した。 桑形専門委員修文

5 親動物の死亡が多くみられた（~~投与開始後最初の~~5 日間：0.5%投与群の雄 1 例、
6 対照群 1 例、投与 6 日以降：各投与群の雄 1 例、対照群の雌 1 例）が、投与による
7 影響とは考えられなかった。 桑形専門委員修文

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

11 ~~性周期、交尾率、妊娠率、妊娠期間、一腹内児数、出生時死亡率、哺育期間中及~~
12 ~~び離乳後の生存率~~に投与による生殖機能、~~性周期、交配行動、着床率、妊娠期間、2~~
13 ~~回の繁殖期間中の分娩及び哺育に~~明らかな影響はみられなかった。

14 ~~平均同腹児数、新生児の生存数及び発育は正常であった。~~ 桑形専門委員修文

15 投与群の F_{1a} 児動物の平均同腹児体重は、対照群と同様であった。 小林専門委員修
16 文

17 対照群において無添加飼料から 0.5%TBHQ 添加飼料に変更した F_{1b} の児動物の体
18 重は、無添加飼料群に比較して、離乳後 2 週間後までやや低かったが、これは摂餌
19 忌避拒否によるかもしれなかった。（参照 18） [FAS 40, 2.2.4 の 3 つ目の試験]
20 (Krasavage & Terhaar, 1970) 桑形専門委員修文

22 ④生殖毒性試験（ラット） 1995 年

23 ラット（F344/N 系、小林専門委員修文雌 16 匹）に TBHQ を交配同居前 2 週間
24 から F₁ 児動物の離乳まで TBHQ を混餌投与（0、2,500、5,000、10,000、20,000 又
25 は 40,000 mg/kg 飼料（0、125、250、500、1,000 又は 2,000 mg/kg 体重/日相当）
26 した。 桑形専門委員修文

27 20,000mg/kg 飼料以上投与群の母動物は出産しなかった。10,000 mg/kg 飼料以下
28 投与群では、妊娠期間、同腹児数、死産児のいる母動物数及び哺育 4 日の児動物体
29 重に投与による影響はみられなかった。

30 10,000 mg/kg 飼料投与群において児の哺育 4 日生存率と離乳時（生後 28 日）の
31 児動物の生存率数は、対照群より低かった。 桑形専門委員修文

32 5,000 mg/kg 飼料投与群においても離乳時の児動物の生存率数は対照群より低か
33 ったが、有意な差ではなかった。 桑形専門委員修文

34 F₁ 児動物から選抜した児動物を 13 週間亜急性毒性試験に用いた。（参照 18）
35 [FAS 40, 2.2.4 の最後の試験] (NTP, 1995) 小林専門委員修文

37 ⑤発生毒性試験（ラット） 1977 年

38 ラット（SD 系、雌 20 匹/群）に TBHQ を妊娠 6~16 日に混餌投与（0、0.125、
39 0.25 又は 0.5%）投与し、発生毒性試験が実施された。交配及び妊娠 6~16 日以外の
40 期間には無添加飼料を給餌した。妊娠 20 日に帝王切開した。

1 その結果、各投与群の TBHQ の総投与量は 970、1880 又は 3600 mg/kg 体重とな
2 ったが、母動物の 体重増加平均増体量 及び摂餌量に影響はみられなかった。黄体数、
3 着床数、生存胎児数、吸収胚数、胎児重量及び死亡率の 平均値 は、小林専門委員修文
4 投与群と対照群で違いはみられなかった。全ての群で骨格検査において骨格 変異異
5 常 (過剰肋骨痕跡肋骨数) がみられたが、その頻度は投与群よりも対照群で 2 倍大
6 きかった。本試験で用いた TBHQ の投与量ではラットに催奇形性を示さないと結論
7 された。(参照 18) [FAS 40, 2.2.5 の一つ目の試験] (Krasavage, 1977) 桑形専門委
8 員修文

【桑形専門委員修文案】 …2 倍 大き高 かった。

【小林専門委員修文案】 …2 倍 高値を示し大き かった。

10 ⑥ *in vitro* の発生毒性に関する試験 1988 年

11 BHA とその代謝物 (TBHQ 及び TBQ) の催奇形性を評価するため、細胞培養法
12 を用いて試験を実施した。ラット胎児細胞分化試験では、TBQ > TBHQ > BHA の
13 順で肢芽細胞及び中脳細胞の分化に対して用量相関性の阻害作用を示した。TBQ は
14 ヒト胚口蓋間葉系細胞増殖試験において最も強い阻害作用を示した。TBHQ の阻害
15 作用は BHA よりも強いが、TBQ より弱かった。(参照 18) [FAS 40, 2.2.5 の二つ
16 目の試験] (Tsuchiya et al., 1988)

17 8. その他の毒性試験

18 (1) 胃に対する BHA の影響に関する試験

19 ① 28 日間亜急性毒性試験 (マウス) <参考資料¹⁸> 1986 年 (5.(1)から移動)

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

24 ② 2 週間亜急性毒性試験 (ラット) 1990 年 (5.(2)から移動)

25 ラット (Wistar 系、5 週齢、雄 10 匹/群) に BHA を 2 週間混餌投与 (0、0.25、
26 0.50、0.75、1.0 又は 2.0% (0、125、250、375、500 又は 1000 mg/kg 体重/日に相
27 当)) し、亜急性毒性試験が実施された。BHA 無添加の対照群の他に、2%投与群と
28 同量の対照飼料を給餌する群 (Pair-fed control : 制限給餌対照群) を設けた。BHA
29 を投与した後、DNA 合成の際に DNA に取り込ませるためにチミジン類似体である
30 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) をラットに腹腔内投与し、免疫組織学的染色によっ
31 て細胞数及び増殖細胞の割合 (標識指標 (labelling index)) を測定した。

32 その結果、各組織における標識指標は、2%BHA 投与群の前胃、腺胃、小腸、結腸
33 /直腸において無添加対照群及び制限給餌対照群に比べて有意に高く、食道では制限
34

18 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

1 給餌対照群より有意に高いが、無添加対照群とは有意な差はみられなかった。前胃に
2 加えて、食道、腺胃、小腸、結腸/直腸も BHA の細胞増殖増強効果の標的組織にな
3 りうることを示唆された。実験終了時の血漿中の BHA 濃度は投与量に依存して増
4 加していた。(参照3) [EFSA 2011, 3.2.2.1 の New studies] (Verhagen et al., 1990)

5 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、2%投与群の前胃、腺胃、小腸、結腸
6 /直腸に標識指標の増加がみられたことから、本試験における NOAEL を飼料添加濃
7 度として1.0% (500 mg/kg 体重/日相当) と判断した。
8

【山中専門委員コメント】

本試験以降に何度か出てくる labelling Index 標識指標ですが、臨床などでもラベリ
ングインデックスとカタカナ表記でそのまま用いていることが多いと思います。

9
10 ③9 及び 27 日間亜急性毒性試験 (ラット) 1986 年 (5.(3)から移動)

11 ラット (F344系、雄5匹/群) にBHAを9又は27日間混餌投与 (0、0.1、0.25、0.5、
12 1又は2%(0、50、125、250又は1,000 mg/kg体重/日相当)、飼料：コーン油、ペレッ
13 ト又は粉末) した。投与後、前胃の扁平上皮の増殖変化を組織学的検査した。また、
14 同じ混餌投与計画によるラット (5~15匹/群) に放射標識チミジンを検査直前に注射
15 し、前胃の扁平上皮の標識体取り込みを調べた。

16 0.25%以下投与群の9日間投与したラットでは、標識指標への影響はみられなかつ
17 た。

18 病理組織学的には、0.5%以上投与群のみ過形成が観察され、影響がみられた前胃
19 の領域の大きさは用量依存的であった。ペレット飼料による2%投与群では、投与開
20 始9日後に前胃の小彎に沿って粘膜が局所的に4倍に肥厚していた。[山中専門委員修
21 文]乳頭突起及び不規則な間隔に並んだ乳頭間隆起、粘膜表皮肥厚及び角化症が観察
22 された。多くの有糸分裂像が正常な外見の基底層でみられた。[吉田専門委員修文]下
23 層では急性の炎症性細胞浸潤もみられた。投与開始27日後には、肥厚は6倍に至広が
24 っており、前胃-胃基底部の結合部隣接部で最も顕著であったにみられた。[山中専門
25 委員修文]ペレット飼料による2%投与群の投与開始9及び27日後には、標識指標は前
26 基底部領域 (pre-fundic region) でおおよそ8倍に増加していた。コーン油飼料による
27 BHA投与群では、投与開始27日後の標識指標は4倍に増加したにすぎなかったが、前
28 基底部領域での肥厚は12倍以上に増加していた。胃の中間領域では、標識指標に対
29 するコーン油又はペレット飼料によるBHA投与の影響は同様 (2倍) であったが、肥
30 厚はコーン油飼料の方が小さかった (コーン油飼料4倍、ペレット飼料9倍)。ペレッ
31 ト飼料又は粉末飼料によるBHAの影響に意義のある違いはみられなかった。

32 ANSパネル (EFSAの食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネ
33 ル) は、0.5%以上投与群において前胃に過形成がみられたことから、本試験におけ
34 るNOAELを飼料添加濃度として0.250.1% (12550 mg/kg体重/日相当) と判断した。

35 (参照3、23) [EFSA 2011, 3.2.2.1の一つ目の試験、3.2.2.4の次の段落] [FAS 24, p2
36 の一番下の段落] (Clayson et al; 1986)

37 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、0.5%以上投与群において前胃に過形

1 成等の病変がみられたことから、本試験におけるNOAELを飼料添加濃度として
2 0.250.1% (12550 mg/kg体重/日相当) と判断した。

3
4 ④4 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁹> 1987年 (5.(4)から移動)

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

7 その結果、体重増加の有意な低下や相対肝重量の有意な増加がみられた。食道入口部
8 (Oesophageal orifice) 付近の胃の前基部領域には重度の過形成がみられた。また、
9 食道入口部付近では、上皮の白色様化および前胃の境界線がみられ、中央領域では病変
10 が斑に散見された。(参照3、23) [EFSA 2011, 3.2.2.1 の3つ目の試験] [FAS 24, p3 の
11 2段落目] (Hirose et al., 1987) 中山専門委員修文

12
【中山専門委員修文案】

その結果、体重増加の有意な低下や相対肝重量の有意な増加がみられた。食道入開口
部 (Oesophageal orifice) 付近の胃の前基部領域には重度の過形成がみられた。ま
た、食道入開口部及び前胃との境界付近では、上皮の白色肥厚様化および前胃の境界線
がみられ、中央領域では斑上の病変が斑に散見された。

【吉田専門委員修文案】

その結果、体重増加の有意な低下や相対肝重量の有意な増加がみられた。食道入口部
(Oesophageal orifice) 付近の前胃の前基部領域には重度の過形成がみられた。ま
た、食道入口部付近及び前胃と腺胃の境界線では、上皮の白色様化および前胃の境界線
がみられ、中央領域では病変が斑状に散見された。

13
14 ⑤4 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料²⁰> 1993年 (5.(5)から移動)

15 ラット (F344系、雄5匹/群) にBHA を4週間混餌投与 (0、0.5、1 又は2%(0、
16 350、710 又は1,400 mg/kg 体重/日相当)) し、亜急性毒性試験が実施された。実験終
17 了の24時間前に、BrdU を投与するために浸透圧ミニポンプをラットに装着した。前
18 胃における細胞増殖はDNAへ取り込まれたBrdUの免疫組織学的検出によって評価
19 した。切片長1mmあたりの細胞数及び増殖細胞の割合(標識指標)を前胃の3か所
20 (盲嚢、中間部位、前基部領域)について測定した。

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

24 ~~食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、前胃における過形成病変の数と大きさの~~
25 ~~用量依存的な増加がみられたことから、本試験におけるLOAELを飼料添加濃度とし~~
26 ~~て0.5% (350 mg/kg 体重/日) と判断した。~~

19 1用量の試験であることから、参考資料とした。

20 試験の詳細が不明なことから、参考資料とした。

1

【事務局より】

前胃における過形成病変の数と大きさの用量依存的な増加がみられていますが、各投与群でみられた病変の程度が不明であることから、参考資料としました。

2

⑥10 週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料²¹＞ 1962 年（5.(6)から移動）

3

ラット（系統、性別及び匹数不明）に BHA を 10 週間混餌投与（0 又は 500～600 mg/kg 体重/日(LD₅₀ の 1/5 量相当）し、亜急性毒性試験が実施された。

4

5

6

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

7

8

9

10

11

⑦3 か月間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料²²＞ 1986 年（5.(8)から移動）

12

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

13

14

15

16

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

17

18

（参照23）[FAS 24, p6の一番下の段落] (Newberne et al., 1986) 吉田専門委員修

19

20

文

21

⑧3 か月間亜急性毒性試験（ラット、肝臓の部分切除）＜参考資料²³＞ 1986 年（5.(9)から移動）

22

23

ラット（Wistar 系、10 匹、肝臓の 2/3 を部分的切除）に BHA を混餌投与（2%）したところ、前胃の病変部の進行は有意に速く進行したやかであった。中山専門委員修文 腺癌腫は 3 か月後で初めてみられた。体重増加抑制はみられなかった。吉田専門委員修文 肝臓の部分切除をしていない動物の前胃では一部で僅かな過形成がみられたのみであったが、肝臓の部分切除を実施した動物では前胃に可視可能な腫瘍がみられ、前胃粘膜は白色で肥厚して白色様で、密集した小結節性の集塊（confluent nodular masses）がみられた。また、10 例全てに過形成がみられ、顕著な過角を伴う化症とともに乳頭腫もみられた。中山専門委員修文 さらに、半数において腺癌腫吉田専門委員修文がみられた。その癌腫は癌細胞には異型、核異型及び有糸分裂像が認められたが、高分化度は高かった。しており、異型性変化、核異型

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

²¹ 試験の詳細が不明なことから、参考資料とした。

²² 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

²³ 供試動物が肝臓を部分切除した動物であることから、一般的な毒性試験と異なることから、参考資料とした。

1 ~~及び有糸分裂活性を伴っていた。~~ 中山専門委員修文

2 筋層及び脂肪組織への腺癌腫の浸潤もみられた。顆粒球形細胞、リンパ球及びマク
3 ロファージの粘膜下組織への浸潤もみられた。他の全ての器官は外見上正常であっ
4 た。(参照23) [FAS 24, p6の3段落目] (Abraham et al., 1986) 吉田専門委員修
5 文
6

【山中専門委員コメント】

本試験は参考資料となっていますが、これは「Ⅱ. 5. (22) ② 4週間亜急性毒性試験(ラット)」(これも1用量だがこちらは参考資料でない)と同様、毒性用量を決める試験というよりも、プロモーションに対する反応を見る試験(確実に過形成が起こる条件で行っている)なので、むしろ「Ⅱ. 8 その他の毒性試験」に記述してはどうでしょうか。前胃に過形成が起こるような大量摂取で、部分肝切除や化学的プロモーターなどの条件によっては悪性化がありうる。一方、もともとこの項に書かれているような回復試験から、暴露を停止すれば過形成自体は可逆的に消失するという流れになります。

ただし、遺伝毒性、発がん性試験について未記載なので、参考資料にするかどうかという議論自体次回まで結論はできないかもしれません。

7
8 ⑨24週間亜急性毒性試験(ラット) <参考資料²⁴> 1986、1987年 (5.(10)から移
9 動)

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

13 24週間投与群の前胃では上皮の肥厚がみられ、特に前胃と腺胃の境界縁において
14 顕著であった。吉田専門委員修文

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

17 24週間投与群の前胃には、過形成及び乳頭腫がみられた。これらの変化には、~~し~~
18 ~~ばしば間質増殖とともに重層扁平上皮の肥厚を伴う~~上方及び~~へ~~の~~しばしば間質での~~
19 増殖、加えて及び細長い突起を形成する基底細胞の下方への増殖による上皮脚の伸
20 長がみられた。粘膜固有層及び粘膜下組織には急性の炎症反応もみられた。中山專
21 門委員修文

22 投与を終了した動物では、過形成及び乳頭腫の~~上方への増殖~~は完全に消失したが、
23 基底細胞の下方~~への増殖~~は全投与動物において継続していた。中山専門委員修文 検
24 査した動物のうち3例で乳頭腫がみられた。この群において炎症、基底細胞の~~におけ~~
25 ~~る~~異形成異常及び癌はみられなかった。(参照23) [FAS 24, p4の1段落目] (Masui et
26 al., 1986a; Ito & Hirose, 1987) 中山、吉田専門委員修文
27

²⁴ 1用量の試験であることから、参考資料とした。

【吉田専門委員コメント】

(「間質増殖」の記載について)

意味が分かりづらいです。

(「重層扁平上皮の肥厚を伴う上方への増殖」の記載について)

「上方」の記載については、上方・下方とするか又は表層・深層とするか検討が必要です。その下の段落の「上方」及び「下方」についても同様です。

(「細長い突起」)

意味が分かりづらいです。

⑩32 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料²⁵> 1986年 (5.(11)から移動)

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

BHA 全投与群に体重増加抑制の他に、前胃~~粘膜で~~扁平上皮~~粘膜~~の肥厚と扁平上皮乳頭腫がみられた。中山専門委員修文

2%投与群でみられた腫瘍は、前胃~~の~~大部分にみられた。中山・吉田専門委員修文
これらの病変部は絨毛~~状結節~~で灰白色であった。表面~~に~~の~~上皮~~は、~~表層~~の壊死を伴う過角化がみられたと扁平上皮の長突起を伴う角化症を示した。本投与群では、乳頭腫の発生頻度は 100%であった。乳頭腫病変は 4 例 (発生頻度 20%) で粘膜下組織へ~~の~~下方~~伸長していた成長も~~みられた。中山専門委員修文

1%投与群では、前胃に単一又は複数のポリープ様腫瘍がみられ、乳頭腫の発生頻度は40%であった。

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

⑪1~4 週間亜急性毒性試験 (ハムスター) <参考資料²⁶> 1984年 (5.(12)から移動)

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

⑫1 又は 3 日間並びに 1、2、3、4 又は 16 週間投与試験 (ハムスター) <参考資料²⁷> 1986年 (5.(13)から移動)

ハムスター (シリアンゴールデン系、約 30 匹/群) に BHA を 1 又は 3 日間並びに 1、2、3、4 又は 16 週間混餌投与 (1%) し、その後標識指標を確認できるように放

²⁵ 試験の用量が飼料への添加濃度で記載されており、体重 1kg 当たりの BHA 摂取量が不明であることから、参考資料とした。

²⁶ 試験の詳細が不明であり、1 用量の試験であることから、参考資料とした。

²⁷ 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

1 射標識したチミジンを注射した。

2 BHA 投与群では体重が減少したが、肝臓の絶対重量は増加した。

3 少なくとも 1 週間投与した動物では、前胃上皮の巢状~~的~~肥厚が潰瘍とともに又
4 は潰瘍を伴わずにみられ、時には密なケラチン状灰白色物質で覆われていた。他の器
5 官には異常はみられなかった。中山専門委員修文

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

10 ⑬16 週間亜急性毒性試験 (ハムスター) <参考資料²⁸> 1986 年 (5.(14)から移動)

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

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

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

18 3-BHA 及び粗精製 BHA 投与群では、投与 1 週以降前胃粘膜に過形成がみられ、
19 投与 4 週後に最も重度となり、それ以降病変は軽減した。乳頭腫は投与 16 週後に最
20 も重度となった。2-BHA、3-BHA 及び粗精製 BHA のいずれも過形成及び乳頭腫を
21 惹起するが、3-BHA 及び粗精製 BHA による病変には可逆的なものがあること、ま
22 た粗精製 BHA の催腫瘍性は主として 3-BHA によるものであった。(参照 3) [EFSA
23 2011, p18, 3.2.2.2] (Hirose et al., 1986b) 中山専門委員修文

25 ⑭20 週間亜急性毒性試験 (ハムスター) <参考資料²⁹> 1986 年 (5.(15)から移動)

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

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

33 ⑮5~6 日間亜急性毒性試験 (ウサギ) <参考資料³⁰> 1957 年 (5.(16)から移動)

34 ウサギ (品種、性別雌雄及び匹数不明) に BHA を 5~6 日間強制経口投与 (1,000
35 mg/羽/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

36 Na の尿中排泄が 10 倍に、K の排泄が 20%増加した。細胞外液の容積の低下によ

28 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

29 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

30 1 用量の試験であることから、参考資料とした。

1 　　って血漿中 Na 濃度の著しい変化が防がれた。投与 5 日後に血清 K が低下し、筋肉
2 　　の細胞内では K は Na に置換された。心筋におけるその変化は、骨格筋より遅く起
3 　　こり、その程度は軽度であった。BHA は腎臓に直接影響した可能性があった。副腎
4 　　皮質では球状帯の変化がみられ、Na 及び K の喪失と関連したアルドステロンの尿
5 　　中排泄の増加がみられた。(参照 25) [FAS 15, p8, Rabbit] (Denz & Llaurodo, 1957)

6
7 　　①⑥28 日間亜急性毒性試験 (モルモット) <参考資料³¹> 1986 年 (5.(17)から移動)
8 　　モルモット (品種、性別及び匹数不明) に BHA を 28 日間強制経口投与 (0 又は
9 　　1,000 mg/kg 体重/日) したところ、胃に肉眼的変化はみられなかった。(参照 24)
10 　　[FAS 21, p6, Guinea pigs] (Altmann, 1986)

11
12 　　①⑦85 日間亜急性毒性試験 (サル) <参考資料³²> 1986 年 (5.(21)から移動)
13 　　サル (カニクイザル、雌 8 頭/群) に BHA を 1 週間に 5 日間で 4 週間強制経口投
14 　　与 (0、125、500 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解) し、その後投与量を半分にして
15 　　計 85 日間投与して、亜急性毒性試験が実施された。
16 　　その結果、一般状態及び血液生化学的検査において投与に関連した影響はみられ
17 　　ず、~~前~~胃に増殖性変化もみられなかった。投与に関連した病理組織学的変化はみられ
18 　　なかった。統計学的に有意な所見として、500 mg/kg 体重/日投与群において食道遠
19 　　位部の扁平上皮の基底細胞層の分裂指数 (mitotic index) の上昇 (1.9 倍) がみられ
20 　　た。試験終了時点には、両投与群において肝臓の相対重量が増加した (125 及び 500
21 　　mg/kg 体重/日投与群、対照群で $2.64 \pm 0.26\%$ 、 $2.89 \pm 0.39\%$ 、 $2.19 \pm 0.11\%$)。 (参
22 　　照 3) [EFSA 2011, 3.2.2.4 Monkeys] (Iverson et al., 1986)

24 (2-4) ラットの胃に対する BHA の影響の可逆性に関する試験

25 ①1、2 又は 4 週間亜急性毒性試験 (ラット) 1985 年

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

28 　　1 週間投与群では、前胃粘膜~~で~~上皮の損傷、軽度な過形成及び過角化症がみられ
29 　　た。2 及び 4 週間投与群では、過形成及び過角化症~~の~~重症度が増したが、~~上皮でみ~~
30 　　~~られた~~他の所見は軽度であった小さくなっていた。過形成~~の~~変化は、境界線の領域で
31 　　生じた。BHA 無添加飼料を給餌する 4 週間の回復期間を設けると、1 週間投与群で
32 　　みられた上皮の変化及び軽度の過形成は完全に消失し、境界線においてごく僅かな
33 　　細胞数の増加と充実性及びこれら細胞の好塩基性化染色の増大がみられただけであ
34 　　った。[中山専門委員修文]

35 　　2 及び 4 週間投与群でみられた過形成変化は、4 週間の回復期間で部分的に回復退
36 　　行した。[中山専門委員修文]

37 　　別の試験において、ラット (雄) に BHA を 1、2、4、8、16 又は 32 日間強制経

31 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

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

1 口投与 (1 g/kg 体重/日、落花生油溶液) した。前胃の変化は、おもに境界縁より遠
2 ~~い~~部位で生じた。 [中山専門委員修文]

3 1 日間投与の前胃に軽度の炎症、僅かな上皮損傷及び有糸分裂活動の増加がみられ
4 た。2 日間投与の前胃には軽度の過形成及び過角化症並びに有糸分裂活動の著明な増
5 加がみられた。 [中山専門委員修文]

6 4 及び 8 日間投与では、上皮の過形成はさらに著しかったが、4 日間投与で明らか
7 かに増加していた有糸分裂活動は 8 日間投与では少なくなっていた。 [中山専門
8 委員修文]

9 16 又は 32 日間投与では、前胃の過形成病変は回復退行しているようにみられた。
10 (参照 24) [FAS 21, p5 の 2 段落目] (Altmann et al., 1985) [中山専門委員修文]

11 ②90 日間亜急性毒性試験 (ラット) [1986 年]

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

18 別の群 (Wistar 系、雌雄各 5 匹) に BHA を 90 日間混餌投与 (2%) し、その後
19 4 週間の回復期間を設けた。回復期間後には、前胃に軽度な過角化症及び中等度の過
20 形成がみられた。

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

28 回復試験では、4 週間の回復期間後に 2%投与群の雌 1/10 例に前胃粘膜に軽度な
29 過形成がみられ、8 週間の回復期間後には雌雄各 1 例に同様の病変がみられた。 [中
30 山専門委員修文]

31 これらの試験のいずれの動物においても、食道に変化はみられなかった。

32 ANS パネルは、第 1 試験においては BHA 全投与群の前胃粘膜に過形成がみられ
33 たことから、第 1 試験における LOEL を 62.5 mg/kg 体重/日と判断した。また第 2
34 試験では 2%投与群に前胃粘膜の過形成がみられたことから、第 2 試験における
35 NOAEL を 62.5 mg/kg 体重と判断した。(参照 3、24、28) [EFSA 2011, 3.2.2.1
36 の 2 つ目の試験、3.2.2.4 の下の段落] [FAS 21, p5 の 3 段落目] [Food Chem Toxicol
37 1986c] (Altmann et al., 1986) [中山専門委員修文]

38 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、第 1 試験において BHA 全投与群の前
39 胃粘膜に過形成がみられたことから、第 1 試験における LOEL を 62.5 mg/kg 体重
40

1 /日と判断した。第2試験では、2%投与群の前胃粘膜に過形成がみられたことから、
2 第2試験におけるNOAELを62.5 mg/kg 体重/日と判断した。[中山専門委員修文]

3
4 ③13週間亜急性毒性試験（ラット） [1985年]

5 ラット（F344系、雄、匹数不明）にBHAを13週間混餌投与（0、0.1、0.25、0.5
6 又は2%、粉末飼料）した。

7 2%投与群では、他の投与群及び対照群より摂餌量及び体重増加量が低く、試験終
8 了時には2%投与群のみ前胃粘膜に増殖性変化がみられた。³H標識チミジン指標の
9 増加が用量依存性でみられ、NOELは0.25%であった。2%投与群のみ前胃に組織学
10 的変化がみられた。[中山専門委員修文]

11 投与13週間後にBHAを休薬し、無添加飼料を給餌すると、³H標識チミジン指
12 標は急速に低下し、1週間後には全投与群と対照群は同等になった。無添加飼料の9
13 週間給餌後には、2%投与群の粘膜の状態は、ほぼ正常に戻った。（参照24）[FAS
14 21, p4 一番下の段落] (Iverson et al., 1985)

15
16 ④6、12又は15か月間亜急性毒性試験（ラット） [1986年]

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

20 組織学的検査は、(1)噴門部付近の食道、(2)境界縁に隣接する大弯部の前胃及び腺
21 胃、(3)食道開入口部付近の前胃及び腺胃に対して実施した。粘膜に過角化症又は錯
22 角化症を伴った一般的な角化症がみられたが、特に境界縁の近傍にみられた。[中山
23 専門委員修文]

24 12か月間投与では、3/10例の前胃粘膜上皮に限局性形成異常がみられ、4/10例の
25 前胃粘膜上皮に一般的な形成異常がみられた。病変のタイプと程度は、前胃の異なる
26 領域においても同様であった。[中山専門委員修文]

27 12か月間の投与後に2か月間の回復期間を設けた場合、大弯部の病変はほぼ完全
28 に消失したが、食道開入口部付近の胃の病変は残存した。

29 15か月間の投与後に7か月間の回復期間を設けた場合、広範な過形成、乳頭腫、
30 形成異常及び侵襲性増殖（本試験条件では、粘膜筋板までは達していが悪性腫瘍化し
31 なかった。）といった前胃の変化はほぼ完全に消失した。（参照24）[FAS 21, p5, 4
32 段落目] (Altmann et al., 1986) [中山専門委員修文]

33
34 (3) 胃に対するTBHQの影響に関する試験

35 ①4週間亜急性毒性試験（ラット） [1994年] (5.(22) ②から移動)

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

39 TBHQ単独投与群では前胃の前基底部及び中間領域の粘膜の肥厚がみられた。
40 TBHQと亜硝酸Naの同時投与群では前胃粘膜の厚さは、TBHQ単独、亜硝酸Na

1 単独又は対照群の10倍以上に増加した。腺胃及び食道にも軽度の粘膜の肥厚がみら
2 れた。粘膜の肥厚に関する影響は5-ブロモ-2'-デオキシウリジン標識指標の増加を伴
3 っていた。(参照10) [EFSA 2004, p13 の一番下の試験] (Kawabe et al., 1994,
4 Yoshida et al., 1994)

5
6 ②20 週間亜急性毒性試験 (ハムスター) 1986 年 (5.22) ⑤から移動)

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

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

12
13 これ以降 (P)

14
15 Ⅲ. 国際機関等における評価 (P)

16 Ⅳ. 食品健康影響評価 (P)

17

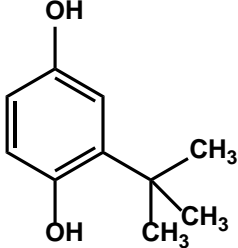
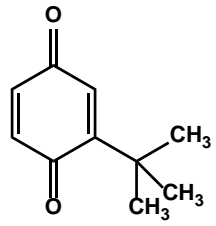
1 <別紙 1：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
Alb	アルブミン
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
ANS パネル	(欧州食品安全機関) 食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネル
AP	アルカリホスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
AUC _{0~t}	投与 t 時間後までの血(漿)中濃度時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
C _{max}	血(漿)中最高濃度
CL	クリアランス
EFSA	欧州食品安全機関
GC	ガスクロマトグラフィー
GC-MS	ガスクロマトグラフィー・質量分析
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小影響量
NADPH	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	無毒性量
NOEL	無作用量
SOD	スーパーオキシドジムスターゼ
T _{1/2}	血(漿)中半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間
Vd	分布容積
WBC	赤血球

2

3

1 <別紙 2：代謝物略称>

略称	代謝物名
TBHQ	<p><i>tert</i>-ブチルヒドロキノン (BHA の脱メチル体)</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>(参照 22) [EFSA J 2004, p3]</p>
TBQ	<p><i>tert</i>-ブチルキノン</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>(参照 36) [Carcinogenesis 1991]</p>

2
3
4
5

1 <参照>

- 2 1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件
3 （平成 17 年 11 月 29 日厚生労働省告示第 499 号） [\[厚労告示\]](#)
- 4 2. The Merck Index, 15th Edition [\[Merck Index\]](#)
- 5 3. EFSA: Scientific opinion on the re-evaluation of butylated hydroxyanisole – BHA
6 (E 320) as a food additive. EFSA Journal 2011; 9(10): 2392-2440 [\[EFSA 2011\]](#)
- 7 4. Environment Canada and Health Canada: Phenol, (1,1-dimethylethyl)-4-
8 methoxy-(Butylated hydroxyanisole), Screening assessment for the challenge.
9 2010 [\[Canada\]](#)
- 10 5. EC: European Union Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No
11 1831/2003. [\[EC Regulation\]](#)
- 12 6. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 42 1992 [\[FAS 42\]](#)
- 13 7. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 飼料添加物に関する試験抄録（非公表）[\[試](#)
14 [験抄録\]](#)
- 15 8. 食品衛生法施行規則 別表第一[\[食品衛生法施行規則\]](#)
- 16 9. 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）[\[飼料](#)
17 [添加物省令\]](#)
- 18 10. EFSA: Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing
19 aids and materials in contact with food on a request from the commission related
20 to tertiary-butylhydroquinone (TBHQ). EFSA Journal 2004; 84: 1-50 [\[EFSA 2004\]](#)
- 21 11. WHO: tert-Butylhydroquinone. WHO Food Additives Series 42 1999 [\[FAS 42](#)
22 [TBHQ\]](#)
- 23 12. Hashizume K, Toda C, Yasui T and Nagano H: Determination of butylated
24 hydroxyanisole and its conjugated metabolites in the organs, blood and excreta of
25 mice by high-performance liquid chromatography. Japanese Journal of Toxicology
26 and Environmental Health 1992; 38(5): 397-402 [\[Jpn J Toxicol Environ Health](#)
27 [1992\]](#)
- 28 13. Ansari GAS et al: Tissue distribution and pharmacokinetics of 3-t-[methyl-
29 14C]butyl-4-hydroxy-anisole in rats. Drug Metab Dispos 1985; 13(5): 535-541
30 [\[Drug Metab Dispos 1985\]](#)
- 31 14. Hirose M et al.,: Metabolism of 2- and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole in the rat (III):
32 Metabolites in the urine and feces. Toxicology 1988; 53(1): 33-43 [\[Toxicology 1988\]](#)
- 33 15. Yamada T, Yamamoto M, Yoshihira K, Kawashima K, Tanaka S and Takanaka A:
34 Distribution of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) orally administered in liver,
35 serum and fetus in rats. Japanese Journal of Toxicology and Environmental
36 Health 1993; 39(1): 68-71 [\[Jpn J Toxicol Environ Health 1993\]](#)
- 37 16. Morimoto K, Tsuji K, Iio T, Miyata N, Uchida A, Osawa R et al.,: DNA damage in
38 forestomach epithelium from male F344 rats following oral administration of tert-
39 butylquinone, one of the forestomach metabolites of 3-BHA. Carcinogenesis 1991;
40 12(4): 703-708 [\[Carcinogenesis 1991\]](#)

- 1 17. Verhagen H, Maas LM, Beckers RHG, Thijssen HHW, ten Hoor F, Henderson PT
2 et al.; Effect of subacute oral intake of the food antioxidant butylated
3 hydroxyanisole on clinical parameters and phase-I and -II biotransformation
4 capacity in man. Hum Toxicol 1989; 8(6): 451-459 [Hum Toxicol 1989]
- 5 18. WHO: tert-Butylhydroquinone (TBHQ). Food Additives Series 40 (1998) [FAS 40]
- 6 19. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 及び BHT の残留試験報告書（肉用鶏及び
7 肥育豚）（非公表） [鶏及び豚残留試験]
- 8 20. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 BHA 及び BHT の残留試験報告書（鶏卵への移
9 行）（非公表） [鶏卵残留試験]
- 10 21. 厚生労働省：暫定基準見直し資料 養殖水産動物における BHA の残留試験報告（に
11 じます、こい及びあゆ）（非公表） [魚残留試験]
- 12 22. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 10, 1976 [FAS 10]
- 13 23. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 24, 1989 [FAS 24]
- 14 24. WHO: Butylated hydroxyanisole. WHO Food Additives Series 21, 1987 [FAS 21]
- 15 25. WHO: Butylated hydroxyanisole (BHA). Food Additives Series 15, 1980 [FAS 15]
- 16 26. Ikeda GJ, Stewart JE, Sapienza PP, Peggins JO, Michel TC and Olivito V: Effect
17 of subchronic dietary administration of butylated hydroxyanisole on canine
18 stomach and hepatic tissue. Food Chem Toxicol 1986; 24(10/11): 1201-1221 [Food
19 Chem Toxicol 1986a]
- 20 27. Tobe M, Furuya T, Kawasaki Y, Naito K, Sekita K, Matsumoto K et al.; Six-month
21 toxicity study of butylated hydroxyanisole in beagle dogs. Food Chem Toxicol 1986;
22 24(10/11): 1223-1228 [Food Chem Toxicol 1986b]
- 23 28. Altmann HJ and Grunow W: Effects of BHA and related phenols on the
24 forestomach of rats. Food Chem Toxicol 1986; 24(10/11): 1183-1188 [Food Chem
25 Toxicol 1986c]

26
27
28
29
30