

(案)

飼料添加物評価書

ジブチルヒドロキシトルエン

文字列：削除予定（審議における参考として記述）

※毒性と調査会が判断する所見は表に記載し、原則として最終的に本文からは除く

文字列：調査会の判断・とりまとめ部分

文字列 **文字列**：前回調査会からの追加・修正・削除部分

2019年11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).....	16
(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.....	19
(1) 残留試験 (牛) GLP.....	19
(2) 残留試験 (豚).....	20
(3) 残留試験 (鶏①).....	21
(4) 残留試験 (鶏②).....	22
(5) 残留試験 (鶏卵①).....	23
(6) 残留試験 (鶏卵②).....	24
(7) にじます、こい、うなぎ、あゆ及びまだい.....	24
(8) 残留試験 (くるまえば①).....	26
(9) 残留試験 (くるまえば②).....	26

1	3. 遺伝毒性試験.....	27
2	4. 急性毒性試験.....	30
3	5. 亜急性毒性試験.....	30
4	(1) 30日間亜急性毒性試験(マウス、混餌投与) <1992>.....	30
5	(2) 7週間亜急性毒性試験(マウス、混餌) <参考資料>.....	31
6	(3) 10週間亜急性毒性試験(マウス、混餌) <参考資料>.....	31
7	(4) 6週間亜急性毒性試験(ラット①、混餌) <参考資料>.....	32
8	(5) 6週間亜急性毒性試験(ラット②、混餌) <参考資料>.....	32
9	(6) 7週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料>.....	32
10	(7) 10週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料>.....	33
11	(8) 16週間亜急性毒性試験(ラット、混餌) <参考資料>.....	33
12	(9) 4週間亜急性毒性試験(アカゲザル、経口投与).....	33
13	6. 慢性毒性及び発がん性試験.....	34
14	(1) 10か月慢性毒性試験(マウス、混餌投与) <1986年>.....	34
15	(2) 11か月慢性毒性試験(マウス、混餌投与) <1986>.....	35
16	要検討(3) 12か月間慢性毒性試験(マウス、混餌投与) <1973><参考資料>.....	36
17	36
18	要検討(4) 16か月慢性毒性試験(マウス、混餌投与) <1974><参考資料 ²⁴ >.....	36
19	(5) 96週間慢性毒性・発がん性試験(マウス、混餌投与) <1982>.....	38
20	(6) 100週間慢性毒性・発がん性試験(マウス、混餌投与) <1976>.....	39
21	(7) 108週間慢性毒性・発がん性試験(マウス、混餌投与) <1979>.....	40
22	(8) 104週間発がん性試験(マウス、混餌投与) <1988>.....	41
23	(9) 76週間慢性毒性・発がん性試験(ラット、混餌投与) <1990>.....	42
24	(10) 24か月慢性毒性・発がん性試験(ラット、混餌投与) <1977>.....	43
25	(11) 104週間慢性毒性・発がん性試験(ラット、混餌投与) <1981>.....	44
26	(12) 105週間慢性毒性・発がん性試験(ラット、混餌投与) <1979>.....	45
27	(13) 110週間慢性毒性・発がん性試験(ラット、混餌投与) <1990>.....	46
28	(14) 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験①(ラット、	
29	混餌投与) <1986>.....	47
30	(15) 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験②(ラット、	
31	混餌投与) <1994・1997>.....	47
32	7. 生殖発生毒性試験.....	48
33	(1) 3世代繁殖毒性試験(マウス、混餌投与) <1993>.....	48
34	(2) 繁殖毒性試験(マウス、混餌投与) <参考資料>.....	49
35	(3) 発生毒性試験(マウス、経口投与).....	49
36	(4) 繁殖毒性試験(ラット、混餌投与).....	50
37	(5) 繁殖毒性試験(ラット、混餌投与)①.....	51
38	(6) 繁殖毒性試験(ラット、混餌投与)②.....	51
39	(7) 発生毒性試験(ウサギ) <参考資料>.....	51
40	(8) 発生毒性試験(アカゲザル、混餌投与) <参考資料>.....	52

1	8. 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験.....	52
2	(1) 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌	
3	投与）①.....	52
4	(2) 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌	
5	投与）②.....	56
6	9. その他の毒性試験.....	62
7	(1) 血液凝固系への影響に関する試験.....	62
8	(2) 肝臓への影響に関する試験.....	64
9	(3) 甲状腺への影響に関する試験.....	66
10	(4) 発がん性に関する促進作用又は抑制作用<参考資料>.....	67
11	10. ヒトにおける知見.....	71
12	(1) 経口摂取による急性毒性についての知見.....	71
13	(2) 胃がんに関する疫学的知見.....	72
14		
15	III. 国際機関等における評価.....	73
16	1. EUにおける評価（1987年）.....	73
17	2. JECFAにおける評価（1986年、1996年）.....	73
18	3. 国際がん研究機関（IARC）における評価（1986年、1987年）.....	73
19	4. EFSAにおける評価（2012年）.....	73
20	5. 環境省による環境リスク初期評価.....	74
21		
22	IV. 食品健康影響評価.....	75
23		
24	・ 別紙1：検査値等略称.....	80
25		
26	・ 別紙2：代謝物略称.....	83
27	・ 参照.....	84
28		
29		

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
2019年	11月	6日	第149回肥料・飼料等専門調査会

2 <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

3

4 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

（2019年9月30日まで）

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
栞形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一 吉田 敏則
佐々木 一昭

（2019年10月1日から）

新井 鐘蔵 佐々木 一昭
荒川 宜親 下位 香代子
井手 鉄哉 中山 裕之
今井 俊夫 宮島 敦子
今田 千秋 森田 健
植田 富貴子 山口 裕子
川本 恵子 山田 雅巳
栞形 麻樹子 山中 典子
小林 健一

1

2 <第 149 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿>

3 唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

4 吉田 敏則（東京農工大学農学研究院動物生命科学部門准教授）

要 約

1
2
3 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、
4 JECFA、EFSA の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

5 評価に用いた試験成績は、体内動態 (マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト)、
6 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
7 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)、
8 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
9 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
10 等の成績である。

11 **[以下、審議後記載]**
12

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：ジブチルヒドロキシトルエン

7 英名：Dibutylhydroxytoluene

8

9 3. 化学名

10 IUPAC

11 英名：2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol

12

13 CAS (No. 128-37-0)

14 英名：2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-methoxyphenol **【高橋専門委員ご指摘**
15 **部分】**

16

17

18 $C_{15}H_{24}O$

19

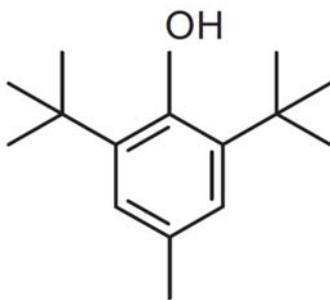
20 5. 分子量

21 220.36

22

23 6. 構造式

24



25

26

(参照1)

27

28 7. 使用目的及び使用状況

29 ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) は、抗酸化作用抗酸化剤であり、を有し、
30 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。工業用原料
31 (ゴム、燃料、インク等の添加剤) 飼料添加物以外としても、飼料添加物、食品添
32 加物、化粧品等及び工業製品としてもとして抗酸化作用を目的に広く酸化防止剤
33 として広く用いられ使用されている。ている。

34 飼料添加物としての添加使用目的は、品質の保持の他に、船舶輸送時の油脂の

1 酸化反応による火災の防止がある。特に油脂分が多い魚粉は油脂分が多く、火災
2 の危険が高いことから、の海上輸送においては、国際海上危険物規則により BHT、
3 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
4 かの酸化防止剤の添加が義務付けられている（おり、国内日本においてはでは危
5 険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~~
6 ~~ている。~~

7 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
8 含有量~~が~~は飼料 1 t 当たり 150 g 以下と規定されている（参照2）。

9 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
10 も等の添加可能な食品が定められており、食品中の含有量に関するの規定がある
11 （参照3）。

12 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）、
13 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
14 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
15 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
16 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
17 づき評価要請が行われた。

18
19

1 II. 安全性に係る知見の概要

2 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
3 知見を整理した。

4 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。

5 6 1. 体内動態試験

7 (1) 体内動態試験 (マウス、単回経口投与) <1984>

8 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
9 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
10 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、
11 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
12 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
13 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
14 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
15 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、
16 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
17 が実施された。

18 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
19 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、
20 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
21 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、
22 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
23 れらは投与 168 時間後には非検出となった。

24 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。

25 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
26 16 時間後でピークに達し、その後速やかに減少した。

27 尿、糞及び呼気への累積排泄率を表 2 に示した。

28 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
29 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
30 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~
31 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。

32 ^{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
33 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
34 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
35 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*-
36 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
37 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
38 照 5、6、7) [厚 1_FAS35 2.1.1.1 の前段、厚 3_EFSA, p13、事 38_原著]

¹ *p*-メチル基を ^{14}C で標識した BHT

1
2 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
3 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

4 n=4

5
6 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
7 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

8 n=4

9 a : 総投与放射能に対する割合

10
11 (2) 体内動態試験 (マウス、反復経口投与) <1984>

12 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
13 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
14 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
15 測定された。

16 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
17 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

1 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
2 日であった。(参照 5、6、7) [厚 1_FAS35, 2.1.1.1 の後段、厚 3_EFSA, p13、
3 事 38_原著]

5 (3) 体内動態試験 (ラット、単回経口投与①)

6 ラット (SD 系、6 週齢、雄 4 匹/時点) に ¹⁴C 標識 BHT³ を単回強制経口投与
7 (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、
8 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
9 の測定並びに TLC 及び LSC による代謝物分析が実施された。

10 尿中及び糞中への累積排泄率を表 3 に示した。

11 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
12 それぞれ投与量の 85.9% (尿 : 16.1%、糞 : 69.8%) 及び 82.9% (尿 : 19.2%、
13 糞 : 63.7%) であった。

14 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
15 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
16 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
17 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)

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

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

投与量 (mg/kg 体重)	試料	投与後日数 (日)		
		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

22 n=4

23 a : 総投与放射能に対する割合

25 (4) 体内動態試験 (ラット、単回経口投与②)

26 ラット (Wistar 系、雌雄各 3 匹) に ¹⁴C-標識 BHT⁴ を単回経口投与 (1 mg
27 (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
28 測定された。

29 結果を表 4 及び表 5 に示した。

30 1 mg/匹投与では、投与後 4 日までに、雄で約 66% (尿 : 24%、糞 : 42%)、
31 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 ¹⁴C で標識した BHT

⁴ *tert*-ブチル基を ¹⁴C 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
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

1 2.1%が消化管で保持されていた。

2 また、ラット (Wistar 系、雌雄各 1 匹) に、¹⁴C 標識 BHT を単回経口投与
3 (雄 : 1.75 mg (4.2 μCi) /匹、雌 : 2.25 mg (5.4 μCi)) 後の胆汁中の放射能
4 (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、
5 雌で 17%/30 mLであった。

6 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
7 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
8 3_EFSA, p14、事 39_原著]

10 (6) 体内動態試験 (ラット、反復経口投与①)

11 ラット (Nelson 系、雌雄各 1 匹/群) に ¹⁴C 標識 BHT⁶ (0.2 mmol/kg 体重
12 (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
13 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
14 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)、
15 肝臓、腎臓、脳、肺、心臓、生殖腺 (精巣・卵巣)、副腎、脾臓、血液、皮膚、
16 筋肉、脂肪の各組織及び躯体の放射能が測定された。

17 結果を表 6 及び表 7 に示した。

18 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
19 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%)
20 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
21 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
22 なかった。(参照 5、6、9) [厚 1_FAS35, 2.1.1.2、厚 3_EFSA, p14、事 40_原
23 著]

24 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

26 a : 総投与放射能に対する割合

27 b : 合計値と異なるが、原著の数値のママ記載。

28 -: 逃走によりデータなし

29 ⁶ tert-ブチル基を ¹⁴C で標識した BHT

1 表7 ラットにおける ¹⁴C 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

2 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)

3 - : 逃走によりデータなし

4

5 (7) 体内動態試験 (ラット、反復経口投与②)

6 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。

7 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、
8 肝臓ではみられなかった。肝臓のマスマスペクトルでは、2,6-di-tert-butyl-4-
9 methylene-2,5-cyclohexadienone と一致するピークがみられ、試験実施者は、
10 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**
11 **5_原著】**

12

13 (8) 体内動態試験 (ウサギ)

14 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
15 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
16 代謝物が測定された。

17

1 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
 2 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
 3 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
 4 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
 5 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
 6 差はみられなかった。(参照 5、11) [厚 1_FAS35, 2.1.2.3、事 21_原著]

7
 8 (9) 体内動態試験 (ヒト、単回経口投与)

9 男性 2 名の被験者に ¹⁴C 標識 BHT⁷ (2.4 μCi/mg) と非標識 BHT の混合物
 10 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
 11 糞中の放射活性が測定された。

12 尿中の測定結果を表 8 に示した。

13 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 1 後排泄
 14 量は漸減し、投与後 11 日までに約 63%~67%が排泄された。糞中の放射活性
 15 は、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
 16 び 0.02%であった。(参照 5、6、12) [厚 1_FAS35, 2.1.1.4、厚 3_EFSA, p15、
 17 事 41_原著]

18
 19 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

20
 21
 22 <事務局より>

第 148 回肥料・飼料等専門調査会において、荒川先生から年齢による代謝の
 違いがある可能性もあるため、わかれば追記した方が良いとのご意見をいた
 だきましたが、原著にも年齢に関する記載は確認できませんでした。

23
⁷ 二つの *tert*-ブチル基のメチル基を ¹⁴C で標識した BHT

1 (10) 体内動態試験 (ラット及びヒトの比較試験)

2 ラット (Wistar 系、雄、入荷時平均体重 : 326 ± 36 g) 及びヒト (健常男性、
3 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、
4 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
5 た。投与 0、15、30、45、60、75、90、120、150、180-及び 240-分後に血液
6 を採取し、血漿中の BHT 濃度が測定された。

7 結果を表 9 に示した。

8 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
9 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
10 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
11 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、
12 濃度には個体差がみられた。

13 次に、ラット (Wistar 系、雄、5 匹、平均体重 : 275 ± 7 g) 及びヒト (健常
14 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 :
15 200 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
16 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
17 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。

18 結果を表 10 に示した。

19 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
20 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
21 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
22 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
23 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。

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

25
26 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 (µg/mL)	AUC ^a (µg·h/L)
ラット	20	0.2 ± 0.3	300 ± 400
	63	0.8 ± 0.3	2,000 ± 1,400
	200	2.3 ± 0.9	7,700 ± 2,700
ヒト	0.5	0.09 ± 0.1	76 ± 65

27 a : 平均 ± 標準偏差
28

1 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
 2 (%) ^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

3 a : 総投与量に対する割合 (平均±標準偏差)

4 b : ラット 5 例、ヒト 7 例

5 LOD : 検出限界、ND : 非検出、- : 未測定

6

7 (1 1) 体内動態試験 (ヒト、反復経口投与)

8 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
 9 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。

10 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
 11 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
 12 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
 13 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-
 14 COOH の ダルタロニドエステルエステル型グルクロン酸 が検出された。

15 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
 16 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_**
 17 **原著]**

18

19 (1 2) 体内動態試験 (代謝物の概要)

20 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
 21 6、15、16、17) **[厚 3_EFSAp12-15、事 42_総論、事 43_総論、事 44_総論]**

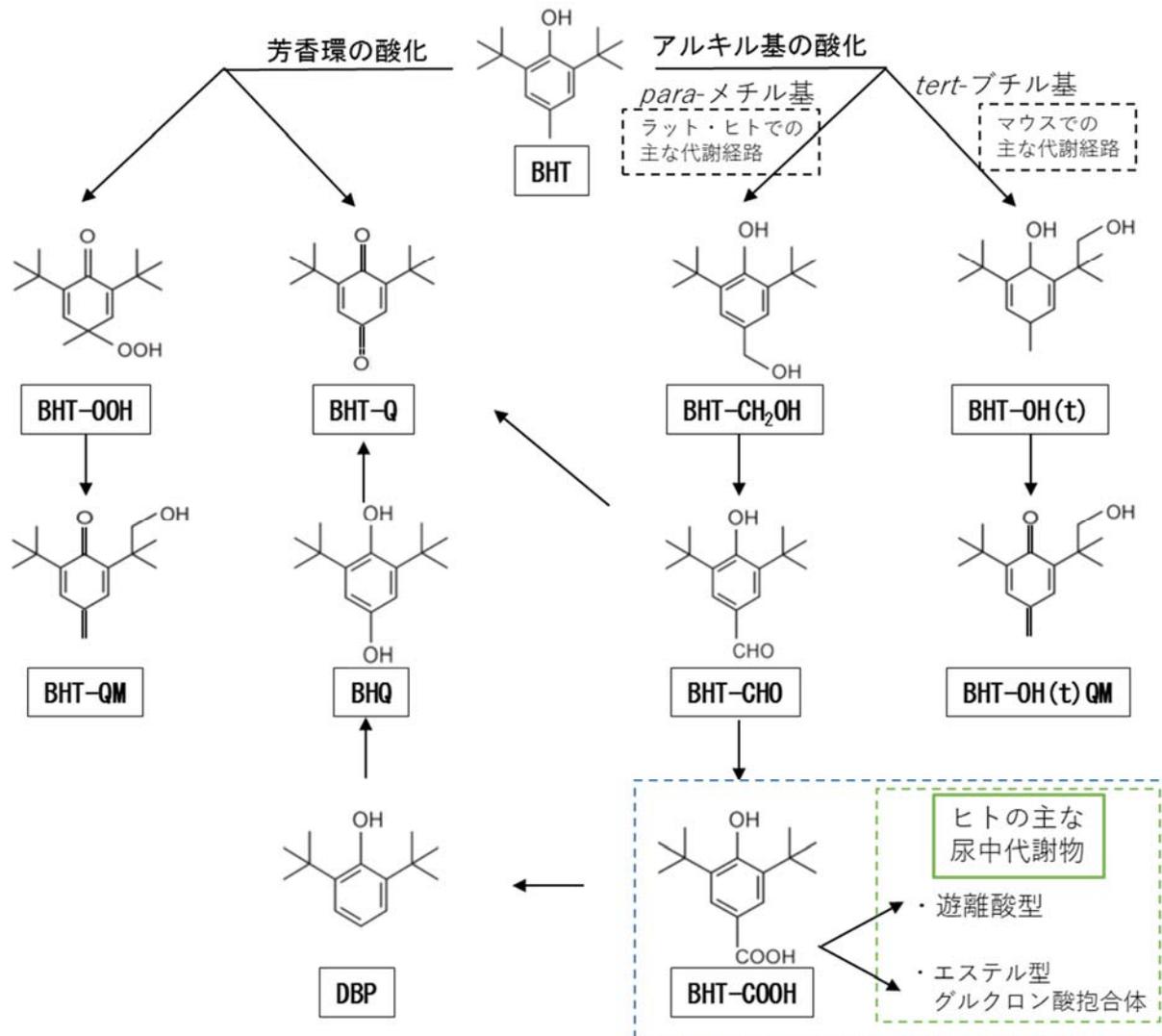


図1 BHTの生体内推定代謝経路

<事務局より>

図について、「食品健康影響評価」での記載にあわせ、マウス・ラット主な代謝経路を追記し、ヒトでの尿中代謝物についても追記しました。

<佐々木専門委員より>

ヒトの尿中代謝物は、遊離酸型とエステル型グルクロン酸抱合体なので修正してください。

→<事務局>修正しました。

<宮島専門委員より>

代謝物で、エステル型、グルクロン酸抱合体というのはおかしいので、佐々木先生からのご指摘のように、遊離酸型、エステル型グルクロン酸抱合体が良いと思います。遊離酸型は、代謝物なので、抱合体に合わせると型は不要で、遊離酸だけでも良いように思います。(特にこだわりはありませんのでどちらでも。)

1

2

3

1 2. 残留試験

2 (1) 残留試験 (牛) GLP⁸

3 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
4 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
5 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
6 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
7 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
8 果を表 11 及び表 12 に示した。

9 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
10 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
11 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
12 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
13 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。
14 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

15 労 5_農水事業 1、厚 6_農水事業 2]

16
17 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							
	2	<LOQ							
	3	<LOQ							
	4	<LOQ							
	5	<LOQ							
	6	<LOQ							
	7	<LOQ							
	14	<LOQ							
	21	<LOQ							
	27 ^a	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-
27 ^b	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	
28	-	<LOQ							

18 <LOQ : 定量限界 (0.01 µg/g) 未満

19 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

20 - : 未実施

21 ⁸ 動物試験部分 (測定機関へ検体送付まで) のみ適用

1 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

2 <LOQ : 定量限界 (0.01 µg/g) 未満

3 a : 投与開始 27 日後に剖検し採材した

4
5 (2) 残留試験 (豚)

6 豚 (LW 系、SPF、去勢雄、1 頭/時点) に BHT を 91 日間混餌投与 (150 又
7 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
8 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、
9 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
10 (LOD : 0.025 µg/g)。

11 結果を表 13 に示した。

12 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
13 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
14 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
15 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
16 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
17 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
18 にはならなかった。(参照20) [厚 8_農水事業 (1980)]

1 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	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	0.04	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
腎臓	0.04	0.08	0.08	0.04	<LOD	<LOD	<LOD
	0.05	0.09	0.08	0.09	0.07	<LOD	<LOD
筋肉	<LOD	0.03	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	<LOD	0.07	0.05	0.07	0.03	<LOD	<LOD
脂肪	0.44	0.50	0.45	0.40	0.36	0.36	0.13
	0.56	1.5	0.88	0.51	0.35	0.18	0.16
小腸	0.38	0.30	0.39	0.27	0.17	0.09	0.07
	1.0	0.71	1.5	0.82	0.86	0.70	0.17

2 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

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

4 <LOD : 検出限界 (0.025 µg/g) 未満

5

6 (3) 残留試験 (鶏①)

7 鶏 (肉用種、初生雛、雌、10 羽/時点 (投与開始 4 週間後のみ 16 羽/時点)) に
 8 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
 9 当)) する残留試験が実施された。投与開始 4 週間後並びに最終投与 0、1、2、3、
 10 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
 11 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
 12 (投与開始 4 週間後のみ 8 羽分) をまとめて 1 試料とした。

13 結果を表 14 に示した。

14 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
 15 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
 16 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
 17 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
 18 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
 19 600 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、
 20 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
 21 れ比較的高い残留がみられた。(参照 20) **[厚 8_農水事業 (1980)]**

22

1 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

2 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

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

4 <LOD : 検出限界 (0.025 µg/g) 未満

5

6 (4) 残留試験 (鶏②)

7 鶏 (肉用鶏種、1 日齢、雌雄各 1 羽/時点) に ¹⁴C 標識 BHT⁹を添加した飼料
 8 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、
 9 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
 10 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、
 11 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
 12 各組織の放射能濃度を LSC で測定した。

13 結果を表 15 及び表 16 に示した。

14 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
 15 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
 16 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
 17 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。
 18 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
 19 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
 20 (1965)]

21

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 鶏における ^{14}C 標識 BHT の混餌投与試験 (鶏) における後の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
砂囊	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 鶏における ^{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 (採卵種、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 飼料の混餌投与に変更し継続飼育、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 採卵鶏における混餌投与試験における後の鶏卵中の BHT 濃度
($\mu\text{g/g}$)^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 (採卵種 (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 $\mu\text{g/g}$)。

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 $\mu\text{g/g}$ 、600 mg/kg 飼料投与群では最終投与 0 日後に 34 $\mu\text{g/g}$ 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 $\mu\text{g/g}$ 、600 mg/kg 飼料投与群では 4.1 $\mu\text{g/g}$ 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
($\mu\text{g/g}$)^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	0.95	0.82	1.45	0.71	0.67	0.26	0.16
	29	33	34	20	20	16	13	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 飼料投与群、下段は 600 mg/kg 飼料投与群

<LOD : 検出限界 (0.025 $\mu\text{g/g}$) 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。)

1 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、
2 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
3 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 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
5 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
6 いる。

7 結果を表 19 に示した。

8 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
9 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
10 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
11 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
12 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
13 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
14 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
15 も減少はみられなかった。(参照24) [厚 12_農水事業 (1981)]

16
17 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
18 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

19 a : 各時点で 10 尾以上から採取 (測定試料数は不明)

20 <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

21 — : 未実施

22
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)

1 (8) 残留試験 (くるまえば①)

2 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
3 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、
4 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)。
5 結果を表 20 に示した。

6 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)

7 **[厚 7_山口県水産試験場 (1980)]**

8
9 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

10 <LOD : 検出限界 (0.05 µg/g) 未満

11 a : 3 検体を分析し、全て<LOD

12 b : 2 検体を分析し、全て<LOD

13 - : 未実施

14
15 (9) 残留試験 (くるまえば②)

16 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
17 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-
18 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
19 (くるまえば①) の試験と同様に行った。

20 結果を表 21 に示した。

21 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**

22 **県水産試験場 (1980)]**

23
24 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

25 <LOD : 検出限界 (0.05 mg/g) 未満

26 a : 2 検体を分析し、全て<LOD

27
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。

1 3. 遺伝毒性試験

2 (1) BHTの遺伝毒性試験

3 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
4 示した。

5 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
6 ーV79 細胞を用いる細胞遺伝子突然変異試験において S9mix 添加条件下で陽
7 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
8 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
9 *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
10 の一部や DNA 損傷試験 (コメット試験アッセイ) を除いて、いずれも陰性であ
11 った。【山田専門委員・森田専門委員御修文】

12 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
13 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
14 ている (参照 17、26) [事 48_原著] ことから、したがって、前述の S9mix 添加
15 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
16 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。*in*
17 *vitro* の遺伝子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
18 試験 (コメットアッセイ) において陽性結果が認められたが、これらはことは、
19 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
20 性酸素種による間接的な影響で、閾値のあるものと考えた。【森田専門委員御修
21 文・山田専門委員御修文】

22 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
23 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
24 となる遺伝毒性はないと判断した。

25
26 <事務局より>
27 コメット試験については、過去の評価書における記載にあわせてコメットア
28 ッセイで統一しました。

29 表 22 BHTの遺伝毒性試験結果【森田専門委員コメントに基づく】

	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>Salmonella 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、27 [事 35_SIDS]
		<i>S. typhimurium</i> TA97、TA102、TA104、TA100	1~1,000 µg/plate (±S9)	陰性	5

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538	100~10,000 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
		<i>S. typhimurium</i> TA102, TA2698, <i>E. coli</i> WP2/pKM101, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	333 から 5,000 µg/plate (+S9)	陰性	27
	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
		マウスリンフォーマ 細胞 (L5178Y <i>Tk</i> ^{+/+})	40 µg/mL まで (± S9, 3h) 50 µg/mL まで(-S9、 24h)	陰性	6、28
		チャイニーズハムス ターV79 細胞、 HGPRT <i>locus</i> Rat liver epithelial cell (line 18)、 HGPRT 遺伝子	1、5、10 µg/mL (+S9) 50~90 µg/mL (-S9)	陽性 ^a 陰性	27 5、27
	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
	染色体異常試 験	Human WI-38 (embryonic lung cells)	2.5~250 µg/mL (-S9)	陽性 (参 考) ^b	5、27、29
		チャイニーズハムス ター卵巢由来 (CHO) 細胞	1.6~15-16 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 交換試験	CHO 細胞	1~1,000 µg/mL	陰性	5
	DNA 修復試験	ラット初代培養肝細 胞	0.01~10 µg/mL	陰性	5
<i>in vivo</i>	宿主経路試験 (復帰突然変 異)	マウス (ICR Swiss 系) - <i>mouse</i> -/ <i>S. typhimurium</i> G46、TA1530	acute 30~1,400 mg/kg (単回) subacute 30~500 mg/kg	陰性	5、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(宿主経由)	<i>Saccaromyces cerevisiae</i> D3/マウス(ICR Swiss系)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、27
相互転座試験	雄マウス(雄)	1%(混餌)、8週間	陰性	5、27
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
性染色体欠失試験	ショウジョウバエ	5%(混餌)	陰性	5
染色体異常試験	マウス(ICR系)又はラット(Wistar又はSD系)骨髄細胞(ICRマウス、Wistarラット又はSDラット)	2.0×10 ⁻⁶ µg	陰性	5
	骨髄細胞(アルビノスイスラット)	1.5%(混餌、9か月)	陰性	27、30 [厚4都衛研1977]
小核試験	マウス(C57BL/6系×C3H/He系)骨髄細胞(C57BL/6×C3H/Heマウス)	3 mg/kg 体重(経口、3か月)	陰性	5
	ラット骨髄細胞	0、125、250、500、1,000 mg/kg 体重(5日間腹腔内投与)	陰性	27
	ラット末梢血細胞	30、250、500(5回) 30、900、1,400 mg/kg (急性及び亜急性単回)	陰性	5、27
優性致死試験	SDラット(SD系)	17.3、34.5、69.0 mg/kg 体重(経口、3か月)	陰性	6
	雄SDラット(SD系、雄)	30、900、1,400 mg/kg 体重(急性単回)	陰性	5、28
	雄SDラット(SD系、雄)	30、250、500 mg/kg 体重/日(亜急性反復)	陽性陰性	
	雄マウス(雄)	50、150、50、166、500 mg/kg 体重/日	陽性陰性 ^c	5、27
DNA損傷試験(コメットアッセイ)	雄ddYマウス(ddY系、雄)	10,000 mg/kg 飼料	陰性	5、27
		10~1,000 mg/kg(単回)	陽性(脳、腺胃、結腸、膀胱) 陰性(肝臓、腎臓、肺、骨髄)	31 [事52原著]

- 1 a: 細胞毒性用量のみ陽性。
- 2 b: 分裂中期細胞ではなく、分裂後期細胞を観察した結果であり、バリデーションされた試験ではなく、Bomhardの総説(参照29)においても妥当性に疑念があるとされていることを踏まえ、
- 3 参考資料とした。
- 4 c: SIDS(参照27)の計算による。
- 5
- 6

<事務局より>

森田専門委員から、各試験について修正コメントをいただき、表及び本文の内容・まとめ方を修正しました。

下位専門委員に引用文献について修正をいただきました。

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 又は概略算の致死量 (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トロンボプラスチン指数 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、32) [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

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

3
4 表 24 マウスを用いた 30 日間亜急性毒性試験でみられたにおける毒性所見

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

5
6 <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

7
8 (2) 7 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料¹⁴>

9 マウス (B6C3F1 系、雌雄各 5 匹/群) に BHT を 7 週間混餌投与 (0、3,100、
10 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
11 れた。

12 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
13 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
14 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
15 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
16 与群の雌ではみられなかった。

17 試験実施者は体重に対する影響を考慮し、発がん性試験 (6 の (7) 108 週間
18 慢性毒性・発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1979>) の投与量を 3,000 及
19 び 6,000 mg/kg 飼料とした。(参照 5、33) [厚 1_FAS35, 2.2.2.1 p8、事 37_NCI
20 TR150, p9-11]

21
22 (3) 10 週間亜急性毒性試験 (マウス、混餌) <参考資料¹⁵>

23 マウス (B6C3F1 系、雌雄各 20 匹/対照群、雌雄各 10 匹/BHT 投与群) に、BHT
24 を混餌投与 (0、2,500、5,000、10,000、20,000 又は 40,000 mg/kg 飼料 (雄/雌 :
25 0/0、410/438、820/875、1,640/1,750、3,480/4,130 又は 6,960/8,260 mg/kg 体重

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
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。

1 /日相当¹⁶⁾) する亜急性毒性試験が実施された。

2 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
3 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
4 られた。

5 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
6 断した。(参照5、27、39) [厚1_FAS35, 2.2.2.1, p8、事35_SIDS, p95~96、事
7 11原著]

8
9 (4) 6週間亜急性毒性試験 (ラット①、混餌) <参考資料¹⁷⁾>

10 ラット (離乳後、雌雄各3匹/群) にBHTを6週間混餌投与 (ロードサプリ
11 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
12 飼料添加) する亜急性毒性試験が実施された。

13 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
14 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
15 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
16 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
17 体の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
18 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
19 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
20 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,
21 Johnson & Hewgill 1961, p9]

22
23 (5) 6週間亜急性毒性試験 (ラット②、混餌) <参考資料¹⁸⁾>

24 ラットにBHTを6週間混餌投与 (ロードサプリメント20%含有飼料にBHT
25 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
26 された。

27 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
28 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
29 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,
30 Johnson & Hewgill 1961, p9]

31
32 (6) 7週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料¹⁹⁾>

33 ラット (F344系、雌雄各5匹) にBHTを7週間混餌投与 (0、6,200、12,500、
34 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。

35 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
36 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

16 OECD SIDS (参照27) による換算。

17 基礎飼料にロ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 基礎飼料にロ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。

1 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。
2 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、33)
3 [厚 1_FAS35, 2.2.2.2, NCI, p10、事 37_NCI TR150, p9～11]

4
5 (7) 10 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料²⁰>

6 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
7 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
8 験が実施された。

9 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
10 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
11 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。
12 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
13 1_FAS35, 2.2.2.2, Frawley 1965, p10]

14
15 (8) 16 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌) <参考資料²¹>

16 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
17 mg/kg 飼料) する亜急性毒性試験が実施された。

18 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
19 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
20 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
21 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
22 られなかった。(参照 5) [厚 1_FAS35, 2.2.2.2, Gaunt 1965a, p10]

23
24 (9) 4 週間亜急性毒性試験 (アカゲザル、経口投与)

25 ~~サル~~(アカゲザル (←哺乳期 3 頭/群又は幼若期 3 頭/群又は若しくは 2 頭/群)
26 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、
27 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
28 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
29 与試験が実施された。

30 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
31 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
32 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
33 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
34 し、病理組織学的検査 (電顕検索を含む) を実施した。また、肝組織中のタンパ
35 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
36 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
37 定が実施された。

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。

1 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
2 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
3 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
4 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
5 増加がみられた。BHT 及び BHA 投与群では、巨大肝細胞 (hepatocytomegaly)
6 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、
7 ~~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
8 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
9 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
10 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
11 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。

12 以上の所見から、試験実施者は、ブチルヒドロキシアニソール (BHA) 及び
13 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
14 な有害影響はないと仮定することが妥当であり、本用量がこれは、ヒトが通常
15 消費する量より相当高い用量であることから、ヒトは現在使用されている量よ
16 りも高用量の酸化防止剤に有害影響を受けず耐容できる可能性があるでの使用
17 量であるとしている。(参照 5、27、34) **[厚 1_FAS35, 2.2.2.4, p10、事 35_SIDS,**
18 **p100, FR p42、事 34 原著]**

19 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
20 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
21 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>

NOAEL の設定はできないこと等を踏まえ、本試験に食安委の見解は必要か。
対応案：

- 1 所見を削除し、参考資料とする
- 2 所見を削除する。
- 3 所見を残す。(現案)

22 6. 慢性毒性及び発がん性試験

23 (1) 10 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) **<1986 年>**

24 マウス (C3H 系、6~10 週齢、雌雄各 17~39 匹/群) に BHT を 10 か月間混
25 餌投与 (0、500 又は 5,000 mg/kg 飼料- (0、39、390 mg/kg 体重/日相当²²))
26 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
27 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
28 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
29 た。

30 体重については、対照群より BHT 投与群は低値であった。

31 各群肝及び肺腫瘍の発生頻度を表 25 に示した。

22 OECD SIDS (参照 27) の記載による換算。原著には記載なし。

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、飼料中蛋白量タンパク質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、27、35、52）**[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及び試験条件が十分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 マウスを用いた 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 系、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 35、35、52）**[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

²³ OECD SIDS（参照 27）による変換換算

1 て発がん性は認められないと判断した。

2 <事務局より>

3 (1) (2) の見解について。

4 特に試験 (2) については、参考資料とするか。

5 **要検討 (3) 1年間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1986>**

6 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
7 (0、0.05%又は0.5%) する慢性毒性試験が実施された。

8 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)、
9 14% (6/43) 及び 7% (2/28) であった。(参照 5、33) [厚 1_FAS35, p9、事 9
10 原著]

11 <事務局より>

12 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ら
13 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
14 削除することで良いか。

15 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
16 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
17 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
18 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
19 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。

20 <事務局より>

21 (3) を削除したため、以降、試験番号をずらしします。

22 **要検討 (4.3) 12 か月間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1973> <参考資料²⁴>**

23 >
24 マウス (BALB/c 系、8 週齢、18 匹/群) に BHT を 12 か月間混餌投与 (0.75%)
25 する慢性毒性試験が実施された。

26 BHT 投与群の 6/18 例において、亜急性胆管炎を伴う重度の胆管過形成がみ
27 られた。(参照 5、36) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1, p10、事 28_原著]

28 **要検討 (4.5) 16 か月慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <1974> <参考資料²⁴>**

29 マウス (BALB/c 系、11 匹/群) に、BHT を 10 か月間又は 16 か月間混餌投
30 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 (4.3) 12
31 か月間慢性毒性試験を踏まえた試験である。
32

24 (3) は (4) の一部として実施されており、同一の著者らがこれらの試験を実施している
にも関わらず胆管過形成、肺腫瘍発生率のいずれについても再現性がみられず、両試験の見
解も一致していないため参考資料とした。【井手専門委員のコメントに基づき追加】

1 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。
2 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)、
3 BHT 投与群で 63.6% (7/11 匹) であった。なお、JECFA ~~FAS35~~によるとは、
4 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
5 の影響はみられなかったとされしている。(参照 5、37) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1,
6 p10、事 10_原著]
7

<事務局より>

原著によれば (3-4) は (4-5) の試験の一部として実施されたもの。(4-5) の試験では、(3-4) 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、(3-4) 及び (4-5) 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。)

<井手専門委員からのコメント> ; 文中の番号修正済み

(3)は(4)の一部として実施されており、同一の著者らがこれらの試験を実施しているのにも関わらず胆管過形成、肺腫瘍発生率のいずれについても再現性がみられていないため、これらは参考資料という位置付けで良いのではないかと考えました。

原著を読みましても、(3)では 0.75%の 12 ヶ月間混餌投与で 6/18 例で亜急性胆管炎を伴う胆管過形成がみられているものの、同一の著者らが実施した(3)では 0.75%混餌投与の 8 ヶ月後、16 ヶ月後のいずれにおいても胆管過形成は 1 例もみられていませんし、(4)の肺腫瘍発生率についても、同一の著者らが実施した再試験で肺腫瘍発生率への影響はなかったとしており、胆管過形成と同様に再現性が得られていませんので、これらの試験を食品健康影響評価の根拠に採用するのは適当ではないと考えました。

<事務局より>

◎両試験を統合して記載した場合

(3) 12 か月間及び 16 か月間慢性毒性試験 (マウス、混餌投与) <参考資料>

マウス (BALB/c 系、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、亜急性胆管炎を伴う重度の胆管過形成がみられた。

本結果を踏まえ、次にマウス (BALB/c 系、11 匹/群) に、BHT を 10 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。

その結果、投与 16 か月後においては、いずれの群でも上記 12 か月間混餌

投与試験でみられた胆管過形成はみられなかった。

肺腫瘍の発生率については、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 によるとは、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している。

(7.5) 96 週間慢性毒性・発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1982>

マウス (B6C3F1 系、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²⁵)) する発がん性試験が実施された。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/ALT、ALP、TB、T.Chol/CHOL、TP、Glu、BUN 及び A/G 比) 及び尿検査 (尿比重及び尿定性 (pH、蛋白タンパク質量、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 26 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、38) [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、雌雄で認めみられた体重増加抑制及び雄で認めみられた 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。

²⁵ JECFA の変換換算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。

表 26 マウスのを用いた 96 週間発がん性試験における主な毒性所見（混餌投与）

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

(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 系、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/日) 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/日) 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 27 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 27 マウスを用いた BHT の 100 週間慢性毒性試験 (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

(8-7) 108 週間慢性毒性・発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1979>

マウス (B6C3F1 系、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) 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。

発がん性に係る病理組織学的検査結果を表 28 に示した。

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、雄で肝臓の肥大肝細胞巣、ペリオーシス、肝細胞変性・壊死及び肝細胞空胞化の用量依存性の増加が、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 mg/kg 飼料投与群でみられた。

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/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ったことから、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性はないとしている。(参照 5、33) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1 p11、事 37_NCI TR150]

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い

²⁶ OECD SIDS (参照 27) による換算。JECFA の変換式による値と一致する。

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 体重/日) と判断した。

表 28 マウスを用いた 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 (mg/kg 体重)		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)

(9-8) 104 週間発がん性試験 (マウス、混餌投与) <1988>

マウス (B6C3F1 系、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、10,000 mg/kg 体重投与 0.3% 群及び 0.6% 20,000 mg/kg 体重投与群において、それぞれ雄では 40%、64% 及び 72%、雌では 58%、81% 及び 89% であった。

1 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巢の
 2 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
 3 率は、雌雄ともに用量依存性に低下した。(参照 5、27、39) [厚 1_FAS35, 2.2.3.1
 4 p11、事 35_SIDS,p139、事 11_原著]

5 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
 6 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
 7 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
 8 められると判断した。

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

投与量 (mg/kg 飼料)	雄			雌		
	0	10,000	20,000	0	10,000	20,000
被検動物数 ^c	32	42	47	41	44	40
変異肝細胞巢	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)

- 12 a: 総発生個数 (括弧内は個数/匹)
 13 b: 例数 (括弧内は発生率 (%))
 14 c: 生存期間が投与開始後 62 週を超えた個体
 15 d: 対照群と有意差あり (p<0.01、カイ二乗試験)

17 (4-5-9) 76 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1990>

18 ラット (F344 系、雄、BHT 投与群: 21 匹、対照群: 36 匹) に BHT を 76
 19 週間混餌投与 (0、100、300、1,000、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料 (0、7.5、
 20 23、75、225 又は 450 mg/kg 体重/日相当²⁷)) する慢性試験が実施された。投
 21 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
 22 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巢の検
 23 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、
 24 皮下投与) された。

25 毒性所見を表 30 に示した。

26 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
 27 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
 28 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巢は、投与 48 週
 29 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
 30 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
 31 照 5、27、40) [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p15、厚、事 35_SIDS,p834-845、事 32
 32 原著]

²⁷ OECD SIDS (参照 27) による換算。

1 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
2 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
3 飼料（75 mg/kg 体重/日）であると判断した。

4
5 表 30 ラットを用いた 76 週間慢性毒性・発がん性試験（~~ラット~~）における毒性
6 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

7
8 (10) 24 か月慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与） <1977>

9 ラット（JCL 系、4 週齢、雌雄各 40 匹/群）に BHT を 24 か月間混餌投与（0、
10 50、620 又は 3,200 mg/kg 飼料（雄/雌：0/0、2.14/2.49、9.61/10.26 又は
11 144.8/170.9 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。
12 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
13 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
14 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
15 が実施された。

16 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つ
17 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
18 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
19 ロール値の増加がみられた。また 3,200 mg/kg 飼料投与群の雌雄で、投与後 6
20 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、
21 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
22 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
23 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
24 起因すると考えられる腫瘍の発生もみられなかった。

25 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
26 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
27 ている。（参照 5、30） [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、厚 34_原著]

28 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
29 リウム及び血清コレステロール値の変動は一過性であり、投与後 3 か月から 12
30 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
31 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
32 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
33 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
34 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
35 られないと判断した。

1
2 (4-2-1-1) 104 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1981>

3 ラット (Wistar 系、7 週齢、雌雄各 57 匹/群、雌雄各 36 匹/対照群) に BHT
4 を 104 週間混餌投与 (0、2,500 又は 10,000 mg/kg 飼料 (0、150、600 mg/kg
5 体重/日²⁸)) する慢性毒性・発がん性試験が実施された。

6 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
7 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、ALT、
8 γ -GTP、ALP、CHE、ChE、TP、T₂Chol、TG、BUN、CRE、UA、TB、A/G、
9 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
10 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。

11 毒性所見を表 31 に示した。

12 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
13 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
14 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
15 開始後 60 週まで、雌は投与期間中にわたってみられた。

16 BHT 投与群の雄に TG の用量依存性の有意な低下及び γ -GTP、GGT の有意な
17 増加が、雌に T₂Chol の有意な増加がみられた。

18 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
19 臓の絶対及び相対重量低下がみられた。

20 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
21 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。

22 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、
23 27、41) [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、事 35_SIDS、事 31_原著]

24 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験において BHT 投与に起因
25 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
26 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
27 LOAEL は、雄でみられた TG の低下及び γ -GTP 増加並びに雌で見られた
28 T₂Chol 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
29 2,500 mg/kg 飼料であると判断した。【井手専門委員御修文 以下、GGT を γ -
30 GTP に統一。なお、最終的にギリシャ文字のフォントは半角にします。】

31
32 表 31 ラットを用いた 108 週間ラット慢性毒性・発がん性試験における毒性所

²⁸ JECFA の換算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。

1 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 <u>以上</u>	TG 低下、 <u>γ-GTP/GGT</u> 増加 肝臓重量の増加	T.Chol 増加 肝臓重量の増加 脾臓重量の低下

2
3

<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か。

<井手専門委員からのコメント>

肝臓の重量増加は雌雄に共通してみられており、雄で中性脂肪低下、雌で総コレステロール増加があり、肝臓における脂質代謝の異常の可能性が疑われますので、肝臓の重量増加は雌雄ともに所見としてよいのではないかと考えました。

4

5 (4-1-12) 105 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) <1979>

6 ラット (F344 系、雌雄各 50 匹/BHT 群、雌雄各 20 匹/対照群) に、BHT を
7 105 週間混餌投与 (0、3,000 及び 6,000 mg/kg 飼料 (0、225 及び 450 mg/kg
8 体重/日相当²⁹)) 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
9 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
10 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
11 織の病理組織学的検査が実施された。

12 肺胞組織球症及び下垂体腫瘍発生頻度を表 32 に示した。

13 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
14 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
15 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
16 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
17 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
18 は対照群と BHT 投与群で有意な差はみられなかった。

19 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
20 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
21 がん性はみられないとしている。(参照 5、33、33) [厚 1_FAS35, 2.2.3.2 p12、
22 事 35_SIDS, p127、事 37_NCI TR150]

23 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
24 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

²⁹ OECD SIDS (参照 27) による変換換算。

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。

表 32 ラットを用いた 105 週間慢性毒性・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

投与量 (mg/kg 飼料)	雄			雌		
	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。

原著を確認したところ、非腫瘍性病変についての統計学的評価は未実施

(1-6-13) 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³⁰)) 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 33 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、40) [厚

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。

³⁰ OECD SIDS (参照 27) による換算。

表 33 ラットを用いた 110 週間慢性毒性・発がん性試験 ~~(ラット)~~ でのにおける毒性所見

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

(1-3-1-4) 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験① (ラット、混餌投与) <1986>

<事務局より>

調査会での桑形専門委員からのコメントを踏まえ、子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験 (2 論文・非公表報告を 1 報を含む) については、慢性毒性発がん性試験及び生殖発生毒性で重複している試験について、統合の上、別項目に分けて整理しました。

母動物への BHT 投与による出生前ばく露後 144 週齢まで反復投与を行う慢性毒性・発がん性試験が、「7 の (4) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)」と同一の試験として実施されている。本試験については、「8 の (1) 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) ①」に記載する³¹。

<事務局より>

繁殖毒性試験とともに別項目 (p52) に移動。

<桑形専門委員より>

タイトルについて、修正をいただきました。以降、このご提案に基づき、「繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験」に修正します。

なお、以下、桑形専門委員からの御修文については、太字にて表記します。

(1-4-1-5) 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験② (ラット、混餌投与) <1994・1997>

<事務局より>

調査会での桑形専門委員からのコメントを踏まえ、慢性毒性発がん性試験及び生殖発生毒性で重複している試験について、統合の上、別項目に分けて整理しました。

母動物への BHT 投与による出生前ばく露後 22 か月齢まで反復投与を行う慢性毒性・発がん性試験が、「7 の (4) 繁殖毒性試験 (ラット、混餌投与)」と同一の試験として実施されている。本試験については、「8 の (2) 繁殖毒性試験

³¹ 本試験は、生殖発生毒性試験と並行して実施され、総合的に評価する必要があるため。

1 及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）②」に記載
2 する³¹。

3
4 <事務局より>

繁殖毒性試験とともに別項目（p52）に移動。

5
6
7 7. 生殖発生毒性試験

8 (1) 3 世代繁殖毒性試験（マウス、混餌投与） <1993>

9 は 5 週交配の 4 週間前から投与を開始し、9 週週齢時に 5 日間交配して自然
10 分娩させ F1 世代を得た。F 得られた 1 児動物（F₁ 世代：雌雄各 10 匹/群）は、
11 生後 4 週で離乳し、9 週齢時に交配、7 分娩させ、F₂ 世代を得た。F₂ さらに、
12 得られた児動物（F₂ 世代：雌雄各 10 匹/群）も同様に交配、分娩させ、得ら
13 れた F₃ 児動物は 21 日齢まで飼育を継続した。

14 毒性所見を表 34 に示した。

15 F₁ 及び F₂ 世代では、生後 0 日に同腹児数及び同腹児重量、性比を調べた。そ
16 の後、哺育児児体重の他、生後 3 週までの間に、初期行動発達（正向反射、背
17 置走性、断崖落下）機能及び神経行動学的パラメータ（嗅覚方向反応、強制水
18 泳試験、オープンフィールド試験）が測定された。

19 毒性所見を表 34 に示した。

20 P 世代では、哺育 2 週期間中に 150 及び 450 mg/kg 飼料投与群で、各それぞ
21 れ 1 例が死亡した。

22 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
23 った。授乳期の 7～21 日間における体重増加抑制が、4,005mg050mg/kg 飼料
24 【小林専門委員より御修文。以下、4005→4050】投与群の F₁ 世代でみられた
25 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
26 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
27 た。

28 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
29 れないとしている。

30 EFSA の ANS パネルは、各群の動物数が少ないことをコメントした上で、本
31 試験における NOAEL を F₁ 世代の哺育授乳期にみられた体重増加抑制の所見
32 に基づき、1,350 mg/kg 飼料 0.135% と判断している。（参照 5、6、27、42） [厚
33 1_FAS35, 2.2.4.1 p15、厚 3_EFSA p25、事 35_SIDS, p147-149、事 33_原著]

34 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、F₁ 世代の哺育授乳期にみられた
35 体重増加抑制の所見に基づき、本試験の NOAEL を 1,350 mg/kg 飼料 0.135%
36 (202.5 mg/kg 体重) と判断した。

37
38 表 34 マウスを用いた 3 世代繁殖毒性試験（マウス、混餌投与）における毒性

1 所見

投与量 (mg/kg 飼料)	毒性所見
4,050 05	<u>F1 児体重増加抑制 (F₁ 世代の哺育授乳期腹平均体重、生後 7,14, 21 日の 7~21 日間)</u>
1,350 <u>以下</u>	所見なし

2 <小林専門委員より>

NOAEL の判定に異論ありません。

3
4
5 (2) **繁殖発生毒性試験** (マウス、混餌投与) <参考資料>³²

6 マウス (outbred albino、動物数不明) に 10% 又は 20% ラード含有飼料に BHT
7 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
8 当)) し、出産前 64~92 日間混餌投与する **繁殖毒発生毒性試験** が実施された。

9 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
10 では、出産までの日数 延長増加並びに生後 12 日の生存児数の減少、同腹児重量
11 (腹平均値および及び腹合計値) 生後 12 日の平均生存児動物数及び体の重の
12 有意な低値下 がみられた。

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

15
16 (3) **発生毒性試験** (マウス、経口投与)

17 妊娠マウス (JCl-ICR 系、7 日間投与 : 26~30 匹/群、単回投与 : 19~20 匹)
18 に BHT を経口投与 (7 日間[妊娠 7~13 日連続投与]投与 : 0、70、240 又は 800
19 mg/kg 体重/日、~~単回(妊娠 9 日単回)~~投与 : 0、1,200 又は 1,800 mg/kg 体重/
20 日相当) し、妊娠 18 日に帝王切開する発生毒性試験が実施された。対照群は 溶
21 媒対照群 (オリーブ油) および及び無処置群が設定されとした。

22 毒性所見を表 35 及び表 36 に示した。

23 帝王切開 所見時子宮内状況 では、妊娠黄体数、着床 痕 数、生存胎児数、胚・
24 胎児死亡数 (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
25 った。また、胎児の外表、骨格及び内臓検査において、形態異常奇形 及び変異
26 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。

27 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、1,800
28 mg/kg 体重/日投与群で 5/20 が死亡し、投与後の体重増加抑制は 1,200 及び
29 1,800 mg/kg 体重/日投与群でみられたが、生存動物の剖検では異常はみられな
30 かった。帝王切開所見では、妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、胚・胎児死亡
31 数 (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

³² 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 点が多く認められ
る みられる ことから参考資料とした。

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~~の投与群で、腰椎後椎骨の化骨数の僅かな減少がみられたが、胎児の外表、骨格及び内臓検査において、形態異常及び変異の発現に 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~~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~~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 30）**【厚 4 都衛研 1977】**

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験における連続投与によ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 35 マウスを用いた 7 日間投与発生毒性試験における毒性所見

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	毒性所見所見なし
240 以下	所見なし	

表 36 マウスを用いた単回投与（妊娠 9 日）発生毒性試験（~~単回投与~~）における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
1,800	死亡（妊娠 11、14、15 日、計 5 例）脾臓重量増加	毒性所見無し
1,200 以上	死亡（妊娠 11、15 日、計 2 例）体重増加抑制 肺重量増加	毒性所見無し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）

<事務局より>

調査会での稟形専門委員からのコメントを踏まえ、子宮内ばく露試験と並列で実施されている、慢性毒性発がん性試験及び生殖発生毒性で重複している試験について、統合の上、別項目に分けて整理しました。（4）と次の（5）

1 繁殖毒性試験が、「6の(14)繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・
2 発がん性試験①(ラット、混餌投与)〈1986〉」と同一の試験として実施され
3 ている。本試験については、「(1)繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒
4 性・発がん性試験(ラット、混餌投与)①」に記載する³³。

＜事務局より＞

慢性毒性発がん性試験とともに別項目(p5257)に移動。

5
6 (5) 繁殖毒性試験(ラット、混餌投与)①

7 繁殖毒性試験が、「6の(15)繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・
8 発がん性試験②(ラット、混餌投与)〈1994・1997〉」と同一の試験として実
9 施されている。本試験については、「8の(2)の①用量設定試験」に記載す
10 る³³。

＜事務局より＞

慢性毒性発がん性試験とともに、用量設定試験(前回の(6))とあわせて別
項目(p57)に移動。

12
13
14 (6) 繁殖毒性試験(ラット、混餌投与)②

15 繁殖毒性試験が、「6の(15)繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・
16 発がん性試験②(ラット、混餌投与)〈1994・1997〉」と同一の試験として実
17 施されている。本試験については、「8の(2)の②繁殖毒性試験及びF1世
18 代を用いた慢性毒性・発がん性試験(本試験)①用量設定試験」に記載する
19 ³³。

＜事務局より＞

慢性毒性発がん性試験とともに、用量設定試験(前回の(5))とあわせて別
項目(p59)に移動。

21
22
23 (7) 発生毒性試験(ウサギ)〈参考資料³⁴〉

24 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
25 ら18日まで強制経口投与(0、3.20、14.9、69.1又は320mg/kg体重/日)する
26 発生毒性試験が実施された。妊娠29日に帝王切開を行~~った。~~い、子宮内状況及
27 び胎児の観察を実施した。

28 0、14.9、69.1及び320mg/kg体重/日投与群で、それぞれ1例、3例、4例

³³ 本試験は、慢性毒性・発がん性試験と併合試験と並行して実施され、総合的に評価する必要
があるため。

³⁴ 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。

1 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
2 収胎児数が増加したが、生存胎児の外観、内臓及び骨格検査では異常発現に対
3 照群との差はみられなかった。

4 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)

6 (8) 発生毒性試験(アカゲザサル、混餌投与) <参考資料³⁵>

7 サル(アカゲザル(♀雌、6頭/群)を、BHTとBHAの混合物含有飼料(BHT:
8 50mg/kg体重/日相当、BHA:50mg/kg体重/日相当)又はBHT及びBHAを
9 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
10 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
11 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、
12 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
13 の観察は2歳まで継続し、生後3か月時には対照群及びBHT/BHA投与群の児
14 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
15 での心理学的観察が実施された。

16 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。対照群及び
17 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
18 外の原因で死亡したが、その他の児動物は健康であり、生後3か月時の観察
19 においても異常な行動学的所見は異常はみられなかった。(参照5、43) [FAS35,

20 2.2.4.4 p18、事23_原著]

22 8. 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ばく露相を伴
23 う試験

25 <事務局より>

26 調査会での稟形専門委員からのコメントを踏まえ、慢性毒性発がん性試験及び
27 生殖発生毒性で重複している試験について、統合の上、別項目に分けて整理しま
28 した。

29 <稟形専門委員よりタイトルの修正案をいただき、これに反映しました。>

30 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん性試験

31 (1) 繁殖毒性試験及びF1世代を用いた子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん
32 性試験(ラット、混餌投与)①

33 試験では繁殖毒性試験を実施するとともに、本試験のF1世代を用いて慢性
34 毒性・発がん性試験が実施された併合試験である。即すなわち、ラット(Wistar
35 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500mg/kg体重/日相当)後、各群の雌雄を交配させた。雌動物には、分娩
後、離乳時まで投与を継続した。引き続きさせて得た児動物各群の雌雄を交配

³⁵ 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。

1 させて得た児動物 (F₁ 世代雌雄各 80~100 匹/群) に、BHT を離乳後から 144
2 週齢まで混餌投与 (0、25、100 又は 250 mg/kg 体重/日相当) する試験が実施
3 された。なお、500 mg/kg 投与群では親世代にて腎毒性がみられたために、離
4 乳後の児動物では 250 mg/kg に投与量が下げられている。

5 F₁ 世代が離乳するまでにみられた毒性所見を表 37 に、離乳後の 5 週齢以降
6 にみられた毒性所見を表 38 及び表 39 に示した。

7 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
8 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
9 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
10 の投与群で有意に低下した。離乳時では 25 mg/kg 体重/日以上
11 の投与群で用量依存性の体重増加抑制がみられた。

12 F₁ 世代において、一般症状及び血液検査 (生後 9、19、43、108 週に実施)
13 で BHT 投与の影響はみられなかった。

14 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、
15 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
16 及び 16%の低値を示した。

17 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
18 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。

19 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
20 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
21 性病変として、雄では胆管増殖増生及び嚢胞が、雌では限局性肝細胞肥大が、
22 用量依存性の発生頻度の増加を示した。【井手専門委員御修文 以下同様】

23 非発がん性の毒性として、JECFA 及び EFSA は、児動物の体重及び本試験
24 の生殖・発生毒性試験における、生後 0 日の同腹児数の減少、性比³⁶、及び哺
25 育期間中および及び離乳後の児動物の授乳期間における体重増加抑制への影響
26 から、本試験における NOAEL を 25 mg/kg 体重/日としている。

27 発がん性については、JECFA は、対照群と比較して BHT 投与群では、生存
28 率が高く、BHT 投与群でみられた肝腫瘍の多くは通常の発がん性試験のばく露
29 期間を超えた投与 141~144 週間後の剖検時に発見されたものであったことか
30 ら、BHT の発がん性を評価することは困難であるとしている。

31 EFSA は、ラットの子宮内ばく F₁ 動物を用いた露相を伴った慢性毒性・発が
32 ん性試験における肝腫瘍発現には閾値があるものとみなし、BMD 分析により、
33 肝細胞がんの発生率に関する BMDL₁₀ を 247 mg/kg 体重/日と推定している。

34 (参照 5、6、27、44) [厚 1_FAS35、事 35_SIDS,p126-127、厚 3_EFSA, p19-
35 21、事 12_原著] (参照 5、6、27、39) [厚 1_FAS35、事 35_SIDS,p149、厚
36 3_EFSA, p25、事 12_原著]

37 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25 mg/kg 体重/日でみられた離乳
38 時の増体重の減少については、軽度 (5%以下) かつ有意差 (p<0.05) が生じて

³⁶ 原著論文には記載がない。

1 いることについては分析手法について留意が必要であると考えられたこと、及び
2 離乳後の最初の評価時点である 5 週齢時点で差がみられなかったことから毒
3 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
4 体重増加抑制に基づき 25 mg/kg 体重/日と判断した。また、児動物の反復投与
5 による毒性所見については、100 mg/kg 体重/日の雄でみられた有意かつ明らかな
6 体重増加抑制を毒性所見とし、NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と判断した。

7 **【山中専門委員のコメントに基づき追記】**

8 発がん性については、JECFA と同様の見解から、本試験において評価するこ
9 とは困難であると考えた。

10
11 <以下稟形専門委員より修文案>

12 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25 mg/kg 体重/日でみられた離乳
13 時の増体重低値の減少については、軽度（5%以下）であり、離乳後には体重推
14 移に影響がみられないことからかつ有意差（ $p<0.05$ ）が生じていることについ
15 ては分析手法について留意が必要であると考えられたこと、及び離乳後の最初
16 の評価時点である 5 週齢時点で差がみられなかったことから毒性所見とはせず、
17 本試験における親母動物および及び児動物及び胎児・哺育児の NOAEL を胎児
18 の体重増加抑制等に基づき 25 mg/kg 体重/日と判断した。

19 また、児動物の反復投与による毒性所見については、100 mg/kg 体重/日の雄で
20 みられた有意かつ明らかな体重増加抑制を毒性所見とし、NOAEL を 25 mg/kg
21 体重/日と判断した。

22 発がん性については、JECFA と同様の見解から、本試験において評価するこ
23 とは困難であると考えた。

24
25 <事務局より>

- 山中専門委員より、離乳後の体重増加抑制に関する見解が必要とのご指摘を踏まえ、追記しました。
- BHT の投与状況がわかりにくいので、詳述しました。
→稟形専門委員から修文案をいただきましたので差し替えました。
- 稟形専門委員から、最後のまとめの部分の修正案をいただきましたので、とりまとめ方について、御検討をお願いします。

1 表 37 繁殖生殖発生毒性に関する毒性所見 (離乳時まで) ^a

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児・哺育児
500	体重増加抑制	同腹児数減少
100 以上	<u>毒性</u> 所見なし	体重増加抑制
25 以下		<u>毒性</u> 所見なし

2 a : 原著論文に基づく。

3

4 表 38 ラット繁殖毒性試験の F1 世代を用いたラットを用いた子宮内ばく露相
 5 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
 6 性及び非増殖性病変発生頻度 ^a 子宮内ばく露相を含む慢性毒性・発がん性
 7 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 体重/日)	雄	雌
250	<ul style="list-style-type: none"> 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) 	<ul style="list-style-type: none"> 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 以上	・ 体重増加抑制	<u>毒性</u> 所見なし (<u>100 以下</u>)
25 以下	<u>所見なし</u>	

8

表 39 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた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			
	0	25	100	250	0	25	100	250
投与量 (mg/kg 体重/日)								
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
<u>嚢胞</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>6</u>	<u>17</u>	<u>7</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>9</u>

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

<井手専門委員からのコメント>

非増殖性病変には「限局性肝細胞肥大」（雌で増加）、「胆管増生」（雄で増加）しか記載がありませんが、雄で増加している所見として「嚢胞」も記載されていますので、「嚢胞」の検査動物数も追記してはどうかと思いました。

<事務局より>

嚢胞について、表に追記しました。

<小林専門委員からのコメント>

体重減少は対照群と比べて、25mg/kg 体重/日では 4.8%、100mg/kg 体重/日では 6.4%、250mg/kg 体重/日では 40.4%の体重低下です。100mg/kg 体重/日でも軽度なので影響なしとして良さそうですが、5 週齢の体重低下 (Table 2、対照群 105g、100mg/kg 群 97g、P<0.001) を毒性ととるならば、NOAEL は 25 mg/kg 体重/日でよいと思います。ただし 5 週齢を“哺育児”と称してよいか疑問です。

(2) 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた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）②

本試験では繁殖毒性試験を実施するとともに、本試験の F1 世代を用いて慢性毒性・発がん性試験が実施された併合試験である。なお、本試験は「8の(1)」

1 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投
2 与）①」の補足試験として設計された。

3 ① 用量設定試験

4 ラット（Wistar 系、P 世代：雄 8 匹/群、雌 64 匹/群）に BHT を 5 週間混餌
5 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
6 た。雌動物には、妊娠・分娩後、離乳時まで投与を継続した。させて得た児動
7 物（F₁ 世代）についての検討が「8 の（2）の②—繁殖毒性試験及び子宮内ば
8 く露相を伴う慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）7 の（6）繁殖毒
9 性試験（ラット、混餌投与）」の用量設定試験として実施された。なお、本試験
10 は「7 8 の（1）繁殖毒性試験及び子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性
11 試験（ラット、混餌投与）①」の補足試験として設計された。

12 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
13 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
14 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
15 各腹の同腹子の 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、
16 各群児動物 14 例は離乳後から基礎飼料で 4 週間飼育が継続された。

17 主な毒性所見を表 40 に示す。

18 交尾配率に影響はみられなかった。

19 母動物では交配前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。

20 500 mg/kg 体重/日群で哺育期間中に、750 mg/kg 体重/日以上群では妊娠最終
21 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/
22 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
23 mg/kg 体重/日以上群で肝臓重量が有意に増加し、750 mg/kg 体重/日以上
24 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
25 の増加を電顕で確認]を伴う)、腫大した肝細胞における細胞質の空胞化肝細胞
26 質空胞化、小葉中心性のグリコーゲン減少消失及び類洞拡張並びに門脈領域に
27 炎症や繊維線維化を伴わない小葉中心性のグリコーゲン減少、類洞拡張及び胆
28 管増生（門脈領域に炎症・線維化なし）がみられた。【井手専門委員御修文】

29 児動物では、同腹児子数および及び児の発育（発生異常とは何か？）につい
30 て群間で顕著な差はみられなかった。500 mg/kg 体重/日以上群で同腹子重量
31 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
32 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
33 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/日以上群
34 で体重の有意な低値が、750 mg/kg 体重/日以上群では顕著な発育不全、
35 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
36 以上の投与群でグリコーゲン減少消失及び副腎では束状帯の脂肪滴増加がみら
37 れた。【井手専門委員御修文】しかしながら離乳 4 週間後の剖検例では肝相対重
38 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。

39 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
40 母乳産生抑制によるものと考察している。（参照 5、27、45）**【厚 1_FAS35 2.2.3.2**

p13-15、事 35_SIDS p 89-95、145-146、p150-151、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及び肝臓相対重量の増加が、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。

<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 (エポキシドヒドロラーゼ) の増加を所見とするか。→薬物代謝酵素の誘導は所見としない。
- ・ 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。

<葉形専門委員より>

(1) 用量設定試験については、参考データとし、NOAEL 設定は不要と考えます。

表 40 ラットを用いた繁殖毒性試験および及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験 (ラット) における毒性所見 (予備試験)

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	<u>体重増加抑制 (妊娠以降)</u> <u>摂餌量減少 (妊娠～哺育期)</u> 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及び、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	<u>体重増加抑制、肝臓相対・絶対重量の増加</u>	<u>体重増加抑制 (生後 2 週以降)</u> <u>発育遅延・離乳時の体重低値</u> 、 <u>肝臓絶対重量減少の増加</u> 、 <u>肝臓グリコーゲン減少消失</u> 、 <u>副腎束状帯の脂肪滴増加</u>

<事務局より>

井手専門委員から、黄色本文の御修文案をいただきました。表については、簡潔

な記載とすることと、御修文案を踏まえて記載整備をしました。
グリコーゲンの消失と原文にはありますが、言い切れないと考えられることから、
評価書の見解としての表では減少のママにしました。

② 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試験試験（本試験）

上記①の用量設定試験に基づき、繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（本試験）が実施された。

すなわち、即ち、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 53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、胎児体重測定及び胎児観察を行い、組織学的検索が実施された。また、各群 5 匹の母動物は、分娩させ離乳時まで投与を継続し、母児共に離乳時（生後 3 週）に剖検した。

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。

残りの次に、交配により得られた児動物（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）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。なお、本試験は、「（1）繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験（ラット、混餌投与）①」の検証試験の一つとして実施された。

P 世代及び F₁ でみられた繁殖毒性所見を表 41 に示す。

親動物では、体重推移、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（有意差なし）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/日以上の投与群でみられ、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、帝王切開の結果、吸時の胎児では、胎児吸収胚・胎児数・、同腹児数、胎児体重、胎児肝臓重量、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

1 100 mg/kg 体重/日以上投与群で減少がみられた。

2 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
3 抑制によるものと考察している。

4 離乳子宮内ばく露後、F1 児動物を用いた 22 か月間反復投与試験における毒
5 性所見を表 42 に示した。

6 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
7 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
8 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
9 影響はみられなかった。

10 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
11 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
12 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。
13 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、
14 門脈周囲肝細胞における γ -GTPGGT の顕著な発現が離乳後 11 か月以降から
15 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
16 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
17 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
18 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
19 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
20 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
21 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
22 た、 γ -GTPGGT 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
23 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
24 れなかった。

25 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
26 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
27 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-
28 O-デペンチラーゼ) 活性も 100 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に増加した。
29 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
30 った。

31 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
32 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
33 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
34 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
35 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
36 ン濃度に変化はみられなかった。

37 JECFA は、100 mg/kg 体重/日以上投与群で肝酵素誘導及び甲状腺機能亢
38 進像が認められていること、並びに子宮内ばく露相出生前ばく露を伴う F₁ 世代
39 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
40 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

1 る。

2 EFSA は、哺育児乳動物{~~児動物~~}[~~8~~内については小林専門委員より]について
3 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、
4 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
5 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
6 いる。子宮内ばく露離乳後 22 か月間反復投与での毒性については、「(1)」
7 得られた発がん性に関する結果を踏まえ、NOAEL を 25mg/kg 体重と判断して
8 いる。(参照 5、6、27、45) [厚 1_FAS35 2.2.3.2 p13-15、厚 3_EFSA, p21-22、
9 事 35_SIDS89-95、事 13_原著]

10 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・
11 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
12 ての NOAEL は 100 mg/kg 体重/日以上となると判断した。F₁ 世代の 22 か月間
13 反復投与後における毒性については、JECFA における見解を支持し、閾値を有
14 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 γ -
15 GTPGGT 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
16 25 mg/kg 体重/日と判断した。以上より、本試験の NOAEL を 25 mg/kg 体重/
17 日と判断した。

18
19 表 41 ラットを用いた繁殖毒性試験(ラット)でみられたにおける毒性所見(離
20 乳時まで)

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児・哺育児	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 N- demethylase 及びエポ キシド加水分解酵素 の増加	<u>肝臓相対重量の</u> <u>増加</u>
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-ホスフター ゼの減少 <u>所見なし</u> <u>(100 以下)</u>	<u>所見なし (100</u> <u>以下)</u>
25 以下	所見なし	<u>所見なし</u>	

21

表 42 ラット繁殖毒性試験および及び F1 世代を用いたを用いた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（離乳後）

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 γ -GTPGGT 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

<衆形専門委員からのコメント>

表 41 について、胎児と哺育児について、分けた方がよい。

<事務局より>

分割しました。（出生胎児・哺育児の体重文献の Table2、肝臓重量比 Table9）

9-8. 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³⁷>

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³⁸)) 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、それぞれ対照群の 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） <参考資料³⁷>

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

³⁷ ラットではキノンメチド体が生成されやすく、高用量での BHT 投与下では、その影響が大きくなると考えられること及び同一著者によるより詳細な再試験が実施されていることから、参考資料とした。

³⁸ OECD SIDS (参照 27) による換算。

1 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 2.2.10.2 p24, Takahashi & Hiraga1979、事 35_SIDS]

3
4 ③ 出血作用抑制検討(ラット、混餌投与) <参考資料³⁷⁾>

5 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
6 混餌投与(0、BHT(12,000 mg/kg 飼料)、BHT(12,000 mg/kg 飼料)+フィ
7 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
8 mg/kg 飼料))する出血作用抑制検討試験が実施された。

9 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
10 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
11 5、27) [厚 1_FAS35, 2.2.10.2 p24, Takahashi & Hiraga 1979、事 35_SIDS]

12
13 ④ 血液凝固因子に対する影響検討(ラット、混餌投与) <参考資料³⁷⁾>

14 ラット(SD系、雄4~5匹/群)に、BHTを7日間混餌投与(12,000 mg/kg
15 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
16 れた。

17 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
18 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、
19 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)

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

21
22 ⑤ 血液凝固に関する急性毒性試験(ラット、単回経口投与)

23 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
24 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
25 又は150 mg/kg 体重)する急性毒性試験が実施された。

26 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
27 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
28 る第II及び第VII恩師因子が有意に減少し、投与48時間後には2匹で精巣上体
29 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
30 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
31 mg/kg 体重投与群において、第II因子が軽度に低下したが、出血はみられなか
32 った。

33 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
34 クルを阻害するためと考察した。(参照46) [事 45_原著]

35
36 ⑥ BHTのビタミンK依存性凝固因子に対する影響の検討(ラット、混餌投与)

37 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
38 同時に3週間混餌投与(0、BHT $\frac{3,000 \text{ mg/kg 飼料}}{\text{体重/日}}$ 、BHT $\frac{3,000 \text{ mg/kg}}{\text{体重/日飼料}}$
39 $\frac{3,000 \text{ mg/kg}}{\text{体重/日飼料}}$ +ビタミンK $\frac{250 \text{ mg/kg}}{\text{体重/日飼料}}$)し、プロトロンビン時間と
40 ビタミンK依存性凝固因子が測定された。

1 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
2 依存性凝固因子 II、VII、IX 及び X を低下させた。

3
4 ラット (Wistar 系、雄 5~6 匹/群) に、BHT 及び ビタミン Vitamin K をそ
5 れぞれ単独又は同時に 14 日間混餌投与 (BHT 3,000 mg/kg 体重/日飼料、ビタ
6 ミン K 250 mg/kg 体重/日飼料 又は BHT 3,000 mg/kg 体重/日飼料 + ビタミン
7 K 250 mg/kg 体重/日飼料) し、トロンボテスト時間、プロトロンビン時間 (PT)、
8 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
9 れた。

10 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
11 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
12 清フィブリノーゲン濃度に影響しなかった。

13
14 ラット (Wistar 系、雄 5~6 匹/群) に、BHT を単独 (0、12.5、125 又は 600
15 mg/kg 飼料体重) あるいはビタミン K と同時 (BHT 600 mg/kg 飼料体重+ ビ
16 タミン K 0.3 mg/kg 飼料体重) に 28 日間混餌投与し、トロンボテスト時間、
17 PT 及び APTT が測定された。

18 BHT の 600 mg/kg 飼料体重 投与におけるトロンボテスト時間の有意な延長
19 は、ビタミン K 添加により抑制された。(参照 5、27、47) **[厚 1FAS35 2.2.10.2**
20 **p25、事 35SIDS、事 15_原著]**

21 これら一連の試験の結果から、ラットにおける BHT の血液凝固に対する影
22 響は 600 mg/kg 体重以上となると考えられた。

23 24 ⑦ 血液凝固系への影響に関するまとめ

25 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、血液凝固系への影響は、BHT の
26 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
27 であると考えた。

28 これらの試験の結果から、血液凝固に関する NOAEL をについては、当初実
29 施された試験では、キノンメチド体の影響が排除できないと考えられたことか
30 ら、⑥の試験の結果(参照 47)を踏まえ、125 mg/kg 体重/日であると判断した。

31 32 (2) 肝臓への影響に関する試験

33 ① 7 日間及び 28 日間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)

34 ラット (Wistar 系、雄、5 匹/群 (7 日間投与)、10 匹/群 (28 日間投与))
35 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)
36 する亜急性毒性試験が実施された。

37 結果を及びに示した。

38 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。
39 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。

40 肝臓の生化学的分析では、肝マイクロソーム 蛋白タンパク質量 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、48）**[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BHTは、ラットの肝臓において肝薬物代謝酵素を誘導し、の変動及び高用量には、肝障害傷害を示唆する組織学的変化を生じさせると考えた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。

<事務局より>
 肝臓における薬物代謝酵素の誘導自体は、毒性とは判断しないこと、本試験（1967年）自体は、以降の試験において肝臓での所見・その作用機序を検討する上で重要な基礎的知見を提供したものであり、本試験自体から、NOAELを判断することは要さないと考えられた。したがって、調査会の見解については、機序についてまとめることとした。

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*

投与量(mg/kg 体重/日)	7日間投与			28日間投与		
	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
色素貪食マクロファージ 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 は設定できなかつたと考察している。

EFSA の ~~ANS~~ パネルは、甲状腺における濾胞細胞の増加に基づき、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、49) [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、甲状腺への影響に関する本試験の NOAEL を EFSA と同様に、25 mg/kg 体重/日と判断した。

1 (4) 発がん性に関する促進作用又は抑制作用<参考資料³⁹⁾>

2 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
3 を基に表 43 に整理した。(参照 5) [厚 1_FAS35, p26-33]

4 ~~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~~
5 ~~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。~~

7 表 43 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)	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> ： 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 系、 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 系、 雄)	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> ： 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 (Swiss 系、性 別不明)	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> ： 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
	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> （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 系、雄)	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> ： 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 系、性別 不明)	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> （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
	<u>カルバミン酸エチル尿素</u> （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

39 いずれの試験も BHT を飼料添加物として使用した場合におけるヒトへの BHT の発がん性の判断に影響しないと判断されることから、参考資料とした。

動物	発がん性物質	BHT	対象病変	結果
マウス (A/J系、 SWR/J系、 BALB/cByJ 系、129/J 系、 C57BL/6J 系)	<u>カルバミン酸エ チル尿素</u> ： 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)	<u>カルバミン酸エ チル尿素</u> ： 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 系)	<u>カルバミン酸エ チル尿素</u> ： 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 系、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 系、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 (系統不明、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 : BHT 0.6% 群
ラット (系統不明、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 : BHT 0.3 及び 0.6% 群
ラット (F344 系、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 系、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 : BHT 1% 群
ラット (F344 系、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 系、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 系、 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：肝細胞巢 及び膵腺房細胞 巢
ラット (F344 系、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 系、 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 系、 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）	<u>γ-GTPGGT</u> 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）

1 a：発がん性物質の投与に対する BHT の投与時期

2
3 **9-10. ヒトにおける知見**

4 (1) 経口摂取による急性毒性についての知見

5 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
6 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
7 を示し、翌日の受診で胃腸炎と診断された。

8 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
9 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⁴⁰、広い歩隔
10 による失調性歩行、ロンベルグ徴候陽性⁴¹、思考障害を伴わない精神緩慢及び左
11 腕の測定障害⁴²がみられた。（参照 6）**[厚 3_EFSA p26-27]**

12
⁴⁰ 発音が正しくできない状態。

⁴¹ 閉足直立し、閉眼時と開眼時の身体の揺れを比較し、閉眼時に揺れが大きい場合をロンベルグ徴候陽性とする。

⁴² 距離の測定が過不足に生じ、目的動作が正しく行えない状態。

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(摂取量の大小による率比 (rate ratio) は 0.74 (95%信頼区間: 0.38～1.43))。

10 試験実施者は、本研究では、食物を介した一般的に想定される低レベルの
11 BHT の~~低レベル~~の摂取と胃がん発生リスクとの間には有意な関連性は見いだ
12 されなかったみられなかったとしている。(参照 6、50) [厚 3_EFSA p7、事 53

13 原著]

14
15

1 Ⅲ. 国際機関等における評価

2 1. EU における評価 (1987 年)

3 食品科学委員会 (SCF: Scientific Committee for Food) は、ラット 90 日間混
4 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
5 量増加、ラットの繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮
6 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
7 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
8 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
9 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
10 100 を適用して、ADI は 0~0.05 mg/kg と設定された。(参照51) [事 51_p22-23]

11

12 2. JECFA における評価 (1986 年、1996 年)

13 JECFA は、1986 年の評価において、「Ⅱの 8 の (1) 繁殖毒性試験及び F1 世
14 代を用いた慢性毒性・発がん性試験 (ラット、混餌投与) ①」での同腹児数、性比
15 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、
16 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
17 内出生前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
18 内出生前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
19 も踏まえた再評価を行うこととした。

20 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
21 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
22 ト子宮内出生前ばく露を含む追加検討試験での肝酵素誘導並びに甲状腺に対す
23 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
24 判断にあたっては、先に実施された子宮内ばく露相出生前ばく露を含む慢性毒性
25 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
26 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
27 れた。(参照 5、52) [厚 1_FAS35, COMMENT p34, 厚 2_FAS21, COMMENT p6]

28

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

30 IARC は、ラットの子宮内ばく露相出生前ばく露を伴った慢性毒性試験におけ
31 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
32 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
33 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
34 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
35 について分類できない (Not classifiable as to its carcinogenicity to humans) とし
36 ている。(参照53、54) [事 49_IARC、事 50_IARC]

37

38 4. EFSA における評価 (2012 年)

39 2012 年に食品添加物としての BHT の再評価を実施した。

40 EFSAANS 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

1 有しないことから、ラットの繁殖毒性試験及びF1世代を用いた慢性毒性・発がん
2 性試験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には閾値がある
3 ものとみなした。また、当該試験における BMD 分析法により、肝細胞がんの発
4 生率に関する BMDL₁₀ は 247 mg/kg 体重/日と推定された。

5 EU の SCF による評価後、新たに報告された 2 つの繁殖毒性試験及びF1世代
6 を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ばく露を伴った慢性毒性試験についての
7 JECFA の評価及び NOAEL 25 mg/kg 体重/日は同意できるものであり、SCF に
8 よって設定された ADI を改定する根拠となるとした。また、この NOAEL は上記
9 の BMDL₁₀ の値である 247 mg/kg 体重/日を下回るものであり、肝発がんの
10 BMDL₁₀ も包含されるとしている。

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

14 5. 環境省による環境リスク初期評価

15 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、
16 BHT に関する環境リスク初期評価を実施した。

17 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
18 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
19 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、
20 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
21 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
22 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/
23 日が、BHT の無毒性量等と設定された。

24 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
25 よる BHT の経口ばく露量については、沖縄県衛生研究所が実施したマーケット
26 バスケット方式による試験による摂取量に基づき算定された。公共用水地域・淡
27 水及び食物を摂取すると仮定した場合、BHT の経口ばく露量の平均値は 1.0 µg/kg
28 体重/日程度、予測最大値は 1.7 µg/kg 体重/日程度とされた。

29 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、
30 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、
31 MOE (Margin of Exposure) は 1,500 と算出された。

32 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
33 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55) **[事 46_**
34 **環境省]**

1 IV. 食品健康影響評価

2 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
3 した。

4 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
5 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
6 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。
7 また、ラットでは ¹⁴C 標識 BHT の単回経口投与後 40 時間においても胆汁中に比
8 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
9 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
10 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
11 に分けられると考えられる。マウスでは *tert*-ブチル基の酸化が主であり、*p*-メチル
12 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
13 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
14 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
15 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
16 体が排泄されると考えられた。ヒトでの排泄経路は主に尿中であり、BHT-COOH
17 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と考えられた。

18 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
19 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
20 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
21 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
22 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
23 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
24 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
25 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
26 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
27 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
28 投与 7 日後は LOD 未満となった。

29 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
30 示されている。*in vitro* の細胞遺伝子突然変異試験や染色体異常試験の一部及び
31 *in vivo* の DNA 損傷試験（コメット試験アッセイ）において陽性結果が認められ
32 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
33 から生じる活性酸素種による間接的な影響であり、閾値のあるものと考えた。し
34 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
35 ことは可能であると判断した。【森田専門委員・山田専門委員御修文】

36 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験では、主に血液凝固系、肝臓並びに及び甲状腺
37 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
38 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
39 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
40 125 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

1 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
2 学的変化を伴った毒性影響は主にラットで認められた。

3 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
4 が、ラットの繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ば
5 く露相を伴う慢性毒性・発がん性試験では肝腫瘍の増加が認められた。これらの
6 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 BHT には特段問題と
7 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ズムと考えられ、そ
8 の用量には閾値があるものと考えられた。

9 生殖発生毒性については、繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん
10 性試験ラットの子宮内ばく露相を伴った慢性毒性・発がん性試験の一部で一世代
11 繁殖性が検討され、出生児及び哺育児において、一腹あたりの胎児数の減少や体
12 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毒性試験では催奇形性
13 は認められなかった。

14 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
15 甲状腺における毒性影響（甲状腺機能亢進及び濾胞細胞の増加）並びに出生児及
16 び哺育児における毒性影響（一腹あたり当たりの胎児数の減少及び体重増加抑制
17 等）についての最も低い NOAEL は、~~いずれも、~~ラット繁殖毒性試験及び F1 世
18 代を用いた慢性毒性・発がん性試験子宮内ばく露相を伴う慢性毒性・発がん性試
19 験並びにラット子宮内ばく露相を伴う慢性毒性試験及び甲状腺への影響に関する
20 試験における 25 mg/kg 体重/日であった。また、この NOAEL は、マウスの肺腫
21 瘍及び肝腫瘍それぞれの発生頻度の有意な増加及びラットの肝腫瘍発生頻度の有
22 意な増加を認めた投与量並びに EFSA において算出された肝臓がんに係る
23 BMDL₁₀ の値をいずれも下回っているっており、発がん性についても包含したも
24 のであると考えた。

25 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、
26 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
27 体重/日を ADI と設定することが適当であると判断した。

28
29 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
30 ことが適当と考えられる。

31
32 ADI 0.25 mg/kg 体重/日
33

34 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
35 認することとする。

1 表 44 各試験における EMA、FDA 及び食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会
2 の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/ 日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA ^a	EFSA	食品安全委員会
マウス	30 日間亜急性 毒性試験	0、1,570、 1,980、2,630、 3,370、4,980、 5,470	＝		1,570 (LOAEL) PT 及びカオリン加 APTT の減少、腎臓 尿細管病変
	10 か月慢性毒 性試験	0、39、390 ^b	＝		発がん性：判断が困 難
	11 か月慢性毒 性試験	390 ^b	＝		発がん性：判断が困 難
	96 週間発がん 性試験	0、30、120、 600 ^c	＝		120 (雄) AST 増加 30 (雌) 体重増加 抑制
	100 週間慢性 毒性・発がん性 試験	0 150→375 150→750	＝		発がん性：判断でき ず
	104 週間発が ん性試験	0/0、 1,640/1,750、 3,480/4,130 (雄/雌)	＝		肝臓に対し、発がん 性あり
	108 週間発が ん性試験	0、450、900 ^b	＝		450(雄) (LOAEL) 肝臓障害性所見の増 加 判断できず (雌)
	3 世代繁殖毒 性試験	0、22.5、67.5、 202.5、607.5 ^c	＝	202.5 体重増加抑制	202.5 体重増加抑制
	発生毒性試験 (7 日間混餌 投与)	0、70、240、800	＝		240 脾重量の増加、腎臓 相対重量の増加 催奇形性なし
ラット	24 か月慢性毒 性試験	0/0、2.14/2.49、 9.61/2.49、 9.61/10.26、 144.9/170.9 (雄/雌)	＝		144.9/170.9 (雄/雌) 発がん性なし
	76 週間慢性毒 性・発がん性試 験	0、7.5、23、75、 225、450 ^b	＝		75 体重減少
	104 週間慢性 毒性・発がん性 試験	0、150、600 ^c	＝		150 (LOAEL) (雄) TG 低下、γ- GTP 増加 (雌) T.Chol 増加、 脾臓重量低下

	105 週間発がん性試験	0、225、450 ^b	—		225 肺胞組織球症の発生頻度の増加
	110 週間慢性毒性・発がん性試験	0、900 ^b	—		発がん性なし
	繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(1)	F0:0、25、100、500 F1:0、25、100、250	—	BMDL ₁₀ : 247 肝臓における発がん性	母動物、胎児・哺育児 : 25 F1: 体重増加抑制
	繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(2)	①用量設定 0、500、750、1,000	—		500 (LOAEL) 母動物: 体重増加抑制、肝臓相対重量増加 児動物: 離乳児体重の低下
		②F0: 0、25、100、500 F1: 0、25、100、250	25 肝酵素誘導及び甲状腺機能亢進像	25 繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(1)の発がん性に関する結果を踏まえて決定	25 肝酵素誘導、肝臓の門脈周囲肝細胞 GGT 発現増加、甲状腺機能亢進像
	血液凝固系への影響に関する試験 (28 日間)	0、12.5、125、600	—	—	125 (血液凝固系への影響について)
	肝臓への影響に関する試験 (28 日間)	0、25、250、500	—		25
	甲状腺への影響に関する試験 (90 日間)	0、25、500	—	25 甲状腺における濾胞細胞の増加	25 甲状腺における濾胞細胞の増加
アカゲザル	4 週間亜急性毒性試験	哺乳期: 500 幼若期: 50、500	—		NOAEL 設定できず。
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.3	0.25	0.25
毒性学的 ADI 設定根拠資料			繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(2)、甲状腺への影響に関する試験(ラット) NOEL: 25 mg/kg 体重/日 安全係数: 100	繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(2) NOAEL: 25 mg/kg 体重/日 安全係数: 100	繁殖毒性試験及び F1 世代を用いた慢性毒性・発がん性試験(1)・(2)、甲状腺への影響に関する試験(ラット) NOAEL: 25 mg/kg 体重/日 安全係数: 100
ADI (mg/kg 体重/日)			0.3	0.25	0.25

- 1 a : NOELとして記載されている。
- 2 b : OECD SIDS (参照 27) による換算
- 3 c : JECFA の換算式に基づき、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会により算出
- 4 — : NOAELに関する記述なし。
- 5 斜線 : 記載なし。

1 <別紙 1 : 検査値等略称>

略称等	名称
<u>AAF</u>	<u>acetylaminofluorene</u> : アセチルアミノフルオレン
ADI	Acceptable Daily Intake : 許容一日摂取量
<u>A/G 比</u>	<u>Albumin / Globulin ratio</u> : アルブミン/グロブリン比
Alb	albumin : アルブミン
<u>ALP</u>	<u>alkaline phosphatase</u> : アルカリ性ホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANS パネル	<u>Food additives and Nutrient Sources added to food</u> 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
<u>AP</u>	<u>alkaline phosphatase</u> : アルカリホスファターゼ
<u>APTT</u>	<u>Activated Partial Thromboplastin Time</u> : 活性化部分トロンボプラスチン時間
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
<u>BHA</u>	<u>butylated hydroxyanisole</u> : ブチルヒドロキシアニソール
<u>BHT</u>	<u>dibutylhydroxytoluene</u> : ジブチルヒドロキシトルエン
<u>BMD</u>	<u>Benchmark Dose</u> : ベンチマークドーズ
BMDL	Benchmark Dose Lower Confidence Level <u>Limit</u> : ベンチマーク用量信頼下限値
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine : 5-ブロモ-2'-デオキシウリジン
BUN	blood urea nitrogen : 血液尿素窒素
<u>ChE</u>	<u>Cholinesterase</u> : コリンエステラーゼ
<u>CHO 細胞</u>	<u>Chinese Hamster Ovary cells</u> : チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CL	clearance : クリアランス
<u>Cl</u>	<u>chlorine</u> : クロール (塩素)
C _{max}	maximum drug concentration : 最高血 (漿) 中濃度
<u>Cre</u>	<u>creatinine</u> : クレアチニン
<u>DBN</u>	<u>diazabicyclononene</u> : ジアザビスクロノネン
DEN	diethylnitrosoamine : ジエチルニトロソアミン
<u>DHPN</u>	<u>N-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine</u> : <i>N</i> -ビス(2-ヒドロキシプロ

	<u>ロピル)-ニトロソアミン</u>
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	N-ethyl-N-nitroso-2-aminoethanol : N-エチル-N-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
<u>FAA</u>	<u>N-2-fluorenylacetamidefluoroacetic acid : フルオロ酢酸</u>
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
<u>Glu</u>	<u>Glucose : グルコース (血糖)</u>
<u>GST</u>	<u>Glutathione S-transferase : グルタチオン S-トランスフェラーゼ</u>
<u>γ-GTP</u>	<u>gamma-glutamyl transpeptidase : γグルタミントランスペプチターゼ</u>
<u>Hb</u>	<u>hemoglobin : ヘモグロビン量 (血色素量)</u>
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
<u>LOD</u>	<u>limit of detection : 検出限界</u>
<u>LOQ</u>	<u>limit of quantitation : 定量限界</u>
LOEL	Lowest-Observed-Effect Level : 最小影響量
<u>β-LP</u>	<u>β-lipoprotein : β-リポタンパク</u>
LSC	liquid scintillation counter : 液体シンチレーションカウンター
<u>MBN</u>	<u>N-methyl-N-benzyl nitrosamine</u>
MNNG	N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine : N-メチル-N ² -ニトロ-N-ニトロソグアニジン
MNU (<u>NMU</u>)	N-methyl-N-nitrosourea (<u>N-nitroso-N-methylurea</u>) : N-メチルニトロソウレア

<u>MOE</u>	<u>Margin of Exposure : MOE (ばく露マージン (ばく露幅))</u>
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
<u>PROD</u>	<u>ペントキシレゾルフィン-O-デペンチラーゼ</u>
<u>PT</u>	<u>prothrombin time : プロトロンビン時間</u>
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
<u>TB</u>	<u>total bilirubin : 総ビリルビン</u>
<u>TG</u>	<u>Triglyceride : トリグリセリド</u>
<u>T.Chol</u>	<u>total cholesterol : 総コレステロール</u>
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
<u>TP</u>	<u>total protein : 総タンパク質</u>
<u>UA</u>	<u>uric acid : 尿酸</u>
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
<u>BHT-BuOH</u>	<u>6-<i>tert</i>-butyl-2-(hydroxy-<i>tert</i>-butyl)-4-methylphenol</u>
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>

- 11 The Merk Index, 15th Edition
- 22 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）
- 33 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
- 44 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）
- 55 JECFA: Butylated hydroxytoluene WHO Food Additives Series 35 1995[厚 1_FAS35]
- 66 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],
- 77 Matsuo M, Mihara K, Okuno M, Ohkawa H and 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]
- 88 Daniel JW and Gage JC: The absorption and excretion of butylated hydroxyl- toluene (BHT) in the rat. Food Cosmet Toxicol. 1965; 3(3): 405-15.[事 39_原著]
- 99 Tye R, Engel JD and 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]
- 1010 Takahashi O and 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]
- 1111 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]
- 1212 Daniel JW, Gage JC, Jones DI and 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]
- 1313 Verhagen H, Beckers HH, Comuth PA, Maas LM, ten Hoor F, Henderson PT and 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]
- 1414 Holder GM, Ryan AJ, Watson TR and 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]
- 1515 Madhavi DL, Deshpande SS and Salunkhe DK: (1996) Food antioxidants Technological, toxicological, health perspective Marcel Dekker, New York. [事 42_総論]
- 1616 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]
- 1717 Lanigan RS and Yamarik TA Final report on the safety assessment of BHT(1). Int J Toxicol. 2002; 21 Suppl 2: 19-94. [事 44_総論]
- 1818 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 5_農水事業 1]
- 1919 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]
- 2020 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)]
- 2121 Frawley JP, Kay JH and Calandra JC: The residue of butylated hydroxytoluene (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)]
- 2222 van Stratum PGC and Vos HJ: The transfer of dietary butylated hydroxytoluene (BHT) into the body and egg fat of laying hens. Food Cosmet Toxicol 1965; 3(3): 475-7. [厚 10_原著 (1965)]
- 2323 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)]
- 2424 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)]
- 2525 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)]
- 2626 Oikawa S, Nishino K, Oikawa S, Inoue S, Mizutani T and Kawanishi S: Oxidative DNA damage and apoptosis induced by metabolites of butylated hydroxytoluene. Biochem Pharmacol. 1998; 56(3): 361-70. [事 48_原著]
- 2727 OECD: 2,6-DI-TERT-BUTYL-P-CRESOL(BHT), OECD SIDS Initial Assessment Report For SIAM 14 2002 UNEP PUBLICATIONS [事 35_SIDS]
- 28 [Kim Y and Ryu J: Evaluation of the Genetic Toxicity of Synthetic Chemical \(XVIII\)-in vitro Mouse Lymphoma Assay and in vivo Supravital Micronucleus Assay with Butylated Hydroxytoluene \(BHT\). MOLECULAR & CELLULAR TOXICOLOGY, 2007;3\(3\), 172-6.](#)
- 29 [Bomhard EM, Bremmer JN and Herbold BA: Review of the mutagenicity/genotoxicity of butylated hydroxytoluene. Mutat Res. 1992; Sep;277\(3\):187-200.](#)
- 3030 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]
- 3131 Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K and 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 52_原著]
- 3232 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]
- 3333 BIOASSAY OF BUTYLATED HYDROXYTOLUENE (BHT) FOR POSSIBLE CARCINOGENICITY: National Cancer Institute Carcinogenesis Technical Report Series. No150 1979. [事 37_NCI TR150]

- [3434](#) 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. [\[事 34_原著\]](#)
- [3535](#) Lindenschmidt RC, Tryka AF, Goad ME and Witschi HP: The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. Toxicology 1986; 38(2): 151-60 [\[事 9_原著\]](#)
- [3636](#) Clapp NK, Tyndall RL and Cumming RB: Hyperplasia of hepatic bile ducts in mice following long-term administration of butylated hydroxytoluene Food Cosmet Toxicol. 1973; 11(5): 847-9. [\[事 28_原著\]](#)
- [3737](#) Clapp NK, Tyndall RL, Cumming RB and Otten JA: Effects of butylated hydroxytoluene alone or with diethylnitrosamine in mice. Food Cosmet Toxicol. 1974; 12(3): 367-71. [\[事 10_原著\]](#)
- [3838](#) Shirai T, Hagiwara A, Kurata Y, Shibata M, Fukushima S and Ito N: Lack of carcinogenicity of butylated hydroxytoluene on long-term administration to B6C3F1 mice. Food Chem Toxicol. 1982; 20(6): 861-5. [\[事 30_原著\]](#)
- [3939](#) Inai K, Kobuke T, Nambu S, Takemoto T, Kou E, Nishina H, Fujihara M, Yonehara S, Suehiro S and Tsuya T: Hepatocellular tumorigenicity of butylated hydroxytoluene administered orally to B6C3F1 mice. Jpn J Cancer Res. 1988; 79(1): 49-58. [\[事 11_原著\]](#)
- [4040](#) Williams GM, Wang CX and Iatropoulos MJ: Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene II. Chronic feeding studies. Food Chem Toxicol. 1990; 28(12): 799-806. [\[事 32_原著\]](#)
- [4141](#) Hirose M, Shibata M, Hagiwara A, Imaida K and Ito N: Chronic toxicity of butylated hydroxytoluene in Wistar rats. Food Cosmet Toxicol. 1981; 19(2): 147-51 [\[事 31_原著\]](#)
- [4242](#) Tanaka T, Oishi S and Takahashi O: Three generation toxicity study of butylated hydroxytoluene administered to mice. Toxicol Lett 1993; 66(3): 295-304 [\[事 33_原著\]](#)
- [4343](#) Allen JR: Long-term antioxidant exposure effects on female primates. Arch Environ Health. 1976; 31(1): 47-50. [\[事 23_原著\]](#)
- [4444](#) Olsen P, Meyer O, Bille N and Würtzen G: Carcinogenicity study on butylated hydroxytoluene (BHT) in Wistar rats exposed in utero. Food Chem Toxicol. 1986; 24(1): 1-12. [\[事 12_原著\]](#)
- [4545](#) McFarlane M, Price SC, Cottrell S, Grasso P, Bremmer JN, Bomhard EM and 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. [\[事 13_原著\]](#)
- [4646](#) 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. [\[事 45_原著\]](#)
- [4747](#) Cottrell S, Andrews CM, Clayton D and 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 [\[事 15_原著\]](#)
- [4848](#) Powell CJ, Connelly JC, Jones SM, Grasso P and 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]

4949 Søndergaard D and Olsen P: The effect of butylated hydroxytoluene (BHT) on the rat thyroid. Toxicol Lett. 1982; 10(2-3): 239-44. [事 17_原著]

50 Botterweck AA, Verhagen H, Goldbohm RA, Kleinjans J and van den Brandt PA: Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. Food Chem Toxicol. 2000 Jul; 38(7): 599-605. [事 53_オランダコホート研究]

5151 Commission of the European Communities: Reports of the Scientific Committee for Food 1989; ANNEX: 22-3. [事 51_EU]

5252 JECFA: Butylated hydroxytoluene. WHO Food Additives Series 21 1986 [厚 2_FAS21]

5353 WHO IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: 1986; Volume 40: 161-206. [事 49_IARC]

5454 WHO IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Overall Evaluation of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volume 1 to 42. 1987; Supplement 7: 47-8. [事 50_IARC]

5555 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]