

2 反復投与毒性

2.1 ラット

2.1.1 β -カロテンはラットおよびイヌにおける数種の短期動物試験においてヒト試験と同様の結果が得られた(ビタミン A 過剰症は認められない)。¹⁾

2.1.2 SD ラット(雌雄)を用いた β -カロテンの混餌投与(250, 375 および 500mg/kg 体重/日)による4週間の反復投与試験において臨床症状、血液・血液生化学および尿検査に異常は観察されなかったが、解剖時に赤色糞および 500mg/kg 体重/日群で相対肝および腎重量の増加が認められた。糞の着色および臓器重量の変化は投与終了後2週間以内に回復した(Woutersen. et al, 1999)。⁴⁾

2.1.3 Wistar ラット(雌雄 1 群 16 匹)を用いた β -カロテンの混餌投与(250, 500 および 1000mg/kg 体重/日)による90日間の反復投与試験において臨床症状、血液・血液生化学および臓器重量に異常は観察されなかった。解剖時に多くの雌の投与群において橙色若しくは黄色の脂肪組織若しくは肝臓を観察したが、投与終了後は回復した。病理組織学的異常は認められなかった(Woutersen. et al, 1999)。⁴⁾

2.2 イヌ

2.2.1 ビーグルイヌを用いた β -カロテンの混餌投与(0, 50, 100 および 250mg/kg 体重/日)による1週間の反復投与試験が実施された。1群8頭のうち2頭は、投与後52週において途中計画屠殺に供し、3頭は88~104週まで検体投与を中止して回復性を観察した。摂餌量、飲水量、血液・血液生化学、尿検査、眼科学的検査および臓器重量において投与に関連した変化は認められなかった。全ての検査時期において検体投与群で肝表面に橙色斑が認められた。病理組織学的検査では、肝臓の伊東細胞に脂肪と考えられる軽度な空胞化が52週時に投与群で散見された。104週後においても各群で認められたが、用量依存性は認められなかった。また大部分の投与動物の肝臓クッパー細胞に褐色色素を入れる空胞化が観察され、休薬による回復は認められなかった。しかしこれらの群では、肝臓の変性など肝障害は認められなかった (Heywood. et al, 1985)。⁵⁾

3 遺伝毒性

3.1 in vitro

3.1.1 β -カロテンは *S. typhimurium* の TA98 他 5 株を用いた復帰変異試験において、代謝活性系の有無にかかわらず陰性の結果が得られた。⁶⁾

- 3.1.2 β -カロテンはチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験において偽陽性⁶⁾若しくは陰性の結果が得られた。⁷⁾
- 3.1.3 β -カロテンはチャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHO)を用いた小核試験において陰性の結果が得られた。⁸⁾
- 3.1.4 β -カロテンはチャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHO)を用いた小核試験および姉妹染色分体交換(SCE)試験において陰性の結果が得られた。⁹⁾
- 3.1.5 天然由来の β -カロテンはヒト培養リンパ球細胞を用いた小核試験及び染色体異常試験では、いずれも陰性の結果が得られ、合成品では小核出現頻度が用量依存的に増加する傾向が見られた。但し、その出現頻度は0.2%と軽微であった。¹⁰⁾

3.1 in vivo

- 3.2.1 β -カロテンのマウス骨髓染色体異常試験では、200 mg/kg の強制経口投与で陰性の結果が得られた。また、マウス骨髓小核試験では、飲水による 2.5 mg/day の 15 日間投与及び 100 mg/kg の 7 日間混餌投与で、いずれも陰性の結果が得られた。¹¹⁾
- 3.2.2 ラットに β -カロテンを飲水混入(0.15%)で2、4、6、8週間与えた後、脾臓T-リンパ球の突然変異を調べた試験(6-チオグアニン抵抗性を指標として)において、2週間投与で対照より若干高い値が得られたが、4~8週間投与ではいずれも差はなく陰性と判断された。¹²⁾

4 癌原性

4.1 ラット

- 4.1.1 SDラット(雌雄1群60匹)を用いた β -カロテンの混餌投与(250, 500および1000mg/kg 体重/日、ほか、無処置対照群、溶媒対照群(水分散性のマイクロカプセル))による雄116週間、雌114週間の慢性毒性・発がん性併合試験が実施された。溶媒対照群を含めて各群の増体重は無処置対照群に較べて低かった。解剖時、血液・血液生化学および眼科学的検査に異常は観察されなかった。解剖時に橙色若しくは黄色の被毛、脂肪組織を呈する個体が1000mg/kg群でほとんどで、500mg/kg群では少数例認められたが、腫瘍の検索を含めた病理組織学的検査において投与に関連する変化は認められなかった。(Heywood. et al, 1985)。⁵⁾

4.2 マウス

4.2.1 CD-1 マウス(雌雄 1 群 60 匹)を用いた混餌投与(100, 250, 500 および 1000mg/kg 体重/日、ほか、無処置対照群、溶媒対照群(水分散性のマイクロカプセル))による慢性毒性・発がん性併合試験が実施された。中途死亡、ならびに最終的に屠殺した全ての個体について、肉眼的ならびに病理組織学的検査を行った。全ての検体投与群において赤色糞、大多数の個体において被毛の黄色化、胃内容物及び脂肪組織の橙色化が認められ、肝臓伊東細胞の空胞化が観察された。最高投与群を含めて、自然発生頻度を越える腫瘍の発生は認められなかった。(Heywood. et al, 1985)。⁵⁾

5 生殖発生毒性

5.1 ウサギ

5.1.1 1 群 20 匹の Füllinsdorf 系白色ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで β -カロテンを連日反復経口(100, 200, 400mg/kg/日、 β -カロテン結晶を菜種油に懸濁)投与した。対照群には菜種油を与えた。動物は毎日一般状態を観察し、試験開始日、投与期間中ならびに妊娠 20 日及び 30 日の各日に体重を測定した。母動物から卵巣のついた子宮を摘出して胎児を取り出し、体重を測定した後、孵卵器に入れ 24 時間の生存性をしらべた。次に、胎児の骨格、内臓および軟部組織を肉眼観察した後安楽死せしめ、骨格観察(X線撮影及び骨格染色)した。脳はウイルソン法で異常の有無を観察した。その結果、検体 400mg/kg/日まで、胚胎児毒性ならびに催奇形性は認められなかった。また、母動物に対する毒性も認められなかった。⁵⁾

5.2 ラット

5.2.1 ラットに β -カロテンを混餌(0, 100ppm)で 110 週間投与した 4 世代試験において、どの世代でも有害影響は認められなかった(Bagdon, et.al., 1960)。¹⁾

5.2.2 Füllinsdorf 系白色ラットに妊娠 6 日から 17 日まで β -カロテンを混餌(250, 500, 1000mg/kg/日、 β -カロテンを 11.5%含むマイクロカプセルを餌に混入)投与した。対照として無処置及びマイクロカプセルのみ与えた群を設けた。妊娠 21 日に、各群の動物を帝王切開群と自然分娩群の二つに分けて、帝王切開による胎児観察ならびに自然分娩による分娩後 23 日までの母児観察を行った。その結果、1 日当たり 1000 mg/kg まで投与しても胚胎児毒性も催奇形性も認められなかった。母動物 1000 mg/kg 投与群は軽度な体重増加抑制が認められたが、哺育期間中いずれの用量群でも機能的な異常は認められなかった。⁵⁾

6 局所刺激性

報告なし。

7 ヒトにおける知見

7.1 ヒトに β -カロテンを長期間投与したが、ビタミン A 過剰症*は認められなかった (Bagdon et al, 1960)¹⁾。

*ビタミン A 過剰症:

急性症状: 腹痛、悪心、嘔吐、めまい

慢性症状: 全身の関節・骨の痛み、皮膚乾燥、脱毛、食欲不振、体重減少、肝脾腫など。

7.2 被験者15人に β -カロテン 60mg を毎日3ヶ月与えた。血清カロテン濃度は 128 μ g/100mL から1ヶ月後 128 μ g/100mL に上昇したが、ビタミン A の濃度は変わらなかった。ビタミン A 過剰の臨床症状は認められなかった (Greenberg, et al, 1959)¹⁾。

7.3 生のニンジンを経日数ポンド摂取した人では皮膚の変色が見られ、乳(母乳)への β -カロテンの移行が認められた (Zbinden & Studer, 1958)。¹⁾

7.4 骨髄性ポルフィリン症の患者に β -カロテンを1日あたり 20 – 180mg、一年間以上与えたが、有害な影響は認められず、血中ビタミン A 濃度の異常な上昇も認められなかった。¹³⁾

引用文献

- 1) WHO Food Additive Series, No.6, 18th JECFA (1974) (accessed: Dec. 2006, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono>)
- 2) FAO Food Nutrition Paper 52, 31st JECFA (1987)
- 3) FAO Food Nutrition Paper 52, Add.10, 59th JECFA (2002)
- 4) Woutersen, R.A., et al., Safety Evaluation of Synthetic β -Carotene, Critical Reviews in Toxicology, Vol.29(6), 515-542, 1999
- 5) Heywood, R., et al., Toxicity of Beta-Carotene, Toxicology, Vol.36, 91-100, 1985
- 6) 石館基ほか, 食品添加物の変異原性試験成績(その 1)-昭和 54 年度厚生省試験研究費による -, 変異原と毒性、第 12 集, 82-90, 1980
- 7) Cozzi, R., et al., Ascorbic Acid and β -Carotene as Modulators of Oxidative Damage, Carcinogenesis, Vol. 18(1), 378-383, 1998
- 8) Salvador, D.M.F., et al., Effect of β -Carotene on Clastogenic Effects of Mitomycin C, Methyl Methansulphonate and Bleomycin in Chinese Hamster Ovary Cells, Mutagenesis, Vol. 9(1), 53-57, 1994
- 9) Stich, H.F., et al., Relationship between Cellular Levels of β -Carotene and Sensitivity to

Genotoxic Agents, Int. J. Cancer, Vol. 38, 713-717, 1986

- 10) Xue, K.-X, et al., Comparative Studies on Genotoxicity and Antigenotoxicity of Natural and Synthetic β -Carotene Stereoisomers, Mut Res, Vol. 418, 73-78, 1998
- 11) Salvadori, D.M.F., et al., The Protective Effect of β -Carotene and Sensitivity to Genotoxicity induced by Cyclophosphamide, Mut Res, Vol. 265, 237-244, 1992
- 12) Aidoo, A., et al., In Vivo Antimutagenic Activity of Beta-Carotene in Rat Spleen Lymphocytes, Carcinogenesis, Vol. 16(9), 2237-2241, 1995
- 13) European Commission Scientific Committee on Food, Opinion on Food :The Safety of Use of Beta Carotene from all Dietary Sources, SCF/CS/ADD/COL/159 Final, 14 Sept. 2000

改訂経歴

版 No :01

作成日:2007 年2月1日

和名: サリチル酸メチル

No.: 414

英名: Methyl Salicylate

コード: 002165

CAS 登録番号: 119-36-8

別名: サリチル酸メチル、Methyl 2-Hydroxybenzoate、Methyl o-Hydroxybenzoate

収載公定書:

■JP(14) □薬添規() □局外規() ■食添(7) □粧原基・粧配規() □外原規()

■USP/NF(27/22) ■EP(4) ■EU() CFR(□GRAS) ■食品添加物(7)

最大使用量: 一般外用剤 8mg/mL、歯科外用及び口中用剤 0.01g/g、その他の外用 1.25mg/mL

JECFA の評価:

ADI は 0-5 mg/kg 体重/日。(第 57 回会議、2001 年)

1 単回投与毒性

1.1 LD₅₀¹⁾

ラット	雄	経口	3000mg/kg	Givaudan Corp. (1982)
	雌		2600mg/kg	
ラット	雄、雌	経口	890mg/kg	Jenner et al. (1964)
マウス	雄	経口	1100mg/kg	Davison et al. (1961)
モルモット	雄、雌	経口	1100mg/kg	Jenner et al. (1964)
マウス	雄、雌	経口	1400mg/kg	National Toxicology Program (1984)

2 反復投与毒性

2.1 イヌ

2.1.1 イヌを用いた 59 日間反復投与試験

1 群雌雄各 1 匹のイヌにサリチル酸メチル 0、50、100、250、500、800 又は 1200mg/kg を 59 日間、強制経口(カプセル封入)投与した。1200mg/kg 群の動物は 1 ヶ月以内に死亡又は瀕死状態に陥った。高用量群に嘔吐が、500mg/kg 以上の群に下痢、衰弱が観察された。800mg/kg 以上の群に肝臓の脂肪変性が認められた¹⁾ (Abbott & Harrison, 1978)。

2.1.2 イヌを用いた 6 ヶ月間、6.5-7.5 ヶ月間反復投与試験

1 群雌雄各 3 匹のイヌに 150、300、500 又は 800mg/kg のサリチル酸メチルを混餌法で 6.5-7.5 ヶ月間反復投与した。300mg/kg 群の動物の一部を 1 ヶ月間の回復試験に供した。なお、対照群には雄 2 匹、雌 4 匹を宛てた。800mg/kg 群は 2 週目までに全例死亡した。500mg/kg 群では体重増加抑制が認められ、2 例のみが生存した。血液検査では異常は認められなかったが、全ての群で肝臓及び腎臓の重量の増加が観察された。この臓器重量の増加は休薬で消失した。上述の試験の追加として、1 群雌雄各 4-6 匹のイヌにサリチル酸メチル 50、100 又は 170mg/kg を 6 ヶ月間経口(カプセル封入)投与した。なお、対照群及

び 170mg/kg 群の雌雄各 2 例は投与期間終了後 2 ヶ月間休薬し、回復試験群に宛てた。前述の試験と同じ項目を検査したが、異常は認められなかった。以上の結果から、NOEL(無影響量)は 170mg/kg と判断された¹⁾(Abbott & Harrison, 1978)。

2.1.3 イヌを用いた 2 年間反復投与試験

1 群雌雄各 2 匹のビーグル犬にサリチル酸メチル 0、50、150 又は 300mg/kg を 2 年間、強制経口(カプセル封入)投与した。死亡例は認められず、血液検査にも異常は観察されなかった。150mg/kg 以上の群に体重増加抑制、肝臓肥大及び肝細胞の腫大が認められた。以上の結果から NOEL(無影響量)は 50mg/kg と判断された¹⁾(Webb & Hansen, 1963)。

3 遺伝毒性

3.1 In Vitro

試験	試験法	濃度	結果	文献 ¹⁾
染色体異常	ハムスター肺由線維芽細胞 (直接試験及び代謝活性化試験)	詳細不明	陽性	Kawachi et al. (1980a,b)
突然変異	<i>B. subtilis</i> H17、M45 (直接試験及び代謝活性化試験)	23mg/disc	陰性	Oda et al. (1979)
染色体異常	チャイニーズハムスター肺由線維芽細胞 (直接試験及び代謝活性化試験)	250mg/mL	陰性	Ishidate et al. (1984)
復帰変異	<i>S. typhimurium</i> TA92、TA1535、TA100、TA1537、TA94、TA98、TA2637 (直接試験)	10 000mg/plate	陰性	Ishidate et al. (1984)
復帰変異 preincubation 法	<i>S. typhimurium</i> TA1535、TA98、TA100、TA97、TA1537 (直接試験)	≥ 330mg/plate	陰性	Mortelmans et al. (1986)
復帰変異	<i>S. typhimurium</i> TA100、TA98 (直接試験)	詳細不明	陰性	Kawachi et al. (1980a,b)
突然変異	<i>B. subtilis</i> H17、M45 (直接試験)	詳細不明	陰性	Kawachi et al. (1980a,b)
染色体異常	ヒト胎児由線維芽細胞 (直接試験及び代謝活性化試験)	詳細不明	陰性	Kawachi et al. (1980a,b)
姉妹染色体 交換	ヒト胎児由線維芽細胞 (直接試験及び代謝活性化試験)	詳細不明	陰性	Kawachi et al. (1980a,b)
突然変異	カイコ (直接試験及び代謝活性化試験)	詳細不明	陰性	Kawachi et al. (1980a,b)

4 癌原性

4.1 ラット

4.1.1 ラットを用いた 2 年間癌原性試験

1 群雌雄各 50 匹のラットにサリチル酸メチル 0、35 又は 100mg/kg を混餌投与法で 2 年間投与した。体重、生存率、摂餌量、一般状態、血液、尿及び病理解剖所見に異常は認められず、NOEL(無影響量)は 100mg/kg と判断された。しかし、これらの結果は要約として報告されているにすぎない¹⁾(Packman et al., 1961)。

4.1.2 ラットを用いた 2 年間癌原性試験

1 群雌雄各 24-26 匹のラットにサリチル酸メチル 0、50、250、500 又は 1000mg/kg を混餌法で 2 年間投与した。1000mg/kg 群の動物は全例死亡した。500mg/kg 群では精巣、心臓、腎臓の臓器重量の増加が認められ、海面骨の領域増加が観察された。250mg/kg 群では病理解剖所見で下垂体の腫瘍が 10 例、病理組織所見で雄 1 例及び雌 2 例に悪性下垂体腫瘍が認められた。以上の結果から、NOEL(無影響量)は 50mg/kg と判断された¹⁾(Webb & Hansen, 1963)。

5 生殖発生毒性

5.1 マウス

5.1.1 1 群雌雄各 20 匹の CD-1 系マウスにサリチル酸メチル 100、250 又は 500mg/kg を交配前 1 週間、14 週間の交配期間、その後 3 週間強制経口投与し、繁殖能を出産児数、性比、出生児体重で評価した。500mg/kg 群の出産児数が少なかった以外に異常は認められなかった。NOEL(無影響量)は 250mg/kg と判断された¹⁾(National Toxicology Program, 1984)。

6 局所刺激性

該当文献なし。

7 その他の毒性

7.1 骨に及ぼす影響

ラットを用いてサリチル酸メチルが骨に及ぼす影響を検討した。試験の結果は以下に要約される¹⁾(Abbott & Harrison, 1978)。

性	投与量	期間	結果
雄、雌	0、300mg/kg (混餌投与)	11-71 日間	300mg/kg 群; 骨密度上昇
雄、雌	0、100、180、320、560、1000mg/kg (混餌投与)	11 週間	320mg/kg 以上の群; 体重増加抑制 560mg/kg 以上の群; 骨密度増加
不明	0、1000mg/kg (混餌投与)	11 週間	1000mg/kg 群; 死亡率 20%、骨密度増加
雄、雌	0、300、450、600、1000mg/kg (混餌投与)	11 週間	600mg/kg 以上の群; 海面骨領域増加 NOEL(無影響量); 450mg/kg

雄	100、300mg/kg（混餌投与、対照群の設定なし）	12週間	300mg/kg群；全例死亡、骨病変
---	-----------------------------	------	--------------------

8 ヒトにおける知見

8.1 誤用

該当文献なし。

8.2 その他

8.2.1 サリチル酸塩を投与した若年性リウマチの小児患者について後ろ向き試験を実施した。患者数は155例で、投与期間は数ヶ月から14年、投与量は100-3240mg/kg/日であった。Periodic X rayで検査した結果、海面骨領域の増加は認められなかった¹⁾ (Abbott & Harrison, 1978)。

引用文献

- 1) WHO Food Additive No.48 Methyl Salicylate 2001 (accessed ; Aug. 2006)
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je15.htm>
http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_1599.htm

改訂経歴

版 No :01

作成日 :2006 年 8 月 25 日

内容:新規作成(JECFA-Monographs & Evaluations)

和名: 酸化デンプン

No.: 419

英名: Oxidized Starch

コード: 106915

CAS 登録番号:

別名:

収載公定書:

☐ JP() ☐ 薬添規() ☐ 局外規() ☒ 食添(7) ☐ 粧原基・粧配規() ☐ 外原規()

☐ USP/NF() ☐ EP() ☒ EU(E1404) CFR(☐ GRAS)

最大使用量: 一般外用剤 0.75mg/g

JECFA の評価:

ADI は特定しないと記載されている。(第 26 回会議、1982 年)

1 単回投与毒性

該当文献なし。

2 反復投与毒性

2.1 ラット

2.1.1 ラットを用いた 10 週間反復投与試験

塩素処理(0.375%)したデンプン 70%含有食をアルビノラットに 10 週間投与した。投与は放食及び paired-feeding で実施した。対照群にはトウモロコシデンプンを与えた。毒性作用は記載されていないが、1944-1945 の試験のため詳細は不明である ¹⁾(Garton Sons & Co. Ltd, 1967)。

2.1.2 ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験

1 群雌雄各 15 匹のラットに塩素処理したトウモロコシデンプン 0.5、10 又は 25%含有食を 90 日間与えた。一般状態、体重推移、摂餌量、血液所見、血清生化学所見及び尿所見に異常は認められなかった。副腎及び盲腸の相対重量が 25%群において軽度増加した(Til et al., 1973; Til et al., 1974)。

3 遺伝毒性

該当文献なし。

4 癌原性

該当文献なし。

5 生殖発生毒性

該当文献なし。

6 局所刺激性

該当文献なし。

7 その他の毒性

該当文献なし。

8 ヒトにおける知見

8.1 誤用

該当文献なし。

8.2 その他

該当文献なし。

引用文献

- 1) WHO Food Additive No.6 Oxidized Starch 1974 (accessed ; Aug. 2006)

<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v06je37.htm>

http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_1803.htm

改訂経歴

版 No :01

作成日 :2006 年 9 月 6 日

内容:新規作成(JECFA-Monographs & Evaluations)

.和名: ジブチルヒドロキシトルエン

No.: 447

英名: Dibutylhydroxytoluene

コード:005217

CAS 登録番号:128-37-0

別名:ButylatedHydroxytoluene、BHT、2,6-Ditertiary-Butyl-p-Cresol、

4-Methyl-2,6-Ditertiary-ButylPhenol、DBPC

収載公定書:

□JP() ■薬添規() □局外規() ■食添(7) □粧原基・粧配規() □外原規()
 ■USP/NF(27/22) ■EP(4) ■EU(E321) CFR(■GRAS (182.3173 Dibutylhydroxytoluene)
 ■食品添加物)

最大使用量:経口投与 4mg、一般外用剤 296mg/g、その他の外用 3.6mg/g、経皮 4mg、舌下
 適用 10mg/g、直腸腔尿道適用 4mg、歯科外用及び口中用 12 μ g、眼科用剤 0.05mg/mL、
 殺虫剤

JECFA の評価:

ADI は「0-0.3mg/kg 体重/日」と評価されている。(第 44 回会議、1995 年)

1 単回投与毒性

1.1 LD50¹⁾

ラット	経口	> 1700-1970mg/kg	Deichmann et al., 1955
ラット	経口	2450mg/kg	Karplyuk, 1959
マウス	経口	2000mg/kg	Karplyuk, 1959
マウス DBA/2N 系 (近交系)	腹腔内	138mg/kg	Kawano et al., 1981
マウス BALB/cNnN (近交系)	腹腔内	1739mg/kg	Kawano et al., 1981
マウス C57BL/6N (近交系)	腹腔内	917mg/kg	Kawano et al., 1981
マウス ICR-JCL (非近交系)	腹腔内	1243mg/kg	Kawano et al., 1981

2 反復投与毒性

2.1 マウス

2.1.1 マウスを用いた 7 週間反復投与毒性試験

MTD を調べる目的で 1 群雌雄各 5 匹の B6C3F₁ 系マウス(6 週齢)に体重 1kg 当り 0、3100、6200、12500、25000 又は 50000mg BHT を混餌法で与え、7 週間反復投与毒性試験を実施した。死亡例は 50000mg/kg 群(雄 1 例、雌 4 例)、25000mg/kg 群(雌 1 例)に認められた。体重の増加抑制が用量に相関して認められた。病理組織検査では雄 25000mg/kg 群の肝臓に小葉中心性の軽度空胞化が認められた(NCI, 1979)¹⁾。

2.1.2 マウスを用いた 10 週間反復投与毒性試験

癌原性試験の用量設定のため、1 群雌雄各 10 匹の B6C3F₁ 系マウスに 0、0.25、0.5、1、2 又は 4% BHT 含有食を与え、10 週間反復投与毒性試験を実施した。被験物質群には雌雄

各 10 匹、対照群には雌雄各 20 匹を宛てた。4%群に体重増加抑制、脾臓、心臓、腎臓に飢餓萎縮が認められた。MTD は 2%含有食の条件下と判断された(Inai et al., 1988)¹⁾。

2.1.3 マウスを用いた 12 ヶ月間反復投与毒性試験

1 群 18 匹の 8 週齢 BALB/c 系雄マウスに 0.75% BHT 含有食を与え、12 ヶ月間反復投与毒性試験を実施した。亜急性胆管炎を伴う肝内胆管の著しい過形成が認められた(Clapp et al., 1973)¹⁾。

2.1.4 マウスを用いた 10 ヶ月間及び 1 年間反復投与毒性試験

1 群雌雄各 17-39 匹の 6-10 週齢 C₃H 系マウスに 0.05 又は 0.5% BHT 含有の半合成飼料を与え、10 ヶ月間反復投与毒性試験を実施した。対照群には半合成飼料及び市販飼料を与えた。雄の被験物質投与群に肝細胞腺腫の発現率の上昇が認められ、その頻度は 0.5% 群 38% (10/26)、0.05%群 58% (15/26)、半合成飼料群 5% (2/37)、市販飼料群 18% (7/38) であった。追加試験として C₃H 系マウスに 0 又は 0.5% BHT 含有食を 10 ヶ月間間与えた後、1 ヶ月間休薬した。雄マウスの肝細胞腺腫の発現率は対照群 9% (3/35)、0.5%群 17% (5/29) であった。BALB/c 系マウスに 0、0.5 又は 5%含有食を与え、1 年間反復投与毒性試験を実施した。肝腫瘍の発現率は対照群 13% (4/30)、0.5%群 14% (6/43)、5%群 7% (2/28)であった。C3H 系マウスを用いた 12 ヶ月間反復投与毒性試験の対照群背景データにおける自然発生肝腫瘍発現率は雄 41-68%、雌 6-13%であった (Peraino et al., 1973)¹⁾。この資料から、C3H 系マウスを用いた BHT 反復投与毒性試験における肝細胞腺腫の発現率上昇は BHT の癌原性を示唆するものでないと判断された(Lindenschmidt et al., 1986)¹⁾。

2.1.5 マウスを用いた 16 ヶ月間反復投与毒性試験

11 匹の BALB/c 系マウスに 0 又は 0.75% BHT 含有食を与え、16 ヶ月間反復投与毒性試験を実施した。肺腫瘍の発現率は対照群 24%、0.75%群 63.6%であった(Clapp et al., 1974)。しかし、1 群の動物数を増加させた追試験では、BHT は雌雄マウスの肺腫瘍発現率に影響を及ぼさなかった(Clapp et al., 1975)¹⁾。

2.2 ラット

2.2.1 ラットを用いた 25 日間反復投与毒性試験

1 群 5 又は 10 匹のラットに 0.8 又は 1% BHT 含有食を与え、paired feeding による 25 日間反復投与毒性試験を実施した。1%群に体重増加抑制が認められた(Deichmann, 1955)¹⁾。

2.2.2 ラットを用いた 6 週間反復投与毒性試験

20%ラード含有食に 0、0.1、0.2、0.3、0.4 又は 0.5% BHT を添加し、1 群雌雄各 3 匹の離乳期ラットに 6 週間与えた。体重増加抑制、肝臓重量の増加が被験物質投与群に認められた。BHT の投与量と相関して血清コレステロール値、副腎コレステロール値の増加が観察された(Johnson & Hewgill, 1961)¹⁾。

2.2.3 ラットを用いた 6 週間反復投与毒性試験

0 又は 20%ラード含有食に 0.5% BHT を添加し、ラットに 6 週間与えた。ラード含有の有無に関わらず基礎代謝上昇、肝臓コレステロール値上昇及び生体内の全脂肪酸含量減少が認められた(Johnson & Holdsworth, 1968)¹⁾。

2.2.4 ラットを用いた 7 週間反復投与毒性試験及び次世代試験

0又は20%ラード含有食に0.1% BHTを添加し、1群12匹の雌雄ラットに7週間与えた結果、20%ラード群の雄に体重増加抑制が認められた。paired feeding試験の結果から、増加抑制はBHTに起因する変化と結論された。BHTの毒性はラード含有量増加に伴い強まり、次世代児の10%に無眼球症が認められた(Brown et al., 1959)¹⁾。

2.2.5 ラットを用いた7週間反復投与毒性試験

MTDを決定する目的で雌雄各5匹のF344ラットに0、0.62、1.25、2.5又は5% BHT含有食を与え、7週間反復投与毒性試験を実施した。被験物質投与に起因する死亡は5%群(雌雄各5例)に認められた。体重増加抑制が投与量と相関して認められ、投与終了時の体重は2.5%群では対照群の38-44%であった。1.2%群に軽度の造血機能亢進が認められた(NCI, 1979)¹⁾。

2.2.6 ラットを用いた8週間反復投与毒性試験

19.9%カゼインを含有食に0、0.02又は0.2% BHTを添加し、幼若ラット(1群8匹)に8週間投与した。BHTは体重を増加させ、蛋白効率を改善させた(Sporn & Schöbesch, 1961)¹⁾。

2.2.7 ラットを用いた68-82日間反復投与毒性試験

ラットにBHT 250mg/kgを投与し、68-82日間反復投与毒性試験を実施した結果、肝細胞に脂肪浸潤及び体重増加抑制が認められた(Karplyuk, 1959)¹⁾。

2.2.8 ラットを用いた10週間反復投与毒性試験

1群雌雄各20匹のラットに1% BHT含有食を与え、10週間反復投与毒性試験を実施した。相対肝重量の増加と肝細胞の変化が認められたが、数週間の休薬でこれらの変化は消失した(Goater et al., 1964)¹⁾。

2.2.9 ラットを用いた10週間反復投与毒性試験

10%脂肪含有食に0.03、0.1又は0.3% BHTを添加し、ラット(1群雌雄各16匹)に10週間与えた。なお、対照群は2群設定した。体重増加抑制は雄の0.3%群にのみ認められた。血液コレステロール値に異常は認められなかった。死亡例は0.3%群(雄4例、雌2例)、0.1%群(雄2例)、対照の2群(雄各1例)に認められた(Frawley et al., 1965b)¹⁾。

2.2.10 ラットを用いた16週間反復投与毒性試験

1群雌雄各24匹の離乳期ラットに0又は0.1% BHT含有食を与え、16週間反復投与毒性試験を実施した。体重増加率、摂餌量に異常は認められなかった。肝臓及び副腎の重量増加が認められたが、病理組織学的変化は観察されなかった(Gaunt et al., 1965a)¹⁾。

2.3 イヌ

2.3.1 イヌを用いた4週間及び12ヶ月間反復投与毒性試験

4匹のイヌにBHT 1.4-4.7g/kgを2-4日毎に4週間投与した。軽度から中等度の下痢が認められたが、病理解剖所見に異常は認められなかった。BHT 0.15-0.98g/kgを週5日12ヶ月間投与した。一般状態、病理解剖所見、病理組織学的所見に異常は認められなかった(Deichmann et al., 1955)¹⁾。

2.4 サル

2.4.1 サルを用いた4週間反復投与毒性試験

1群3匹の幼児又は若齢アカゲサルにBHT 0、50又は500mg/kgを与え、4週間反復投与

毒性試験を実施した。尿、血液及び血液化学の所見に被験物質に起因する変化は認められなかった。病理組織学的検査において、肝臓において細胞及び核に腫大が認められた以外に被験物質に起因する異常は観察されなかった(Allen & Engblom, 1972)¹⁾。

3 遺伝毒性

3.1

試験	試験系	BHT 濃度	結果	文献
復帰変異*	サルモネラ TA1535, TA1537 TA1538	0.015-0.6%	陰性	Brusick 1975 ¹⁾
復帰変異*	サルモネラ TA97, TA102 TA104, TA100		陰性	Hageman et al. 1988 ¹⁾
復帰変異*	サルモネラ TA98, TA100 TA1535, TA1537 TA1538	100-10000 μ g/plate	陰性	Williams et al. 1990b ¹⁾
復帰変異*	サルモネラ TA98, TA100	100-1000 μ g/plate	陰性	Yoshida 1990 ¹⁾
復帰変異*	サルモネラ TA 98	10 μ g/plate	陰性	Detringer et al. 1993 ¹⁾
宿主経由	ICR スイス系マウス/ サルモネラ G46, TA1530	30-1400mg/kg (1 回投与) 30-500mg/kg (亜急性投与)	陰性	SRI 1972 ¹⁾
哺乳動物細胞遺伝子変異	ラット肝細胞株 (line 18), HGPRT locus	60-90 μ g/mL	陰性	Williams et al. 1990b ¹⁾
伴性劣性致死	キイロショウジョウバエ	2.0×10^{-6} μ g	陰性**	Prasad & Kamra 1974 ¹⁾
伴性劣性致死	キイロショウジョウバエ	5%混餌	陰性	Brusick 1975 ¹⁾
染色体異常	ヒト胎児肺線維芽細胞 (human WI-38)	2.5-250 μ g/mL	陽性**	SRI 1972 ¹⁾
性染色体欠損	キイロショウジョウバエ	2.0×10^{-6}	陰性**	Prasad & Kamra 1974 ¹⁾
小核	ラット骨髓	30, 90, 1400 mg/kg(1 回及び 亜急性投与)	陰性	SRI 1972 ¹⁾

優性致死	SD 系ラット	30, 900, 1400 mg/kg (1 回投与)	陰性	Brusick 1975 ¹⁾
		30, 250, 500 mg/kg /day (亜急性投与)	陽性	
優性致死	雄 SD 系ラット	50,150, 500mg/kg	陽性**	Sheu et al 1986 ¹⁾
	雄マウス	1%混餌	陰性	
相互転座	雄マウス	1%混餌	陰性	Sheu et al 1986 ¹⁾
有糸分裂組換	Saccharomyces cerevisiae D4	0.6-2.4%	陰性	Brusick 1975 ¹⁾
宿主經由有糸分 裂組換	Saccharomyces cerevisiae D3/ICR スイ ス系マウス	30, 900, 1400 mg/kg (1 回投与)	陰性	SRI 1972 ¹⁾
		30, 250, 500mg/kg (亜急性投与)	陰性	
姉妹染色分体交 換	CHO 細胞	1- 1000 μ g/mL	陰性	Williams et al. 1984 ¹⁾
DNA 除去修復	UV 照射ヒトリンパ球	?	陽性	Daugherty 1978 ¹⁾
DNA 修復	初代培養肝細胞	0.01- 10 μ g/mL	陰性	Williams et al. 1990b ¹⁾

*: 肝臓の薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下及び非存在下で検討した

** : 結果は Bombard et al. (1992)によって考察されている

4 癌原性

4.1 マウス

4.1.1 マウスを用いた 92-96 週間癌原性試験

雌雄各 48 匹の CFI 系マウスに BHT 1000、2500 又は 5000mg/kg を 92-96 週間与え、癌原性試験を実施した。生存率に有意な群間差は認められなかった。悪性腫瘍の発現率に対照群と最高投与群との間に有意差は認められなかったが、肺腫瘍の発現率が被験物質投与群において上昇した(対照群; 47%、1000mg/kg 群; 53%、2500mg/kg 群; 74%、5000mg/kg 群; 75%)。良性卵巣腫瘍の発現率は対照群には認められなかったが、被験物質投与群において上昇した (Brooks et al., 1976)¹⁾。

4.1.2 マウスを用いた 96 週間癌原性試験

1 群雌雄各 100 匹の B6C3F₁ マウスを用いて体重 1kg 当り 0、200、1000 又は 5000mg の BHT を混餌投与法で与え、96 週間の癌原性試験を実施したが、腫瘍発現率は対照群と被験物質投与群の間に有意差を認めなかった(Shirai et al., 1982)¹⁾。

4.1.3 マウスを用いた 104 週間癌原性試験

1 群雌雄各 50 匹の B6C3F₁ マウスに 0、1 又は 2% BHT 含有食を与え、104 週間の癌原性試験を実施した。雄マウスの被験物質投与群に肝細胞腺腫の発現率上昇が認められた(対照群; 19%、1%群; 38%、2%群; 53%) (Inai et al., 1988)¹⁾。

4.1.4 マウスを用いた 107 又は 108 週間癌原性試験

1 群雌雄各 20 匹(対照群)又は 50 匹(被験物質投与群) の B6C3F₁ 系マウスに体重 1kg 当り BHT 0、3000、又は 6000mg を 107 又は 108 週間混餌法で与え、癌原性試験を実施した。肝細胞腺腫又は肝細胞癌のそれぞれの発生率に有意差は認められなかったが、両者の合計の発現率は雄で若干増加した(対照群; 1/20、3000mg/kg 群; 4/46、6000mg/kg 群; 5/49) (NCI, 1979)¹⁾。

4.1.5 マウスを用いた生涯試験

1 群 60 匹の FAF 系雄マウスに 0、0.25 又は 0.5% BHT を含有する半合成飼料を与えた。BHT 群の平均寿命は対照群より長く、0.25%群; 17.0 ヶ月、0.5%群; 20.9 ヶ月、対照群; 14.5 ヶ月であった(Harman, 1968)¹⁾。

4.2 ラット

4.2.1 ラットを用いた 24 ヶ月間癌原性試験

1%ラード含有食に 0.2、0.5 又は 0.8% BHT を添加してラット(1 群雌雄各 15 匹)に与え、24 ヶ月間癌原性試験を実施した。一般状態及び病理組織学的所見に被験物質投与に起因する異常は認められなかった(Deichmann et al., 1955)¹⁾。

4.2.2 ラットを用いた 24 ヶ月間癌原性試験及び生涯試験

JCL 系雌雄ラットに 0、0.005、0.062 又は 0.32% BHT 含有食を与え、24 ヶ月間(1 群、10 匹)又は生涯試験(1 群、15 匹)を実施した。癌原性を示唆する異常は認められなかった(Hiraga, 1978)¹⁾。

4.2.3 ラットを用いた 104 週間癌原性試験

1 群雌雄各 57 匹の Wistar 系ラットに 0.25 又は 1% BHT 含有食を与え、104 週間の癌原性試験を実施した。対照群には雌雄各 36 匹を宛てた。被験物質投与群の生存率は 40-68%であった。病理組織学的検査の結果、腫瘍発現率の高い臓器組織があったが、用量相関性が認められず、癌原性は陰性と判断された(Shibata et al., 1979; Hirose et al., 1981)¹⁾。

4.2.4 ラットを用いた 105 週間癌原性試験

1 群雌雄各 50 匹の Fischer 344 ラットに体重 1kg 当り BHT 3000 又は 6000mg を混餌法で与え、105 週間の癌原性試験を実施した。なお、被験物質は 4%脂肪食に添加した。対照群には普通食を与え、雌雄各 20 匹を宛てた。死亡率及び病理組織学的所見に癌原性を示唆する異常は認められなかった(NCI, 1979)¹⁾。

4.2.5 ラットを用いた 110 週間癌原性試験

雌雄の F344 ラットに体重 1kg 当り 12000mg BHT を混餌法で与え、110 週間癌原性試験を実施した。肝細胞癌の発現は認められなかった。肝細胞腺腫が対照群及び被験物質投与群に観察されたが、被験物質投与との関連性は認められなかった(Williams et al., 1990a)¹⁾。

4.2.6 ラットを用いた 144 週間癌原性試験及び次世代試験

Wistar 系 ラットに体重 1kg 当り 0、25、100 又は 500mg BHT を混餌法で親世代に 13 週間与え、F₁ ラットに体重 1kg 当り 0、25、100 又は 250mg BHT を 144 週間与えた。F₁ ラットにおいて、肝細胞腺腫が雌雄の被験物質投与群に、肝細胞癌が雄の被験物質投与群に高い頻度で認められた。F₁ ラットにおいて、250mg/kg 群に肝酵素誘導、100mg/kg 以上の群に甲状腺機能亢進像が認められた(Olsen et al., 1986)¹⁾。上述の試験結果から、NOEL は 25 mg/kg と判断された(Price, 1994)¹⁾。

	BHT (mg/kg)	有効動物数	肝細胞腺腫	肝細胞癌
雄	0	100	1	1
	25	80	1	0
	100	90	5	1
	250	99	18	8
雌	0	100	2	0
	25	79	3	0
	100	80	6	0
	250	99	12	2

5 生殖発生毒性

5.1 マウス

5.1.1 10 又は 20%ラード含有食に 0.1 又は 0.5% BHT を添加しマウスに与え、繁殖させた。0.5% 群の 12 日齢出産児に体重増加抑制が認められた。出産児に無眼球症が認められたが、この無眼球症はその後の追試(Anonymous, 1965)では見いだされなかった(Johnson, 1965)¹⁾。

5.1.2 マウス又はラットを用いた BHT の胎児毒性試験を以下の 3 種の投与法で実施したが、異常は認められなかった。妊娠期間中に 1 回投与(1000mg/kg)、交配前及び妊娠期間中(750mg/kg)、交配前 7-10 週間及び妊娠期間中(マウス; 250-500 mg/kg、ラット; 500 又は 700mg/kg) (Clegg, 1965)¹⁾。

5.1.3 0 又は 5% BHT 含有食を妊娠マウス及び出産児に与え、出産児の行動を観察した。5% 群に睡眠時間短縮、群居から隔離された時に誘引される攻撃性の増加、学習能力低下が認められた(Stokes & Scudder, 1974)¹⁾。

5.1.4 Crj:CD-1 系マウスに 0、0.015、0.045、0.135 又は 0.405% BHT (0、20、70、200 又は 610 mg/kg 相当)混合食を与え、3 世代試験を実施した。繁殖、発育及び行動について検査したが、被験物質投与に起因する変化は認められなかった(Tanaka et al., 1993)¹⁾。

5.2 ラット

5.2.1 1 群雌雄各 16 匹の離乳期ラットに体重 1kg 当り BHT 0-3000mg を添加した 20%ラード混合食を与え、100 日齢で交配した。同用量の被験物質を出産児に与え、100 日齢で交配させた。繁殖能の異常及び催奇性は認められなかった(Frawley et al., 1965b)¹⁾。

5.2.2 体重 1kg 当り BHT 3000mg をラットに混餌投与し、生殖試験を実施した。母獣の体重増加抑制が認められた以外に一腹胎児数、平均体重、死産児数、生産児数に被験物質投与の影響は観察されなかった(Kennedy et al., 1966)¹⁾。

5.2.3 0.125%、0.25% 又は 0.5% BHT 含有食を SD 系ラットに交配前から授乳期まで与えた。0.5%群の出産児に体重の増加抑制及び生存率の低下が認められた。離乳前の 0.5%群出産児に平面立ち直り反応時間の遅延、前肢の遊泳行動発達遅延、オープンフィールド試験における活動性低下傾向が認められた(Brunner et al., 1978)¹⁾。

5.2.4 0 又は 0.5-0.9% BHT 含有食を 6 週齢の Wistar 系ラットに与え、19 週齢で交配させて生殖試験を実施した。出産児は 25 日齢で殺処分した。被験物質投与群の出産児に体重増加抑制、異常行動及び脳に死亡細胞発現率増加が認められた(Meyer & Hansen, 1980)¹⁾。

5.2.5 0.3% BHT 含有のビタミン E 欠乏食を妊娠ラットに 5 週間与えた結果、毒性症状は認められなかった。しかし、1.6% BHT 含有のビタミン E 欠乏食では胎児体重に著しい増加抑制及び胎児死亡率上昇が認められた(Ames et al., 1956)¹⁾。

5.2.6 ラットの生殖試験の最大耐量を検討する目的で、体重 1kg 当り BHT 0、500、750 又は 1000mg を混餌投与法で与え、世代試験を実施した。被験物質投与群の出産児に発育抑制傾向及び肝臓重量の増加が認められた(Robens Institute, 1989)¹⁾。

5.3 ニワトリ

5.3.1 0.125% BHT 含有食を 34 週間与えたニワトリの受精率、孵化率及び幼雛の一般状態は対照群と被験物質投与群の間に差はなかった(Shellenberger et al., 1957)¹⁾。

5.4 サル

5.4.1 1 群 6 匹の雌赤毛サルに体重 1kg 当り BHA 0 又は 50 mg を交配前 1 年間及び妊娠期間中 165 日間混餌法で与えた。母獣及び出産児に異常は認められなかった(Allen, 1976)¹⁾。

6 局所刺激性

報告なし。

7 その他の毒性

7.1 肝毒性

7.1.1 マウス

7.1.1.1 ddY 系雄マウスに BHT (200-800 mg/kg)と GSH 合成阻害薬を併用して経口投与した。SGPT 活性の上昇及び肝小葉中心性の壊死を特徴とする肝障害が認められた(Mizutani et al., 1987)¹⁾。

7.1.2 ラット

7.1.2.1 Wistar 系雌ラットに 0 又は 0.4% BHT 含有食を 80 週間投与した。肝臓重量、ミクロソ

ームタンパク及び薬物代謝酵素の増加が認められたが、18 日間休薬によりこれらの変化は消失した(Gray et al., 1972)¹⁾。

7.1.2.2 雌ラットに 0 又は 0.4% BHT 含有食を 80 週間投与し、18 日間休薬した。投与終了時に肝重量増加、薬物代謝活性酵素の上昇が認められたが、休薬によりこれらに変化は可逆性を示した(Crampton et al., 1977)¹⁾。

7.1.2.3 1 群 8 匹の Wistar 系雄ラットに 0.5% BHT 含有食を 2、4、8、10 又は 14 日間与えた結果、^[3H]チミジンの取り込みが増加した。しかし、この変化は 8 日以内に消失した(Briggs et al., 1989)¹⁾。

7.1.2.4 SD 系ラットに BHT を 1 回与え、DNA をアルカリ溶出法で測定した結果、700 mg/kg では溶出増加が認められたが、140mg/kg では異常は認められなかった。この結果から、高用量 BHT は肝臓 DNA に障害を誘発すると結論された(Kitchin & Brown, 1987)¹⁾。

7.1.2.5 Wistar 系ラットに BHT 7-250mg/kg を 7 又は 28 日間投与し、その後 1000 又は 1250mg/kg を 4 日間投与した。7 又は 28 日間投与では肝臓肥大及び胆管周囲細胞の壊死が認められたが、高用量 4 日間追加投与では肝小葉中心性の壊死が 48 時間以内に認められた(Powell et al., 1986)¹⁾。

7.1.2.6 SD 系ラットにペントバルビタール又はブチオニンスルホキシドを前処置し、BHT 500 mg/kg を 1 回経口投与した。BHT 単独投与では肝毒性は認められなかったが、ペントバルビタール又はブチオニンスルホキシドとの併用投与で肝細胞の凝固壊死が観察された(Powell & Connolly 1991)¹⁾。

7.2 腎毒性

7.2.1 ラット

7.2.1.1 BHT 1000 mg/kg の 1 回大量投与は雄 F344 ラットに対して腎毒性を誘発し、ペントバルビタール前処置(80mg/kg、4 日間腹腔内投与)は腎毒性を増強させた。しかし、雌ラットの腎毒性の程度は雄ラットより軽度であった(Nakagawa & Tayama, 1988)¹⁾。

7.2.1.2 1 群 5 匹の Wistar 系雌ラットに 1% BHT 含有食(含むカゼイン塩又はラクトアルブミン)を 13-48 日間与え、腎毒性を検討した。BHT はいずれの飼料においても腎症を、更にカゼイン塩含有群に腎石灰沈着を誘発した(Meyer et al., 1989)¹⁾。

7.2.1.3 1 群雌雄各 10 匹の ddY 系雄マウスに 0、1.35、1.75、2.28、2.96、3.85 又は 5% BHT 含有食を 30 日間与え、腎臓の病理組織学的検査を実施した。腎毒性所見が 1.35%以上の投与群に用量と相関して認められた(Takahashi, 1992)¹⁾。

7.3 肺毒性

7.3.1 マウス

7.3.1.1 若齢 Swiss Webster 系雄マウスに BHT 63- 500mg/kg を腹腔内投与し、1-5 日後に殺処分した。250mg/kg 以上の投与群の肺に肺胞細胞の増殖、重量増加、DNA 及び RNA 合成量増加が認められた(Saheb & Witschi, 1975)¹⁾。

7.3.1.2 Swiss 系雄マウスに 400 mg/kg BHT を腹腔内投与し、殺処分 2 時間前に H3 チミジンを与え肺胞細胞への取り込みを調べた。2-5 日後の殺処分動物に H3 チミジン取込量が増加した(Adamson et al., 1977)¹⁾。