

## 動物用医薬品専門調査会における審議結果について

### 1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた酢酸トレンボロンに係る食品健康影響評価（平成26年3月20日付け厚生労働省発食安0320第9号）については、令和元年10月7日に開催された第226回動物用医薬品専門調査会において審議され、審議結果（案）がとりまとめられた。

### 2. 酢酸トレンボロンに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

#### 1) 募集期間

令和2年5月19日（火）開催の食品安全委員会（第781回会合）の翌日の令和2年5月20日（水）から令和2年6月18日（木）までの30日間。

#### 2) 受付体制

電子メールフォーム（ホームページ上）、ファックス及び郵送

#### 3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、動物用医薬品専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

動物用医薬品評価書

酢酸トレンボロン

2020年5月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

## 目次

	頁
○ 審議の経緯	5
○ 食品安全委員会委員名簿	5
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	6
○ 要約	7
I. 評価対象動物用医薬品の概要	8
1. 用途	8
2. 有効成分の一般名	8
3. 化学名	8
4. 分子式	8
5. 分子量	8
6. 構造式	8
7. 使用目的及び使用状況	8
II. 安全性に係る知見の概要	10
1. 薬物動態試験	10
(1) 薬物動態試験 (ラット)	10
(2) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独投与)	11
(3) 薬物動態試験 (牛、エストラジオールとの併用)	13
(4) 代謝試験 (牛)	13
(5) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独)	15
(6) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独及び他ホルモン剤併用)	15
(7) 薬物動態試験 (豚、TBA 単独又は他ホルモン剤併用)	16
(8) 残留物のバイオアベイラビリティ (ラット)	16
(9) 代謝試験 (ヒト、標識 $\beta$ -TBOH)	16
2. 残留試験	17
(1) 残留試験 (子牛)	17
(2) 残留試験 (未経産牛)	19
(3) 残留試験 (去勢雄牛)	22
(4) 残留試験 (去勢雄牛及び未経産牛)	28
3. 遺伝毒性試験	29
4. 急性毒性試験	31
(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)	31
5. 亜急性毒性試験	31
(1) 8 週間亜急性毒性試験 (マウス、TBA)	31
(2) 10 週間亜急性毒性試験 (マウス、TBA)	32
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	32

(4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、 $\alpha$ -TBOH)	33
(5) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)	34
(6) 皮下投与による亜急性毒性試験<参考資料>	35
(7) 移植投与による亜急性毒性試験<参考資料>	36
6. 慢性毒性及び発がん性試験	37
(1) 95~104 週間慢性毒性試験 (マウス)	37
(2) 112 週間慢性毒性試験 (ラット)	38
(3) 長期投与慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	40
7. 生殖発生毒性試験	40
(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)	40
(2) 生殖発生毒性試験 (ラット) ①	42
(3) 生殖発生毒性試験 (ラット) ②	42
(4) 生殖毒性試験 (ラット) ①	43
(5) 生殖毒性試験 (ラット) ② <参考資料>	44
(6) 発生毒性試験 (ラット)	44
8. ホルモン作用に関する試験	45
(1) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ①	45
(2) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ②	45
(3) 8 週間投与試験 (サル、TBA) <参考資料>	46
(4) 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル、TBA)	47
9. その他の試験	47
(1) タンパク質結合に対する影響	47
(2) ハーシュバーガーアッセイ、子宮肥大試験等 (ラット、豚及びサル)	48
(3) 体組成及び循環代謝に対する影響 (ラット)	50
(4) E2 の排泄及び窒素貯留に対する影響 (牛)	50
(5) 免疫応答に関する特殊試験 (牛、プラセボ (乳糖)、E2、TBA 又は TBA+E2)	51
(6) 残留物の毒性に関する特殊試験 (牛、TBA)	51
(7) 細胞形質転換試験	51
(8) DNA 共有結合試験	51
(9) 肝イニシエーション作用検討試験 (ラット、 $\alpha$ -TBOH 又は $\beta$ -TBOH)	52
10. 臨床試験	53
(1) 忍容性試験 (牛、TBA)	53
(2) 安全性試験 (牛、TBA)	53
11. ヒトにおける知見 (ヒト、TBA)	53
12. 薬理的試験 (イヌ、TBA)	53
III. 国際機関等における評価について	55
1. JECFA の評価	55
2. EU の評価	55
3. 米国の評価	55

4. 豪州の評価 .....	56
IV. 食品健康影響評価 .....	57
・ 表 54 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOEL の比較 .....	59
・ 別紙 1：代謝物/分解物略称 .....	63
・ 別紙 2：検査値等略称 .....	64
・ 参照 .....	66

### <審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）  
2014年 3月 25日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について  
要請（厚生労働省発食安0320第9号）、関係資料の接受  
2014年 3月 31日 第509回食品安全委員会（要請事項説明）  
2019年 4月 19日 第223回動物用医薬品専門調査会  
2019年 6月 19日 第224回動物用医薬品専門調査会  
2019年 8月 22日 第225回動物用医薬品専門調査会  
2019年 10月 7日 第226回動物用医薬品専門調査会  
2020年 5月 19日 第781回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで)	(2017年1月6日まで)	(2018年6月30日まで)
熊谷 進（委員長）*	佐藤 洋（委員長）	佐藤 洋（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）	山添 康（委員長代理）	山添 康（委員長代理）
山添 康（委員長代理）	熊谷 進	山本 茂貴
三森 国敏（委員長代理）	吉田 緑	吉田 緑
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平 洌子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

\* : 2012年7月2日から

(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

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2019年9月30日まで)

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

(2020年3月31日まで)

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

(2020年4月1日から)

青山 博昭 (座長)	島田 章則	寺岡 宏樹
小川久美子 (座長代理)	島田 美樹	中西 剛
青木 博史	下地 善弘	能美 健彦
石川さと子	須永 藤子	宮田 昌明
石塚真由美	辻 尚利	山本 昌美

## 要 約

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

各種遺伝毒性試験の結果から、酢酸トレンボロン (TBA) 並びにその代謝物である 17 $\alpha$ -ヒドロキシトレンボロン ( $\alpha$ -TBOH) 及び 17 $\beta$ -ヒドロキシトレンボロン ( $\beta$ -TBOH) には、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられたことから、ADI を設定することは可能であると判断した。

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

慢性毒性試験及び発がん性試験では、マウスを用いた 95～104 週間慢性毒性試験において、雄で肝腫瘍発生頻度の増加がみられたが、これは、トレンボロン (TBOH) のホルモン作用を介した影響と考えた。

生殖発生毒性試験では、ラットを用いた 1 世代の試験において、0.5ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当) 以下投与群では親動物及び哺育児に明らかな影響がみられなかった。ラットを用いた 2 世代繁殖試験では、最低用量である 0.5ppm (同上) 投与群の成熟個体の繁殖成績に異常はみられなかったものの、離乳後 (6 週齢) の F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代の雄で生殖器重量の低値が、雌で僅かな性成熟の遅延がみられた。これらの結果から、離乳児の観察が実施されなかった 1 世代の試験結果に基づいて NOAEL を特定することは適切でないと考え、2 世代繁殖試験の結果に基づき、0.025 mg/kg 体重/日を LOAEL と推定した。

血中ホルモン濃度に及ぼす影響を評価した試験では、豚を用いた 14 週間混餌投与試験において、雄でテストステロン及び 17 $\beta$ -エストラジオール (E<sub>2</sub>) の減少、精巣重量の低値等が、雌で子宮重量の低値、卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化等がみられたことから、NOAEL を 2～3  $\mu$ g/kg 体重/日とした。

各種試験の結果、最も低い用量で認められた影響は、豚を用いた 14 週間混餌投与試験において雌雄にみられた血中ホルモン濃度等に及ぼす影響であり、NOAEL は 2～3  $\mu$ g/kg 体重/日であった。

以上のことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、当該試験の NOAEL の下限値である 2  $\mu$ g/kg 体重/日を ADI の設定の根拠とし、安全係数 100 で除した 0.02  $\mu$ g/kg 体重/日を ADI として設定することが適切と考えた。



## I. 評価対象動物用医薬品の概要

### 1. 用途

ホルモン剤

### 2. 有効成分の一般名

和名：酢酸トレンボロン

英名：Trenbolone Acetate

### 3. 化学名

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

CAS No.：10161-34-9

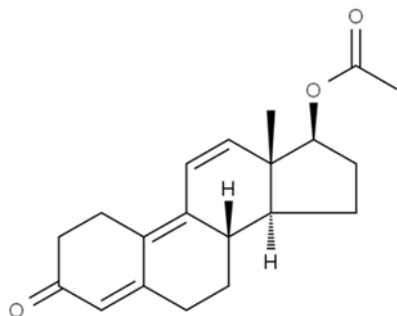
### 4. 分子式

$C_{20}H_{24}O_3$

### 5. 分子量

312.41

### 6. 構造式



(参照 2)

### 7. 使用目的及び使用状況

酢酸トレンボロン (TBA) は、タンパク同化作用を持つ合成ステロイドである。17位の立体配置により  $\alpha$  と  $\beta$  の 2 種類のエピマーが存在し、市販の TBA は  $\beta$ -エピマーである。TBA は、肉用牛に対して体重増加、飼料効率の向上、窒素保持の亢進を目的に使用される。投与は、TBA 単独で、又は 17 $\beta$ -エストラジオール (E2) 若しくはゼラノールと併用して、通常、食肉処理前の 60~90 日間にわたり耳下にインプラントを皮下移植投与する。(参照 3)

海外では、米国、カナダ及び豪州において一定の処方に基づき TBA 等のホルモン剤の使用が認められている(参照 4)。EU においては、1989 年に、食肉の生産において成長促進を目的として TBA 等のホルモン剤を使用すること及びこれらのホルモン剤を使

用した動物の食肉の輸入が禁止された（参照 19）。

日本では、1960年代から去勢牛の肥育促進を効能・効果とする天然型のホルモン剤が承認、使用されていたが、1999年に動物用医薬品業者が自主的に承認を取り下げた。TBAを主剤とするホルモン剤については、これまで承認、使用されたことはない（参照 4）。ヒト用医薬品としても、承認・使用されたことはない。

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

---

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

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、JECFA 評価書、FDA 評価書等を基に、TBA の毒性に関する主な知見を整理した。(参照 5~18)

代謝物略称を別紙 1 に、検査値等略称を別紙 2 にそれぞれに示した。

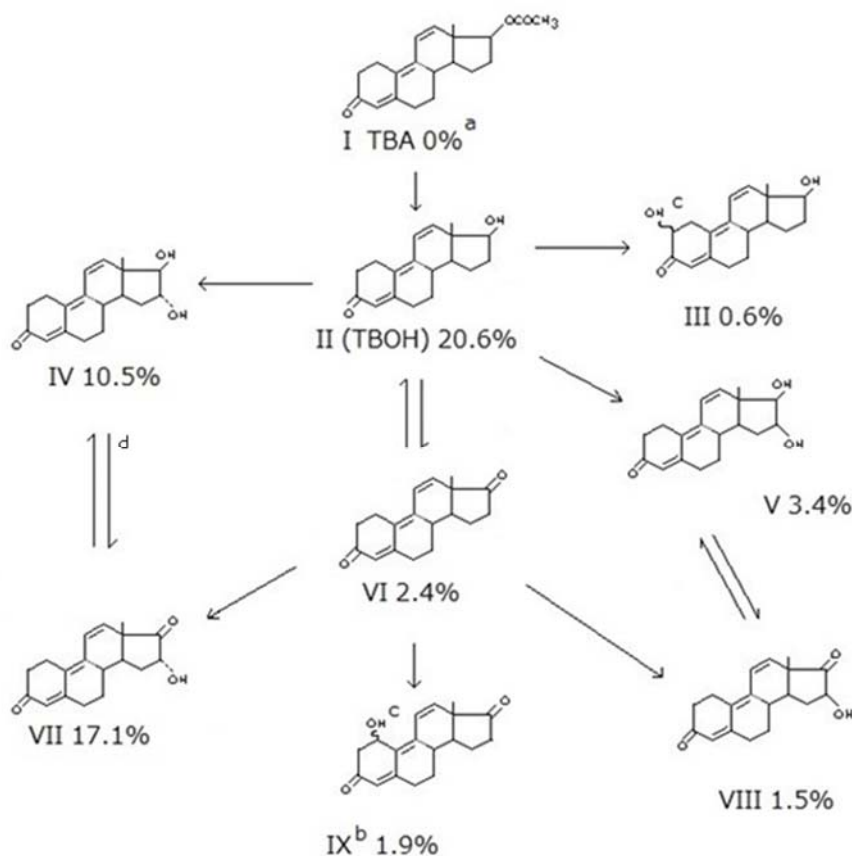
### 1. 薬物動態試験

#### (1) 薬物動態試験 (ラット)

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

投与した放射活性の 84%が投与後 24 時間に胆汁中に排泄され、6%がトレンボロン (TBOH)、37%がグルクロン酸抱合体、37%が硫酸抱合体であった。3-Ketotrienic 構造体は胆汁中放射活性の 66%を占めた。17 $\alpha$ -ヒドロキシトレンボロン ( $\alpha$ -TBOH) は、胆汁中からは検出されなかった。

同定された 3-Ketotrienic 代謝物を図 1 に示した。(参照 5、6)



- a : 胆汁中の放射活性の割合
- b : 化合物IXは暫定的に同定された構造を示している。
- c : 化合物IXの 1 位及び化合物IIIの 2 位のヒドロキシ基は立体配置不明
- d : 両方向の矢印は構造が相互変換することを示す。

図 1 ラットの胆汁における TBA の胆汁中代謝物<sup>2</sup>

<sup>2</sup> JECFA 評価書 (参考 5) の Figure 1 を一部改変

## (2) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独投与)

### ① <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ①

未経産牛 (月齢不明、2 頭) に <sup>3</sup>H 標識 TBA を単回皮下移植投与 (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。試料は、1 頭からは 60 日間移植投与終了直後に、別の 1 頭からは 60 日間移植投与終了後に、インプラントを除去し、その 16 日後に採取した。

肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の放射活性の含有量は 0.5~25 ng eq/g であった。これらの残留物のうち 1~5% が TBA、TBOH 及び TBOH のグルクロン酸抱合体であり、5% までが他の有機溶媒可溶物中にみられた。残りの放射活性のうち約 50% が水溶性であり、不溶性の残留物はタンパク分解酵素のペプシン及びトリプシンで処理することにより水溶性となった。(参照 5)

### ② <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ②

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

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

(参照 5)

### ③ <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ③

未経産牛 (月齢不明、2 頭) に <sup>3</sup>H 標識 TBA を移植投与 (300 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。投与 2 か月後に、カテーテル留置により 1 頭から胆汁が採取された。胆汁採取後に、背部及び後肢の筋肉並びに肝臓中の放射活性濃度が測定された。各組織及び胆汁中の  $\alpha$ -TBOH 及び 17 $\beta$ -ヒドロキシトレンボロン ( $\beta$ -TBOH) の濃度は、同位体逆希釈法により測定された。

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

#### ④ <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ④

未経産牛 (月齢不明、2 頭) の耳下に <sup>3</sup>H 標識 TBA を移植投与 (300 mg/頭 ; 388 mCi) し、薬物動態試験が実施された。投与 60 日後の肝臓及び筋肉中残留濃度が測定された。総残留濃度は、肝臓で 32.2 ng eq/g、筋肉で 2.4 ng eq/g であった。直接又は酵素加水分解及びタンパク質分解後に、厳密に標準化した有機溶媒又は水で抽出し、肝臓及び筋肉における放射活性の分布を測定した。これらの過程を経ることで放射活性の回収率はほぼ 100%となり、総残留物の 5~15%しか有機溶媒から抽出できなかったことが示された。残りの放射活性は水性溶媒に可溶性であるか、又は組織構造と結合状態であった。

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

#### ⑤ <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑤

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

その結果、<sup>3</sup>H 標識 TBA は血漿中で速やかに加水分解され、投与 0.1 時間後には TBA としては僅か 2%の放射活性しか回収されなかったが、70%は TBOH として回収された。投与 2 時間後には放射活性は抽出されず、抽出分画では極性物質が主要であった。投与 3~8 時間後以降、TBOH の血中消失半減期は 1.5 時間であった。(参照 5)

#### ⑥ <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑥

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

インプラントからの吸収は緩やかで、インプラントからの消失半減期は 68~84 日であった。移植投与後 3 か月にわたり、放射活性の約 33%が血漿中で抽出され、そのうちの 70%を TBOH が占めた。主要排泄経路は胆汁及び尿中であつた。投与 3 か月後の組織中濃度は、肝臓 (6.5 ng/g) 及び腎臓 (4.5 ng/g) を除き、約 1 ng/g であつた。組織中放射活性の 25%が抽出可能であり、そのうち 40%が TBOH であつた。肝臓及び腎臓においては、僅か 10%のみが抽出可能であつたが、腎臓周囲脂肪では、放射活性の 88%までが抽出可能であつた。腎臓周囲脂肪の放射活性の 50%は TBA であつた。投与部位における放射活性濃度は、移植投与量の 8~21%であつた。(参照 5)

#### ⑦ <sup>3</sup>H 標識 TBA 投与試験 (牛) ⑦

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

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

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

#### ⑧ 非標識 TBA 投与試験 (牛) ①

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

蛍光分析により、尿中に高濃度のTBOHの排泄が検出された。投与3時間以内では、比較的高濃度が測定された(50~80 ng/mg Cre)。投与10時間後にTBOHは最高濃度(約120 ng/mg Cre)に達し、その後2日以内に急激に低下した。E2を追加移植投与すると、TBOHの排泄はごく僅かに減少した。(参照5)

#### ⑨ 非標識 TBA 投与試験 (牛) ②

未経産牛(頭数不明、15か月齢、雌)にTBAを9週間経口投与(0.4又は8 mg/頭)する試験が実施された。投与1週間後及び2週間後に尿中からTBAが検出された。TBAは、最終投与2週間後にいくつかの尿試料から検出されたが、最終投与3週間には検出されなかった。(参照5)

### (3) 薬物動態試験 (牛、エストラジオールとの併用)

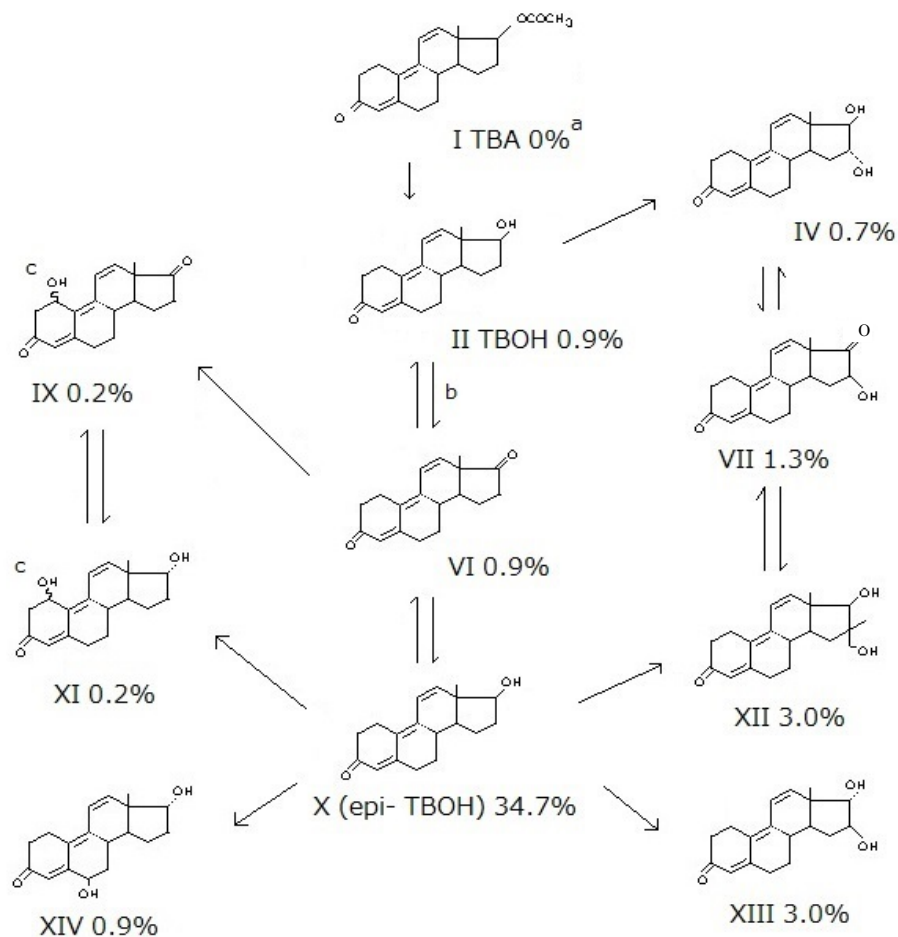
牛(月齢不明、去勢雄2頭)に<sup>3</sup>H標識TBAをE2(40 mg/頭)と併用して単回皮下移植投与(300 mg/頭)し、薬物動態試験が実施された。インプラントは投与60日後に除去され、1頭からは移植投与終了直後に、もう1頭からはインプラント除去から16日後に試料を採取した。

インプラント酢酸エチル抽出の血漿中放射活性は主にTBOHによるものと考えられ、ほとんどの血漿試料中でTBAはみられなかった。総放射活性及び非揮発性放射活性の血中消失半減期はいずれも26日であった。インプラント除去直後の酢酸エチル抽出の血漿中放射活性は、総放射活性の3~5%の範囲であった。インプラント除去後16日までの血漿中濃度を測定したところ、投与1~60日後の間に低下し、血中消失半減期は総放射活性で50日、非揮発性放射活性で55日であった。組織中の放射活性は、インプラント除去から16日の間に筋肉で46%、肝臓及び腎臓で2%、脂肪で29%まで低下した。(参照5)

### (4) 代謝試験 (牛)

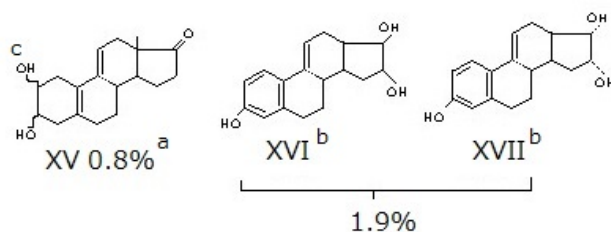
未経産牛(頭数不明、14か月齢)に<sup>3</sup>H標識TBAを静脈内投与(10 mg/kg 体重)し、代謝試験が実施された。

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



- a : 胆汁中の放射活性の割合
- b : 両方向の矢印は構造が相互変換することを示す。
- c : 構造物 IX 及び XI の 1 位のヒドロキシ基は立体配置不明

図 2 未経産牛の胆汁中の 3-ketotrienic 代謝物<sup>3</sup>



- a : 胆汁中の放射活性の割合
- b : 暫定的に同定された構造を示す。
- c : ヒドロキシ基の立体配置は詳細不明

図 3 未経産牛の胆汁中の非 3-ketotrienic 代謝物

<sup>3</sup> JECFA 評価書 (参考 5) の Figure 2 から、VII の構造式の誤りを修正

#### (5) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独)

牛 (未成熟雌、20 頭) に TBA を皮下移植投与 (3 個又は 4 個/頭、インプラント用量 140 mg/個) し、投与 30 日後の肝臓中及び筋肉中 (臀部、腰、肩、首) の TBA 代謝物が検討された (定量限界 : 0.2 ng/g、検出限界 : 0.09 ng/g)。

結果を表 1 に示した。

肝臓中の主な残留物は  $\alpha$ -TBOH であり、筋肉中の主な残留物は  $\beta$ -TBOH であった。 $\alpha$ -TBOH の含有量は、肝臓中で  $4.3 \pm 2.3$  ng/g であったが、筋肉組織中では 0.4 ng/g 未満であった。(参照 8)

表 1 TBA を皮下移植投与した牛における肝臓及び筋肉中の  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度

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

\* : ND : 検出限界未満

#### (6) 薬物動態試験 (牛、TBA 単独及び他ホルモン剤併用)

牛 (去勢雄、体重 255~404 kg、8 頭/投与群、8 頭/対照群) に TBA (200 mg) とエストラジオール (40 mg) の合剤<sup>4</sup>を皮下移植し、移植前 (0 日) 及び移植後経時的 (1、3、7、14、28、56、70、84 及び 112 日) に血液、尿及び糞を採取し、TBA 代謝物が LC-APCI-MS/MS 法によって解析された。

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

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

<sup>4</sup> 合剤は、10 個のペレット (1 個当たり TBA 20 mg 及びエストラジオール 4 mg を含む。) で構成されており、10 個のペレットのうち、4 個は速やかに薬剤を放出するように設計され、6 個は移植後 70~80 日かけて放出するようにポリマーコーティングされている。



(7) 薬物動態試験 (豚、TBA 単独又は他ホルモン剤併用)

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

その結果、休薬 5 及び 6.5 週後には、尿中から TBOH は検出されなかった。総ステロイドエストロゲンの尿中排泄量は、休薬 7 週後において増加しなかった。(参照 5)

(8) 残留物のバイオアベイラビリティ (ラット)

<sup>3</sup>H 標識 TBA を皮下移植投与 (300 mg/頭) 60 日後に採取した牛 (雌 2 頭) の肝臓、腎臓又は筋肉を凍結乾燥した試料又は酢酸エチル抽出した試料がラット (系統、日齢及び雌雄不明、3 匹/群) に経口投与された。牛における <sup>3</sup>H 標識 TBA 濃度は肝臓で 30 ng eq/g、腎臓で 24 ng eq/g、筋肉で 3.2 ng eq/g であった。これらの組織をラットに経口投与後 3 日間における放射活性の排泄を表 2 に示した。(参照 5)

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

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

前述の雌牛 2 頭由来の肝臓、腎臓又は筋肉を 1 時間凍結乾燥したものが、胆管カニューレを装着した 24 時間絶食ラット (系統、日齢及び雌雄不明、3 匹/群) に経口投与された。これらの組織について、経口投与後 48 時間の放射活性の体内動態を表 3 に示した。(参照 5)

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

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

(9) 代謝試験 (ヒト、標識 β-TBOH)

ヒト (性別不明、人数不明) に、[6,7-<sup>3</sup>H]標識 β-TBOH (0.04 mg/kg 体重、3.6 mCi/mmol) を経口投与 (ハンバーガーに注入して食させた) 後、72 時間にわたって採取した尿の放

射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

投与放射活性の 50%が投与後 24 時間までに、63%が 72 時間までに排泄された。投与後 3 時間までの採取尿から、酸化アルミニウム（中性アルミナ）を用いたカラムクロマトグラフィーにより分離された主要な分画の放射活性は、グルクロン酸抱合体分画（54.7%）にあり、放射活性の割合は、硫酸抱合体分画でそれぞれの分画の 20.9%及び遊離型 24.4%であった。

各分画（抱合体分画は酵素処理にて、脱抱合したもの）に含まれる代謝物を逆相カラムグラフィーにて解析した。硫酸抱合体分画は、主に 2 つの未知代謝物より構成されていた。遊離型分画は、 $\beta$ -TBOH、 $\alpha$ -TBOH、TBO 及び複数の極性代謝物より構成されていた。グルクロン酸抱合体分画は、主に  $\alpha$ -TBOH と少量の  $\beta$ -TBOH より構成されていた。（参照 10）

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験（子牛）

#### ① 子牛①

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

総放射活性濃度と非揮発性放射活性濃度の比較から、トリチウム水の生成は僅かであることが判明した。試験期間中の血漿中放射活性濃度はほぼ一定を保ち、平均 4~5 ng/mL であった。投与 15 及び 30 日後の組織中放射活性濃度は、同程度又は投与 30 日後の方が高かった。組織中放射活性濃度は肝臓で最も高く、投与 15 日後では 43.8 ng eq/g、30 日後では 50.5 ng/g であった。腎臓では 16~22 ng/g、筋肉及び脂肪では 2~3 ng/g であった。胆汁中濃度は高く、投与 15 日後で 1,073 ng eq/g、30 日後で 736 ng eq/g であり、胆汁排泄の寄与が示唆された。

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

表 4 [6,7-<sup>3</sup>H]標識 TBA を皮下移植投与した子牛における  
組織中の総放射活性濃度\* (ng eq/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)	
	15	30
肝臓	43.8±21.7	50.5±11.4
腎臓	16.4±5.6	21.8±5.1

筋肉	2.41±0.65	3.28±0.50
脂肪	2.45±1.15	2.40±0.88
胆汁	1,163±1,046	741±148

\* : 平均値±標準偏差

表 5 [6,7-<sup>3</sup>H]標識 TBA を皮下移植投与した子牛における組織中の非揮発性放射活性濃度\* (ng eq/g)

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

\* : 平均値±標準偏差

表 6 [6,7-<sup>3</sup>H]標識 TBA を皮下移植投与した子牛の肝臓から抽出した放射活性 (%\*)

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

\* : 試料中の総放射活性に占める比率

## ② 子牛②

子牛 (月齢不明、雌雄各 3 頭/投与群/時点、雌雄各 2 頭/対照群/時点) に TBA の配合剤 (TBA (140 mg)+E2 (20 mg)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与群では投与 15、30、50 及び 70 日後、対照群では投与 30 及び 70 日後の肝臓、腎臓及び筋肉中濃度が RIA により測定された。肝臓及び腎臓については α-TBOH 及び β-TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体が測定され、筋肉については総 α-TBOH 及び総 β-TBOH (いずれも遊離体+抱合体) が測定された。

TBOH の濃度については有意な性差は認められなかった。

結果を表 7 及び 8 に示した。(参照 7、11)

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

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

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

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

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

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

## (2) 残留試験 (未經産牛)

### ① 未經産牛①

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

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

移植 15 日後における筋肉、肝臓及び腎臓中の  $\beta$ -TBOH 遊離体の濃度は、いずれも同程度であった。脂肪中濃度は、その他の組織中濃度のほぼ 2 倍であった。移植 60 日後には  $\beta$ -TBOH 遊離体の濃度は、移植 15 又は 30 日後の濃度と比較して有意に減少した。

検出可能な程度の  $\beta$ -TBOH 抱合体は肝臓及び腎臓のみでみられた。 $\alpha$ -TBOH 遊離体は、筋肉及び腎臓では移植 30 日後まで、肝臓及び脂肪では試験期間を通じて検出された。(参照 7、11)

表 9 TBA 単剤\*を移植投与した未經産牛における組織中の  $\beta$ -TBOH 遊離体の濃度 (pg/g)

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

\* : TBA (300 mg/頭) を含有

表 10 TBA 単剤\*を移植投与した未經産牛における組織中の  $\beta$ -TBOH 抱合体の濃度\*\* (pg/g)

組織 (n=6)	移植投与後経過日数 (日)			
	15	30	60	75
肝臓	1,030±650	972±470	909±268	499±176

腎臓	179±62	167±38	144±34	33
筋肉	60	75	34	97±34
脂肪	31	46	31	30

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

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

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

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

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

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

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

## ② 未経産牛②

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

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

$\beta$ -TBOH 遊離体の濃度は脂肪中で最も高く、筋肉、肝臓及び腎臓中濃度の 3 倍以上であった。なお、筋肉、肝臓及び腎臓中濃度はいずれもほぼ同程度であった。 $\beta$ -TBOH 抱合体は、肝臓で検出可能な程度であった。

$\alpha$ -TBOH 遊離体及び抱合体は肝臓及び腎臓で有意な濃度で検出され、肝臓中における最高濃度は 4,000 pg/g に達した。

$\alpha$ -TBOH 又は  $\beta$ -TBOH のそれぞれの遊離体又は抱合体の濃度は、第 2 回移植投与 15 日後の試料のほぼ全例で最も高かった。(参照 11)

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

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

\* : TBA (300 mg/頭) を含有

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### (3) 残留試験 (去勢雄牛)

#### ① 去勢牛①

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

E2 の濃度を未処置の対照群における内因性の濃度と比較すると、食品中の動物用医薬品の許容可能な安全値<sup>5</sup>よりも大幅な低値を示した。

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

配合剤を投与された本試験における残留濃度は、投与 15 日後より 30 日後の方が低値を示した。肝臓、腎臓及び脂肪中の  $\beta$ -TBOH 濃度は、単剤投与における肝臓、腎臓及び脂肪中の  $\beta$ -TBOH 濃度よりも低値であった。筋肉中の  $\beta$ -TBOH 濃度は、配合剤を投与された動物の方が単剤を投与された動物より有意に高値であった ( $p<0.05$ )。肝臓を除き、 $\alpha$ -TBOH 濃度は配合剤を投与された動物の方が単剤を投与された動物より高値であったが、単剤使用による  $\alpha$ -TBOH の残留濃度は大部分が定量限界未満であった。(参照 12)

表 17 TBA 配合剤を投与した去勢雄牛における投与 15 及び 30 日後の組織中の E2 の濃度 (pg/g)

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

投与群 n=4 対照群 n=2

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

表 18 TBA 配合剤又は TBA 単剤を投与した去勢雄牛における投与 15 及び 30 日後の組織中の  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度 (pg/g)

測定対象	組織	TBA 配合剤				TBA 単剤			
		投与 15 日後		投与 30 日後		投与 15 日後		投与 30 日後	
		対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
$\beta$ -TBOH	肝臓	<LOQ <sup>a</sup>	240±83.0	<LOQ	216±30.1	<LOQ <sup>b</sup>	762±161	<LOQ	498±67.8
	腎臓	<LOQ	176±21.5	<LOQ	130±4.9	<LOQ	387±35.3	<LOQ	337±66.0

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

	筋肉	<LOQ	279± 38.5	<LOQ	234± 47.2	<LOQ	211± 39.5	<LOQ	139± 63.1
	脂肪	<LOQ	378± 61.9	<LOQ	260± 81.1	<LOQ	847± 73.2	<LOQ	661± 127
α-TBOH	肝臓	<LOQ <sup>a</sup>	1,550± 932	<LOQ	802± 240	<LOQ <sup>b</sup>	4,020± 2420	<LOQ	1,770± 470
	腎臓	<LOQ	178± 45.2	<LOQ	167± 23.7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	19.1± 3.25	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	60.2± 11.7	<LOQ	43.9± 11.5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

投与群 n=4 対照群 n=2

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

b : 単剤の LOQ (定量限界) : (α-TBOH 及び β-TBOH について) 筋肉 15 pg/g、脂肪 30 pg/g、肝臓 125 pg/g、腎臓 250 pg/g

## ② 去勢牛②

牛(月齢不明、去勢雄 4 頭/時点/投与群、2 頭/時点/対照群)に TBA の配合剤(TBA(140 mg/頭)+E2(28 mg/頭)) 又は TBA 単剤 (200 mg/頭) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 15 及び 30 日後の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中の E2、α-TBOH 及び β-TBOH の濃度が測定された。E2 の濃度は、対照群及び TBA 配合剤投与群においてのみ測定された。

結果を表 19 及び 20 に示した。

組織中残留濃度は、投与 15 及び 30 日後の両方の時点で同様であったため、結果はそれらの平均値で示した。

TBA 配合剤投与群及び対照群における E2 の濃度は、食品中の動物用医薬品の許容可能な安全値<sup>5</sup>より大幅に低値であった。

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

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

組織	許容可能な安全値	TBA 配合剤与群	無処置対照群
腎臓	360	<LOQ <sup>a</sup>	<LOQ
肝臓	240	<LOQ	<LOQ
筋肉	120	<LOQ	<LOQ
脂肪	480	16.1±2.6	6.1±1.7

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



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

残留物質	組織	対照	TBA 配合剤	TBA 単剤
$\alpha$ -TBOH	肝臓	<LOQ <sup>a</sup>	285±14.8	2,990±2,010
	腎臓	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	<LOQ	127±102
$\beta$ -TBOH	肝臓	<LOQ <sup>b</sup>	200±50.1	630±182
	腎臓	<LOQ	<LOQ	362±56.0
	筋肉	<LOQ	75.6±14.6	175±62.3
	脂肪	<LOQ	177±48.1	754±138

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

### ③ 去勢牛③

牛 (月齢不明、去勢雄 6 頭/群) に TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) + E2 (40 mg/頭)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 15、30、60 及び 75 日後の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪における  $\beta$ -TBOH 及び  $\alpha$ -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度が HPLC/RIA により測定された。

$\beta$ -TBOH 及び  $\alpha$ -TBOH のそれぞれ遊離体及び抱合体の組織中濃度を表 21~24 に示した。

筋肉、肝臓及び脂肪中の  $\beta$ -TBOH 遊離体の濃度は、いずれも同程度であったが、腎臓中濃度は検出限界付近の低い濃度であった。肝臓においてのみ  $\beta$ -TBOH 抱合体が検出可能であった。

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

本試験の結果、TBOH の検出限界は 70 ng/kg と考えられた<sup>6</sup>。(参照 7、11)

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

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

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

<sup>6</sup> かなり低い濃度でも残留物の検出は可能であったが、確実に測定可能な残留濃度として、この検出限界値が設定された。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### ④ 去勢牛④

牛 (月齢不明、体重 400~450 kg、去勢雄 6 頭/群) の耳に TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) 及び E2 (40 mg/頭)) を単回又は 2 回移植投与 (初回と第 2 回移植投与は 60 日の間隔で実施) し、残留試験が実施された。単回移植投与群では移植投与 60 日後に、2 回移植投与群では第 2 回移植投与 15、30 及び 60 日後に、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪並びに血漿中の  $\beta$ -TBOH 及び  $\alpha$ -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度を HPLC/RIA (検出限界：70 pg/g) を用いて測定した。なお、第 2 回移植投与は、初回とは反対側の耳で実施された。

$\beta$ -TBOH 及び  $\alpha$ -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中濃度を表 25~28 に

示した。

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

$\alpha$ -TBOH遊離体は主に肝臓でみられた。 $\alpha$ -TBOHの大部分は抱合体として主に肝臓及び腎臓で有意に高い濃度で検出された。(参照 11)

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

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

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

\*\* : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

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

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

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

\*\* : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

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

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

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

\*\* : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満

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

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

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

### ⑤ 去勢牛⑤

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

$\beta$ -TBOH 及び  $\alpha$ -TBOH の組織中残留濃度を表 29 及び 30 に示した。

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

$\alpha$ -TBOH 遊離体と抱合体の合計としての残留が有意に検出されたのは、肝臓中においてのみであった。(参照 11)

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

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

a : 遊離体及び抱合体の合計 b : 遊離体のみ

\* : TBA (140 mg/頭) を含有 \*\* : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 (20 mg/頭) を含有 \*\*\* : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

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

組織 (n=4)	投与後経過日数 (日)	
	15	30

肝臓 <sup>a</sup>	1,128±242	1,045±165
腎臓 <sup>a</sup>	<250	<250
筋肉 <sup>b</sup>	<15	<15
脂肪 <sup>b</sup>	51±14	<30

a : 遊離体及び抱合体の合計    b : 遊離体のみ

\* : TBA (140 mg/頭) を含有    \*\* : プロゲステロン (200 mg/頭) + E2 (20 mg/頭) を含有    \*\*\* : 標準偏差を示していない濃度は検出限界未満 (検出限界不明)

#### (4) 残留試験 (去勢雄牛及び未経産牛)

去勢雄牛及び未経産牛 (各 3 頭/投与群、各 1 頭/対照群) に TBA の配合剤 (TBA (200 mg/頭) + E2 (20 mg/頭)) を移植投与し、残留試験が実施された。投与 60 日後の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の E2、 $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度が測定された。

各組織中の E2 濃度を表 31 に、 $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度を表 32 に示した。

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

移植投与 60 日後の主要組織中の  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度は、去勢雄牛のみを用いた試験 II. 2. (3) ① の試験で報告されている移植投与 15 及び 30 日後における濃度と同様に検出され、肝臓では  $\alpha$ -TBOH の濃度が高く、筋肉及び脂肪では  $\beta$ -TBOH の濃度が高かった。組織中の  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度に雌雄 (去勢雄牛及び未経産牛) による違いはなかった。また、投与 60 日後の組織中残留濃度は、去勢雄牛及び未経産牛において有意差はみられなかった。(参照 12)

表 31 去勢雄牛及び未経産牛における TBA 配合剤\*を  
投与 60 日後の組織中の E2 の濃度 (pg/g)

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

投与群のみ n=3 (対照 : n=1)    \* : TBA (200 mg/頭) + E2 (20 mg/頭) を含有

a : LOQ (定量限界) : 筋肉 30 ng/kg、肝臓及び腎臓 20 ng/kg、脂肪 40 ng/kg    b : 1 例を除き定量限界未満

表 32 去勢雄牛及び未経産牛における TBA 配合剤\*を  
投与 60 日後の組織中の  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の濃度 (pg/g)

残留物	組織	去勢雄牛		未経産牛	
		対照	投与群	対照	投与群
$\alpha$ -TBOH	肝臓	<LOQ <sup>a</sup>	1,430±486	<LOQ	1,590±1,040
	腎臓	<LOQ	129±12.5	<LOQ	324±204
	筋肉	<LOQ	95.5 <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ
	脂肪	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
$\beta$ -TBOH	肝臓	<LOQ	481±179	<LOQ	515±46.2

	腎臓	<LOQ	152±31.8	<LOQ	<LOQ
	筋肉	<LOQ	97.9±24.4	<LOQ	97.1±17.7
	脂肪	<LOQ	344±152	<LOQ	338±50.1

投与群のみ n=3 (対照: n=1) \* : TBA (200 mg/頭) + E2 (20 mg/頭) を含有

a : LOQ (定量限界) : ( $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH について) 筋肉 50 pg/g、肝臓 200 pg/g、腎臓及び脂肪 100 pg/g b : 1 例を除き定量限界未滿

### 3. 遺伝毒性試験

TBA 並びに  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の各種遺伝毒性試験の結果を表 33 に示した。(参照 5、10、13~16)

表 33 TBA 並びに  $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の遺伝毒性試験結果

検査項目		試験対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	10~10,000 $\mu$ g/plate : TBA 又は配合剤 (TBA+E2 (7 : 1)) ( $\pm$ S9)	陰性 (参照 5、6)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	1,000、2,000、3,000 $\mu$ g/plate : TBOH ( $\pm$ S9)	1,000 $\mu$ g/plate で陰性 <sup>a</sup> (参照 5)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	0.5~500 $\mu$ g/plate : $\alpha$ -TBOH 15~1,500 $\mu$ g/plate : $\beta$ -TBOH	陰性 (参照 5、6)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	0.06~2 $\mu$ g/plate : TBOH	陰性 (参照 5)
		<i>S. typhimurium</i> TA100、TA98、TA102	0~1,000 $\mu$ g/plate? <sup>b</sup> : $\beta$ -TBOH 333 $\mu$ g/plate : TBA	TA100 : 陽性 <sup>c</sup> TA98 : 陰性 TA102 : 陰性 (参照 13)
染色体異常試験	ヒトリンパ球	6、30、60 $\mu$ g/mL : $\alpha$ -TBOH 又は $\beta$ -TBOH ( $\pm$ S9)	陰性 (参照 5、6)	
	CHO 細胞	1~10 $\mu$ g/mL : $\beta$ -TBOH (-S9) 6~60 $\mu$ g/mL : $\beta$ -TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	
染色体異常誘発性試験 (染色体異常、異数性細胞)	ハムスター-SHE 細胞	1~30 $\mu$ g/ml : $\beta$ -TBOH	陰性 (参照 14)	
細胞突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞	15~45 $\mu$ g/mL : $\alpha$ -TBOH 15~65 $\mu$ g/mL : $\beta$ -TBOH (+S9)	疑陽性 <sup>d</sup> (参照 5、6)	

遺伝子突然変異試験	CHO 細胞 ( <i>Hgp<sub>r</sub>t</i> 遺伝子座)	25~100 µg/mL : β-TBOH (-S9) 25 ~ 150 µg/mL : β-TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	
	CHO 細胞 ( <i>Hgp<sub>r</sub>t</i> 遺伝子座)	25~100 µg/mL : β-TBOH (±S9)	陰性 (参照 5)	
	チャイニーズハムスター V79 細胞 ( <i>Hgp<sub>r</sub>t</i> 遺伝子座)	3~75 µg/mL : β-TBOH (-S9) 12 ~ 125 µg/mL : β-TBOH (+S9)	陰性 (参照 5)	
小核試験	CHO 細胞	1~10 µg/mL : α-TBOH (-S9) 6~60 µg/mL : β-TBOH (+S9)	疑陽性 - S9 陰性 (+S9) (参照 5)	
	シリアンハムスター胚線維芽細胞	5 × 10 <sup>-6</sup> ~ 10 <sup>-4</sup> mol/L : β-, α-TBOH	陽性 (参照 13)	
	マウス C3H10T1/2 細胞	5 × 10 <sup>-6</sup> ~ 10 <sup>-4</sup> mol/L : β-, α-TBOH	陰性 (参照 13)	
	ヒト MCL-5 細胞 (遺伝子改変あり <sup>f</sup> )	20~26 µg/ml : TBOH	陽性 (参照 15)	
	ヒト WILL3 細胞	20~26 µg/ml : TBOH	陰性 (参照 15)	
	ハムスター-V79 細胞	3~100 µM : β-TBOH	陽性 <sup>g</sup> (参照 16)	
不定期 DNA 合成試験	HeLa 細胞及びシリアンハムスター胚細胞	2.5~15 µg/mL	陰性 (参照 5)	
DNA 修復試験	培養ヒト上皮細胞	1~512 µg/mL α-TBOH 又は β-TBOH	陰性 (参照 5)	
<i>in vivo</i>	細胞遺伝学的試験	ラット骨髓細胞 ラット精原細胞	100 mg/kg 体重 : α-TBOH 又は β-TBOH を単回強制経口投与 25 又は 50 mg 体重 : α-TBOH 又は β-TBOH を 4 回強制経口投与	陰性 (参照 5、6)
	小核試験	赤血球	100 mg/kg 体重 : β-TBOH	陰性 (参照 5)

a : 細胞毒性濃度では疑陽性

b : 参照 13 の記載のまま

c : S9 非存在下の TA100 においてのみ観察され、対照の 1.3 倍を超えない一貫した用量依存的な増加がみられたため、陽性とした。

d : >22 µg/mL の α-TBOH 及び >15 µg/mL の β-TBOH では細胞毒性がみられた。両物質は突然変異出現頻度を 2 倍増加させたが、α-TBOH において突然変異出現頻度の増加は高毒性濃度下のみで生じた。

e : 用量と負の相関がみられ、最も形質転換の数が多かったのは最低用量であった。

f : ヒトシトクロム遺伝子である *CYP1A2*、*CYP2A6*、*CYP3A4* 及び *CYP2E1* 並びに *microsomal epoxide hydrolase* が恒常発現している。

g : 異数性誘発性有意であること示された。

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

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

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

#### 4. 急性毒性試験

##### (1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

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

表 34 TBA の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	雌雄	溶媒	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)
マウス	経口	雌雄	コーン油中に 40%エタノール	1,500
	腹腔内	雄	エタノール+10%ゴマ油	565
	腹腔内	雌	エタノール+10%ゴマ油	643
ラット	経口	雌雄	コーン油中に 10%エタノール	5,000
	腹腔内	雄	コーン油中に 10%エタノール	1,601
	腹腔内	雌	コーン油中に 10%エタノール	1,772
	経口	雌雄	カプセル	1,000

#### 5. 亜急性毒性試験

##### (1) 8 週間亜急性毒性試験 (マウス、TBA)

マウス (系統不明、体重 19~25 g、雌雄各 8 匹/群) に TBA を 8 週間混餌投与 (0、25、50 又は 100ppm) し、亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 35 に示した。

死亡率、外観、行動、体重、摂餌量及び飼料効率に、投与による影響はみられなかった。副腎、腎臓、前立腺、精囊及び脾臓重量への影響はみられなかった。(参照 5)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、100ppm 投与群の雄で精巢の絶対及び相対重量の有意な低値が、全投与群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の有意な低値、子宮の絶対及び相対重量の有意な高値等がみられたことから、雄の NOAEL を 50ppm (7.5



mg/kg 体重/日に相当<sup>7)</sup>、雌の LOAEL を 25ppm (3.75 mg/kg 体重/日に相当<sup>7)</sup>) と判断した。

表 35 8 週間亜急性毒性試験 (マウス) の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・ 精巣の絶対及び相対重量の低値	・ 卵巣の絶対及び相対重量の低値
50 以上	(50ppm 以下) 毒性所見なし	・ 肝臓の絶対及び相対重量の低値
25 以上		・ 子宮の絶対及び相対重量の高値 ・ 卵巣の性周期の抑制 (黄体の欠如又は減少、間質の用量依存的な量の減少) ・ 子宮内膜腺数の減少

### (2) 10 週間亜急性毒性試験 (マウス、TBA)

マウス (スイスアルビノ CFLP、日齢不明、雌雄各 8 匹/群) に TBA を 10 週間混餌投与 (0、1、2、5 又は 10ppm (雄 : 0、0.12、0.24、0.56 又は 1.2 mg/kg 体重/日相当、雌 : 0、0.13、0.25、0.66 又は 1.4 mg/kg 体重/日相当)) し、亜急性毒性試験が実施された。病理組織学的検査は、対照群及び 10ppm 投与群の前立腺、精囊、精巣、卵巣及び子宮のみに実施された。

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

いずれの投与群においても投与による影響がみられなかったことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験の NOAEL を最高用量である 10ppm (1.2 mg/kg 体重/日に相当<sup>8)</sup>) と判断した。

### (3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、TBA)

ラット (CFY 系、雌雄各 10 匹/群) に TBA を 13 週間混餌投与 (0、25、50 又は 100ppm (雄 : 0、1.8、3.8 又は 7.6 mg/kg 体重/日相当、雌 : 0、2.2、4.2 又は 8.4 mg/kg 体重/日相当)) し、亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 36 に示した。

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

<sup>7</sup> JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定

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

<sup>8</sup> 通常、JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA 評価書に示されている既報値 (参照 5) を採用した。

た。(参照 5)

全投与群の雄で前立腺重量の低値が、100ppm 投与群の雌で子宮内膜間質の減少がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雄は LOAEL を 25ppm (1.25 mg/kg 体重/日に相当<sup>9</sup>)、雌は NOAEL を 50ppm (2.5 mg/kg 体重/日に相当<sup>9</sup>) と判断した。

表 36 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) の毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	・好中球及びリンパ球数の低値 ・前立腺腺房小型 (立方上皮に覆われる)	・子宮内膜間質減少 (子宮腺拡張、子宮内膜及び腺上皮の波型の外観を伴う)
50 以上	・精嚢重量の低値	(50ppm 以下)
25 以上	・前立腺重量の低値	毒性所見なし

#### (4) 13 週間<sup>10</sup>亜急性毒性試験 (ラット、 $\alpha$ -TBOH)

ラット (SD 系 : CD(UK)、雌雄各 10 匹/群) に  $\alpha$ -TBOH を 13 週間強制経口投与 (0、10、40、360 又は 3,600  $\mu$ g/kg 体重/日、メチルセルロース (MC) 懸濁液として投与) し、亜急性毒性試験が実施された。別の群 (雌雄各 10 匹/群) には参照化合物として  $\beta$ -TBOH を投与 (40  $\mu$ g/kg 体重/日) した。臨床徴候及び死亡の有無を観察し、体重、飲水量及び摂餌量の測定、飼料効率の算出、血液学的検査、眼科学的検査、生化学的検査、臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

毒性所見を表 37 に示した。

360  $\mu$ g/kg 体重/日投与群の雄 1 例が投与 2 週に死亡したが、おそらく挿管ミスの結果と考えられた。

360  $\mu$ g/kg 体重/日投与群の雄で流涎が認められた。血液学的検査及び血液生化学的検査では、血小板数、PCV 及び Hb が、全投与群の雄で有意に低下した。Ca 濃度は低下しているようにみえたが、おそらく対照値が比較的高いことによると考えられた。360  $\mu$ g/kg 体重/日投与群の雄では Na 及び K 濃度が有意に上昇し、雄及び雌で T.Chol が有意に低下した。剖検及び病理組織学的検査では投与に関連した変化はみられなかった。

また、本試験では特定のホルモンのパラメータは測定されなかった。

JECFA は、本試験における  $\alpha$ -TBOH の NOAEL を、40  $\mu$ g/kg 体重/日と判断している。(参照 13)

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

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

<sup>10</sup> 参照 13 では本試験を「short-term studies」に分類し、投与期間は 23 週間と記載している。しかしながら、本試験の引用文献 Hooks 1988 は、ラットを用いた 13 週間反復経口投与試験の報告書であることから、本試験の投与期間は 13 週間と考えられる。

本試験において、3,600 µg/kg 体重/日投与群の雄で摂餌量の増加、MCV 及びトロンボテスト時間の減少、下垂体重量の高値並びに前立腺及び精嚢重量の低値がみられ、360 µg/kg 体重/日投与群の雌で TP の減少及び ALP の上昇がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雄に対する NOAEL を 360 µg (0.36 mg)/kg 体重/日、雌に対する NOAEL を 40 µg (0.04 mg)/kg 体重/日と判断した。

表 37 13 週間亜急性毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日)	雄	雌
3,600	<ul style="list-style-type: none"> <li>・摂餌量増加</li> <li>・MCV 及びトロンボテスト時間減少</li> <li>・下垂体重量の高値</li> <li>・前立腺及び精嚢重量の低値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・Hb 上昇、RBC 及びトロンボテスト時間増加</li> <li>・下垂体重量の低値</li> <li>・子宮重量の低値</li> </ul>
360 以上	(360 µg/kg 体重/日) 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・TP の低値</li> <li>・ALP 上昇</li> </ul>
40 以下		毒性所見なし

#### (5) 3 か月間亜急性毒性試験（ラット、TBA）

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

毒性所見を表 38 に示した。

成長率は、雌では僅かに増加した。

血液学的検査では、パラメータに投与の影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、全投与群の AST 及び ALT が低下した。100 µg/kg 体重/日以上投与群において、T.Chol が低下した。

臓器重量には、100 µg/kg 体重/日投与群の雄で前立腺重量の低値、100 及び 200 µg/kg 体重/日投与群の雌で子宮重量の低値がみられた。病理組織学的検査では、卵巣及び子宮の変化が雌で認められた。卵巣では、全投与群において嚢胞及び放出された卵胞がみられた。（参照 5）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、100 µg/kg 体重/日投与群の雄にみられた前立腺重量の低値並びに 100 及び 200 µg/kg 体重/日投与群の雌にみられた子宮重量の低値については、用量反応を伴わないことから、偶発的な所見と考えた。100 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で精嚢重量の低値がみられ、200 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝臓及び脾臓重量の高値並びに子宮の菲薄化がみられたことから、雄に対する NOAEL を 50 µg (0.05 mg)/kg 体重/日、雌に対する NOAEL を 100 µg (0.1 mg)/kg 体重/日と判断した。

表 38 3 か月間亜急性毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	雄	雌
1,000	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Glu の軽度低下</li> <li>・ 腎臓重量の高値</li> <li>・ 前立腺重量の低値</li> <li>・ 前立腺、精囊及び精巣の萎縮</li> <li>・ 精子形成遅延、精囊及び前立腺の形成不全</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Glu 及び尿素の軽度低下</li> <li>・ 腎臓重量の高値</li> <li>・ 卵巣重量の高値</li> </ul>
200 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 成長率減少</li> <li>・ 肝臓重量の高値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝臓及び脾臓重量の高値</li> <li>・ 子宮の菲薄化</li> </ul>
100 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 精囊重量の低値</li> </ul>	(100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以下)
50	毒性所見なし	毒性所見なし

(6) 皮下投与による亜急性毒性試験<参考資料<sup>11)</sup>>

① 2 か月間亜急性毒性試験（ラット、TBA）

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

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

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

臓器重量は、全投与群で腎臓の絶対及び相対重量が高値となり、副腎及び胸腺の絶対及び相対重量が低下した。全投与群の雌で卵巣重量が用量依存的に低下した。200 及び 1,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群の雌において子宮重量が低下した。全投与群の雌が肝臓の絶対重量の高値を示した。全投与群の雄で精巣重量が、1,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群の雄で精囊及び前立腺重量が低下した。

剖検では、胸腺、卵巣及び精巣に萎縮が、精囊及び前立腺に肥大がみられた。（参照 5）

② 4 日間亜急性毒性試験（ウサギ、TBA）

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

<sup>11)</sup> 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

及び BSP 排泄) が検査された。

2 mg/kg 体重/日投与群において AST の軽度上昇が、5 mg/kg 体重/日投与群においてはその有意な増加がみられた。BSP 排泄は、いずれの群においても投与の影響を受けなかった。(参照 5)

#### (7) 移植投与による亜急性毒性試験<参考資料<sup>12</sup>>

##### ① 4~8 週間移植投与試験 (牛、TBA+E2)

子牛 (月齢不明、雄 8 頭/群) に TBA の配合剤 (TBA (140 mg/頭)+E2 (20 mg/頭)) を皮下移植投与し、4 又は 8 週後に投与の影響が検討された。別の群には、テストステロン (200 mg/kg 体重) + E2 (20 mg/kg 体重/頭) が投与された。

前立腺の組織学的検査において、両投与群に分泌活性亢進並びに増殖性及び化生性変化がみられた。(参照 5)

##### ② 56 日間移植投与試験 (牛、E2 又は TBA+E2)

子牛 (頭数不明、11 週齢、雄) に E2 (20 mg/頭) を単独又は TBA (140 mg) と併用して皮下移植投与し、投与試験が実施された。

E2 投与群では、投与後 12 日間に尿中に排泄された総エストロゲン量は多く、投与 3 週後に正常値に戻った。E2+TBA 投与群では、投与 42 日後までエストロゲンの段階的かつ持続的な排泄が起こったが、投与 56 日後には正常値に達した。E2 の定性検査及び尿中 E2 から、 $\alpha$ -エピマーが大部分の尿試料中に存在したことが判明し、E2 は、E2 単独投与群の尿中にみられた。E2+TBA 投与群では、E2 が尿中にみられたのは投与 21 日後のみであった。前立腺の病理組織学的検査では、両投与群で腺上皮の扁平上皮化生が認められた。(参照 5)

##### ③ 9 週間移植投与試験 (牛、TBA 又は TBA+E2)

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

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

##### ④ 10 週間移植投与試験 (牛、TBA 又は TBA+E2)

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

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

---

<sup>12</sup> 皮下移植投与で実施されていることから、参考資料とした。

Hb 及び PCV)、尿比重及び pH に投与の影響はみられなかった。血清及び骨中の Ca 及び P の値は変化しなかったが、血清中 Mg 濃度及び骨への Mg 沈着は、第 3、5 及び 6 群において低下した。子宮の腺細胞の増殖を伴う、子宮重量の高値が第 3 群で軽微に、第 4、5 及び 6 群では顕著にみられたが、これらの群では子宮内腔が部分的に水溶液で満たされていた。投与群では、卵胞の小型化を伴う卵巣重量の低値がみられた。これらの重量変化は、第 2、3 及び 6 群で最も顕著であった。卵胞数の減少を伴う卵胞の小型化は、第 5 及び 6 群において最も顕著であった。全投与群で用量依存的な胸腺重量の低値がみられた。第 3 群では陰核の発達異常が顕著であった。病理組織学的検査では、第 4、5 及び 6 群の乳腺組織に用量相関性のない増殖及び分泌がみられた。心臓、肝臓、腎臓、下垂体、松果体、副腎、甲状腺及び骨格筋には異常はみられなかった。(参照 5)

表 39 10 週間移植投与試験における被験物質及び投与量

被験物質	群 1	群 2	群 3	群 4	群 5	群 6
TBA (mg/頭)		140	3,500	140	1,400	3,500
E2 (mg/頭)				20	200	500

#### ⑤ 移植投与試験 (牛、TBA 又は TBA+E2)

去勢牛及び雄牛 (頭数不明) に、TBA (140 mg/頭) を単独又は E2 (20 mg/頭) を併用して皮下移植投与し、投与試験が実施された (移植期間不明)。対照動物には、担体を投与した。

TBA+E2 投与群では、雄牛において外因性 E2 の尿中への排泄に影響を与え、去勢牛にも同様の影響の可能性があると考えられた。病理組織学的検査では、TBA+E2 投与群において前立腺の扁平上皮化生がみられた。両投与群では、対照群に比べて前立腺上皮の更なる活性化がみられた。(参照 5)

### 6. 慢性毒性及び発がん性試験

#### (1) 95～104 週間慢性毒性試験 (マウス)

マウス (スイスアルビノ CFLP、体重 22～25 g、雌雄各 64 匹/群) に、TBA を 95～104 週間 (対照群の雄又は雌の生存率が 20%となった時点で試験終了) 混餌投与 (0、0.5、1、10 又は 100ppm (雄で 0、0.04、0.09、0.86 又は 8.6 mg/kg 体重/日、雌で 0、0.05、0.10、0.96 及び 9.5 mg/kg 体重/日相当)) し、慢性毒性試験が実施された。投与開始 13 週後、雌雄各 12 匹/群を用いて中間検査を実施した。

毒性所見を表 40 及び 41 に示した。

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

試験終了時の臓器重量は記録されていない。(参照 5、6)

JECFA は、本試験でみられた肝臓の過形成及び肝腫瘍の増加は、TBOH のホルモン作用を介した影響と判断した。(参照 5)

1ppm 以上投与群の雄で中間検査時に脾臓重量の高値が、0.5ppm 以上投与群の雌で

中間検査時に子宮の相対重量の低値がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雄ではNOAELを0.5ppm(0.04 mg/kg 体重/日に相当<sup>13</sup>)、雌ではNOAELを特定できず、LOAELを0.5ppm(0.05 mg/kg 体重/日に相当<sup>14</sup>)と判断した。本試験でみられた肝腫瘍発生頻度の増加は、TBOHのホルモン作用を介した影響と考えた。

表 40 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）の毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (ppm)	雄	雌
100	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝細胞空胞化の発生頻度増加</li> <li>腎臓の絶対及び相対重量の高値*</li> <li>赤脾髄における多形核白血球数の増加、洞のうっ血*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>腎臓腫大発生頻度増加（腎炎の発生頻度の僅かな増加を伴う）</li> <li>卵巣嚢胞増加、腫大化、膿瘍化及び又は嚢胞性の陰核腺増加</li> <li>脾臓の小型化</li> <li>腎臓の絶対及び相対重量の高値*</li> <li>脾臓重量の低値*</li> <li>黄体欠如を伴う排卵抑制*</li> </ul>
10 以上	肝臓の結節性過形成	子宮の相対重量の低値*
1 以上	脾臓重量の高値*	
0.5 以上	(0.5ppm 以下) 毒性所見なし	

\*：中間検査（投与開始 13 週後）でみられた所見

表 41 95～104 週間慢性毒性試験（マウス）の毒性所見（腫瘍性所見）

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

## (2) 112 週間慢性毒性試験（ラット）

ラット（SD系CFY、体重150～200g、雌雄各65匹/群）にTBAを112週間混餌投与（0、0.5、1、4、16又は50ppm（雄で0、0.02、0.04、0.14、0.56又は1.80 mg/kg 体重/日、雌で0、0.02、0.04、0.16、0.64又は1.92 mg/kg 体重/日相当））し、慢性毒性試験が実施された。被験動物は、交配9週前から分娩21日後まで同量を投与した親動物（50ppm投与群では母動物のみ妊娠0日から分娩21日後まで投与した）由来であつ

<sup>13</sup> 通常、JECFAで用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA評価書に示されている既報値（参照5）を採用した。また、JECFA評価書では、投与濃度“0.5ppm”は摂取量では雄で“0.004 mg/kg 体重/日”であると記載されているが、“0.04 mg/kg 体重/日”の誤りであると判断した。

<sup>14</sup> 通常、JECFAで用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定しているが、本試験については、JECFA評価書に示されている既報値（参照5）を採用した。また、JECFA評価書では、投与濃度“0.5ppm”は摂取量では雌で“0.005 mg/kg 体重/日”であると記載されているが、“0.05 mg/kg 体重/日”の誤りであると判断した。

た。試験 78 週に雌雄各 13~14 匹/群を用いて中間検査が実施された。

毒性所見を表 42 及び 43 に示した。

尿検査及び血液生化学的検査では、投与に関連した変化はみられなかった。(参照 5、6)

血液学的検査では、雄では、投与の影響はみられなかった。

JECFA 及び FDA は、本試験でみられた睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加は、TBOH のホルモン作用を介した影響と判断した。(参照 5)

1ppm 以上投与群の雄で精巣の小型化、全投与群の雌で肛門生殖突起間皮膚の下垂がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験における雄に対する NOAEL 及び雌に対する LOAEL を 0.5ppm (0.02 mg/kg 体重/日に相当<sup>8</sup>) と判断した。本試験でみられた睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加は TBOH のホルモン作用を介した影響と考えた。

表 42 112 週間慢性毒性試験 (ラット) の毒性所見 (非腫瘍性所見)

投与量 (ppm)	雄	雌
50	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・飲水量減少</li> <li>・副腎*、下垂体、甲状腺、腎臓、脾臓及び肝臓重量の低値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・副腎及び下垂体重量の低値*</li> <li>・卵巣重量の低値*</li> <li>・肝細胞巣発生頻度増加、肝細胞のすりガラス様領域発生頻度の軽度増加</li> <li>・膀胱結石、膀胱炎、腎盂炎を伴う上皮過形成</li> <li>・黄体欠如、膣の炎症及び粘液産生亢進、子宮内膜炎、子宮拡張、子宮内膜の厚さの低下及び陰核骨の発達</li> </ul>
16 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精巣及び前立腺絶対重量の低値</li> <li>・精巣、前立腺及び精囊の萎縮*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・陰核肥大*</li> <li>・血液学的検査における一部のパラメータの軽度な上昇</li> </ul>
4 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精巣小型化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・外陰部隆起</li> </ul>
1 以上		<ul style="list-style-type: none"> <li>・肛門生殖突起間皮膚の下垂</li> </ul>
0.5 以上	(0.5ppm) 毒性所見なし	

\* : 中間検査 (投与開始 78 週後) でみられた所見

表 43 112 週間慢性毒性試験 (ラット) における毒性所見 (腫瘍性所見)

投与量 (ppm)	雄	雌
50	・睪島細胞腫瘍発生頻度増加	・睪島細胞腫瘍発生頻度増加
16 以下	腫瘍発生頻度の増加なし	腫瘍発生頻度の増加なし



### (3) 長期投与慢性毒性試験（ラット）＜参考資料<sup>15)</sup>＞

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

主要な変化は生殖器等に関連したものであり、16ppm 以上投与群の大部分の雌で、雄のような粗い被毛、会陰部の脱毛、外陰部の隆起、卵巣の小型化、子宮の淡色粘稠な液、不明瞭な子宮頸部等がみられた。投与群の雄では去勢効果が顕著にみられた。これらの所見の発現率及び重篤度は投与に関連した影響であった。若干の加齢性変化の発現率が 50ppm 投与群の雌で減少した。50ppm 投与群の雄では対照群に比べて副腎及び下垂体の小型化が増加し、前立腺、精巣及び腎臓重量が顕著な低値を示した。16ppm 投与群の前立腺及び精巣重量も対照群に比較して有意に低下した。50ppm 投与群の雌では、副腎及び卵巣重量が有意に低下した。雌では、黄体の欠落、膣の炎症及び適応性変化（炎症に伴う膣粘膜上皮の粘液産生細胞への化生による粘液産生亢進）、子宮の炎症、内腔の拡張及び内膜の菲薄化、陰核の肥大並びに陰核骨の発達を含む顕著な病理組織学的所見がみられた。雄では、精巣、前立腺及び精囊の萎縮性変化が顕著であった。50ppm 投与群の雌では、膀胱結石の増加、すりガラス様の肝細胞の頻度増加、涙腺におけるハーダー腺化生の発現率の増加、乳腺線維腺腫の発生率の減少及び下垂体腺腫の発生率の減少がみられた。（参照 6）

## 7. 生殖発生毒性試験

### (1) 2 世代繁殖試験（ラット）

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

毒性所見を表 44 に示した。（参照 5、6）

試験者らは、親動物の繁殖成績<sup>16)</sup>については 18ppm 投与群で高度な影響が、3ppm 投与群である程度の影響がみられ、0.5ppm 投与群では成長過程にある F<sub>2</sub> 世代の動物に、F<sub>1</sub> 世代の同時期の動物より顕著な影響がみられたものの、成熟後の繁殖成績に投与の影響はみられなかったと結論した。休薬後の F<sub>1</sub> 世代の全投与群の繁殖成績には、対照群と比べて顕著な差はみられなかった。（参照 5、6）

投与継続群の児動物である F<sub>2</sub> 世代の雄（6 週齢）では対照群に比べて体重が低かったが、精巣、精巣上体、精囊及び前立腺の組織学的検査で形態学的異常はみられなかった。観察時の週齢では完全には性成熟に達していないことから、精巣では精子の尾部が形成されているが、精巣上体には精子が存在しない状態は正常であると考えられた。（参照 5）

成熟個体の繁殖成績に異常はみられなかったものの、0.5ppm 投与群の F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代の離乳後（6 週齢）の雄では精巣/前立腺又は精巣上体の重量に低値が、雌では有意で

<sup>15)</sup> 投与期間が不明であることから、参考資料とした。

<sup>16)</sup> 親動物が児動物を出産し維持する能力で評価

はないものの膣開口の僅かな遅延がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、児動物に対する LOAEL を 0.5ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当<sup>9)</sup>) と判断した。

表 44 2 世代繁殖試験 (ラット) の毒性所見

投与量 (ppm)	世代	雄	雌
18	F <sub>0</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・被毛粗剛、皮膚の変色</li> <li>・前胃部粘膜上皮層の菲薄化の発生頻度増加</li> <li>・精囊/前立腺重量の低値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・妊娠中の体重増加抑制</li> <li>・被毛粗剛、皮膚の変色</li> <li>・2 回目交配での妊娠率の高度な低下</li> <li>・2 回目交配までに要する時間の延長</li> <li>・妊娠期間の僅かな延長</li> <li>・同腹児数の減少及び同腹児重量の低値</li> <li>・着床後/出産前の胎児死亡増加</li> <li>・卵巣重量の高値</li> </ul>
	F <sub>1</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・前胃部上皮抑制発生頻度増加</li> <li>・精囊/前立腺重量の低値&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・精囊/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低値&lt;6 週齢&gt;</li> <li>・胎児における肛門生殖突起間距離の減少、骨格変異発生頻度の僅かな増加&lt;F<sub>0</sub> 世代の 2 回目交配で得られた胎児&gt;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・被毛粗剛、皮膚の変色&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・陰核の隆起&lt;投与継続群、休業群&gt;</li> <li>・膣の閉塞、早熟/不完全な膣口&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・2 回目交配での妊娠率の高度な低下&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・2 回目交配交配までに要する時間の延長&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・妊娠期間の僅かな延長&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・分娩延長及び全同腹児の死亡発生頻度の高度な増加、同腹児の雄の割合増加&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・同腹児数及び同腹児重量の低値&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・着床後/出産前の胎児死亡増加&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・卵巣重量の高値&lt;投与継続群&gt;</li> <li>・副腎重量の低値&lt;6 週齢&gt;</li> </ul>
	F <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精巣下降の遅延&lt;投与継続群の児動物&gt;</li> <li>・精囊/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低値&lt;6 週齢&gt;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・陰核の隆起&lt;投与継続群の児動物&gt;</li> <li>・膣の閉塞、早熟/不完全な膣開口&lt;投与継続群の児動物&gt;</li> <li>・副腎重量の低値&lt;6 週齢&gt;</li> </ul>
3 以上	F <sub>0</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制 (1 回目交配時)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制 (1 回目交配時)</li> <li>・同腹児数減少 (1 回目交配)</li> <li>・同腹児重量の僅かな低値 (2 回目交配)</li> </ul>
	F <sub>1</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精囊/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低値&lt;6 週齢&gt;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・被毛粗剛、皮膚の変色 (1 例)</li> <li>・膣開口遅延</li> <li>・不完全な膣開口、膣の閉塞&lt;6 週齢&gt;</li> <li>・同腹児数減少&lt;投与継続群&gt;</li> </ul>
	F <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精巣下降の僅かな (有意差を伴わない) 遅延&lt;投与継続群の児動物&gt;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・膣開口遅延&lt;投与継続群の児動物&gt;</li> </ul>

		・精囊/前立腺、精巣及び精巣上体重量の低値<6週齢>	
0.5以上	F <sub>0</sub>	・妊娠中の体重の高値	毒性所見なし
	F <sub>1</sub>	・精囊/前立腺重量の低値<投与継続群、6週齢>	・陰開口の僅かな（有意差を伴わない）遅延（その後の交配成績及び繁殖成績は対照群と同等）
	F <sub>2</sub>	・精囊/前立腺重量の低値<投与継続群の児動物、6週齢> ・精巣上体重量の低値	・陰開口の僅かな（有意差を伴わない）遅延<投与継続群の児動物>

## (2) 生殖発生毒性試験（ラット）①

ラット（系統不明、雌雄、270匹）にTBAを交配2週間前から妊娠終了までの間、親動物（F<sub>0</sub>世代）の雌雄に混餌投与（0、0.1、0.3、0.5、3又は18ppm）し、生殖発生毒性試験が実施された。児動物（F<sub>1</sub>世代）は、離乳時まで飼育し、生後22日に雄を、生後24日に雌を剖検した。雄の児動物の精巣、精囊/前立腺及び精巣上体の重量を計測した。

各投与群の動物で観察された所見を表45に示した。（参照5、6）

0.5ppm以下投与群では、雌の体重が僅かに減少したのみであった。（参照5）

FDAは、本試験において、ラットにおけるホルモン作用としてのNOEL（conservative hormonal no-effect level）を0.5ppmと判断している。（参照6）

3ppm以上投与群の雄親動物で軽度の体重増加抑制並びに雌親動物で妊娠期間の僅かな延長及び軽度の体重の高値が、児動物で同腹児数の減少、精巣重量の低値、精囊/前立腺重量の高値等がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、親動物及び児動物に対するNOAELをともに0.5ppm（0.025mg/kg体重/日に相当<sup>9)</sup>）と判断した。

表45 生殖発生毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (ppm)	親動物 (F <sub>0</sub> )		児動物 (F <sub>1</sub> )
	雄	雌	
18	・軽度の体重増加抑制	・軽度の体重増加抑制（妊娠中） ・陰核の隆起（22/29） ・妊娠期間延長（有意）	・陰核の隆起（3週以降）（雌） ・全同腹児の死亡（4/29） ・同腹児重量の低値
3以上		・軽度の体重の高値 ・妊娠期間の僅かな延長	・同腹児数減少、哺育児死亡率の僅かな上昇、哺育児体重の僅かな高値（雌雄） ・精巣重量の低値、精囊/前立腺重量の高値（雄）
0.5以下	所見なし	所見なし	所見なし

## (3) 生殖発生毒性試験（ラット）②

ラット（系統不明、雌雄各12匹/群）にTBAを交配前、交配期間、妊娠期間及び授乳期間を通じて混餌投与（0、1、2、5又は10ppm）（繁殖相(F<sub>0</sub>））し、この試験で得られた児動物（雌雄各25匹/群）にTBAを離乳後13週間にわたり同様の濃度で混餌投与

(発達・成長相(F<sub>1</sub>)) する生殖発生毒性試験が実施された。

毒性所見を表 46 に示した。

繁殖相では、交配前の期間において、10ppm 投与群の雄で摂餌量の低下を伴う軽度の体重増加抑制がみられたが、全投与群において、繁殖成績に投与による影響はみられず、同腹児数、同腹児重量並びに児動物の大きさ及び死亡率に投与による変化はみられなかった。

発達・成長相では、全投与群の雄で体重増加抑制がみられたが、用量相関性は認められなかった。

FDA は、本試験における NOEL を 1ppm と判断した。(参照 6)

繁殖成績に投与による影響はみられず、5ppm 以上投与群の児動物の雄に精囊の相対重量の低値が、2ppm 以上投与群の児動物の雌に摂餌量増加及び体重の高値がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、NOAEL を親動物で 10ppm (0.5 mg/kg 体重/日に相当<sup>9)</sup>、児動物の雄で 2ppm (0.2 mg/kg 体重/日に相当<sup>17)</sup>、児動物の雌で 1ppm (0.1 mg/kg 体重/日<sup>17)</sup>に相当) と判断した。

表 46 生殖発生毒性試験 (ラット) の毒性所見

投与量 (ppm)	繁殖相 (F <sub>0</sub> )	発達・成長相 (F <sub>1</sub> )	
		雄	雌
10	毒性所見なし	・精囊重量の低値 (離乳 4 週後)	・血清中 ALP 上昇 ・肝臓の絶対及び相対重量の高値 (離乳 4 週後)
5 以上		・精囊の相対重量の低値 (形態学的変化を伴わない。離乳 4 週後)	・摂餌量増加、体重の高値
2 以上		(2ppm 以下)	
1		毒性所見なし	毒性所見なし

#### (4) 生殖毒性試験 (ラット) ①

ラット (系統不明、体重 133~143 g、雄 40 匹及び雌 80 匹) に、交配 9 週間前から分娩 21 日後まで TBA を混餌投与 (0、0.5、1、4 又は 16ppm) するとともに、雌では妊娠 1 日から分娩 21 日後まで TBA を混餌投与 (50ppm) する別の群を設定して、生殖毒性試験が実施された。分娩 21 日後に、繁殖成績について調べられた。

毒性所見を表 47 に示した。(参照 5、6)

本試験において、母動物では 1ppm 以上投与群に用量依存的な妊娠率の低下がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、母動物に対する NOAEL を 0.5ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当<sup>9)</sup>) と判断した。一方、全ての投与群で哺育児死亡

<sup>17</sup> JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定

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

率が上昇したことから、児動物に対する NOAEL は得られなかった。

表 47 生殖毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (ppm)	母動物	児動物
50	・成長率増加	・哺育児体重増加抑制（分娩 4 日後以降）
4 以上		・同腹児数及び同腹児重量低下
1 以上	・妊娠率低下	・哺育児死亡率上昇（分娩 4 日まで）
0.5	毒性所見なし	
0.5 以上	(0.5ppm) 毒性所見なし	

(5) 生殖毒性試験（ラット）② <参考資料<sup>18</sup>>

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

(6) 発生毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、雌 20 匹/群）の妊娠 6～15 日に TBA を強制経口投与（0<sup>19</sup>、5、10 又は 20 mg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日に胎児の頭殿長を測定し、骨格及び内臓異常を調べた。

毒性所見を表 48 に示した。

妊娠率、胎児の生存/死亡数、着床及び黄体数、同腹児重量、胎児体重、大奇形の発生頻度、小内臓奇形の発生頻度（ウィルソン法）並びに胎児頭殿長の全てにおいて、投与の影響はみられなかった。骨格変異（肋骨の数、正常及び変異胸骨分節の数）の発生頻度には、投与の影響はみられなかった。（参照 5、6）

全投与群の母動物で用量依存的な体重増加抑制がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、母動物に対する LOAEL を 5 mg/kg 体重/日、いずれの投与群においても、胎児では投与による影響がみられなかったことから、胎児に対する NOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性はみられなかった。

表 48 発生毒性試験（ラット）の毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
20	・体の弛緩	毒性所見なし
10 以上	・脱毛 ・流涎（軽度）	
5 以上	・体重増加抑制	

<sup>18</sup> 妊娠率以外の結果の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>19</sup> 溶媒：1%MC 及び 2.5%エタノールの溶液

## 8. ホルモン作用に関する試験

### (1) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ①

豚 (5~6 か月齢、雌雄各 5 頭/群) に TBA を 14 週間経口投与<sup>20</sup> (0、5、7.5 又は 10 µg/kg 体重/日) し、臨床徴候の観察、体重測定、摂餌量測定、血漿中のテストステロン、E2 及びプロゲステロンの測定 (血液は毎週採取) 並びに剖検及び病理組織学的検査 (精巣、精囊、子宮、卵巣、乳腺及び肝臓) が実施された。

毒性所見を表 49 に示した。

対照群の雌 1 例が、心筋破裂により投与 11 週に死亡した。

体重及び摂餌量に、TBA の投与による影響はみられなかった。

血漿中ホルモン濃度には、投与群の雄でテストステロンの一過性の増加がみられたものの、雌雄いずれにも E2 の有意な変化はみられなかった。7.5 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で、一過性のプロゲステロンの有意な低下が観察されたが、これらの投与群では投与開始前から対照群に比べて低値であり、用量との関連はみられなかった。雌のプロゲステロン濃度は、発情周期に伴う変動により、投与群と同様に対照群でもばらつきがみられた。

病理組織学的検査では、肝細胞の細胞質の組織学的変化 (部分的なすりガラス様変化) が、投与群の雄でみられた (5µg/kg 体重/日投与群では 4/5、7.5µg/kg 体重/日投与群では 5/5、10 µg/kg 体重/日投与群では 5/5 例)。この所見は変性変化を伴わず、試験者らは、おそらく適応反応によるものであると考えた。(参照 5、13<sup>21</sup>)

JECFA は、本試験におけるホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect-level) を 5~7.5 µg/kg 体重/日と判断した。(参照 13)

7.5 µg/kg 体重/日以上投与群の雄で胸腺重量の低値及び肝臓重量の高値が、10 µg/kg 体重/日投与群の雌で脾臓重量の高値が観察されたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、NOAEL を雄で 5 µg (0.005 mg)/kg 体重/日、雌で 7.5 µg (0.0075 mg)/kg 体重/日と判断した。

表 49 14 週間投与試験 (豚) でみられた毒性所見

投与量 (µg/kg 体重/日)	雄	雌
10	・精巣上体重量低下	・脾臓重量の高値
7.5 以上	・胸腺重量の低値及び肝臓重量の高値	(7.5 µg/kg 体重/日以下)
5	所見なし	所見なし

### (2) 14 週間投与試験 (豚、TBA) ②

性成熟期の豚 (26 週齢、雌雄各 4 頭/群) に、TBA を 14 週間混餌投与 (0、0.1、2 又は 20ppm (0、2~3、40~100 又は 400~600 µg/kg 体重/日相当)) した。投与前並びに

<sup>20</sup> コーン油を溶媒とし、カプセルに入れて餌とともに投与したもの

<sup>21</sup> 参照 5 の Roberts & Cameron (1985) 並びに参照 13 の Cherry (1986) 及び Roberts *et al.* (1986) の情報を統合して記載した。

投与 6 及び 12 週後に血液を採取し、血清中のホルモンを測定した。臨床徴候の観察、死亡率の算出、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、ステロイドホルモン分析、臓器重量測定（雄雌の区別をしない平均値及び相対的データ）、剖検、骨髄塗抹検査及び病理組織学的検査が実施された。

毒性所見を表 50 に示した。

ほとんどの検査において投与による影響はみられなかった。20ppm 投与群の 1 例が、投与 10 週で後躯の部分麻痺を発現後に安楽死処置された。（参照 5、13<sup>22</sup>）

JECFA は、2ppm 以上投与群でみられた精巣重量の有意な低値は用量相関が認められたが、0.1ppm 投与群でみられた臓器重量の変化は意味のないもの（marginal）であるとし、本試験におけるホルモン作用としての NOEL（marginal no-hormonal effect level）を 0.1ppm（2～3 µg/kg 体重/日に相当）とした<sup>23</sup>。（参照 13）

2ppm 以上投与群の雄でテストステロン及び E2 の有意な減少、精巣重量の低値等が、雌で子宮重量の低値、卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化等が用量依存的にみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、NOAEL を 0.1ppm（2～3 µg (0.002～0.003 mg)/kg 体重/日に相当<sup>8</sup>）と判断した。

表 50 14 週間投与試験（豚）でみられた毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
20	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ BUN 及び AST 上昇</li> <li>・ 精囊及び下垂体重量の高値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ BUN 及び AST 上昇</li> <li>・ 乳腺の腺房発生及び分泌の欠如</li> </ul>
2 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol 上昇</li> <li>・ テストステロン及び E2 低下</li> <li>・ 肝臓及び腎臓重量の高値</li> <li>・ 精巣重量の低値</li> <li>・ 精巣間細胞萎縮</li> <li>・ 肝細胞腫大（肝臓ですりガラス様の細胞質を伴う）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol 上昇</li> <li>・ 血小板数増加</li> <li>・ 血清中プロゲステロン低下</li> <li>・ 肝臓及び腎臓重量の高値</li> <li>・ 子宮重量の低値、性周期抑制又は異常（卵巣の成熟卵胞及び/又は成熟黄体又は初期退行黄体の欠如）</li> <li>・ 子宮内膜腺発達の欠如</li> </ul>
0.1	所見なし	所見なし

### （3）8 週間投与試験（サル、TBA）＜参考資料<sup>24</sup>＞

若齢サル（カニクイザル、雌雄各 1 匹/群）に TBA を 8 週間強制経口投与（0、0.375 又は 1.875 mg/kg 体重/日）し、毒性を予測する予備試験が実施された。最終投与後に剖検し、選択した組織に対し病理組織検査を実施した。

その結果、試験期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重及び摂餌量に投与の影響

<sup>22</sup> 参照 5 の Roberts & Cameron (1985) 及び参照 13 の Ross *et al.* (1980) の情報を統合して記載した。

<sup>23</sup> 1987 年の JECFA 評価（参照 5）では、本試験の NOAEL 等は設定されていない。

<sup>24</sup> II. 8. (4) の試験を実施するための予備試験であり、1 群当たりの匹数が少なく、血中ホルモンの詳細が不明であることから、参考資料とした。

はみられなかった。雄では、前立腺重量が低下し、精嚢及び精巣重量が高値となった。  
(参照 6)

#### (4) 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル、TBA)

性成熟したサル (アカゲザル、体重 6 kg、雌 6 匹/群) に、TBA を 3 月経周期又は最長 122 日間混餌投与 (60、240 又は 960 µg/匹/日) する試験が実施された。投与前は毎日、投与期間の最初の 2 月経周期は 3 日間隔で、最後の月経周期の間又は 30 日間は毎日、全動物から血液を採取し、血清中の E2、プロゲステロン、LH 及び FSH の濃度が RIA により測定された。

毒性所見を表 51 に示した。

JECFA は、960 µg/匹/日投与群では下垂体性腺軸の機能が阻害されたと結論付けた。また、これらの雌は急速に無排卵性ステージに達したが、この試験で得られた限定的なデータからは、この作用の前兆となり得る内因性ホルモン濃度の変化に関する結論を導き出すことはできないと判断された。60 µg/匹/日 (10 µg/kg 体重/日に相当) 投与群においては、影響はみられなかった。(参照 5、6)

FDA は、TBA の経口投与により繁殖パラメータに抑制影響がみられたが、少なくともプロゲステロン様物質と比較すると僅か (marginal) であり、240 µg/匹/日以下投与群では影響がみられなかったと結論付け、本試験におけるホルモン作用としての NOEL (conservative hormonal no effect level) を 240 µg/匹/日 (40 µg/kg 体重/日に相当) と判断している。(参照 6)

240 µg/匹/日投与群の 1 例に投与に関連した可能性がある無排卵がみられたことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、NOAEL を 60 µg/匹/日 (10 µg (0.01 mg)/kg 体重/日に相当) と判断した。

表 51 3 月経周期又は 122 日間投与試験 (サル) における毒性所見

投与量 (µg/匹/日)	雌
960	・下垂体性腺軸の阻害 ・月経周期の異常
240 以上	・無排卵
60	所見なし

## 9. その他の試験

### (1) タンパク質結合に対する影響① *in vitro* 試験 (α-TBOH、β-TBOH 及びテストステロン)

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

これらの親和性はいずれも 0.1%未満であり、テストステロンの親和性 10%と比べて非常に低かった。テストステロン及びエストラジオール結合グロブリンに対する α-TBOH 及び β-TBOH の親和性は、テストステロンの親和性の 1%であった。 *in vitro*



で女性由来ヒト血漿とともにインキュベートすると、<sup>3</sup>H 標識 α-TBOH は容易にアルブミン画分に結合し、僅か 4%しか遊離 TBOH として存在しなかった。β-TBOH の総血液クリアランスは、テストステロンの 2 倍であった。(参照 5)

## ② *in vivo* 試験 (ラット、TBA)

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

投与群では、対照群と比べて成長率の亢進がみられた。投与群で上昇した成長率は、水分保持量の増加に起因するものではなかった。投与群では、カーカス<sup>25</sup>の総窒素含有量が有意に高かった (p=0.01) ものの、総脂肪含有量は有意ではないが 8.3%減少した。一部の組織では TBA に対するタンパク質合成速度の反応にはタイムラグがみられた。投与群では、子宮及び骨格筋が混じった組織タンパクのタンパク質合成速度が有意に減少した。測定されたタンパク質合成速度の減少は、タンパク合成に用いられるチロシンプールの特異的な活性の変化によるものではなく、合成速度の変化を反映したものと考えられた。(参照 6)

## (2) ハーシュバーガーアッセイ、子宮肥大試験等 (ラット、豚及びサル)

性腺を摘出した動物を用いた場合、動物に対する潜在的なホルモン影響を高感度で観察することが可能となるが、NOEL 又は NOAEL となる用量を判断できないため、以下に参考資料として記載する。

### ① ラット

ラットを用いたハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験の結果を表 52 に示した。(参照 5、6、17)

表 52 ハーシュバーガーアッセイ及び子宮肥大試験 (ラット) の結果

試験	投与物質、投与量及び投与方法	結果
ハーシュバーガーアッセイ	テストステロン プロピオン酸エステル: 12.5、25、50、100、200 µg/匹/日 TBA: 50、100、200 µg/匹/日 10 日間皮下投与	テストステロンプロピオン酸エステル: 全投与群で球海綿体筋+肛門挙筋 (LABC)、腹側前立腺、精囊+凝固腺 (SVCG) 及び陰茎亀頭の組織重量の高値 TBA: 全投与群で LABC の組織重量の高値
	TBA: 4、20 又は 100 µg/匹/日 β-TBOH: 4、20 又は 100 µg/匹/日 α-TBOH: 20、100、500 又は 1,000 µg/匹/日 9 日間皮下投与	TBA 及び β-TBOH: 全投与量で臓器重量の用量依存的な高値 α-TBOH: 100 µg/匹/日以上投与群で臓器重量の高値
	TBA: 0、0.75、3、12 又は 48 mg/	最終投与 1 日後の剖検において、全投与群

<sup>25</sup> 組織・臓器を取り除いた残渣

	匹/日 10日間経口投与	で用量依存的な前立腺の絶対重量の高値（最大+440%）及び精嚢の絶対重量の高値（最大+400%） 3 mg/匹/日以上投与群で、肛門挙筋重量の用量依存的な高値（最大+250%）
	TBA : 0、0.02、0.1 又は 0.5 mg/ 匹/日 10日間皮下投与	全投与群で肛門挙筋（最大+250%）、前立腺（最大+1,400%）及び精嚢（最大+2,500%）重量の高値
	TBA : 0、0.02、0.1 又は 0.5 mg/ 匹/日 10日間皮下投与	TBA の同化及びアンドロゲン様作用はテストステロンの約5倍
子宮肥大 試験	TBA : 0、0.2、1.0 又は 5.0 mg/ 匹/日 4日間皮下投与	全投与群で子宮重量の高値（最大+550%）
	TBA : 0、0.2、1.0 又は 5.0 mg/ 匹/日 4日間皮下投与	TBA は本質的にエストロゲン活性を示さず、E2 の約 1/1,000 の活性を確認

## ② 豚

去勢直後の成熟豚（8～10 か月齢、雄、3～7 頭/投与群、11 頭/対照群）に  $\beta$ -TBOH（0.1、1、10、16、24 又は 36  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日）又は  $\alpha$ -TBOH（0.1、10、100、160、240 又は 360  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日）を 14 日間経口投与<sup>26</sup>し、最終投与後 14 日間休薬した。血液は、去勢前（投与 0 日）、投与開始後 7、14、21 及び 28 日に採取した。 $\alpha$ -TBOH 投与群では投与 0 日及び投与開始後 14 日に、 $\beta$ -TBOH 投与群では投与 0 日及び投与開始後 14 及び 28 日後に LH を測定した。休薬期間終了後（投与開始後 28 日）に剖検し、下垂体、前立腺及び精嚢について肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

体重及び臓器重量に投与の影響はみられなかった。（参照 5、13）

JECFA は、本試験におけるホルモン作用としての NOEL（no observed hormonal effect level）を、 $\beta$ -TBOH で 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日と、 $\alpha$ -TBOH で 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日と判断した。（参照 13）

## ③ サル

去勢直後のサル（アカゲザル、8～17 歳齢、雄、2 匹/投与群、3 匹/対照群）に  $\beta$ -TBOH を 30 日間経口投与（0、1、20 又は 400  $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ ）し、TBOH のアンドロゲン活性により誘発された可能性のある変化を検討した。最終投与日に精嚢の生検を実施した。最低用量（1  $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$ ）投与群には、去勢 17 日後から試験終了時までの間、1,600  $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$  の  $\beta$ -TBOH を投与した（1+1,600  $\mu\text{g}/\text{匹}/\text{日}$  投与群）。

精巣摘出後に起こる LH 及び FSH 分泌の上昇は、 $\beta$ -TBOH 投与により抑制されなかった。この試験系では、TBOH 及びテストステロン<sup>27</sup>は抗性腺刺激ホルモン作用

<sup>26</sup> ゼラチンカプセルに入れて餌とともに投与したもの

<sup>27</sup> 原文ママ

(antigonadotropic activity) を示さなかったが、400 及び 1+1,600 µg/匹/日投与群では、アンドロゲンの作用と一致した精囊の形態の部分的又は完全な回復がみられた。去勢後には、予想された血清中テストステロン及び E2 の減少がみられたが、β-TBOH (TBOH) を投与してもこれらのホルモンの血清中濃度又は視床下部・下垂体・副腎皮質系における活性の典型的な日周パターンに変化はみられなかった。

JECFA は、本試験における β-TBOH のホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect level) を 20 µg/匹/日 (2 µg/kg 体重/日に相当) と判断した。(参照 5)

### (3) 体組成及び循環代謝に対する影響 (ラット)

TBA の投与が体組成及び循環代謝リスクに与える影響を理解するため、ラット (Wistar 系、雄、32 週齢、6 匹/群) に TBA (2 mg/kg/day) 又は溶媒 (コントロール群) を、浸透圧ミニポンプにより 6 週間、連続皮下投与し、体組成、臓器重量、血清脂質プロファイル及び組織学的形態が調べられた。

DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry) 法による体組成測定においては、対照群では、脂肪が高値 (34±7%) となった。TBA 投与群では、脂肪が低値 (37±6%) となり、脂肪を除いた体重は 11±4% 高値となった。

TBA 投与群では血清トリグリセリドが 62%、HDL が 57%、LDL が 78% それぞれ減少した。

前立腺の組織学検査では、TBA 投与群で前立腺組織重量の高値 (コントロール群比で 149%) を伴った、良性の過形成が観察された。心臓及び肝臓に対する有害影響は観察されなかった。(参照 18)

### (4) E2 の排泄及び窒素貯留に対する影響 (牛)

#### ① *in vivo* 試験 (牛、TBA)

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

牛 (11~16 週齢、雄) の胸垂に TBA を移植投与 (40 mg/頭) したところ、窒素貯留に影響はみられなかった。しかし、同じ部位に E2 (20 mg/頭) 及び TBA (140 mg/頭) を併用して移植した場合、47% 減少した。(参照 5)

#### ② *in vivo* 試験 (豚、TBA)

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

投与 5 週後にエストロゲンは糞中からほとんど検出されず、血清中の E2 濃度は両投与群ともに極めて低かった。尿中の E2 濃度は、E2 投与群で 6~82 µg/L、TBA + E2 投与群で 16~135 µg/L であった。(参照 5)

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

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

軽度で有意ではない免疫抑制作用が E2 又は TBA の単独投与群の雄でみられた。TBA + E2 投与群の雄では、この作用が大きかった。雌では免疫反応に影響はみられなかった。(参照 5)

#### (6) 残留物の毒性に関する特殊試験 (牛、TBA)

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

230 ppb TBA 混餌投与群<sup>28</sup>のラットで、軽微な体重増加抑制がみられた。死亡率、摂餌量、成長、受胎能、生殖 (交配、受胎率、妊娠期間、同腹児重量、同腹児数、胎児体重、死亡率及び 3 週後の胎児体重)、血液学的検査、生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査等のパラメータに投与の影響はみられなかった。(参照 5)

#### (7) 細胞形質転換試験

$\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH の細胞形質転換試験の結果を表 53 に示した。(参照 5、10)

表 53 TBOH の細胞形質転換試験結果

試験	対象	用量	結果	
<i>in vitro</i>	細胞形質 転換試験	シリアンハムスタ 一胚線維芽細胞	5、10、15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ : TBOH	疑陽性 <sup>e</sup> (参照 5)
		シリアンハムスタ 一胚線維芽細胞	1.0~7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ : $\beta$ -TBOH 1.0~7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ : $\alpha$ -TBOH	陽性 陽性 (参照 13)
		マウス C3H10T1/2 細胞	2~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ : $\beta$ -TBOH (- S9) 5~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ : $\beta$ -TBOH (+S9)	疑陽性 (- S9) 陽性 (+S9) (参照 5)
		マウス C3H10T1/2 細胞	1~10 $\mu\text{g mL}$ : $\beta$ -TBOH	陰性 (参照 13)
		BHK21 細胞	- : TBA ( $\pm$ S9)	陽性 ( $\pm$ S9) (参照 6)

#### (8) DNA 共有結合試験

##### ① *in vitro* 試験 ( $\beta$ -TBOH)

<sup>3</sup>H 標識  $\beta$ -TBOH とインキュベートした *S.typhimurium* TA100 から分離した DNA において、 $\beta$ -TBOH は DNA に不可逆的に結合していた。(参照 13、25)

<sup>28</sup> JECFA 評価書に記載がなく、どの投与群のホモジネートを投与したか不明

## ② *in vitro* 試験 (β-TBOH)

子牛胸腺 DNA に対する <sup>3</sup>H 標識 β-TBOH の共有結合について、ラット肝 S9 の存在下及び非存在下の条件で調べられた。最大の DNA 結合量は、S9 非存在下で認められた。不活化した S9 (補酵素なし) を添加した場合、DNA 結合量は約 1/20 に低下した。活性のある S9 存在下では、その中間の結果となった。(参照 13、25)

## ③ *in vivo* 試験 (ラット、β-TBOH)

<sup>3</sup>H 標識 β-TBOH をラット (SD 系、雌 2 匹) に強制経口投与 (255 又は 204 µg/kg 体重/日)、又はラット (Wistar 系、雄 2 匹) に腹腔内投与 (191 又は 267 µg/kg 体重/日) した。対照群には各 2 匹を用いた。経口投与 8 時間後 (SD 系の雌) 又は腹腔内投与 16 時間後 (Wistar 系の雄) に、肝臓から DNA を分離し、一定の比放射能になるまで精製した。共有結合指数 (CBI) は 8~17 までの範囲であった。これは、アフラトキシン B<sub>1</sub> 及びニトロソメチルアミンのそれぞれの CBI 10,000 及び 6,000 と比較すると低かった。(参照 13、25)

## ④ *in vivo* 試験 (ラット、β-TBOH)

ラット (Wistar 系、雄、匹数不明) に標識 TBA (57.0 Ci/mmol、17 µg/kg 体重) を腹腔内投与した。被験物質は、95%エタノール溶液として投与した。投与 16 時間後に、被験動物の肝臓における DNA への TBA の CBI を測定した。

TBA の CBI は 5.62 であった (Lutz, 1979)<sup>29</sup>。陽性対照の *N*-ヒドロキシアセチルアミノフルオレンの CBI は 262 であった。(参照 5)

## ⑤ *in vivo* 試験

ラット (系統不明、雄、8 匹) に <sup>3</sup>H 標識 TBA を腹腔内投与 (0.83 mCi、20~40 µg/kg 体重) し、経時的に TBA の CBI を測定した。投与 4、8、12、20、24、36、48 及び 96 時間後に測定した結果、CBI の最高値は投与 24 時間後の 7.82 であり、投与 96 時間後には 1.11 となった。(参照 5)

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

ラット (F 344 CDF、雌雄各 5 匹/群) に α-TBOH 又は β-TBOH (2.5、5 又は 10 mg/kg 体重) を肝臓の部分切除 18 時間後に腹腔内投与した。対照群 (雌雄各 5 匹/群) として、溶媒のみ投与する 2 群及び無処置の 1 群を用いた。腹腔内投与の 13 日後から、0.02% の 2-アセチルアミノフルオレン (2-AAF) を含有する粉末飼料を 7 日間投与した後、さらに四塩化炭素 (2 mL/kg 体重) の強制経口投与を実施した<sup>30</sup>。その 7 日後に、肝臓を採取し顕微鏡検査を実施した。

肝臓の部分切除手術後 2、3 日は、大部分の動物は中等度の嗜眠及びその他の臨床症状がみられたが、化合物に関連した悪影響はなかった。体重又は肝臓重量に投与に関連

<sup>29</sup> Lutz (1979) によると、弱い発がん物質は CBI が約 10 又は 10

<sup>30</sup> 溶媒対照の 1 群については、2-AAF と四塩化炭素の投与は未実施

した影響は報告されなかった。

$\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH については、いずれの試験用量においても、前がん肝細胞巢の誘発はみられなかった。著者らは、これらが本試験において肝腫瘍イニシエーターである証拠は認められなかったと結論した。(参照 5)

## 10. 臨床試験

### (1) 忍容性試験 (牛、TBA)

未経産牛 (体重約 140 ポンド、3 頭/群) に TBA を皮下移植投与 (0、140 又は 3,500 mg/頭)<sup>31</sup>し、忍容性試験が実施された。移植投与 10 週間後に、一般状態の観察、剖検、病理組織学的検査、臨床化学的検査、血液学的検査及び臓器重量測定が実施された。

3,500 mg/頭投与群では、陰核の異常な発達及び胸腺重量の低値がみられた。両投与群で、卵巢重量の低値がみられた。投与群の数例で子宮腺組織の増殖等ごく僅かな悪影響がみられたものの、この影響は、TBA のホルモン活性に基づくものであると考えられ、忍容性が認められた。(参照 6)

### (2) 安全性試験 (牛、TBA)

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

体重増加量は対照群に比べて大きかった。屠体の重量は投与群の方が重く、屠体の品質に悪影響はみられなかった。血液学的検査及び生化学的検査のパラメータは正常値の範囲内であった。TBA 投与は牛の臨床上の健康に悪影響を及ぼさないと結論付けられた。(参照 6)

## 11. ヒトにおける知見 (ヒト、TBA)

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

## 12. 薬理的試験 (イヌ、TBA)

麻酔処置を施したイヌに TBA を静脈内投与 (1、2、5 又は 10 mg/kg 体重、92%アセチルメチルアミン溶液で 20 mL/mg 投与<sup>27</sup>) すると、2 mg/kg 体重以上投与群では、軽度の徐脈を伴う用量依存性の血圧低下を示した。10 mg/kg 体重投与群では、アドレナリン及びノルアドレナリン投与後、血圧が低下し、アセチルコリン投与後は血圧が上昇し

---

<sup>31</sup> 投与量 3,500 mg/頭は、TBA の推奨用量 (200 mg/頭) の 17.5 倍

た。いずれの投与群も、ヒスタミンに対する反応変化はみられなかった。(参照 5)

### Ⅲ. 国際機関等における評価について

#### 1. JECFA の評価

JECFA では、第 32 回会合（1987 年）において、*in vivo* 及び *in vitro* の広範囲にわたる遺伝毒性試験の一部で疑陽性の結果が得られたことが考慮された。また、TBA の長期混餌投与試験の結果、マウスで肝臓の過形成及び腫瘍が、ラットにおいて脾島細胞における腫瘍発生頻度の僅かな上昇が生じたが、これらは TBOH のホルモン活性によるものと考えられ、ホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect level) を設定することにより安全性の評価をすることが可能であると判断された。アカゲザル（去勢雄）を用いた  $\beta$ -TBOH の経口投与試験が評価され、アカゲザルが抗性腺刺激活性のある化合物に非常に感受性が高いことから、ヒトの ADI 設定の基準として、ホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect level)  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日を判断した。また、感受性の高いモデルである豚を用いた試験でも、TBA のホルモン作用としての NOEL (no-hormonal effect level)  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日が判断された。これらの NOEL ( $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日)に基づき、暫定的な ADI として  $0\sim 0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重が設定された。（参照 5）

第 34 回会合（1989 年）では、追加の遺伝毒性試験並びにラット及びマウスを用いた長期混餌投与試験及び短期投与試験の結果から、TBA の遺伝毒性は起こり難いと結論付けられた。追加資料が提出された豚を用いた 14 週間経口投与試験のうち、最も感受性の高い試験 [Ⅱ. 8.(3)] における TBA のホルモン作用としての NOEL (marginal-effect level)  $0.1 \text{ppm}$  ( $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日に相当) 及びサルを用いた経口投与試験における  $\beta$ -TBOH のホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect level)  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日に安全係数 100 を適用して、TBA の ADI :  $0\sim 0.02 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重が設定された。（参照 13）

#### 2. EU の評価

1989 年に、EC は、成長促進を目的とする抗甲状腺、エストロゲン又は黄体ホルモン活性を有する物質の家畜への投与を禁止した。結果として、食肉の生産において成長促進を目的として、E2、プロゲステロン、テストステロン、ゼラノール、TBA 及び MGA を単独又は併用で使用することが禁止された。1999 年に、SCVPH は、これら 6 種類のホルモンのいずれにも閾値を設定することはできないとの意見を取りまとめた。TBA については、利用可能な情報は TBA を投与された動物由来の食肉及び食肉製品の消費者に対するリスクを定量的に推定するには不十分であるとされた（参照 19）。その後、この意見について、EC は 2000 年及び 2002 年の 2 度に渡って再検討したが、結論は変わらないとした。（参照 20、21）

EFSA は、2007 年に、E2 を除く 5 種類のホルモンについて、2000 年から 2007 年初めまでに得られた科学文献の評価を行った。リスク判定に必要な定量的情報が不十分であったことから、SCVPH の意見の改訂は行われなかった。（参照 22）

#### 3. 米国の評価

FDA は、1987 年<sup>32</sup>に、TBA の安全性について、マウスを用いた 95～104 週間投与試

<sup>32</sup> 米国における TBA を主成分とする新規承認動物用医薬品の評価のうち、今回の評価において確認す



験で雌雄における肝臓の増殖性病変（新生組織形成及び過形成）の有意な増加がみられたこと及びラットを用いた 112 週間投与試験で睥島細胞腫瘍がみられたことについて、TBA のホルモン作用を介した影響と結論付けている。混餌投与試験の結果から、TBA の主要な影響はホルモン活性と関連があることが示唆されたため、ヒトの食品の安全性評価において、雌ザルのモデル系におけるホルモン影響を起こさない最も低い値を採用することが適切であると考えられた。ラットを用いた生殖発生毒性試験で得られた NOEL 0.5ppm は、アカゲザルを用いた試験で得られたホルモン作用としての NOEL 40 µg/kg 体重/日（飼料経由で 240 µg/日）より大きい（参照 6）ことから、FDA では、TBOH の ADI は 0.4 µg/kg 体重/日と設定された。残留許容量については、牛の未調理の食用組織における全 TBOH の残留許容量を設定する必要はないとしている。（参照 23）

#### 4. 豪州の評価

豪州政府は、1988 年に、 $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH について評価を行った。 $\alpha$ -TBOH については、豚に対するホルモン影響（試験の詳細不明）の NOEL 0.01 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.1 µg/kg 体重/日と、 $\beta$ -TBOH については、豚に対するホルモン影響の NOEL 0.001 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.01 µg/kg 体重/日と設定した（ $\beta$ -TBOH は、 $\alpha$ -TBOH の約 10 倍のホルモン活性を示すとした。）。（参照 24）

---

ることができた最も古いものは 1987 年の NADA 138-612 であった。

#### IV. 食品健康影響評価

ホルモン剤である TBA について食品健康影響評価を実施した。

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

ヒトに[6,7- $^3\text{H}$ ]標識  $\beta$ -TBOH を経口投与した代謝試験では、投与放射活性の 50%が投与後 24 時間までに、63%が 72 時間までに、尿中排泄された。

牛を用いた TBA とエストラジオール合剤の皮下移植による薬物動態試験では、血清中では  $\beta$ -TBOH が、尿及び糞中では  $\alpha$ -TBOH が、主要代謝物として検出された。

牛における TBA 皮下移植投与 30 日後の主要な組織中代謝物は、肝臓では  $\alpha$ -TBOH、筋肉では  $\beta$ -TBOH であった。TBA 単剤の移植投与時の組織中残留濃度は、筋肉においては  $\beta$ -TBOH 遊離体  $645 \pm 328$  pg/g 及び  $\beta$ -TBOH 抱合体 75 pg/g、脂肪においては  $\beta$ -TBOH 遊離体  $1,090 \pm 546$  pg/g 及び  $\beta$ -TBOH 抱合体 31 pg/g 並びに  $\alpha$ -TBOH 遊離体  $152 \pm 48$  pg/g 及び  $\alpha$ -TBOH 抱合体 62 pg/g であった。

TBA の同化及びアンドロゲン様作用はテストステロンの約 5 倍強く、TBA のエストロゲン活性は本質的にみられず、E2 の約 0.1%であった。 $\alpha$ -TBOH 及び  $\beta$ -TBOH のコルチコステロイド結合グロブリンに対する親和性は、テストステロンの親和性の 1%であった。ラットを用いたハーシュバーガーアッセイでは、TBA の経口投与による組織重量増加作用は、皮下投与群における作用と比較して弱かった。

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

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

亜急性毒性試験では、TBA を 3 か月間、 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上経口投与したラットの雄で精嚢重量の低値がみられたことから、雄に対する NOAEL を毒性所見の見られなかった  $50\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

慢性毒性試験及び発がん性試験では、マウスを用いた 95~104 週間慢性毒性試験において、雄で肝腫瘍発生頻度の増加がみられたが、これは、TBOH のホルモン作用を介した影響と考えた。

生殖発生毒性試験では、ラットを用いた 1 世代の試験において、0.5ppm ( $0.025\text{ mg}/\text{kg}$  体重/日に相当) 以下投与群では親動物及び児動物に明らかな影響がみられなかった。ラットを用いた 2 世代繁殖試験では、最低用量である 0.5ppm ( $0.025\text{ mg}/\text{kg}$  体重/日に相当) 投与群の成熟個体の繁殖成績に異常はみられなかったものの、離乳後 (6 週齢) の F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代の雄で生殖器重量の低値が、雌で僅かな性成熟の遅延がみられた。これらの結果から、離乳児の観察が実施されなかった 1 世代の試験結果に基づいて NOAEL を特定することは適切でないと考え、2 世代繁殖試験の結果に基づき、 $0.025\text{ mg}/\text{kg}$  体重/日を LOAEL と推定した。

血中ホルモン濃度に及ぼす影響を評価した試験では、豚を用いた 14 週間混餌投与試験において、雄でテストステロン及び E2 の減少、精嚢重量の低値等が、雌で子宮重量

の低値、卵巣及び子宮における病理組織学的所見の変化等がそれぞれみられたことから、NOAEL を 2~3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日と判断した。

各種試験の結果、最も低い用量で認められた影響は、豚を用いた 14 週間混餌投与試験において雌雄にみられた血中ホルモン濃度等に及ぼす影響であり、NOAEL は 2~3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日であった。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、当該試験の NOAEL の下限値である 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日を ADI の設定の根拠とし、安全係数 100 で除した 0.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日を ADI として設定することが適当と考えた。

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

ADI 0.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日

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

1 表 54 JECFA、FDA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
マウス	8 週間亜急性毒性	0、25、50、100ppm (TBA、混餌投与)	—	/	雄：7.5 精巣の絶対及び相対重量の低値 雌：3.75 (LOAEL) 肝臓の絶対及び相対重量の低値、子宮の絶対及び相対重量の高値等
	10 週間亜急性毒性	0、1、2、5、10ppm (TBA、混餌投与)	—	/	雌雄：1.2 投与による影響なし
	95～104 週間慢性毒性	0、0.5、1、10、100ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄：0.04 脾臓重量の高値 (投与開始 13 週後) 雌：0.05 (LOAEL) 子宮の相対重量の低値 (投与開始 13 週後)
ラット	13 週間亜急性毒性	0、25、50、100ppm (TBA、混餌投与)	—	/	雄：1.25 (LOAEL) 前立腺重量の低値 雌：2.5 子宮内膜間質減少 (子宮腺拡張、子宮内膜及び腺上皮の波形の外観を伴う)
	13 週間亜急性毒性	0、0.01、0.04、0.36、3.6 ( $\alpha$ -TBOH、経口投与)	$\alpha$ -TBOH : 0.04 TP の低値、ALP 上昇	/	雄：0.36 ( $\alpha$ -TBOH) 摂餌量増加、MCV 及びトロンボテスト時間減少、下垂体重量の高値、前立腺及び精囊重量の低値 雌：0.04 ( $\alpha$ -TBOH) TP の低値、ALP 上昇

2

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
ラット	3 か月間亜急性毒性	0、0.05、0.1、0.2、1 (TBA、経口投与)	—	/	雄：0.05 精囊重量の低値 雌：0.1 肝臓及び脾臓重量の高値、子宮の菲薄化
	112 週間慢性毒性	0、0.5、1、4、16、50ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄：0.02 精巣小型化 雌：0.02 (LOAEL) 肛門生殖突起間皮膚の下垂
	2 世代繁殖	0、0.5、3、18ppm (TBA、混餌投与)	—	—	雄(F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> )：0.025 (LOAEL) 精巣/前立腺又は精巣上体重量の低値 雌(F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> )：0.025 (LOAEL) 膣開口遅延 (有意差なし)
	生殖発生毒性	0、0.1、0.3、0.5、3、18ppm (TBA、雌雄に交配 2 週間 ～妊娠終了まで混餌投与)	—	0.5ppm*	親動物：0.025 体重増加抑制 (雄)、妊娠期間延長、体重の 高値 (雌) 児動物：0.025 同腹児数減少、精巣重量の低値、精囊/前立 腺重量の高値等
	生殖発生毒性	0、1、2、5、10ppm (TBA、雌雄親動物に交配 前～授乳終了まで、児動物 に離乳 13 週間後まで混餌 投与)	/	1ppm**	親動物：0.5 繁殖成績に投与による影響なし 児動物 (雄)：0.2 精囊の相対重量の低値 児動物 (雌)：0.1 摂餌量増加、体重の高値

1  
2

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
ラット	生殖毒性	0、0.5、1、4、16、50(雌のみ)ppm (TBA、交配 9 週前 (50ppm 投与群は妊娠1日) ～分娩 21 日後まで混餌投与)	—	—	母動物：0.025 妊娠率低下
	発生毒性	0、5、10、20 (TBA、雌に妊娠 6～15 日 に強制経口投与)	—	—	母動物：5 (LOAEL) 体重増加抑制 胎児：20 投与による影響なし
サル	3 月経周期又は 122 日間投与 (性成熟雌)	60、240、960 µg/匹/日 (TBA、性成熟雌に混餌投与)	—	0.04* 繁殖パラメータの抑制	雌：0.01 無排卵
豚	14 週間投与	0、0.005、0.0075、0.01 (TBA、経口投与)	0.005～0.0075* 精巣上体重量の低値(雄)	/	雄：0.005 胸腺重量の低値、肝臓重量の高値 雌：0.0075 脾臓重量の高値
	14 週間投与	0、0.1、2、20ppm (TBA、混餌投与)	0.002～0.003* 血清中テストステロン低下、 精巣重量の低値等(雄)、 血清中プロゲステロンの低下等(雌)		雌雄：0.002～0.003 テストステロン及び E2 低下、 精巣重量の低値等(雄)、 子宮重量の低値、 卵巣及び子宮の病理組織学的所見等(雌)
毒性学的 ADI			NOEL：0.002 SF：100	NOEL：0.04 SF：100	NOEL：0.002 SF：100
毒性学的 ADI 設定根拠資料			豚を用いた 14 週間混餌	サルを用いた 3 月経周期	豚を用いた 14 週間混餌投与試験

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1987、1989)	FDA	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
			投与試験	又は 122 日間投与試験	
	ADI		0.00002	0.0004	0.00002

1

— : 評価書に報告なし      \* : ホルモン作用としての NOEL として記載されている。      \*\* : NOEL として記載されている。

## 1 &lt;別紙1：代謝物/分解物略称&gt;

略称	化学名
I (未変化体, TBA)	(17 $\beta$ )-3-Oxoestra-4,9,11-trien-17-yl acetate
II (TBOH)	(17 $\beta$ )-17-hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
III	(17 $\beta$ )-2,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
IV	(16 $\alpha$ ,17 $\beta$ ) - 16,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
V	(16 $\beta$ ,17 $\beta$ ) - 16,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
VI	Estra-4,9,11-triene-3,17-dione
VII	(16 $\alpha$ ) -16-hydroxyestra-4,9,11-triene-3,17-dione
VIII	(16 $\beta$ ) -16-hydroxyestra-4,9,11-triene-3,17-dione
IX	1-hydroxyestra-4,9,11-triene-3,17-dione
X (epi TBOH)	(17 $\alpha$ )-17- hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
X I	(17 $\alpha$ )-1,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
X II	16,17 $\beta$ -dihydroxy-16-methylestra-4,9,11-trien-3-one
X III	(16 $\beta$ ,17 $\alpha$ )-16,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
X IV	(6 $\beta$ ,17 $\alpha$ )- 6,17-dihydroxyestra-4,9,11-trien-3-one
X V	2,3-dihydroxyestra-5,10-diene-17-one
X VI	(16 $\beta$ ,17 $\beta$ ) -Estra-1,3,5(19),9(11)-tetraene-3,16,17-triol
X VII	(16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ) -Estra-1,3,5(19),9(11)-tetraene-3,16,17-triol

2



1 <別紙2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
A/G 比	albumin/globulin：アルブミン/グロブリン比
Alb	albumin：アルブミン
ALP	alkaline aposphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ [= glutamic pyruvic transaminase：グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	aspartate transaminase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [= glutamic oxaloacetic transaminase：グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
BUN	blood urea nitrogen：血液尿素窒素
BSP	bromosulfophthalein：ブロモスルホフタレイン
Ca	calcium：カルシウム
CBI	covalent binding index：共有結合指数
Chol.	cholesterol：コレステロール
CMC	carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
Cre	creatinine：クレアチニン
EC	European Commission：欧州委員会
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FSH	follicle stimulating hormone：卵胞刺激ホルモン
Glu	glucose：グルコース (血糖)
HPLC/RIA	high pressure lipid chromatography/ radioimmunoassay：高速液体クロマトグラフィー/放射免疫測定法
Hb	hemoglobin：ヘモグロビン量 (血色素量)
Ht	hematocrit：ヘマトクリット値
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LABC	levator ani plus bulbocavernosus muscles：球海綿体筋+肛門挙筋
LC-APCI-MS/MS	liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionization：液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化法/タンデム質量分析法
LD <sub>50</sub>	50% lethal dose：半数致死量
LDH	lactate dehydrogenase：乳酸脱水素酵素
LH	luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
MC	methyl cellulose：メチルセルロース

MCV	mean corpuscular volume : 平均赤血球容積
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level : 無毒性量
NOEL	No Observable Effect Level : 無作用量
PCV	packed cell volume : 血中血球容積
RBC	red blood cell : 赤血球
RIA	radioimmunoassay : 放射免疫測定法
SVCG	seminal vesicle plus coagulating gland : 精囊+凝固腺
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health : 獣医公衆衛生に関する科学委員会
T.Bil	total bilirubin : 総ビリルビン
T.Chol	total cholesterol : 総コレステロール
TP	total protein : 総タンパク質
WBC	white blood cell : 白血球

1

1 <参照>

- 2 1. 食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）の一部を改正する件  
3 （平成17年11月29日付、厚生労働省告示第499号）
- 4 2. The Merck Index, 15<sup>th</sup> Ed., 2013.
- 5 3. JECFA: Trenbolone acetate. Technical Report Series 763, 1988.
- 6 4. 食品安全委員会. 牛の成長促進を目的として使用されているホルモン剤（肥育ホルモ  
7 ン剤）. ファクトシート, 2007.
- 8 5. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug  
9 residues in food. WHO Food Additives Series, No. 23, 1987, nos 645 on INCHEM.
- 10 6. FDA: Freedom of Information Summary, NADA 138-612 Finaplix® (trenbolone  
11 acetate), 1987.
- 12 7. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41: 29-37.
- 13 8. MacNeil JD, Reid J, Fedeniuk RW.: Distribution of trenbolone residues in liver  
14 and various muscle groups of heifers that received multiple implants at the  
15 recommended site of application. J AOAC Int., 2008; 91(3):670-4.
- 16 9. Blackwell BR, Brown TR, Broadway PR, Buser MD, Brooks JC, Johnson BJ, Cobb  
17 GP, Smith PN.: Characterization of trenbolone acetate and estradiol metabolite  
18 excretion profiles in implanted steers. Environ Toxicol Chem, 2014; 33(12):2850-8.
- 19 10. Spranger B, Metzler M: Disposition of 17 beta-trenbolone in humans. J  
20 Chromatogr, 1991; 564(2):485-92.
- 21 11. JECFA: Trenbolone acetate. FAO Food and Nutrition Paper, 1987; 41-2: 88-98.
- 22 12. FDA: Freedom of Information Summary, Supplemental New Animal Drug  
23 Application, 9:NADA140-992, REVALOR®- 200 (trenbolone acetate and  
24 estradiol), 2001.
- 25 13. JECFA: “Trenbolone Acetate”, Toxicological evaluation of certain veterinary drug  
26 residues in food. WHO Food Additives Series, No. 25, 1989, nos 672 on INCHEM.
- 27 14. Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC: Effects of testosterone, testosterone  
28 propionate, 17 beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and  
29 mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis, 1995; 16(6):1329-33.
- 30 15. Kayani MA, Parry JM: The detection and assessment of the aneugenic potential  
31 of selected oestrogens, progestins and androgens using the in vitro cytokinesis  
32 blocked micronucleus assay. Mutat Res, 2008; 651 (1-2):40-5.
- 33 16. Dorn SB, Bolt HM, Thevis M, Diel P, Degen GH: Induction of micronuclei in V79  
34 cells by the anabolic doping steroids tetrahydrogestrinone and trenbolone. Arch  
35 Toxicol., 2008; 82(4):257-63.
- 36 17. Wilson VS, Lambright C, Ostby J, Gray LE Jr.: In vitro and in vivo effects of  
37 17beta-trenbolone: a feedlot effluent contaminant. Toxicol Sci., 2002; 70(2):202-11.
- 38 18. Donner DG, Beck BR, Bulmer AC, Lam AK, Du Toit EF: Improvements in body  
39 composition, cardiometabolic risk factors and insulin sensitivity with trenbolone  
40 in normogonadic rats. Steroids, 2016; 106:1-8.

- 1 19. EC: Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public  
2 health; assessment of potential risks to human health from hormone residues in  
3 bovine meat and meat products. 1999.
- 4 20. EC: Review of specific documents relating to the SCVPH opinion of 30 April 99 on  
5 the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and  
6 meat products. 2000.
- 7 21. EC: Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public  
8 health on review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on  
9 the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and  
10 meat products. 2002.
- 11 22. EFSA: Opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from  
12 the European Commission related to hormone residues in bovine meat and meat  
13 products. EFSA Journal, 2007; 510: 1-62.
- 14 23. FDA: Code of Federal Regulations Title 21, Sec. 556.739, 2018.
- 15 24. Department of Health and Ageing (Australia): A review to update Australia's  
16 position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs)  
17 used in cattle. 2003.
- 18 25. Lutz WK, Deuber R, Caviezel M, Sagelsdorff P, Friederich U, Schlatter C:  
19 Trenbolone growth promotant: covalent DNA binding in rat liver and in  
20 Salmonella typhimurium, and mutagenicity in the Ames test. Arch Toxicol, 1988;  
21 2: 103-9.