

有 害 性 評 価 書

Ver. 1.0

No.302

ブチルヒドロキシアニソール

(別名 **BHA**)

Butylhydroxyanisole

化学物質排出把握管理促進法政令号番号：1-365

CAS 登録番号：25013-16-5

委託先 財団法人 化学物質評価研究機構

委託元 経済産業省

目 次

要約	1
1. 化学物質の同定情報.....	3
1.1 物質名	3
1.2 化学物質審査規制法官報公示整理番号.....	3
1.3 化学物質排出把握管理促進法政令号番号.....	3
1.4 CAS 登録番号.....	3
1.5 構造式	3
1.6 分子式	3
1.7 分子量	3
2. 一般情報	3
2.1 別 名	3
2.2 純 度	3
2.3 不純物	3
2.4 添加剤または安定剤.....	4
2.5 現在の我が国における法規制	4
3. 物理化学的性状.....	4
4. 発生源情報	5
4.1 製造・輸入量.....	5
4.2 用途情報	5
5. 環境中運命	5
5.1 大気中での安定性.....	5
5.2 水中での安定性.....	5
5.2.1 非生物的分解性.....	5
5.2.2 生分解性.....	5
5.2.3 下水処理による除去.....	6
5.3 環境水中での動態.....	6
5.4 生物濃縮性	6
6. 環境中の生物への影響.....	6
6.1 水生生物に対する影響.....	6
6.1.1 微生物に対する毒性.....	6
6.1.2 藻類に対する毒性.....	6

6.1.3 無脊椎動物に対する毒性	7
6.1.4 魚類に対する毒性	7
6.1.5 その他の水生生物に対する毒性	8
6.2 陸生生物に対する影響	8
6.2.1 微生物に対する毒性	8
6.2.2 植物に対する毒性	8
6.2.3 動物に対する毒性	8
6.3 環境中の生物への影響 (まとめ).....	8
7. ヒト健康への影響.....	9
7.1 生体内運命	9
7.2 疫学調査及び事例	12
7.3 実験動物に対する毒性	13
7.3.1 急性毒性.....	13
7.3.2 刺激性及び腐食性.....	14
7.3.3 感作性	14
7.3.4 反復投与毒性.....	14
7.3.5 生殖・発生毒性.....	17
7.3.6 遺伝毒性.....	21
7.3.7 発がん性.....	24
7.3.8 その他の影響.....	32
7.4 ヒト健康への影響 (まとめ)	35
文 献	37
有害性評価責任者及び担当者一覧	46
有害性評価書外部レビュー一覧	46
まとめ表	47

要約

化学物質排出把握管理促進法におけるブチルヒドロキシアニソール（以下、BHA）とは、*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソールの異性体混合物及び各異性体の総称である。

BHA は、無色の結晶または白色の結晶性粉末であり、融点が 48～55℃である。水に 548 mg/L (25℃) 溶解し、ヘンリー定数が 0.264 Pa・m³/mol (25℃、推定値) であり、水中から揮散しにくいと推定される。生分解されにくく、加水分解もされないと推定される。解離定数 (pKa) は 2-異性体で 10.24、3-異性体で 11.35 (各推定値) である。水環境中に排出された場合、大部分は非解離の状態で存在すると推定され、非解離状態での土壌吸着係数 *K*_{oc} は大きい(1,390、推定値) ことから、分解されずに水中の懸濁物質に吸着されやすく、底質に移行すると推定される。また、化学物質審査規制法に基づく濃縮性試験では、濃縮性がない、または低いと判定されている。

BHA の環境中の水生生物への毒性影響は、淡水緑藻のセテナストラムに対する生長速度を指標とした 72 時間 EC₅₀ が 5.2 mg/L、バイオマス及び生長速度を指標とした 72 時間 NOEC が 0.25 mg/L であった。甲殻類では、オオミジンコに対する遊泳阻害を指標とした 48 時間 EC₅₀ の 2.3 mg/L であった。魚類では、ニジマスに対する 48 時間 LC₅₀ が 1 mg/L であった。

以上から、得られた毒性データのうち水生生物に対する最小値は、藻類であるセテナストラムに対する 72 時間 NOEC の 0.25 mg/L (バイオマス及び生長速度) である。

BHA のヒト健康への影響に関しては、生体内運命に関する報告として、ヒト及び動物において経口投与後消化管から吸収される。吸収後、BHA は器官に広く分布し、肝臓で代謝される。代謝物は、主に BHA のグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体であり、次いで *tert*-ブチルヒドロキノンや *tert*-ブチルキノン及びそれらのグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体である。また BHA はラジカルを形成して、タンパク質付加体を形成する。ラットではタンパク質付加体は前胃に多く、次いで腺胃、肝臓、腎臓に分布する。投与後、ヒトにおいては 2～11 日以内に、動物では 2～4 日以内に投与量の大部分が尿中及び少量が糞中に排泄される。

疫学調査等については、刺激性はないが、皮膚に感作反応を引き起こす可能性がある。食物経路での日常的な BHA の摂取による健康リスクに関しては、オランダでのコホート研究で胃がんとの関連性はみられていない。

急性毒性については、経口経路の LD₅₀ は、マウスで 1,100 mg/kg (雄) 及び 1,320 mg/kg (雌)、ラットで 2,000 mg/kg (雄) 及び 2,200 mg/kg (雌) であった。経口投与約 10 分後から歩行失調状態となり、腹臥、呼吸促迫し、死亡し、死亡時に胃腸の出血と潰瘍形成、肝臓のうっ血が認められた。

刺激性及び腐食性、感作性の報告はない。

反復投与毒性については、イヌを用いた2つの6か月間混餌投与試験で、肝臓及び甲状腺の重量増加がみられた。肝臓及び甲状腺の重量増加は、一世代生殖毒性試験でBHAを7週間経口投与された親ラットでもみられている。これらの試験からはNOAELは求められない。吸入経路の報告はない。

生殖・発生毒性については、催奇形性はみられていない。ラットに混餌投与した試験で、児動物に運動量の増加傾向がみられた。ラットの一世代生殖試験では、生殖能に影響はみられないものの、比較的高用量である 500 mg/kg/日の強制経口投与で発育遅延による障害がみられ、内分泌かく乱作用を疑わせる所見もみられている。

遺伝毒性については、代謝活性化系を添加した *in vitro* の染色体異常試験で陽性、*in vivo* の高用量でのコメットアッセイで腺胃と結腸の DNA 損傷が検出されたが、それ以外の遺伝毒性試験で陰性であった。陽性の結果は BHA の代謝にかかわる何らかの影響がうかがわれた。遺伝毒性はないと判断する。

発がん性については、げっ歯類の前胃に扁平上皮がんを引き起こすが、前胃のない動物種には発がん性の兆候はない。本評価書では、1,322.6 mg/kg/日の混餌投与で扁平上皮がんを確認したラット発がん性試験で、109.6 mg/kg/日以上で前胃上皮の過形成がみられたことから、その下の用量 54.8 mg/kg/日を扁平上皮過形成の NOAEL と判断する。

BHA には、発がん物質でイニシエートされたラットの前胃や膀胱のがんを促進し、反対に発がん物質でイニシエートされた肝臓や乳腺のがんを阻害するとの報告がある。また、他の抗酸化剤と同様に抗酸化物質、酸化促進物質、低濃度での抗発がん物質、発がん物質、発がんプロモーターといくつかの矛盾した特質が報告されている。IARC ではグループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質) に分類している。

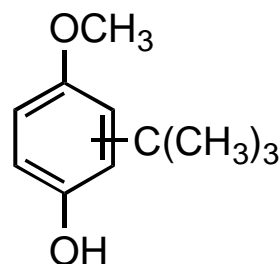
1. 化学物質の同定情報

化学物質排出把握管理促進法におけるブチルヒドロキシアニソール（別名 BHA）とは、*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソールの異性体混合物及び各異性体の総称である。

本評価書では、特に断りがない限り、BHA とは *tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソールの異性体混合物及び各異性体の総称を指し、個々の異性体である 2-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール、3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソールを指す場合には、その都度 2-異性体、3-異性体と明記する。なお、一般的な製品の主成分は 3-異性体である。

- 1.1 物質名 : ブチルヒドロキシアニソール〔別名 BHA〕
- 1.2 化学物質審査規制法官報公示整理番号 : 3-608
- 1.3 化学物質排出把握管理促進法政令号番号 : 1-365
- 1.4 CAS登録番号 : 25013-16-5 (異性体混合物)
tert-ブチル基の位置の違いにより 2 種類の異性体が存在し、それぞれ CAS 登録番号が異なる。
88-32-4 (2-異性体)
121-00-6 (3-異性体)

1.5 構造式



- 1.6 分子式 : C₁₁H₁₆O₂
- 1.7 分子量 : 180.25

2. 一般情報

2.1 別名

BHA

2.2 純度

不明

2.3 不純物

不明

2.4 添加剤または安定剤

不明

2.5 現在の我が国における法規制

化学物質排出把握管理促進法：第一種指定化学物質

下水道法：水質基準 5 mg/L (フェノール類^{注1)}として)

水質汚濁防止法：排水基準 5 mg/L (フェノール類^{注1)}として)

薬事法：表示指定成分 (医薬部外品)

食品衛生法：指定添加物^{注2)}

使用基準 魚介冷凍品 (生食用冷凍鮮魚介類及び生食用冷凍かきを除く)、鯨冷凍品 (生食用冷凍鯨肉を除く) 1.0 g/kg 以下 (浸漬液に対し;ジブチルヒドロキシトルエンと併用の場合はその合計量)、油脂、バター、魚介乾製品、魚介塩蔵品、乾燥裏ごしも 0.20 g/kg 以下 (ジブチルヒドロキシトルエンと併用の場合はその合計量)、チューインガム 0.75g/kg 以下

飼料安全法：飼料添加物指定品目^{注3)}

バーゼル法：特定有害廃棄物 (0.1 重量%以上含む物)

注1：JIS K 0102 で規定されている方法で検定し、フェノールの他に *o*-、*m*-位置に置換基を持つフェノール誘導体が該当する。

注2：1954 年指定。パーム原料油への使用に限定する旨の規格基準 (1982 年) を公布した。

告示第 54 号 (1983 年) により使用禁止の施行は現在猶予されているが、代替品があり、本品は使用しないよう行政指導が行われている。

注3：ペットフードの酸化防止剤については、基準はないが家庭用飼料に準じている。

3. 物理化学的性状

外 観:	無色の結晶、白色の結晶性粉末	(化学工業日報社, 2008)
融 点:	48~55°C	(Merck, 2006)
沸 点:	264~270°C (733 mmHg)	(Merck, 2006)
引 火 点:	データなし	
発 火 点:	データなし	
爆 発 限 界:	データなし	
比 重:	1.0121 (25°C、推定値)	(Yaws, 2005)
蒸 気 密 度:	6.21 (空気=1)	
蒸 気 圧:	データなし	
分 配 係 数:	オクタン-1/水分配係数 log Kow=3.50 (推定値)	(SRC:KowWin, 2008)
解 離 定 数:	pKa=10.24 (2-異性体、推定値)	
	pKa=11.35 (3-異性体、推定値)	(Karickhoff et al., 1991)
スペクトル:	主要マススペクトルフラグメント	

165 m/z (基準ピーク = 1.0)、180 (0.71)、137 (0.43)、166 (0.11)

(産業技術総合研究所, 2008)

吸脱着性: 土壌吸着係数 $K_{oc} = 1,390$ (推定値)

(SRC:PcKocWin, 2008)

溶解性: 水; 3.04 mmol/kg (548 mg/L 相当)(25°C)

(Alauddin and Verrall, 1984)

石油エーテル、プロピレングリコール、アルコール類; 可溶 (Merck, 2006)

ヘンリー定数: $0.264 \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ ($2.608 \times 10^{-6} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$) (25°C、推定値) (SRC:HenryWin, 2008)

換算係数:(気相、20°C) $1 \text{ ppm} = 7.50 \text{ mg}/\text{m}^3$ 、 $1 \text{ mg}/\text{m}^3 = 0.133 \text{ ppm}$

4. 発生源情報

4.1 製造・輸入量

ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の 2004 年度における製造・輸入量は、100 トン以上であった (化学物質評価研究機構, 2008)。

4.2 用途情報

BHA は、パーム原料油の酸化防止剤 (鈴木ら, 1999)、ゴム用老化防止剤、ポリオレフィン・ポリスチレンの酸化防止剤 (化学工業日報社, 2008) として使用されている。

5. 環境中運命

5.1 大気中での安定性

a. OH ラジカルとの反応性

対流圏大気中では、ブチルヒドロキシアニソール (BHA) と OH ラジカルとの反応速度定数が $3.61 \times 10^{-11} \text{ cm}^3/\text{分子}/\text{秒}$ (25°C、推定値) である (SRC:AopWin, 2008)。OH ラジカル濃度を $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6 \text{ 分子}/\text{cm}^3$ とした時の半減期は 5~10 時間と計算される。

b. オゾンとの反応性

調査した範囲内では、BHA とオゾンとの反応性に関する報告は得られていない。

c. 硝酸ラジカルとの反応性

調査した範囲内では、BHA と硝酸ラジカルとの反応性に関する報告は得られていない。

5.2 水中での安定性

5.2.1 非生物的分解性

BHA には、加水分解を受けやすい化学結合はないので、水環境中では加水分解されない。

5.2.2 生分解性

BHA は、化学物質審査規制法に基づく好氣的生分解性試験では、被験物質濃度 100 mg/L、活性汚泥濃度 30 mg/L、試験期間 2 週間の条件において、生物化学的酸素要求量 (BOD) 測定で

の分解率は0%であり、難分解性と判定されている。なお、ガスクロマトグラフ (GC) 測定での分解率は0%であった (通商産業省, 1980)。その他には、BHA の好氣的生分解性に関する報告は得られていない。

調査した範囲内では、BHA の嫌氣的生分解性に関する報告は得られていない。

5.2.3 下水処理による除去

調査した範囲内では、BHA の下水処理に関する報告は得られていない。

5.3 環境水中での動態

BHA は、水に溶けにくい固体で、ヘンリー定数は $0.264 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ (25°C) であり (3章参照)、水中から大気中への揮散はほとんどないと推定される。

BHA の土壌吸着係数 K_{oc} の値は、非解離の状態では 1,390 (3章参照) であり、水中の懸濁物質及び底質には吸着されやすいと推定される。なお、解離定数 (pK_a) は 2-異性体で 10.24、3-異性体で 11.35 とそれぞれ推定されており (3章参照)、一般的な環境水中では大部分は非解離の状態で存在していると推定される。

以上及び 5.2 の結果より、環境水中に BHA が排出された場合は、生分解されにくく、水中の懸濁物質に吸着された BHA は底質に移行すると推定される。

5.4 生物濃縮性

BHA は、化学物質審査規制法に基づくコイを用いた 6 週間の濃縮性試験で、水中濃度が $100 \mu\text{g/L}$ 及び $10 \mu\text{g/L}$ における濃縮倍率はそれぞれ 16~21 倍及び 8.1~18 倍であり、濃縮性はない、または低いと判定されている (通商産業省, 1980)。

なお、BHA のオクタノール/水分配係数 $\log K_{ow}$ の値は非解離の状態では 3.50 であり、この値から計算された生物濃縮係数 (BCF) は 35 である (SRC:BcfWin, 2008)。

6. 環境中の生物への影響

6.1 水生生物に対する影響

6.1.1 微生物に対する毒性

調査した範囲内では、ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の微生物に関する試験報告は得られていない。

6.1.2 藻類に対する毒性

BHA の藻類に対する毒性試験結果を表 6-1 に示す。

淡水緑藻のセレナストラムを用いた生長阻害試験について報告されている。OECD テストガイドラインに準拠して実施されたセレナストラムに対する 72 時間 EC_{50} は 1.9 mg/L (バイオマス) 及び 5.2 mg/L (生長速度) であり、また、バイオマス及び生長速度によって算出された 72 時間 NOEC は共に 0.25 mg/L であった (環境省, 2006a)。

なお、調査した範囲内では、海産種に関する試験報告は得られていない。

表 6-1 ブチルヒドロキシアニソールの藻類に対する毒性試験結果

生物種	試験法/ 方式	温度(°C)	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
淡水					
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ¹⁾ (緑藻、セテナストラム)	OECD 201 GLP	22.9-23.0	72 時間 EC ₅₀	1.9	環境省, 2006a
			72 時間 EC ₅₀	5.2	
			72 時間 NOEC	0.25	
			72 時間 NOEC	0.25 (m)	

(m): 測定濃度、1) 旧学名 : *Selenastrum capricornutum*

6.1.3 無脊椎動物に対する毒性

BHA の無脊椎動物に対する毒性試験結果を表 6-2 に示す。

無脊椎動物に対する急性毒性については、淡水種として甲殻類のオオミジンコに関する報告があり、OECD テストガイドラインに準拠して実施された 48 時間 EC₅₀ (遊泳阻害) は 2.3 mg/L であった (環境省, 2006b)。その他、貝類のゼブラガイを用いた試験報告があり、付着阻害を指標とした 48 時間 EC₅₀ は 3.4 mg/L であった (Cope et al., 1997)。

なお、調査した範囲内では、長期毒性及び海産種に関する試験報告は得られていない。

表 6-2 ブチルヒドロキシアニソールの無脊椎動物に対する毒性試験結果

生物種	大きさ/ 成長段階	試験法/ 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
淡水								
<i>Daphnia magna</i> (オオミジンコ)	生後 24 時間以内	OECD 202 GLP 止水	20.4-	23	7.4-	48 時間 EC ₅₀	2.3 (m)	環境省, 2006b
			20.6			7.6		
<i>Dreissena polymorpha</i> (貝類、ゼブラガイ、二枚貝)	5-8 mm	止水	17	146	8	48 時間 EC ₅₀ 付着阻害	3.4 (n)	Cope et al., 1997
						48 時間 LC ₅₀	65 (n)	

ND: データなし、(m): 測定濃度、(n): 設定濃度

6.1.4 魚類に対する毒性

BHA の魚類に対する毒性試験結果を表 6-3 に示す。

急性毒性については、淡水魚のメダカ、ブルーギル、ニジマス、チャネルキャットフィッシュに関する報告があり、最小値は米国材料試験協会 (ASTM) のテストガイドラインに準拠して実施されたニジマスに対する 48 時間 LC₅₀ の 1 mg/L であった (Cope et al., 1997)。

なお、調査した範囲内では、長期毒性及び海水魚に関する試験報告は得られていない。

表 6-3 ブチルヒドロキシアニソールの魚類に対する毒性試験結果

生物種	大きさ/ 成長段階	試験法/ 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
淡水								
<i>Oryzias latipes</i> (メダカ)	2.3-2.5 cm (0.11- 0.13 g)	OECD 203 GLP 半止水	23.6- 25.2	23	7.4- 7.7	96 時間 LC ₅₀	5.8 (m)	環境省, 2006c
	約 2 cm (約 0.2 g)	止水	30	40	ND	48 時間 LC ₅₀	2.5 (n)	Tsuji et al., 1986
			20				5 (n)	
10	5.3 (n)							
<i>Lepomis macrochirus</i> (ブルーギル)	39(37-42) mm、 1.03(0.97 -1.09) g	ASTM ¹⁾ 止水	17	146	8	48 時間 LC ₅₀	4.8 (n)	Cope et al., 1997
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (ニジマス)	43(35-61) mm、 0.87(0.48 -1.64) g	ASTM ¹⁾ 止水	20	146	8	48 時間 LC ₅₀	1 (n)	Cope et al., 1997
<i>Lctalurus punctatus</i> (チャネルキャットフィッシュ、ナマス ²⁾ の一種)	46(39-52) mm、 0.93(0.96 -1.22) g	ASTM ¹⁾ 止水	17	146	8	48 時間 LC ₅₀	1.5 (n)	Cope et al., 1997

ND: データなし、(m): 測定濃度、(n): 設定濃度

1) 米国材料試験協会 (American society for testing and materials) テストガイドライン

6.1.5 その他の水生生物に対する毒性

調査した範囲内では、BHA のその他の水生生物に関する試験報告は得られていない。

6.2 陸生生物に対する影響

6.2.1 微生物に対する毒性

調査した範囲内では、BHA の微生物 (土壌中の細菌や菌類等) に関する試験報告は得られていない。

6.2.2 植物に対する毒性

調査した範囲内では、BHA の植物に関する試験報告は得られていない。

6.2.3 動物に対する毒性

調査した範囲内では、BHA の動物に関する試験報告は得られていない。

6.3 環境中の生物への影響 (まとめ)

BHA の環境中の水生生物への影響は、生長阻害、遊泳阻害、致死などを指標に検討が行われている。調査した範囲内では、BHA の海産種に関する試験報告は得られていない。また、陸生

生物に関する試験報告も得られていない。

淡水緑藻のセレナストラムを用いた生長阻害試験では、72時間EC₅₀は5.2 mg/L(生長速度)であり、この値はGHS急性毒性区分2に相当する。また、同じ試験での72時間NOECは0.25 mg/L(バイオマス及び生長速度)であった。

無脊椎動物に対する急性毒性は、淡水種としての甲殻類のオオミジンコに対する遊泳阻害を指標とした48時間EC₅₀の2.3 mg/Lであり、この値はGHS急性毒性区分2に相当する。

魚類に対する急性毒性は、メダカ、ブルーギル、ニジマス、チャネルキャットフィッシュに関するデータが報告されており、最小値はニジマスに対する48時間LC₅₀の1 mg/Lであった。この値はGHS急性毒性区分1に相当する。

以上から、BHAの水生生物に対する急性毒性のGHS分類は、魚類のデータから急性毒性区分1である。長期毒性についてのNOECは、藻類では0.25 mg/Lである。

得られた毒性データのうち水生生物に対する最小値は、藻類であるセレナストラムに対する72時間NOECの0.25 mg/L(バイオマス及び生長速度)である。

7. ヒト健康への影響

7.1 生体内運命

a. 吸収

a-1. ヒト

男性ボランティア(4人)に3-*tert*-ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の5、30 mg/人を経口投与したところ、血中濃度の半減期は3時間であった(Castelli et al., 1984)。

男性ボランティア(6人)にBHA(3-異性体:2-異性体=93:7)の0.5 mg/kg体重を含んだゼラチンカプセル(媒体:10%コーン油)を1日1回、10日間経口摂取させ、BHAの血漿中濃度を調べた。投与開始日に投与後58分で最大となり、最大濃度141 ng/mL、半減期は61分であった。投与8日目では投与後80分で最大となり、最大濃度111 ng/mL、半減期は56分であった。しかし、投与開始日と8日目の数値の違いには有意差はなかった(Verhagen et al., 1989)。

a-2. 実験動物

雌雄のSDラットに強制経口投与されたBHAの代謝物が尿中に検出されたことから、BHAは消化管から吸収されることが示された(Astill et al., 1960)。

b. 分布

b-1. ヒト

調査した範囲内では、BHAの分布に関する試験報告は得られていない。

b-2. 実験動物

雄のF344ラットにBHAを強制経口投与し、6時間後に器官及び組織でのBHAの分布を調べた結果、前胃及び腺胃を含めて特定の器官及び組織に蓄積はみられなかった(Hirose et al., 1987a)。

雄のF344ラットに $[^{14}\text{C}]3\text{-BHA}$ 2.25、22.5、225、550 mg/kgを強制経口投与し、6時間後に器官及び組織でのタンパク質付加体の分布を調べた。低用量投与では、前胃の単位重量あたりのタンパク質付加体量は腺胃の7倍、肝臓及び腎臓の16、20倍であった。高用量投与では、前胃の単位重量あたりのタンパク質付加体量は腺胃の2倍であった。付加体量はすべての器官で用量に依存して増加した。また、BHAの代謝物である*tert*-ブチルヒドロキノンと*tert*-ブチルキノン（後述）は、前胃においてBHAと同様な分布を示した（Morimoto et al., 1992）。

c. 代謝・排泄

BHAの代謝経路を図7-1に示す。

代謝物の尿中排泄量の結果から、BHAの主要な代謝経路はBHAのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体の抱合体形成に関わる経路である。

c-1. ヒト

男性ボランティアにBHAの0.5～0.7 mg/kg体重を単回経口投与したところ、24時間以内に22～72%がグルクロン酸抱合体として、また1%未満が未変化体として尿中に排泄された。硫酸抱合体は微量であった。BHAは48時間までに全量排泄された（Astill et al., 1962）。

男性ボランティア（2人）にBHAの2 mg/kg体重を投与した後、尿中に代謝物として、BHAのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体とBHAの*O*-脱メチル化された *tert*-ブチルヒドロキノンのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体が排泄された。また遊離体の *tert*-ブチルヒドロキノンが少量排泄された（El-Rashidy and Niazi, 1983）。

男性ボランティア（4人）に30 mgの3-異性体を経口投与し、10日後に5 mgの3-異性体を投与した。それぞれ投与後24時間以内に投与量のおよそ20%が3-異性体のグルクロン酸抱合体（グルクロニド）として尿中に排泄された。遊離体の3-異性体はほとんど見出されなかった（Castelli et al., 1984）。

男性ボランティア（8人）にBHA（3-異性体：2-異性体=93：7）の0.5 mg/kg体重を摂取させた。その結果、24時間以内に回収された尿中に、代謝物としてBHAの抱合体が投与量の52%、BHA由来の代謝物が8%、*tert*-ブチルヒドロキノン抱合体が7.4%、少量の*tert*-ブチルヒドロキノン由来の代謝物が排泄された（Verhagen et al., 1989）。

ボランティアに $[^{14}\text{C}]$ BHAのおよそ0.5 mg/kg体重を単回経口投与したところ、60～70%の放射能が2日以内に尿中に排泄され、80～86.5%が11日までに尿中に排泄された（Daniel et al., 1967）。

c-2. 実験動物

雌雄のSDラットにBHAを強制経口投与した後、1日間以内に回収された尿中に、主な代謝物として4-*O*-抱合体、すなわち*O*-硫酸抱合体及び*O*-グルクロン酸抱合体が排泄された（Astill et al., 1960）。

ラットでは、 $[^3\text{H}]$ BHAを腹腔内に単回投与し、投与放射能のおよそ90%が4日以内に尿中に排泄された（Golder et al., 1962）。

SDラットを用いた試験では、単回経口投与48時間後に、3-*tert*-[メチル- ^{14}C]ブチル-4-ヒドロキシアニソールのほとんどは排泄され、41%が尿中、53%が糞中であった（Ansari and Hendrix,

1985)。

雄のF344ラットにおいて、BHA投与後48時間以内にその87～96%が尿中、糞中、呼気中に排泄された。*tert*-ブチル基またはメトキシ基を¹⁴Cで標識した2-BHA ([*tert*-ブチル-1-¹⁴C]2-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール、[メトキシ-¹⁴C]2-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール) 及び3-BHA ([*tert*-ブチル-1-¹⁴C]3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール、[メトキシ-¹⁴C]3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール) の異性体を用いられた。2-BHAと3-BHAは、*tert*-ブチル基を放射性標識した化合物では、それぞれ、63.7%及び69.0%が尿中に、28.8%及び18.1%が糞中に排泄された (呼気中は検討されていない)。メトキシ基を放射性標識した化合物では、それぞれ、49.8%及び46.5%が尿中に、28.3%及び29.6%が糞中に、8.3%及び13.7%が呼気中に排泄された (Hirose et al., 1987a)。尿中に代謝物として2-及び3-異性体自体の抱合体及び *tert*-ブチルヒドロキノン抱合体が排泄された。加えて、BHAの二量体である5,5'-ビ(2-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール) 及び5,5'-ビ(3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール)、他に *tert*-ブチルキノンが排泄された (Hirose et al., 1988)。

雄のWistarラットに、BHAの 2、20、200 mg/kgを単回経口投与した結果、尿中に代謝物として主にBHAの抱合体、次いで*tert*-ブチルヒドロキノンの抱合体と少量のBHAが排泄された (Verhagen et al., 1989)。

NZWウサギにBHA 1,000 mgを単回経口投与し、24時間後、投与量の46%がグルクロン酸抱合体として、9%が硫酸抱合体、6%が遊離のフェノール体として尿中に排泄された。グルクロン酸抱合体は、BHA 250 mgの単回投与では84%が排泄され、500 mgでは60%が排泄され、投与用量に反比例して排泄量は増加した。グルクロン酸抱合体としてのBHAは、単回投与後よりも3、4回の反復投与後の方が少なかった (Dacre et al., 1956)。

雄のイヌで、350 mg/kg の BHA の単回経口投与後、3 日以内に糞中に未変化体として 60%が排泄され、残りは大部分が BHA の硫酸抱合体、*tert*-ブチルヒドロキノン及び未知のフェノール体として尿中に排泄された。また、5.5%のグルクロン酸抱合体が尿中に検出された (Astill et al., 1962)。

ビーグル犬に 3-*tert*-[メチル-¹⁴C]ブチル-4-ヒドロキシアニソールを腹腔内投与したところ、48 時間後に放射能の 50～80%が尿中に検出され、15～30%が糞中に検出された (Takizawa et al., 1985)。

c-3. *in vitro* 実験

BHA 水溶液にラットの肝臓ミクロソームを添加し、反応生成物を分析したところ、*tert*-ブチルヒドロキノン及び *tert*-ブチルキノンが検出された (Cummings and Prough, 1983)。他に、BHA のグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体やグルタチオン抱合体 (Cummings et al., 1985)、ジブチルヒドロキシアニソール、*tert*-ブチル-4,5-ジヒドロキシアニソールも検出された (Armstrong and Wattenberg, 1985)。また、BHA がミクロソームタンパク質であるシトクロム P450 に共有結合することが確かめられた (Yang et al., 1974)。ミクロソームタンパク質との共有結合は BHA がプロスタグランジンシンセターゼとアラキドン酸あるいは西洋ワサビペルオキシダーゼと過酸化水素の存在下で反応させた時に生じた (Rahimtula, 1983)。

二量体である5,5'-ビ(3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール) の生成はBHAのラジカルの生成

を示唆している。BHAの水素原子が奪われると酸素中心のラジカルとなり、活性分子を生ずる (Halliwell and Gutteridge, 1989)。このラジカルがBHAの抗酸化作用やタンパク質付加体形成に関与していると考えられている (Halliwell and Gutteridge, 1989; Rahimtula, 1983)。

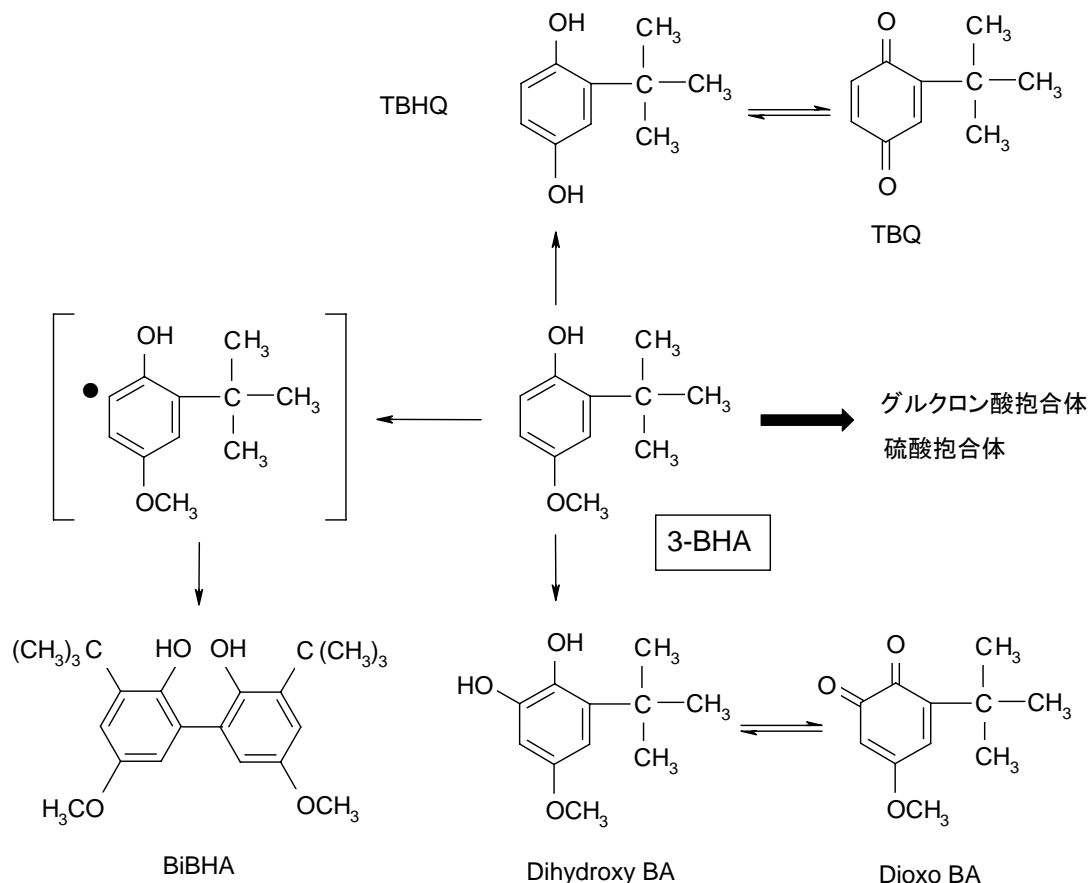


図 7-1 3-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソールの代謝経路図 (Clayson et al., 1990 から作成)

3-BHA: 3-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソール、Bi BHA: 5,5'-ビ(3-tert-ブチル-4-ヒドロキシアニソール)、Dihydroxy BA: 3-tert-ブチル-4,5-ジヒドロキシアニソール、Dioxo BA: 3-tert-ブチル-4,5-ジオキシアニソール、TBHQ: 3-tert-ブチルヒドロキノン、TBQ: 3-tert-ブチルベンゾキノン

以上から、BHAは、ヒト及び動物において経口投与後消化管から吸収される。吸収後、BHAは器官に広く分布し、肝臓で代謝される。代謝物は、主にBHAのグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体であり、次いでtert-ブチルヒドロキノンやtert-ブチルキノン及びそれらのグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体である。またBHAはラジカルを形成して、タンパク質付加体を形成する。ラットではタンパク質付加体は前胃に多く、次いで腺胃、肝臓、腎臓に分布する。投与後、ヒトにおいては2～11日以内に、動物では2～4日以内に投与量の大部分が尿中に排泄され、少量が糞中に排泄される。

7.2 疫学調査及び事例

BHAによる接触皮膚炎の症例があるが、食物経由のBHAのアレルギー報告はない (Cosmetic

Ingredient Review, 1984; Nordic Council of Ministers, 2002)。

2% BHA を湿疹様接触皮膚炎の患者 112 人にパッチテストし、3 人が陽性であった (Roed-Petersen and Hjorth, 1976)。

37歳の女性が新しいヘアカラーの 2回目の適用で頭皮と顔に痒みを伴う炎症性の浮腫が生じた。1% BHA及び構造類似の抗酸化剤である1% ブチルヒドロキシトルエン、0.3% *tert*-ブチルヒドロキノン、1% ヒドロキノンでパッチテストを行った結果、BHAとブチルヒドロキシトルエンは弱い陽性、*tert*-ブチルヒドロキノンに強い陽性であった。ヒドロキノンには陰性であった。BHAは皮内で脱メチル化して *tert*-ブチルヒドロキノンに変化し、交差反応として*tert*-ブチルヒドロキノンで陽性を示すと記述があり、ヘアカラー中のBHAのような保存料の関与を指摘している (Le Coz and Schneider, 1998)。

化粧品の Timodine[®]クリーム (商品名、ヒドロコルチゾン 0.5%、ニスタチン 100,000 単位/g、BHA 0.4%、その他の添加剤を含む。BHA は主として 3-異性体で、少量の 2-異性体を含む) に含有する BHA によるアレルギー性接触皮膚炎について、2 症例の報告がある。パッチテストで両症例とも分析用純度の BHA (2%) には陰性、医薬品純度の BHA (2%) には陽性であり、相反する結果が得られたが、その理由は不明である (Orton and Shaw, 2001)。

1986年に、食物とがんに関するオランダコホート研究 (NLCS) が、オランダの一般集団 (55歳から69歳までの120,852人の男女) を対象に開始された。食物からのBHAとブチルヒドロキシトルエンの摂取と胃がんとの関係を明らかにするために、約6.3年の追跡期間の後、データの揃っている192人の胃がん患者のBHAの摂取量と2,035人のサブコホート集団の症例-コホート分析に用いた。対象者は、3つのカテゴリー (0、>0~70、>70 μ g/日) に分類した。その結果、BHAを含むマヨネーズとサラダドレッシングの消費量と胃がんリスクとの関連はなかった。むしろ胃がんのリスクは、BHAの摂取量の増加に伴って統計学的には有意ではないが減少した (BHA >70 μ g/日摂取群の 0 μ g/日摂取群に対する比=0.57 (95%信頼区間: 0.25-1.30))。BHAの普段摂取している通常量と胃がんのリスクとの間に有意な関連性はなかった (Botterweck et al., 2000)。

以上から、BHA に刺激性はないが、ヒトの皮膚に感作反応を引き起こす可能性がある。食物経路での日常的な BHA の摂取による健康リスクに関しては、オランダでのコホート研究で胃がんとの関連性はみられていない。

7.3 実験動物に対する毒性

7.3.1 急性毒性

BHA の実験動物に対する急性毒性試験結果を表 7-1 に示す (Takahashi et al., 1985 ; 平賀ら, 1971)。

BHA の経口投与での LD₅₀ は、マウスで雄 1,100 mg/kg、雌 1,320 mg/kg (平賀ら, 1971)、ラットで雄 2,000 mg/kg、雌 2,200 mg/kg (平賀ら, 1971) であった。腹腔内投与での LD₅₀ は、雄の SD ラットで 881 mg/kg であった (Takahashi et al., 1985)。

マウス、ラットとも経口投与約 10 分後から歩行失調状態となり、腹臥、呼吸促迫、運動不能となり、投与後約 2 時間以降から死亡がみられた。解剖では胃腸の出血と潰瘍形成、肝臓のう

っ血が認められた (平賀ら, 1971)。

表 7-1 プチルヒドロキシアニソールの急性毒性試験結果

動物種等	試験法 投与方法	条件/投与量	結 果	文献
マウス 雄 10 匹/6 群	経口	オリーブ油溶解	LD ₅₀ : 1,100 mg/kg	平賀ら, 1971
マウス 雌 10 匹/7 群	経口	オリーブ油溶解	LD ₅₀ : 1,320 mg/kg	平賀ら, 1971
ラット 雄 10 匹/5 群	経口	オリーブ油溶解	LD ₅₀ : 2,000 mg/kg	平賀ら, 1971
ラット 雌 10 匹/5 群	経口	オリーブ油溶解	LD ₅₀ : 2,200 mg/kg	平賀ら, 1971
ラット SD 雄	腹腔内	ND	LD ₅₀ : 881 mg/kg	Takahashi et al., 1985

ND: データなし

7.3.2 刺激性及び腐食性

調査した範囲内では、BHA の実験動物に対する刺激性及び腐食性に関する試験報告は得られていない。

7.3.3 感作性

調査した範囲内では、BHA の実験動物に対する感作性に関する試験報告は得られていない。

7.3.4 反復投与毒性

BHA の実験動物に対する反復投与毒性試験結果を表 7-2 に示す。

BHA の反復投与毒性試験は、以下に示すイヌの 6 か月間混餌投与試験以外には適切な試験はなかった。

また、調査した範囲内では、BHA の吸入経路に関する試験報告は得られていない。

雌雄のビーグル犬 (雄3匹/群、雌3~4匹/群) にBHA 0、0.25、0.5、1.0% (0、54~62、111~112、219~231 mg/kg/日) を含む飼料を6か月間混餌投与した。一般状態に異常はなく、摂餌量の有意な低下が、雄では1.0%群で、雌では0.5%以上の群でみられ、体重増加抑制が用量依存的にみられた。血液学的検査では、散発的な血小板数の軽度な増加がみられた。血清生化学的検査では、主な変化としてアルブミン濃度の軽度の減少、アルカリホスファターゼ (ALP) 及びロイシンアミノペプチダーゼの増加がみられた。病理組織学的検査では、胃 (幽門部、底部)、食道、十二指腸の粘膜上皮にBHA投与に起因する変化はなかった。BHAの刺激性によると考えられる組織学的所見はなかった。食道下部の扁平上皮の細胞分裂指数は、対照群と変わらな

った。0.25%以上の雌雄の群で肝臓の重量増加がみられたが、肝細胞細胞質の染色性の軽度の低下がみられた他は病理組織学的な変化は観察されなかった (Tobe et al., 1986)。

雌雄のビーグル犬 (雄29匹、雌30匹) にBHA 0、1.0、1.3%を含む飼料を6か月間投与した。実測したBHAの総摂取量は、1.0%群の雌 61 g/匹、雄 70 g/匹、1.3%群の雌 47 g/匹、雄 77 g/匹であった。BHAの投与群に、摂餌量と体重増加量の減少がみられた。病理組織学的には、胃粘膜上皮の増殖や過形成病変はみられなかった。電子顕微鏡学的にも、食道下部及び胃への投与によると考えられる変化はみられなかった。また、肝臓重量は両投与群の雌雄で有意に増加し、甲状腺も1.0%群の雌雄及び1.3%群の雄で有意に増加した。肝臓にはエオシン好性の細胞質と脂肪化がみられ、微細構造では滑面小胞体の増殖と滑面小胞体に由来する渦巻状構造が観察された。肝細胞の酵素分析では、混合機能オキシダーゼ、UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、エポキシドヒドラーゼが有意に増加した。甲状腺の病理組織学的変化はみられなかった (Ikeda et al., 1986)。

以上から、イヌを用いた2つの6か月間混餌投与試験で、肝臓及び甲状腺の重量増加がみられた。肝臓及び甲状腺の重量増加は、一世代生殖毒性試験でBHAを7週間経口投与された親ラットでもみられている (Jeong et al., 2005)(7.3.5 生殖・発生毒性 参照)。

BHA投与に起因する毒性学的に意義のある変化はみられず、BHAのNOAELは求められなかった。

表 7-2 ブチルヒドロキシアニソールの反復投与毒性試験結果

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																												
イヌ ビーグル 雌雄 雄 3 匹/群 雌 3-4 匹/ 群	混餌 投与	6 か 月間	0、0.25、0.5、 1.0% (0、 54-62、 111-112、 219-231 mg/kg/日)	<p>体重増加抑制が用量依存的にみられた</p> <p>0.25%以上の群： 雄：A/G 比の低下、肝臓の絶対・相対重量増加 雌：肝臓の相対重量増加</p> <p>0.5%以上の群： 雄：アルブミン濃度の軽度の減少 雌：摂餌量の低下、ロイシンアミノペプチダーゼの増加</p> <p>1.0%群： 雄：摂餌量の低下、ALP 及びロイシンアミノペプチダーゼの増加 雌：ALP 及びγ-グルタミルトランスフェラーゼの増加 総タンパク質及びアルブミン濃度の減少、A/G 比の低下</p> <p>胃、食道、十二指腸の粘膜上皮に BHA 投与に起因する病理組織学的変化なし。 食道下部の扁平上皮の分裂指数に変化なし。肝臓の重量増加がみられたが病理組織学的には軽度の肝細胞細胞質の染色性の低下のみで顕著な変化なし</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">%</th> <th colspan="3">粘膜の上皮厚 (mm)</th> <th rowspan="2">食道下部分裂細胞(%)</th> </tr> <tr> <th>胃底</th> <th>幽門</th> <th>食道</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>0.93</td> <td>0.89</td> <td>0.043</td> <td>0.48</td> </tr> <tr> <td>0.25</td> <td>0.86</td> <td>0.90</td> <td>0.049</td> <td>0.62</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>0.93</td> <td>0.99</td> <td>0.045</td> <td>0.56</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>0.97</td> <td>0.99</td> <td>0.049</td> <td>0.49</td> </tr> </tbody> </table>	%	粘膜の上皮厚 (mm)			食道下部分裂細胞(%)	胃底	幽門	食道	0	0.93	0.89	0.043	0.48	0.25	0.86	0.90	0.049	0.62	0.5	0.93	0.99	0.045	0.56	1.0	0.97	0.99	0.049	0.49	Tobe et al., 1986
%	粘膜の上皮厚 (mm)			食道下部分裂細胞(%)																													
	胃底	幽門	食道																														
0	0.93	0.89	0.043	0.48																													
0.25	0.86	0.90	0.049	0.62																													
0.5	0.93	0.99	0.045	0.56																													
1.0	0.97	0.99	0.049	0.49																													

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																																																																																																												
イヌ ビーグル 雌雄 29-30 匹	混餌 投与	6 か 月間	0、1.0、1.3% 総摂取量： 1.0%群：雌 61 g/匹、雄 70 g/匹、 1.3%群：雌 47 g/匹、雄 77 g/匹	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="7">結 果</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>肝臓(g)</th> <th>副腎(g)</th> <th>甲状腺(g)</th> <th>腎臓(g)</th> <th colspan="2">最終体重(kg)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0%</td> <td>323.60</td> <td>1.67</td> <td>1.01</td> <td>58.46</td> <td colspan="2">12.73</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>515.66*</td> <td>1.47</td> <td>1.16*</td> <td>57.06</td> <td colspan="2">11.28</td> </tr> <tr> <td>1.3</td> <td>437.22*</td> <td>1.72</td> <td>1.10*</td> <td>53.18</td> <td colspan="2">10.21*</td> </tr> <tr> <th>雌</th> <th colspan="6"></th> </tr> <tr> <td>0%</td> <td>255.90</td> <td>1.92</td> <td>0.85</td> <td>40.90</td> <td colspan="2">10.28</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>431.44*</td> <td>1.82</td> <td>1.15*</td> <td>45.07</td> <td colspan="2">10.11</td> </tr> <tr> <td>1.3</td> <td>339.25*</td> <td>1.37</td> <td>0.75</td> <td>35.45</td> <td colspan="2">7.05*</td> </tr> </tbody> </table> <p>*P < 0.05</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">対照群に対する増加活性量 (%)</th> </tr> <tr> <th>肝細胞酵素</th> <th>1.0%</th> <th>1.3%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>グルタチオン-S-トランスフェラーゼ</td> <td>雄 42.5</td> <td>雌 46.4</td> </tr> <tr> <td></td> <td>雌 62.7</td> <td>雄 67.6</td> </tr> <tr> <td>エホキントヒトラーゼ</td> <td>雄 37.5</td> <td>雌 78.0</td> </tr> <tr> <td></td> <td>雌 49.4</td> <td>雄 49.4</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">対照群に対する増加活性量 (%、雌雄)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>1.0%</th> <th>1.3%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>アミノリンテメチラーゼ</td> <td>29.9</td> <td>41.1</td> </tr> <tr> <td>アミノヒドロキシラーゼ</td> <td>変化なし</td> <td>変化なし</td> </tr> <tr> <td>UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ</td> <td>81.1</td> <td>63.3</td> </tr> <tr> <td>チトクローム c レダクターゼ</td> <td>8.0</td> <td>30.2</td> </tr> <tr> <td>チトクローム P-450</td> <td>24.7</td> <td>35.2</td> </tr> <tr> <td>チトクローム b₅</td> <td>48.8</td> <td>56.3</td> </tr> <tr> <td>タンパク質</td> <td>変化なし</td> <td>変化なし</td> </tr> </tbody> </table>	結 果							雄	肝臓(g)	副腎(g)	甲状腺(g)	腎臓(g)	最終体重(kg)		0%	323.60	1.67	1.01	58.46	12.73		1.0	515.66*	1.47	1.16*	57.06	11.28		1.3	437.22*	1.72	1.10*	53.18	10.21*		雌							0%	255.90	1.92	0.85	40.90	10.28		1.0	431.44*	1.82	1.15*	45.07	10.11		1.3	339.25*	1.37	0.75	35.45	7.05*		対照群に対する増加活性量 (%)			肝細胞酵素	1.0%	1.3%	グルタチオン-S-トランスフェラーゼ	雄 42.5	雌 46.4		雌 62.7	雄 67.6	エホキントヒトラーゼ	雄 37.5	雌 78.0		雌 49.4	雄 49.4	対照群に対する増加活性量 (%、雌雄)				1.0%	1.3%	アミノリンテメチラーゼ	29.9	41.1	アミノヒドロキシラーゼ	変化なし	変化なし	UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ	81.1	63.3	チトクローム c レダクターゼ	8.0	30.2	チトクローム P-450	24.7	35.2	チトクローム b ₅	48.8	56.3	タンパク質	変化なし	変化なし	Ikeda et al., 1986
結 果																																																																																																																	
雄	肝臓(g)	副腎(g)	甲状腺(g)	腎臓(g)	最終体重(kg)																																																																																																												
0%	323.60	1.67	1.01	58.46	12.73																																																																																																												
1.0	515.66*	1.47	1.16*	57.06	11.28																																																																																																												
1.3	437.22*	1.72	1.10*	53.18	10.21*																																																																																																												
雌																																																																																																																	
0%	255.90	1.92	0.85	40.90	10.28																																																																																																												
1.0	431.44*	1.82	1.15*	45.07	10.11																																																																																																												
1.3	339.25*	1.37	0.75	35.45	7.05*																																																																																																												
対照群に対する増加活性量 (%)																																																																																																																	
肝細胞酵素	1.0%	1.3%																																																																																																															
グルタチオン-S-トランスフェラーゼ	雄 42.5	雌 46.4																																																																																																															
	雌 62.7	雄 67.6																																																																																																															
エホキントヒトラーゼ	雄 37.5	雌 78.0																																																																																																															
	雌 49.4	雄 49.4																																																																																																															
対照群に対する増加活性量 (%、雌雄)																																																																																																																	
	1.0%	1.3%																																																																																																															
アミノリンテメチラーゼ	29.9	41.1																																																																																																															
アミノヒドロキシラーゼ	変化なし	変化なし																																																																																																															
UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ	81.1	63.3																																																																																																															
チトクローム c レダクターゼ	8.0	30.2																																																																																																															
チトクローム P-450	24.7	35.2																																																																																																															
チトクローム b ₅	48.8	56.3																																																																																																															
タンパク質	変化なし	変化なし																																																																																																															

ALP: アルカリホスファターゼ

7.3.5 生殖・発生毒性

BHA の実験動物に対する生殖・発生毒性試験結果を表 7-3 に示す。

マウス

ICIマウスに、BHAを500 mg/kg/日の用量で妊娠 7週間前から妊娠18日目まで強制経口投与した。母動物の死亡率は25%であった。胎児毒性、催奇形性の有意な所見はなかった (Clegg, 1965)。

BHAと代謝物であるtert-ブチルヒドロキノンとtert-ブチルキノンは妊娠マウスの脂肪組織と肝臓に高い親和性があり、容易に胎盤を通過するため胎児は妊娠マウスの暴露濃度に依存して暴露されるという報告がある (Ahmed et al., 1991)。

ラット

雌雄のSDラットに交尾前少なくとも14日間、既にBHA 0.005%を含む飼料に、さらに0、0.125、0.25、0.5%のBHAを加えて混餌投与した。雌は妊娠期から授乳期まで連続して投与した試験がある。児動物は90日齢まで同用量のBHAを混餌投与した。出生後、0.5%投与群では児動物の成長が阻害され、出生後死亡率の微増、回転かご法による運動量の増加傾向がみられた。母動物毒性はみられていない (Vorhees et al., 1981)。

雌雄の SD ラットには妊娠 2 週間前から授乳期まで、児動物には 13 週齢まで、BHA 0、10、100、500 mg/kg/日を強制経口投与した一世代生殖試験がある。F₀ では体重に影響はなかった。100 mg/kg/日以上 F₀ 雄の群に肝臓相対重量の増加、血清テストステロン濃度の低下がみられた。500 mg/kg/日群では、妊娠までの同居日数が増加したが、受胎率、妊娠期間、出産率、腹児数、性比に変化はなかった。また、雄群で甲状腺相対重量及び副腎絶対・相対重量の増加、脾臓絶対・相対重量及び腹葉前立腺絶対重量の減少、血清サイロキシン濃度の低下がみられ、雌群では肝臓絶対・相対重量の増加、副腎絶対重量の増加がみられた。出生 21 日目の F₁ では、500 mg/kg/日群の雌雄に体重減少がみられた他、雄群で脳相対重量の増加、包皮分離の遅延が、雌群では肝臓絶対・相対重量の減少、膈開口の遅延がみられた。13 週齢の F₁ では、10 mg/kg/日以上の雄の群で脾臓絶対・相対重量の減少、精子の形態学的な変化、雌群で膈絶対・相対重量及び脾臓絶対重量の減少がみられ、500 mg/kg/日の雌雄の群で甲状腺ろ胞上皮高の増加、上皮細胞の剥離と空胞化、肝臓絶対・相対重量の増加が、雄群では体重減少、精巣絶対重量及び腹葉前立腺絶対・相対重量の減少、精子運動性の低下、血清テストステロン濃度の低下が、雌群では副腎絶対・相対重量の増加、発情周期の軽度短縮、血清サイロキシン濃度の低下、血清コレステロール濃度の増加がみられた。著者らは、F₁ 児動物の 500 mg/kg でみられた所見は成長遅滞による全身的な障害から起因する可能性もあるとしつつ、その作用は弱いものの生殖器・副生殖器の重量減少、ステロイドホルモンや甲状腺ホルモン濃度の減少、甲状腺機能の低下を示す病理組織学的変化（ろ胞上皮細胞の高さの増加、空胞化、剥離。疎なコロイド液貯留、ろ胞径減少）がみられることから、BHA は内分泌かく乱作用を有する疑いがあると結論している (Jeong et al., 2005)。

これに関連して、*in vitro* の試験ではあるが、ヒト乳がん由来 MCF-7 細胞を用いて BHA を検討したところ、作用の程度は低いもののエストロゲン作用がみられた (大久保ら, 2003)。また、*in vitro* でのヒト・エストロゲン受容体を介した転写活性及び乳がん細胞 (ZR-75、MCF-7) の増殖試験で、BHA の転写活性は 17β-エストラジオールより弱く、40~50%の転写活性率で比較すると 17β-エストラジオール 10⁻¹¹ M 濃度に対して BHA 10⁻⁵ M 濃度と、転写活性はかなり弱い (Jobling et al., 1995)。

ウサギ

妊娠NZWウサギに食品グレードのBHA 50、200、400 mg/kgを妊娠 7~18日目まで強制経口投与したが、母動物、児動物に投与に関連した影響はみられなかった (Hansen and Meyer, 1978)。

ブタ

妊娠ブタ (Danish Landrace) に BHA 0、0.5、1.9、3.7% (0、50、200、400 mg/kg/日) となるよう妊娠 0 日から 110 日まで混餌投与し、妊娠 110 日目に帝王切開した。BHA は生殖指標にも、胎児における異常頻度にも影響はなかった。母動物の摂餌量はどの群でも変わらなかったが、体重増加量は 3.7% (400 mg/kg/日) 群で有意に低かった。肝臓と甲状腺の絶対・相対重量は用量依存的に増加したが、肝臓には病理組織学的変化はなく、甲状腺は、3.7%群の一部の動物でサイログロブリンを含む大きなろ胞がみられた。試験群の食道及び胃において、投与に関連する変化は観察されなかった (Wurtzen and Olsen, 1986)。

サル

無処置の雄アカゲザルとの交尾後、雌にBHAとブチルヒドロキシトルエンの混合物を毎日の摂取量が100 mg/kg (各50 mg/kg含む) になるようにして2年間混餌投与した。母動物毒性はなく、児動物は正常であった (Allen, 1976)。

以上、BHA による催奇形性はみられていない。雌雄の SD ラットに交尾前少なくとも 14 日間、雌は妊娠期から授乳期まで連続して混餌投与した試験で、0.5%混餌投与群の児動物の成長が阻害され、出生後死亡率の微増、回転かご法による運動量の増加傾向がみられた (Vorhees et al., 1981)。また、ラットの一世代生殖試験では、BHA を強制経口投与し、生殖能に影響はみられないものの、比較的高用量である 500 mg/kg/日群で発育遅延による障害がみられている。この試験では 10 mg/kg/日以上で精子の形態学的な変化を含む内分泌かく乱作用を疑わせる所見が得られた (Jeong et al., 2005)。

表 7-3 ブチルヒドロキシアニソールの生殖・発生毒性試験結果

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
マウス ICI	強制経口 投与	妊娠 7 週間前 から妊娠 18 日 目まで	落花生油に BHA を加えて 500 mg/kg/日	母動物の致死率：25% 胎児毒性、催奇形性の有意な所見なし	Clegg, 1965
ラット SD 雌雄	混餌投与	交尾前少なく とも 14 日間、 雌は妊娠期か ら授乳期まで、 児動物は 90 日 齢まで	BHA 0.005%を 含む飼料にさら に 0、0.125、0.25、 0.5%の BHA を加 えた	0.5%群： 児動物の成長阻害、出生後死亡率の微 増、回転かご法による運動量の増加傾向 母動物毒性なし	Vorhees et al., 1981

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
ラット SD 雌雄	強制経口 投与 一世代生 殖試験	妊娠2週間前 から授乳期ま で、児動物は 13週齢まで	0、10、100、500 mg/kg/日	<p>F₀</p> <p>体重に影響はなかった</p> <p>100 mg/kg/日以上の群： 雄：肝臓相対重量の増加、血清テ ストステロン濃度の低下</p> <p>500 mg/kg/日群： 雌雄：妊娠までの同居日数の増加 雄：甲状腺相対重量の増加、脾臓絶 対・相対重量の減少、副腎絶対・ 相対重量の増加、腹葉前立腺絶 対重量の減少、血清サイロキシ ン濃度の低下 雌：肝臓絶対・相対重量の増加、副 腎絶対重量の増加</p> <p>F₁ (出生 21 日目)</p> <p>500 mg/kg/日群： 雌雄：体重減少 雄：脳相対重量の増加、包皮分離の 遅延 雌：肝臓絶対・相対重量の減少、膈 開口の遅延</p> <p>F₁ (13 週齢)</p> <p>10 mg/日以上群： 雄：脾臓絶対・相対重量の減少、精 子の形態学的な変化 雌：膈絶対・相対重量の減少、脾臓 絶対重量の減少</p> <p>500 mg/kg/日群： 雌雄：甲状腺ろ胞上皮高の増加、上 皮細胞の剥離と空胞化、肝臓絶 対・相対重量の増加 雄：体重減少、精巣絶対重量の減少、 腹葉前立腺絶対・相対重量の減 少、精子運動性の低下、血清テ ストステロン濃度の低下 雌：副腎絶対・相対重量の増加、発 情周期の軽度短縮、血清サイロ キシン濃度の低下、血清コレス テロール濃度の増加</p>	Jeong et al., 2005
ウサギ NZW	強制経口 投与	妊娠 7-18 日目 まで	50、200、400 mg/kg	母動物、児動物：投与に関連した影響な し	Hansen & Meyer, 1978
ブタ (Danish Landrace)	混餌投与	妊娠 0-110 日 間、妊娠 110 日 目に帝王切 開	0、0.5、1.9、3.7% (0、50、200、400 mg/kg/日)	<p>母動物： 400 mg/kg/日群：体重増加量有意に低 下 生殖指標にも、胎児における欠損頻度 にも影響なし</p> <p>母動物の食道及び胃に投与に関連する 変化は観察されなかった。肝臓と甲状腺 の絶対・相対重量は用量依存的に増加 肝臓には病理組織学的変化はなく、甲 状腺は、3.7%群の一部の動物でサイログ ロブリンを含む大きなろ胞がみられた。</p>	Wurtzen & Olsen, 1986

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
アカゲザル 雌	混餌投与	交尾後-2年間	50 mg/kg/日、飼料 に同量のブチル ヒドロキシトル エンを含む	母動物毒性なし 児動物は正常	Allen, 1976

7.3.6 遺伝毒性

BHA の遺伝毒性試験結果を表 7-4 に示す。

in vitro

a. 突然変異

BHAはネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 を用いた復帰突然変異試験で、ポリ塩化ビフェニルで誘導されたラット肝臓のS9添加条件下で最大 1,000 μ g/プレートまで陰性であった (Bonin and Baker, 1980; Joner, 1977)。ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験でBHAはS9mixの添加の有無にかかわらず陰性であった (Hageman et al., 1988; Kawachi et al., 1980; Matsuoka et al., 1990; Williams et al., 1990)。代謝系無添加条件下でのTA1535、TA98を用いたプレインキュベーション法 (10^{-6} ~ 10^{-4} M)でも陰性であった (Rosin and Stich, 1979)。BHAを0.75%含む飼料を試験前10日間にわたって与えたマウスを用いた宿主経路法で、ネズミチフス菌TA98またはTA100で陰性であった (Batzinger et al., 1978)。

遺伝子突然変異では、ラット肝細胞でHGPRT位に突然変異を誘導しなかった (Williams et al., 1990)。ラット肝臓S9またはマイクロソームの添加条件下で、培養チャイニーズハムスター卵巣線維芽細胞 (CHO細胞) にBHA (1~10 μ M) を加えても、6-チオグアニン耐性突然変異を誘導しなかった (Tan et al., 1982)。また、ラットまたはハムスターの肝細胞の存在下で、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79細胞) に0.1~0.3 mM (18~54 μ g/mL) の濃度で6-チオグアニン耐性突然変異を誘導しなかった (Rogers et al., 1985)。なお、BHA添加で黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の耐性菌が出現したという報告がある (Degre and Saheb, 1982)。

b. 染色体異常

BHAは、 10^{-6} ~ 10^{-3} Mの濃度でチャイニーズハムスター肺細胞 (Don細胞) に染色体異常を誘発しなかった (Abe and Sasaki, 1977)。染色体異常は、0.03 mg/mL (1.7×10^{-4} M) BHAの濃度で、培養チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL細胞) で誘導されなかった (Ishidate and Odashima, 1977)。

一方、CHO細胞を用いた染色体異常試験でS9mix (カタラーゼを含む) の添加、無添加にかかわらず陰性であったが、洗浄マイクロソーム (カタラーゼを含まない) にカタラーゼを添加しない場合に陽性であった (Murli and Brusick, 1992)。CHO細胞を用いた別の染色体異常試験では、洗浄マイクロソームにカタラーゼを添加した条件下では弱い陽性が得られ、カタラーゼ無添加の条件下では強い陽性であった (Phillips et al., 1989)。CHL細胞を用いた染色体異常試験でBHAとその代謝物はS9mixの添加の条件下でのみ陽性であった。これらは、BHAがS9mixによって代謝され、その過程で生じるCHO細胞に陽性である過酸化水素 (Phillips et al., 1984) のような活性

酸素種の発生による結果であることを暗示する。BHAの代謝物 (Matsuoka et al., 1990) 及びtert-ブチルヒドロキノンへの代謝 (Iverson, 1999) による結果との指摘がある。

V79 細胞を用いた小核試験で、陰性結果が得られている (Horvathova et al., 1999)。

c. DNA 損傷性

BHAは、 10^{-6} ~ 10^{-3} Mの濃度でDon細胞に姉妹染色分体交換を誘発しなかった (Abe and Sasaki, 1977)。また、V79細胞、CHO細胞にも姉妹染色分体交換を誘発しなかった (Rogers et al., 1985; Williams et al., 1990)。

BHA は ssΦX-174 バクテリオファージ DNA アッセイで DNA 鎖を切断しなかった (Schilderman et al., 1993)。

V79 細胞に BHA 処理した DNA 損傷試験で陰性であった (Horvathova et al., 1999; Slamenova et al., 2003)。

d. その他

BALB/3T3 細胞を用いた形質転換試験で陰性であった (Sakai et al., 1997)。

in vivo

a. 突然変異

ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性致死試験で、弱い陽性 (Prasad and Kamra, 1974) と陰性 (Miyagi and Goodheart, 1976) の結果が得られている。

b. DNA 損傷

ラットに 1 g/kg の BHA を単回経口投与し、前胃、腺胃、腎臓の DNA と RNA に結合していないことを報告している (Hirose et al., 1987b)。非常に感度の高い³²P]ポストラベリング法では、1 g/kg の BHA の経口投与でラットの前胃に DNA 付加体形成を誘導しなかった (Saito et al., 1989)。また、ラットの前胃と腺胃に酸化的 DNA 損傷を誘導しなかった (Ito et al., 1991)。

DNA 修復試験はラット肝細胞で陰性であり (Williams et al., 1989,1990)、ラット前胃で DNA 切断を引き起こさなかった (Morimoto et al., 1991)。ddY マウスに 500~1,000 mg/kg BHA の高用量を経口投与したコメットアッセイで、3 時間後に腺胃と結腸に DNA 損傷を引き起こした (Sasaki et al., 2002)。

以上から、*in vitro* の試験では、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、小核試験、姉妹染色分体交換試験、DNA 鎖切断試験、細胞形質転換、宿主経路、DNA 傷害試験でいずれも陰性であった。代謝活性化系を添加した染色体異常試験では陽性の結果が得られているが、BHA の代謝にかかわる何らかの影響がうかがわれた。

in vivo の試験では、DNA との付加体形成では陰性であったが、コメットアッセイで高用量の BHA で腺胃と結腸の DNA 損傷が検出されている。

BHA はほとんどの試験で陰性であり、BHA 自体は遺伝毒性を示さないと判断する。

表 7-4 ブチルヒドロキシアニソールの遺伝毒性試験結果

(IARC, 1986; Whysner and Williams, 1996から改変、追加)

	試験系	試験材料	細胞/系統	用量	結果 -S9 +S9	文献	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異	ネズミチフス菌	TA98、100、1535、1537、1538	>1,000 μ g/plate	- -	Joner, 1977	
		ネズミチフス菌	TA98、100、1535、1537、1538	>1,000 μ g/plate	- -	Bonin & Baker, 1980	
		ネズミチフス菌	TA98、100	ND	- -	Kawachi et al., 1980	
		ネズミチフス菌	TA97、100、102、104	1-1,000 μ g/plate	- -	Hageman et al., 1988	
		ネズミチフス菌	TA97、98、100、102	ND	- -	Matsuoka et al., 1990	
		ネズミチフス菌	TA98、100、1535、1537、1538	ND	- -	Williams et al., 1990	
		ネズミチフス菌	TA1535、98	10^{-6} - 10^{-4} M	- ND	Rosin & Stich, 1979	
	宿主経由	ネズミチフス菌	マウス TA98、TA100 腹腔内投与	0.75% 飼料	-	Batzinger et al., 1978	
	遺伝子突然変異	ラット	肝(ARL)細胞/HGPRT	ND	- ND	Williams et al., 1990	
		チャイニーズハムスター	CHO 細胞/HGPRT	1-10 μ M	- -	Tan et al., 1982	
		チャイニーズハムスター	V79 細胞/HGPRT	0.1-0.3 mM (18-54 μ g/mL)	- -	Rogers et al., 1985	
	染色体異常	チャイニーズハムスター	Don 細胞	10^{-6} - 10^{-3} M	- ND	Abe & Sasaki, 1977	
		チャイニーズハムスター	CHL 細胞	0.03 mg/mL (1.7×10^{-4} M)	- ND	Ishidate & Odashima, 1977	
		チャイニーズハムスター	CHO 細胞	33 100 μ M 25 μ M 62-250 μ M カタラーゼ添加 カタラーゼ無添加	- - - + ND - ND + ND (+)* ND +*	Phillips et al., 1989	
		チャイニーズハムスター	CHL 細胞	0.05-0.1 mg/mL 0.125 mg/mL	- - - +	Matsuoka et al., 1990	
		チャイニーズハムスター	CHO 細胞	62.5-500 μ M 331 μ M カタラーゼ添加 カタラーゼ無添加	- - ND -* ND +*	Murli & Brusick, 1992	
		小核	チャイニーズハムスター	V79 細胞	0.5 mmol/L	- ND	Horvathova et al., 1999
		姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター	Don 細胞	10^{-6} - 10^{-3} M	- ND	Abe & Sasaki, 1977
	チャイニーズハムスター		V79 細胞	0.1-0.3 mM	- -	Rogers et al., 1985	
	チャイニーズハムスター		CHO 細胞	ND	- -	Williams et al., 1990	
	DNA 鎖切断と	ss Φ X-174 DNA	バクテリオファージ	ND	-	Schilderman et al.,	

	試験系	試験材料	細胞/系統	用量	結果 -S9 +S9	文献
	修復		ジ			1993
	DNA 損傷 (コ メットアッセ イ)	チャイニーズハム スター	V79 細胞	0.5 mmol/L, 120 分	—	Horvathova et al., 1999
		チャイニーズハム スター	V79 細胞	0.25, 0.5 mM 0-48 hr.	—	Slamenova et al., 2003
	細胞形質転換	マウス	BALB/3T3 細胞	10, 20 μ g/ml	—	Sakai et al., 1997
in vivo	伴性劣性致死 試験	シヨウジョウバエ	注射	0.001% 0.2 μ L	(+)	Prasad & Kamra, 1974
		シヨウジョウバエ	混餌 24 時間	1%	—	Miyagi & Goodheart, 1976
	DNA 付加体形 成	F344 ラット	前胃、腺胃、腎臓	1 g/kg	—	Hirose et al., 1987b
		F344 ラット	前胃	1 g/kg	—	Saito et al., 1989
		F344 ラット	前胃、腺胃	ND	—	Ito et al., 1991
	DNA 修復	F344 ラット	肝細胞	ND	—	Williams et al., 1989,1990
	DNA 損傷(コ メットアッセ イ)	F344 ラット	前胃	220 mg/kg	—	Morimoto et al., 1991
		ddY マウス	3 時間腺胃 結腸	500 mg/kg 1,000 mg/kg 500, 1,000 mg/kg	— + +	Sasaki et al., 2002

+ : 陽性、— : 陰性、(+) : 弱い陽性、ND: データなし、*: 洗浄マイクロソーム、CHL 細胞: チャイニーズハムスター肺線維芽細胞、CHO 細胞: チャイニーズハムスター卵巣線維芽細胞、V79 細胞: チャイニーズハムスター肺線維芽細胞、Don 細胞: チャイニーズハムスター肺細胞

7.3.7 発がん性

BHA の実験動物に対する発がん性試験は、Ito ら (1982,1983) がラットで発がん性を初めて提起して以来、数多くの報告がされてきた。ここでは、国際機関での評価に用いられた試験報告及び 1 日許容摂取量を算出するのに用いられる代表的な試験報告及び関連試験を表 7-5 に示す。

マウス

雄の B6C3F₁ マウスに、0.5%及び 1%の BHA を 104 週間混餌投与し、88 週以降の両投与群の前胃に乳頭腫が誘発された。扁平上皮がんの出現頻度に有意差は認められなかった (Masui et al., 1986)。

ラット

Ito ら (1982,1983) は、雌雄 F344 ラットに 0、0.5、2% BHA を 104 週間混餌投与して、前胃に特異的に扁平上皮がんの出現することを初めて報告した (Ito et al., 1982,1983)。

雄の F344 ラットに、BHA 0、0.125、0.25、0.5、1、2% (0、54.8、109.6、230.4、427.6、1,322.6 mg/kg/日) を、104 週間混餌投与した。0.5%以上の群で有意な用量依存的な体重増加量の抑制がみられたが、摂餌量や一般状態に有意な変化はなかった。0.25%以上の群で用量依存的に有意な前胃上皮の過形成がみられ、2%群では 100%に達していた。1%以上の群で用量依存的に有意な前胃の乳頭腫が発現し、2%群で 100%の発生率であった。また、2%群で前胃の扁平上皮が

んが有意に増加し 22%の発生率であった (Ito et al., 1986a)。本評価書では、前胃上皮の過形成を指標にして、NOAEL は 0.125% (54.8 mg/kg/日) と判断した。

雄F344ラットに1%及び2%のBHAを104週間混餌投与し、前胃の過形成から扁平上皮がんの発生にいたる経時的变化を検討した試験で、乳頭腫は8週目に2%群に出現し、56週目には1%群に出現した。がんは48週目に2%群に出現したが、1%群ではみられなかった (Masui et al., 1986)。

多臓器中期発がん性試験が行われている。雄の F344 ラットに、ジエチルニトロソアミン等の 5 種類の発がん物質を単回あるいは反復して 4 週間にわたり腹腔内、皮下あるいは飲水投与しイニシエーション処置を施し、その後、0、0.08、0.4%の BHA を 24 週間混餌投与した。その結果、肝臓相対重量の有意な増加がみられ、膀胱に乳頭状あるいは結節状の過形成が有意に増加したが、前胃での病変は有意ではなかった (Hirose et al., 1997)。

雄の F344 ラットに、0、2%の BHA を 104 週間混餌投与した。前胃に乳頭腫が 16/18 (89%)、扁平上皮がんが 2/18 (11%) の頻度で観察された。扁平上皮がんの免疫組織化学的染色で p53 陽性細胞、cyclin D1 陽性細胞は共に検出されなかった。また、PCR-SSCP (polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism) 法を用いた H-ras と p53 遺伝子突然変異も扁平上皮がん中にみられなかった (Kaneko et al., 2002)。

雄の F344、SHR、Lewis、SD ラットを用いて、BHA による前胃の扁平上皮がんの出現頻度を検討したところ、系統差のあることがわかった (Tamano et al., 1998)。

雄の F344 ラットに、0.05% N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミンを、4 週間飲水投与してイニシエート処置とし、32 週間 2.0% BHA を混餌投与した。膀胱の乳頭腫/がんの発生頻度及び上皮基底膜 10 cm あたりの個数は、N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン単独群より BHA を混餌投与することによって有意に増加した。N-メチル-N-ニトロソウレアでも同様に膀胱の病変を促進した (Ito et al., 1986b)。

ラットの前胃に対しても、N-メチル-N-ニトロソウレアで前処理すると乳頭腫及びがんの発生頻度は有意に増加した (Ito et al., 1986b)。

ハムスター

雄シリアンゴールデンハムスターに、1%及び2%の BHA を 104 週間混餌投与した。乳頭腫は8週目に両投与群に出現し、その頻度はラットより高かった。扁平上皮がんが4匹 (10.0%) で 64 週目以降生存した 2%群でみられ、1%群では4匹 (7.3%) で観察された。著者らは同時に行ったマウスとラットの結果を併せて、BHA はラットとハムスター、おそらくマウスに対してもその前胃にがんを誘発すること、ならびに最初に過形成が、次いで乳頭腫がみられた後 40 週目以降から扁平上皮がんが連続して生じたことから、投与直後の著しい過形成が長期間の影響によりがん化に至ったものと推測している (Masui et al., 1986)。

ジャコウネズミ

前胃を持たない雌雄のジャコウネズミ (スunks) (*Suncus murinus*) に、BHA 0、0.5、1.0、2.0% (雄：0、520、1,040、算出不能 mg/kg/日；雌：0、810、1,560、算出不能 mg/kg/日) を含む飼料を 80 週間混餌投与した。その結果、最初の 8 週目までに、2%群の全動物は胃腸管の出血で死亡した。それ以外のほとんどの動物は、52 週を超えて生存した。0.5、1.0%群では、雌雄共に

肺腺腫様過形成が 50～67%で有意な頻度で見られ、0.5%群の雌雄で各 1 匹、1.0%群の雄の 1 匹で肺腺腫がみられた。そのほかの腫瘍として、毛胞脂腺 (pilosebaceous gland) 腫瘍、じゃ香腺腫瘍、乳がん、腎臓血管腫などがみられたが、有意ではなかった。著者らは、BHA はジャコウネズミの肺腺腫様過形成を誘導するとしている (Amo et al., 1990)。

関連試験

BHA の発がん性を解明する目的の短期及び中期の試験が行われており、関連試験として以下に記載する。

ラット

雌雄のWistarラット (10匹/群) に、BHA 0、0.25、0.50、0.75、1.0、2.0%を含む飼料を2週間混餌投与した。次いで、ブロモジオキシウリジン (BrdU) を腹腔内投与して、ラベリングインデックス (細胞分裂指数) を測定した。その結果、食道、前胃、腺胃、小腸、結腸/直腸でBHAの細胞増殖促進作用がみられ、これらの組織はBHAの標的であると推察された (Verhagen et al., 1990)。

雄のF344ラット (5匹/群) にBHA 0、0.1、0.25、0.5、2%を含む飼料を13週間混餌投与し、その後BrdUを腹腔内投与した試験では、2%群で体重増加量の有意な減少と前胃における細胞増殖がみられた。また、0.5%以上の群にラベリングインデックス (細胞分裂指数) の有意な増加がみられた (Clayson et al., 1986)。

雌雄のWistarラットにBHA 0、0.125、0.5、2%を含む飼料を90日間混餌投与し、90日後には2%群に前胃の顕著な角化亢進と過形成がみられ、その程度は0.5%群でやや軽度、0.125%群ではごく軽度であった (Altman et al., 1986)。

雄のF344ラットにBHAを0、2%含む飼料を混餌投与し、7日目までの初期の前胃の過形成を検討した。また、24週間投与後、24週間の回復期間を設ける試験も行った。その結果、前胃のDNA合成は3日以内に増加し、7日後の過形成の出現頻度は100%であった。前胃上皮中の*c-fos*及び*c-myc*がん遺伝子は投与15分後に発現した。24週間試験では中等度の過形成がすべての動物にみられたが、その後の24週間の回復期間中に中等度の過形成は40%まで減少した (Ito et al., 1993)。

前胃に生じる病変の可逆性がラットで検討された。雄のF344ラットにBHA 0、2%を含む飼料を72週間混餌投与後、24週間の回復試験を行い、96週間目で胃の病理組織学的検査を行った。前胃の過形成と乳頭腫は可逆性であったが、基底細胞の過形成は投与を中止した後も持続した。前胃に誘導された過形成と乳頭腫の進行には、継続的なBHAの投与が必要と考察されている (Masui et al., 1987)。

雄のF344ラットに、BHA 2%を24週間混餌投与して半数を検査し、残り半数については24週間BHAを含まない基礎飼料で飼育した。24週間混餌投与群では前胃の重度の過形成と中等度の基底細胞過形成がほぼ全例にみられたが、基礎飼料に切り替えて飼育した残りの動物では退縮したことから、前胃にみられる病変は可逆性であることが示された (Kagawa et al., 1993)。

ハムスター

雄のシリアンゴールデンハムスターに、2-異性体、3-異性体、異性体混合物をそれぞれ1%含

む飼料を1、2、3、4、16週間混餌投与し、それぞれの投与期間ごとに前胃に生じる過形成と乳頭状病変を病理組織学的に調べた。なお、異性体混合物は、約98%の3-異性体と1%の2-異性体の混合物である。その結果、基底膜あたりの過形成は、1% 2-異性体ではほとんどみられず、1% 3-異性体及び1%異性体混合物で同程度に強かった。したがって、異性体混合物投与による前胃の発がん作用は、そのほとんどが3-異性体によるものであった (Ito et al., 1986b)。

サル

雌のカニクイザルに BHA 0、125、250mg/kg/日を 5 日/週、84 日間強制経口投与したところ、肝臓の重量増加が 125mg/kg/日以上群でみられ、肝臓のモノオキシゲナーゼ活性の減少、食道上皮の分裂指標の増加もみられた。最大耐量程度の BHA を投与されたげっ歯類と同様の変化がいくつかは観察されたが、BHA を投与されたラットの前胃にみられたような増殖性の病理組織学的変化は、サルの食道及び胃にみられなかった (Iverson et al., 1986)。

以上、Ito ら (1982,1983) がラットの前胃で BHA の発がんを初めて報告して以来、数多くの報告がされてきた。前胃のほかにも、ジャコウネズミに肺腺腫様過形成 (Amo et al., 1990) や多臓器中期発がん性試験でラットの膀胱に過形成 (Hirose et al., 1997) の報告がある。

病変の発生部位に関して、BHA の混餌投与によってラットの前胃の扁平上皮に過形成や乳頭腫が生じたが、前胃のないイヌやブタ (生殖・発生毒性の項参照) ではそのような所見はみられていない。過去の多種の動物種の結果から、げっ歯類の前胃上皮は BHA の投与で過形成や腫瘍性変化を受けやすいと指摘されており、その理由として、げっ歯類の前胃は食物を貯蔵する機能があり前胃上皮への暴露時間が連続的であることが挙げられる一方、食道上皮に変化がみられない理由としては、食物の食道を通過する速度が速く、結果として食道粘膜への暴露時間が少ないことによると考えられている (Grice, 1988)。BHA、あるいは胃内容物中で生成された代謝物が前胃上皮に直接作用して、連続的に細胞障害と細胞増殖を引き起こし、腫瘍の発生を誘発することが示唆された (Ito et al., 1986b; Iverson, 1999; Kaneko et al., 2002)。また、この細胞障害と細胞増殖は、投与を中止すると回復する可逆性変化であった (広瀬ら, 1991)。一方、ラットに放射能でラベルした BHA を単回胃内投与した実験では、投与 168 時間後まで経時的に前胃、腺胃、食道の組織中の放射能濃度は減少したが、組織間の差異はなく、また、BHA の代謝物は前胃上皮中には検出されなかった。少量の代謝物が胃内容物中には検出されている (Ito et al., 1986b)。

Iverson (1999) は、その総説の中で、BHA の毒性には 2 つの作用機序があり、酸化的損傷と細胞増殖、またはその両者が協同して作用していると述べている。ラットの発がん性試験によれば、腫瘍に至るまでに比較的長期間が必要であり、飼料中に 2% 以上の高濃度が必要であった (Ito et al., 1982,1983,1986a; Masui et al., 1986)。BHA には DNA 傷害性がないことから、ラットの扁平上皮がんの発生は、高濃度の BHA の非遺伝子傷害的機序による腫瘍プロモーション作用による可能性もまた種々の実験から示唆されている。

IARC (1986) は、BHA をグループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質) に分類し、U.S. NTP (2008) もこれを受けて合理的にヒトに対して発がん性があることが予想される物質に分類している。しかし、前胃をもつ動物種に特異的な発がん物質であること、しかも前

胃の過形成から扁平上皮がんががん化するまで 40 週以上の長期の混餌投与が必要なこと、また非遺伝毒性物質であり、閾値も存在することから、前胃のないヒトには実際には適用できないと考えられている。

本評価書では、Ito ら (1986a) がラットで行った発がん性試験で 0.25% (109.6 mg/kg/日) 以上の群で用量依存的に有意な前胃上皮の過形成がみられたことから、その下の用量 0.125% (54.8 mg/kg/日) が NOAEL と判断した。このほかの試験においても、NOAEL を設定するには用量設定が必ずしも適切でないが、0.125% (54.8 mg/kg/日) を NOAEL と支持する所見が多く得られている。

第 33 回 JECFA 会合 (JECFA, 1989) で、BHA の 1 日許容摂取量 (ADI) を、ラットにみられた前胃の軽度な過形成が生じない 1.0 g/kg 飼料 (0.125%) を基に、ヒトの体重を 50 kg とした場合の相当量として、0~0.5 mg/kg/日に設定した。日本でもこの ADI 値を設定している。

なお、日本で食品経由の BHA の摂取量を実測した報告があり、1998 年に 3 万の食品サンプルを分析した結果、日本での 1 日平均摂取量は、0.119 mg/日であった。これは、ヒトの体重を 50 kg とした場合、 $0.119 \text{ mg/日} \div 50 \text{ kg} = 0.00238 \text{ mg/kg/日}$ となり、ADI 値 0.5 mg/kg/日の 0.5% に相当する (Ishiwata et al., 2002)。

BHA の国際機関等での発がん性評価を表 7-6 に示す。

IARC は、BHA をグループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質) に分類している。U.S. NTP (2008) は、合理的にヒトに対して発がん性があることが予想される物質と分類している。

表 7-5 ブチルヒドロキシアニソールの発がん性試験結果

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																																				
マウス B6C3F ₁ 雄 37-43 匹/ 群	混餌 投与	104 週間	0、0.5、 1%	<p style="text-align: center;">前胃の変化、動物数(%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>過形成</th> <th>乳頭腫</th> <th>扁平上皮がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>0(-)</td> <td>0(-)</td> <td>0(-)</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>10(27.0)*</td> <td>5(13.5)**</td> <td>1(2.7)</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>35(81.4)*</td> <td>5(14.3)**</td> <td>2(4.7)</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">*P < 0.001、** P < 0.05</p>	%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん	0	0(-)	0(-)	0(-)	0.5	10(27.0)*	5(13.5)**	1(2.7)	1	35(81.4)*	5(14.3)**	2(4.7)	Masui et al., 1986																				
%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん																																						
0	0(-)	0(-)	0(-)																																						
0.5	10(27.0)*	5(13.5)**	1(2.7)																																						
1	35(81.4)*	5(14.3)**	2(4.7)																																						
ラット F344 雌雄 各 51-52 匹/群	混餌 投与	104 週間	0、0.5、 2.0%	<p style="text-align: center;">前胃の変化、動物数(%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>過形成</th> <th>乳頭腫</th> <th>扁平上皮がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="4">雄</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>13 (26.0)*</td> <td>1 (2.0)</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>52 (100.0)*</td> <td>52 (100.0)*</td> <td>18 (34.6)*</td> </tr> <tr> <td colspan="4">雌</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>10 (19.6) **</td> <td>1(2.0)</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>50 (98.0)*</td> <td>49 (96.1)*</td> <td>15 (29.4)*</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">*P < 0.001、** P < 0.01</p>	%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん	雄				0	0	0	0	0.5	13 (26.0)*	1 (2.0)	0	2	52 (100.0)*	52 (100.0)*	18 (34.6)*	雌				0	0	0	0	0.5	10 (19.6) **	1(2.0)	0	2	50 (98.0)*	49 (96.1)*	15 (29.4)*	Ito et al., 1982,1983
%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん																																						
雄																																									
0	0	0	0																																						
0.5	13 (26.0)*	1 (2.0)	0																																						
2	52 (100.0)*	52 (100.0)*	18 (34.6)*																																						
雌																																									
0	0	0	0																																						
0.5	10 (19.6) **	1(2.0)	0																																						
2	50 (98.0)*	49 (96.1)*	15 (29.4)*																																						

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																																			
ラット F344 雄 50 匹/群	混餌 投与	104 週間	0、0.125、 0.25、0.5、 1、2% (0、 54.8、 109.6、 230.4、 427.6、 1,322.6 mg/kg/ 日)	<p style="text-align: center;">前胃の変化、動物数(%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>動物数</th> <th>過形成</th> <th>乳頭腫</th> <th>扁平上皮がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>50</td> <td>0(0)</td> <td>0(0)</td> <td>0(0)</td> </tr> <tr> <td>0.125</td> <td>50</td> <td>1(2)</td> <td>0(0)</td> <td>0(0)</td> </tr> <tr> <td>0.25</td> <td>50</td> <td>7(14)*</td> <td>0(0)</td> <td>0(0)</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>50</td> <td>16(32)**</td> <td>0(0)</td> <td>0(0)</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>50</td> <td>44(88)**</td> <td>10(20)*</td> <td>0(0)</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>50</td> <td>50(100)**</td> <td>50(100)**</td> <td>11(22)**</td> </tr> </tbody> </table> <p>*P < 0.01、**P < 0.001</p> <p>NOAEL : 0.125% (54.8 mg/kg/日) (前胃上皮の過形成) (本評価書判断)</p>	%	動物数	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん	0	50	0(0)	0(0)	0(0)	0.125	50	1(2)	0(0)	0(0)	0.25	50	7(14)*	0(0)	0(0)	0.5	50	16(32)**	0(0)	0(0)	1	50	44(88)**	10(20)*	0(0)	2	50	50(100)**	50(100)**	11(22)**	Ito et al., 1986a
%	動物数	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん																																				
0	50	0(0)	0(0)	0(0)																																				
0.125	50	1(2)	0(0)	0(0)																																				
0.25	50	7(14)*	0(0)	0(0)																																				
0.5	50	16(32)**	0(0)	0(0)																																				
1	50	44(88)**	10(20)*	0(0)																																				
2	50	50(100)**	50(100)**	11(22)**																																				
ラット F344 雄 92-94 匹/ 群	混餌 投与	104 週間	0、1、2%	<p style="text-align: center;">前胃の変化、動物数(%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>過形成</th> <th>乳頭腫</th> <th>扁平上皮がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>1(1.1)</td> <td>0(-)</td> <td>0(-)</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>92(97.9)*</td> <td>71(75.5)*</td> <td>0(-)</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>93(98.9)*</td> <td>86(91.5)*</td> <td>13(13.8)*</td> </tr> </tbody> </table> <p>*P < 0.001</p> <p>(出現時期) 過形成 : 1、2%群で 8 週目 乳頭腫 : 1%群は 56 週目、2%群は 8 週目 扁平上皮がん : 2%群で 48 週目</p>	%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん	0	1(1.1)	0(-)	0(-)	1	92(97.9)*	71(75.5)*	0(-)	2	93(98.9)*	86(91.5)*	13(13.8)*	Masui et al., 1986																			
%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん																																					
0	1(1.1)	0(-)	0(-)																																					
1	92(97.9)*	71(75.5)*	0(-)																																					
2	93(98.9)*	86(91.5)*	13(13.8)*																																					
ラット F344 雄 15 匹/群	混餌 投与	24 週間 多臓器中 期発がん 性試験	0、0.08、 0.4% 4 週間 発がん 物質で 前処理	<p style="text-align: center;">膀胱 (%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>乳頭状と結節状過形成</th> <th>乳頭腫</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.08</td> <td>5/15(33)*</td> <td>3/15(20)</td> </tr> <tr> <td>0.4</td> <td>3/15(20)</td> <td>0/15(0)</td> </tr> </tbody> </table> <p>*P < 0.05</p>	%	乳頭状と結節状過形成	乳頭腫	0.08	5/15(33)*	3/15(20)	0.4	3/15(20)	0/15(0)	Hirose et al., 1997																										
%	乳頭状と結節状過形成	乳頭腫																																						
0.08	5/15(33)*	3/15(20)																																						
0.4	3/15(20)	0/15(0)																																						
ラット F344 雄	混餌 投与	104 週間	0、2%	<p>前胃に乳頭腫が 16/18 (89%)、扁平上皮がんが 2/18 (11%) の頻度で観察された。 扁平上皮がんの免疫組織化学的染色で p53 陽性細胞、cyclin D1 陽性細胞は共に検出されなかった。また、PCR-SSCP (polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism) 法を用いた H-ras と p53 遺伝子突然変異も扁平上皮がん中にみられなかった。</p>	Kaneko et al., 2002																																			

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																																																							
ラット F344 SHR Lewis SD 雄	混餌 投与	104週間	2% 平均摂取量 (mg/kg/日): F344、 974、 SHR 1375、 Lewis 1041、 SD 956	<p style="text-align: center;">がん発生頻度 (%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>系統</th> <th>2%</th> <th>動物数</th> <th>扁平上皮がん</th> <th>乳頭腫</th> <th>肉腫</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F344</td> <td>+</td> <td>30</td> <td>8 (26.7)</td> <td>30 (100)</td> <td>1 (3.3)</td> </tr> <tr> <td>SHR</td> <td>+</td> <td>30</td> <td>23 (76.7)</td> <td>30 (100)</td> <td>1 (3.3)</td> </tr> <tr> <td>Lewis</td> <td>+</td> <td>30</td> <td>11 (36.7)</td> <td>30 (100)</td> <td>2 (2.7)</td> </tr> <tr> <td>F344</td> <td>SD</td> <td>+</td> <td>30</td> <td>2 (6.7)</td> <td>30 (100)</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>F344</td> <td>-</td> <td>30</td> <td>0</td> <td>1 (3.3)</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>SHR</td> <td>-</td> <td>29</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Lewis</td> <td>-</td> <td>30</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>SD</td> <td>-</td> <td>30</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table> <p>炎症を指標にした細胞毒性は、SHR 系統でもっとも強く、扁平上皮がんの発生と良く相関。</p>	系統	2%	動物数	扁平上皮がん	乳頭腫	肉腫	F344	+	30	8 (26.7)	30 (100)	1 (3.3)	SHR	+	30	23 (76.7)	30 (100)	1 (3.3)	Lewis	+	30	11 (36.7)	30 (100)	2 (2.7)	F344	SD	+	30	2 (6.7)	30 (100)	0	F344	-	30	0	1 (3.3)	0	SHR	-	29	0	0	0	Lewis	-	30	0	0	0	SD	-	30	0	0	0	Tamano et al., 1998
系統	2%	動物数	扁平上皮がん	乳頭腫	肉腫																																																							
F344	+	30	8 (26.7)	30 (100)	1 (3.3)																																																							
SHR	+	30	23 (76.7)	30 (100)	1 (3.3)																																																							
Lewis	+	30	11 (36.7)	30 (100)	2 (2.7)																																																							
F344	SD	+	30	2 (6.7)	30 (100)	0																																																						
F344	-	30	0	1 (3.3)	0																																																							
SHR	-	29	0	0	0																																																							
Lewis	-	30	0	0	0																																																							
SD	-	30	0	0	0																																																							
ラット F344 雄	混餌 投与	32週間	2.0% 0.05%BBNを、4週間飲水投与してイニシエート	<p style="text-align: center;">膀胱(%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="2">過形成^a</th> <th colspan="2">乳頭腫</th> <th colspan="2">がん</th> </tr> <tr> <th>頻度</th> <th>個数</th> <th>頻度</th> <th>個数^b</th> <th>頻度</th> <th>個数^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BBN</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>/2.0%BHA</td> <td>25</td> <td>25(100)</td> <td>4.3</td> <td>22(88)**</td> <td>2.0**</td> <td>19(76)**</td> <td>0.8*</td> </tr> <tr> <td>BBN</td> <td>26</td> <td>24(92)</td> <td>2.0</td> <td>11(42)</td> <td>0.4</td> <td>5(19)</td> <td>0.2</td> </tr> </tbody> </table> <p>^a 乳頭状または結節状 ^b 膀胱上皮基底膜 10 cm あたり * BBN 群に対して $P < 0.01$ ** BBN 群に対して $P < 0.001$ BBN: 0.05%N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン</p>	処置	匹数	過形成 ^a		乳頭腫		がん		頻度	個数	頻度	個数 ^b	頻度	個数 ^a	BBN								/2.0%BHA	25	25(100)	4.3	22(88)**	2.0**	19(76)**	0.8*	BBN	26	24(92)	2.0	11(42)	0.4	5(19)	0.2	Ito et al., 1986b																	
処置	匹数	過形成 ^a		乳頭腫			がん																																																					
		頻度	個数	頻度	個数 ^b	頻度	個数 ^a																																																					
BBN																																																												
/2.0%BHA	25	25(100)	4.3	22(88)**	2.0**	19(76)**	0.8*																																																					
BBN	26	24(92)	2.0	11(42)	0.4	5(19)	0.2																																																					
ラット	混餌 投与	32週間	2.0% MNUを20 mg/kg腹腔内投与(2回/週、4週間)してイニシエート	<p style="text-align: center;">膀胱(%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="2">過形成^a</th> <th colspan="2">乳頭腫</th> <th colspan="2">がん</th> </tr> <tr> <th>頻度</th> <th>個数</th> <th>頻度</th> <th>個数^b</th> <th>頻度</th> <th>個数^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MNU</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>/2.0%BHA</td> <td>24</td> <td>20(83)***</td> <td>4.7***</td> <td>10(42)**</td> <td>0.8**</td> <td>4(17)</td> <td>0.2*</td> </tr> <tr> <td>MNU</td> <td>21</td> <td>5(24)</td> <td>0.4</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2.0%BHA</td> <td>30</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table> <p>^a 乳頭状または結節状 ^b 膀胱上皮基底膜 10 cm あたり * MNU 群に対して $P < 0.05$ ** MNU 群に対して $P < 0.01$ *** MNU 群に対して $P < 0.001$ MNU: N-メチル-N-ニトロソウレア</p>	処置	匹数	過形成 ^a		乳頭腫		がん		頻度	個数	頻度	個数 ^b	頻度	個数 ^a	MNU								/2.0%BHA	24	20(83)***	4.7***	10(42)**	0.8**	4(17)	0.2*	MNU	21	5(24)	0.4	0	0	0	0	2.0%BHA	30	0	0	0	0	0	0	Ito et al., 1986b									
処置	匹数	過形成 ^a		乳頭腫			がん																																																					
		頻度	個数	頻度	個数 ^b	頻度	個数 ^a																																																					
MNU																																																												
/2.0%BHA	24	20(83)***	4.7***	10(42)**	0.8**	4(17)	0.2*																																																					
MNU	21	5(24)	0.4	0	0	0	0																																																					
2.0%BHA	30	0	0	0	0	0	0																																																					
ラット	混餌 投与	32週間	2.0% MNUを20 mg/kg腹腔内投与(2回/週、4週間)してイニシエート	<p style="text-align: center;">発生頻度 (%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="4">発生頻度 (%)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">前胃</th> <th colspan="2">甲状腺</th> </tr> <tr> <th></th> <th></th> <th>乳頭腫</th> <th>がん</th> <th>腺腫</th> <th>腺がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MNU</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>/2.0%BHA</td> <td>25</td> <td>23(92)*</td> <td>22(88)*</td> <td>4(16)</td> <td>0-</td> </tr> <tr> <td>MNU</td> <td>22</td> <td>8(36)</td> <td>0-</td> <td>6(27)</td> <td>1(5)</td> </tr> <tr> <td>2.0%BHA</td> <td>30</td> <td>29(97)</td> <td>0-</td> <td>0-</td> <td>0-</td> </tr> </tbody> </table> <p>* MNU 群に対して $P < 0.001$ MNU: N-メチル-N-ニトロソウレア</p>	処置	匹数	発生頻度 (%)				前胃		甲状腺				乳頭腫	がん	腺腫	腺がん	MNU						/2.0%BHA	25	23(92)*	22(88)*	4(16)	0-	MNU	22	8(36)	0-	6(27)	1(5)	2.0%BHA	30	29(97)	0-	0-	0-	Ito et al., 1986b															
処置	匹数	発生頻度 (%)																																																										
		前胃		甲状腺																																																								
		乳頭腫	がん	腺腫	腺がん																																																							
MNU																																																												
/2.0%BHA	25	23(92)*	22(88)*	4(16)	0-																																																							
MNU	22	8(36)	0-	6(27)	1(5)																																																							
2.0%BHA	30	29(97)	0-	0-	0-																																																							

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献																																																																															
シリアン ゴールド ンハムス ター 雄 40-52 匹/ 群	混餌 投与	104 週間	0、1、2 %	<p style="text-align: center;">前胃の変化、動物数(%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>%</th> <th>過形成</th> <th>乳頭腫</th> <th>扁平上皮がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>9(17.3)</td> <td>0(-)</td> <td>0(-)</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>53(96.4)*</td> <td>54(98.2)**</td> <td>4(7.3)**</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>40(100)*</td> <td>38(95.0)**</td> <td>4(10.0)**</td> </tr> </tbody> </table> <p>*$P < 0.001$、** $P < 0.05$</p> <p>(出現時期) 過形成：1、2%群で8週目 乳頭腫：1%群で8週目に50%の動物、2%群は8週目に100%の動物 扁平上皮がん：1、2%群で64週目</p>	%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん	0	9(17.3)	0(-)	0(-)	1	53(96.4)*	54(98.2)**	4(7.3)**	2	40(100)*	38(95.0)**	4(10.0)**	Masui et al., 1986																																																															
%	過形成	乳頭腫	扁平上皮がん																																																																																	
0	9(17.3)	0(-)	0(-)																																																																																	
1	53(96.4)*	54(98.2)**	4(7.3)**																																																																																	
2	40(100)*	38(95.0)**	4(10.0)**																																																																																	
ジャコウ ネズミ 雄雌 各 30-40 匹/群	混餌 投与	80 週間	0、0.5、 1.0、 2.0% (雄：0、 520、 1,040、 算出不 能 mg/kg/ 日；雌： 0、810、 1,560、 算出不 能 mg/kg/ 日)	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">% 腫瘍</th> <th colspan="2">毛胞脂腺</th> <th colspan="2">じゃ香腺</th> <th>肺腺腫様</th> <th>腎臓</th> <th>胃腸管</th> </tr> <tr> <th>腫瘍</th> <th>乳がん</th> <th>過形成</th> <th>血管腫</th> <th>出血</th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 雌</td> <td>0/29</td> <td>1/29</td> <td>2/29</td> <td>1/29</td> <td>4/29</td> <td>0/29</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.5 雌</td> <td>0/28</td> <td>1/28</td> <td>2/28</td> <td>14/28^a</td> <td>1/28</td> <td>3/28</td> <td></td> </tr> <tr> <td>1.0 雌</td> <td>0/22</td> <td>0/22</td> <td>1/22</td> <td>12/22*</td> <td>3/22</td> <td>2/22</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2.0 雌</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0 雄</td> <td>5/35</td> <td>5/35</td> <td>0/35</td> <td>0/35</td> <td>8/35</td> <td>1/35</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.5 雄</td> <td>3/24</td> <td>3/24</td> <td>0/24</td> <td>15/24^a**</td> <td>6/24</td> <td>1/24</td> <td></td> </tr> <tr> <td>1.0 雄</td> <td>5/18</td> <td>3/18</td> <td>0/18</td> <td>12/18^a**</td> <td>1/18</td> <td>3/18</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2.0 雄</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>—死亡、*$P < 0.05$、** $P < 0.01$、^a 肺腺種の1匹含む</p>	% 腫瘍	毛胞脂腺		じゃ香腺		肺腺腫様	腎臓	胃腸管	腫瘍	乳がん	過形成	血管腫	出血			0 雌	0/29	1/29	2/29	1/29	4/29	0/29		0.5 雌	0/28	1/28	2/28	14/28 ^a	1/28	3/28		1.0 雌	0/22	0/22	1/22	12/22*	3/22	2/22		2.0 雌	—	—	—	—	—	—		0 雄	5/35	5/35	0/35	0/35	8/35	1/35		0.5 雄	3/24	3/24	0/24	15/24 ^a **	6/24	1/24		1.0 雄	5/18	3/18	0/18	12/18 ^a **	1/18	3/18		2.0 雄	—	—	—	—	—	—		Amo et al., 1990
% 腫瘍	毛胞脂腺		じゃ香腺			肺腺腫様	腎臓	胃腸管																																																																												
	腫瘍	乳がん	過形成	血管腫	出血																																																																															
0 雌	0/29	1/29	2/29	1/29	4/29	0/29																																																																														
0.5 雌	0/28	1/28	2/28	14/28 ^a	1/28	3/28																																																																														
1.0 雌	0/22	0/22	1/22	12/22*	3/22	2/22																																																																														
2.0 雌	—	—	—	—	—	—																																																																														
0 雄	5/35	5/35	0/35	0/35	8/35	1/35																																																																														
0.5 雄	3/24	3/24	0/24	15/24 ^a **	6/24	1/24																																																																														
1.0 雄	5/18	3/18	0/18	12/18 ^a **	1/18	3/18																																																																														
2.0 雄	—	—	—	—	—	—																																																																														
関連試験																																																																																				
ラット Wistar 雌雄 10 匹/群	混餌 投与	2 週間	0、0.25、 0.50、 0.75、 1.0、 2.0%	プロモジオキシウリジン投与で DNA 合成期細胞の DNA に結合させ、細胞動態の指標を測定 食道、前胃、腺胃、小腸、結腸/直腸で BHA の増殖促進作用	Verhagen et al., 1990																																																																															
ラット F344 雄 5 匹/群	混餌 投与	13 週間	0、0.1、 0.25、 0.5、2%	0.5%以上の群： 前胃の細胞分裂指数は有意に増加 2%群： 体重増加量の有意な減少 前胃に細胞増殖性病変	Clayson et al., 1986																																																																															
ラット Wistar 雌雄 10 匹/群	混餌 試験	90 日間	0、 0.125、 0.5、2%	2%群：前胃の角化亢進と過形成は顕著 0.5%群：やや軽度 0.125%群：ごく軽度	Altman et al., 1986																																																																															
ラット F344 雄	混餌 投与	7 日間	0、2%	DNA 合成は3日以内に増加 7日後には過形成の出現頻度は100% 前胃上皮中の <i>c-fos</i> 及び <i>c-myc</i> がん遺伝子は投与15分後に発現	Ito et al., 1993																																																																															
ラット F344 雄	混餌 投与	24 週間 回復期 間：24 週間	0、2%	24 週間試験：全動物の前胃に中等度の過形成 回復期間後：中等度の過形成は40%まで減少	Ito et al., 1993																																																																															

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献																																																																																
ラット F344 雄 9-19 匹/ 群	混餌 投与	72週間混 餌投与 後、24週 間回復試 験	0、2%	胃の病理組織学的検査 前胃の過形成と乳頭腫は可逆性 基底細胞の過形成は投与を中止した後も持続 前胃の過形成と乳頭腫は、継続的な BHA の投与が必要と 考察されている	Masui et al., 1987																																																																																
ラット F344 雄	混餌 投与	24週間、 その後半 数を24週 間 BHAを 含まない 基礎飼料 で飼育	0、2%	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="6">前胃</th> </tr> <tr> <th colspan="2">週間</th> <th colspan="3">過形成(%)</th> <th colspan="3">基底細胞過形成(%)</th> </tr> <tr> <th>BHA</th> <th>基礎飼料</th> <th>軽度</th> <th>中等度</th> <th>重度</th> <th>軽度</th> <th>中等度</th> <th>重度</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>24</td> <td>30</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>48</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>24</td> <td>0</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>89</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>24</td> <td>24</td> <td>100</td> <td>40**</td> <td>0***</td> <td>100</td> <td>40*</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>48</td> <td>0</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>55</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">週間</th> <th colspan="2">前胃 (ラベリングインデックス****)</th> </tr> <tr> <th>BHA</th> <th>基礎飼料</th> <th>過形成</th> <th>基底細胞過形成</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>24</td> <td>0</td> <td>20.4</td> <td>2.4</td> </tr> <tr> <td>24</td> <td>24</td> <td>11.6**</td> <td>4.2</td> </tr> </tbody> </table> <p>*P < 0.05、**P < 0.01、***P < 0.001 (24週間投与群と 比較)、 ****上皮細胞100個あたりのラベルされた細胞数</p>			前胃						週間		過形成(%)			基底細胞過形成(%)			BHA	基礎飼料	軽度	中等度	重度	軽度	中等度	重度	0	24	30	0	0	0	0	0	0	48	0	0	0	0	0	0	24	0	100	100	100	100	89	0	24	24	100	40**	0***	100	40*	0	48	0	100	100	100	100	100	55	週間		前胃 (ラベリングインデックス****)		BHA	基礎飼料	過形成	基底細胞過形成	24	0	20.4	2.4	24	24	11.6**	4.2	Kagawa et al., 1993
		前胃																																																																																			
週間		過形成(%)			基底細胞過形成(%)																																																																																
BHA	基礎飼料	軽度	中等度	重度	軽度	中等度	重度																																																																														
0	24	30	0	0	0	0	0																																																																														
0	48	0	0	0	0	0	0																																																																														
24	0	100	100	100	100	89	0																																																																														
24	24	100	40**	0***	100	40*	0																																																																														
48	0	100	100	100	100	100	55																																																																														
週間		前胃 (ラベリングインデックス****)																																																																																			
BHA	基礎飼料	過形成	基底細胞過形成																																																																																		
24	0	20.4	2.4																																																																																		
24	24	11.6**	4.2																																																																																		
ハムスタ ー シリアン ゴールド ン 雄	混餌 投与	1、2、3、 4、16週 間	2-異性 体: 1%、 3-異性 体: 1%、 異性体 混合物: 1%	前胃の過形成は、2-異性体ではほとんどみられず、異性体 混合物及び3-異性体では同程度に強かった 異性体混合物 (組成: 2-異性体 1%、3-異性体 約98%)	Ito et al., 1986b																																																																																
カニクイ ザル 雌	強 制 経 口 投 与	84日間 5日/週	0、125、 250 mg/kg/ 日	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">mg/kg/日</th> <th colspan="3">食道上皮の細胞分裂指数</th> </tr> <tr> <th>細胞数</th> <th>分裂細胞数</th> <th>分裂細胞 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>4,860</td> <td>43</td> <td>0.87</td> </tr> <tr> <td>125</td> <td>4,921</td> <td>38</td> <td>0.77</td> </tr> <tr> <td>250</td> <td>5,485</td> <td>91</td> <td>1.66*</td> </tr> </tbody> </table> <p>* P < 0.05</p>	mg/kg/日	食道上皮の細胞分裂指数			細胞数	分裂細胞数	分裂細胞 (%)	0	4,860	43	0.87	125	4,921	38	0.77	250	5,485	91	1.66*	Iverson et al., 1986																																																													
mg/kg/日	食道上皮の細胞分裂指数																																																																																				
	細胞数	分裂細胞数	分裂細胞 (%)																																																																																		
0	4,860	43	0.87																																																																																		
125	4,921	38	0.77																																																																																		
250	5,485	91	1.66*																																																																																		

表 7-6 プチルヒドロキシアニソールの国際機関等での発がん性評価

機関/出典	分類	分類基準
IARC (2008)	グループ 2B	ヒトに対して発がん性がある可能性がある
ACGIH (2008)	—	発がん性について評価されていない
日本産業衛生学会 (2008)	—	発がん性について評価されていない
U.S. EPA (2008)	—	発がん性について評価されていない
U.S. NTP (2008)	R	合理的にヒトに対して発がん性があることが予想される物質

7.3.8 その他の影響

抗がん作用

BHAの既知発がん物質誘導病変に対する抗がん作用を表7-7に示す。

雄の F344 ラットに、アフラトキシン B₁ 25 μg/kg を、3 回/週の頻度で 20 週間強制経口投与した。アフラトキシン B₁ 投与前から BHA 1,000 ppm を 22 週間混餌投与した。24 週目の肝臓の病理組織学的所見で、アフラトキシン B₁ 単独群より鉄吸収抵抗性変異巣及びγ-グルタミルトランスフェラーゼ陽性変異巣共に個数の減少がみられ、45 週目には腫瘍の発現頻度は有意に低下した (Williams et al., 1986)。

雄の F344 ラットに、BHA 5、25、125 ppm を 42 週間混餌投与した。並行してアフラトキシン B₁ 5 μg/kg を、3 回/週の頻度で第 2 週目から 40 週間強制経口投与した。肝細胞がんの指標として、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST-P) の免疫組織学的染色法を用いた。アフラトキシン B₁ 投与のみの群の変異巣数は、42 週目で 12.90/cm² であり、BHA 125 ppm 同時投与群では 7.72/cm² と有意に減少していた。5、25 ppm 群では減少はみられなかった。すなわち、125 ppm (約 7 mg/kg/日、換算：Williams et al., 2002) の BHA 投与でアフラトキシン B₁ による肝細胞がんのイニシエーションを阻害した (Williams and Iatropoulos, 1996)。これは発がん物質による DNA 損傷を低濃度の BHA がブロックする効果である可能性がある (Williams et al., 2002)。

7,12-ジメチルベンズアントラセンでイニシエートされた雌の SD ラットに、1%の BHA を 33 週間混餌投与した。7,12-ジメチルベンズアントラセンによって発現した乳腺がんは、BHA で減少した (Ito et al., 1986b)。

N-エチル-N-ヒドロキシエチルニトロソアミン 0.1%でイニシエートされた F344 ラットに、2.0%の BHA を 29 週間混餌投与した。N-エチル-N-ヒドロキシエチルニトロソアミンで発現した肝臓の過形成結節は BHA 投与でその個数を有意に減少し、また肝細胞がんの発生頻度は有意に減少した (Ito et al., 1986b)。

ヒトに致死的な肺線維症を引き起こすブレオマイシンを雄のハムスターの気管内に投与し、次いで 1%の BHA を 41 日間混餌投与した。ブレオマイシンで線維症、マクロファージ集簇、上皮増生を伴う肺の病変がみられたが、BHA 投与はこの変化を抑制し、ブレオマイシンによる肺の過形成病変の増殖に阻害効果があることが示唆された (Ikezaki et al., 1996)。

以上から、BHA は、少量の発がん物質でイニシエーション処置をしたラットの前胃や膀胱のがん発生を促進し、反対に発がん物質でイニシエートされた肝臓や乳腺に生じたがんを阻害する。

また、実験結果から他の抗酸化剤と同様に抗酸化物質、酸化促進物質、抗発がん物質、発がん物質、発がんプロモーターと、いくつかの矛盾した特質を持つ可能性があるとされている (Iverson, 1999)。

その機序については十分には知られていないが、DNA に直接作用する発がん物質を暴露前、あるいは同時に低用量の BHA と併せて投与すると、発がんを抑制することから、低用量の BHA の抗がん活性はフリーラジカル捕捉活性によると示唆されている (Williams et al., 1999)。また、Iverson (1999) によれば、がん抑制作用は BHA が主として抱合と解毒反応に関係する第 2 相の代謝経路の酵素を誘導する能力によるものであるという。

表 7-7 ブチルヒドロキシアニソールの既知発がん物質誘導病変に対する抗がん作用

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献																							
ラット F344 雄	混餌投与	42 週間	0、1,000 ppm アフラトキシン B ₁ 25 μg/kg を、20 週間 (3 回/週)、強制経口投与	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th colspan="2">24 週目</th> <th>45 週目</th> </tr> <tr> <th>IS⁻巢/cm²</th> <th>GGT⁺巢/cm²</th> <th>腫瘍発現%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>対照群 :</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>AFB₁ 25 μg/kg^a :</td> <td>9.4</td> <td>11.5</td> <td>63</td> </tr> <tr> <td>AFB₁ 25 μg/kg + BHA1,000 ppm^b :</td> <td>5.2*</td> <td>8.2*</td> <td>13*</td> </tr> </tbody> </table> <p>^aAF (アフラトキシン) B₁ 25 μg/kg を 3 回/週、20 週間強制経口、累積 1.5 mg/kg ^bアフラトキシン B₁ 投与 2 週間前から BHA 1,000 ppm を 22 週間混餌投与 IS⁻巢: 鉄吸収抵抗性変異巢 GGT⁺巢: γ-グルタミルトランスフェラーゼ陽性変異巢 * P < 0.05</p>	処置	24 週目		45 週目	IS ⁻ 巢/cm ²	GGT ⁺ 巢/cm ²	腫瘍発現%	対照群 :	0.1	0.3	0	AFB ₁ 25 μg/kg ^a :	9.4	11.5	63	AFB ₁ 25 μg/kg + BHA1,000 ppm ^b :	5.2*	8.2*	13*	Williams et al., 1986				
処置	24 週目		45 週目																									
	IS ⁻ 巢/cm ²	GGT ⁺ 巢/cm ²	腫瘍発現%																									
対照群 :	0.1	0.3	0																									
AFB ₁ 25 μg/kg ^a :	9.4	11.5	63																									
AFB ₁ 25 μg/kg + BHA1,000 ppm ^b :	5.2*	8.2*	13*																									
ラット F344 雄	混餌投与	42 週間	0、5、25、125 ppm アフラトキシン B ₁ 5 μg/kg を、第 2 週目から 40 週間 (3 回/週)、強制経口投与	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th colspan="2">投与 48 週目</th> </tr> <tr> <th colspan="2">肝臓 GST-P⁺巢/cm²</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>対照群 :</td> <td colspan="2">0.75</td> </tr> <tr> <td>AFB₁ 5 μg/kg^a :</td> <td colspan="2">12.90</td> </tr> <tr> <td>AFB₁ 5 μg/kg + BHA125 ppm^b :</td> <td colspan="2">7.72*</td> </tr> </tbody> </table> <p>^aAF (アフラトキシン) B₁ 5 μg/kg を 3 回/週、40 週間強制経口、累積 0.6 mg/kg ^bアフラトキシン B₁ 投与 2 週間前、BHA 125 ppm (約 7 mg/kg/日、換算は Williams et al., 2002) を混餌投与、42 週間* P < 0.05</p>	処置	投与 48 週目		肝臓 GST-P ⁺ 巢/cm ²		対照群 :	0.75		AFB ₁ 5 μg/kg ^a :	12.90		AFB ₁ 5 μg/kg + BHA125 ppm ^b :	7.72*		Williams & Iatropoulos, 1996									
処置	投与 48 週目																											
	肝臓 GST-P ⁺ 巢/cm ²																											
対照群 :	0.75																											
AFB ₁ 5 μg/kg ^a :	12.90																											
AFB ₁ 5 μg/kg + BHA125 ppm ^b :	7.72*																											
ラット SD 雌	混餌投与	33 週間	1% DMBA 25 mg 経口投与 1 週間後、BHA 投与	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="3">乳がん発現匹数 (%)</th> </tr> <tr> <th>がん</th> <th>線維腺腫</th> <th>腺腫</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>DMBA/BHA</td> <td>25</td> <td>13(52)*</td> <td>2(8)*</td> <td>0-</td> </tr> <tr> <td>DMBA/基礎飼料</td> <td>24</td> <td>21(88)</td> <td>10(42)</td> <td>0-</td> </tr> <tr> <td>BHA</td> <td>25</td> <td>0-</td> <td>0-</td> <td>0-</td> </tr> </tbody> </table> <p>* DMBA/基礎飼料群に対して P < 0.01 DMBA: 7,12-ジメチルベンズアントラセン</p>	処置	匹数	乳がん発現匹数 (%)			がん	線維腺腫	腺腫	DMBA/BHA	25	13(52)*	2(8)*	0-	DMBA/基礎飼料	24	21(88)	10(42)	0-	BHA	25	0-	0-	0-	Ito et al., 1986b
処置	匹数	乳がん発現匹数 (%)																										
		がん	線維腺腫	腺腫																								
DMBA/BHA	25	13(52)*	2(8)*	0-																								
DMBA/基礎飼料	24	21(88)	10(42)	0-																								
BHA	25	0-	0-	0-																								

動物種等	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献																																																																													
ラット F344	混餌 投与	29 週間	2.0% EHEN 0.1%飲 水投与 1 週間後、 BHA 投 与	<p style="text-align: center;">肝臓(%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="3">過形成結節</th> </tr> <tr> <th>頻度</th> <th>個数/cm²</th> <th>肝細胞がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>EHEN/2.0%BHA</td> <td>24</td> <td>22(92)</td> <td>0.6±0.5**</td> <td>2(8)*</td> </tr> <tr> <td>EHEN</td> <td>23</td> <td>22(96)</td> <td>1.9±1.0</td> <td>11(48)</td> </tr> <tr> <td>0.2%BHA</td> <td>26</td> <td>0-</td> <td>0</td> <td>0-</td> </tr> </tbody> </table> <p>* EHEN 群に対して $P < 0.01$ ** EHEN 群に対して $P < 0.001$</p> <p style="text-align: center;">腎臓(%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th rowspan="2">匹数</th> <th colspan="3">腺腫</th> </tr> <tr> <th>頻度</th> <th>個数/cm²</th> <th>腺がん</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>EHEN/2.0%BHA</td> <td>24</td> <td>6(25)</td> <td>0.17±0.33</td> <td>1(4)</td> </tr> <tr> <td>EHEN</td> <td>23</td> <td>5(22)</td> <td>0.08±0.02</td> <td>0-</td> </tr> <tr> <td>0.2%BHA</td> <td>26</td> <td>0-</td> <td>0</td> <td>0-</td> </tr> </tbody> </table> <p>EHEN: <i>N</i>-エチル-<i>N</i>-ヒドロキシエチルニトロソアミン</p>	処置	匹数	過形成結節			頻度	個数/cm ²	肝細胞がん	EHEN/2.0%BHA	24	22(92)	0.6±0.5**	2(8)*	EHEN	23	22(96)	1.9±1.0	11(48)	0.2%BHA	26	0-	0	0-	処置	匹数	腺腫			頻度	個数/cm ²	腺がん	EHEN/2.0%BHA	24	6(25)	0.17±0.33	1(4)	EHEN	23	5(22)	0.08±0.02	0-	0.2%BHA	26	0-	0	0-	Ito et al., 1986b																															
処置	匹数	過形成結節																																																																																
		頻度	個数/cm ²	肝細胞がん																																																																														
EHEN/2.0%BHA	24	22(92)	0.6±0.5**	2(8)*																																																																														
EHEN	23	22(96)	1.9±1.0	11(48)																																																																														
0.2%BHA	26	0-	0	0-																																																																														
処置	匹数	腺腫																																																																																
		頻度	個数/cm ²	腺がん																																																																														
EHEN/2.0%BHA	24	6(25)	0.17±0.33	1(4)																																																																														
EHEN	23	5(22)	0.08±0.02	0-																																																																														
0.2%BHA	26	0-	0	0-																																																																														
ハムス ター 雄	混餌 投与	41 日間	1% ブレオマイ シン 2.5 U/kg を気管内 投与後、 1%BHA	<p style="text-align: center;">肺の病理組織学的所見 (匹数)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処置</th> <th colspan="4">肺線維症</th> <th colspan="4">マクロファージ集簇</th> <th colspan="4">上皮増生</th> </tr> <tr> <th>-</th> <th>1+</th> <th>2+</th> <th>3+</th> <th>-</th> <th>1+</th> <th>2+</th> <th>3+</th> <th>-</th> <th>1+</th> <th>2+</th> <th>3+</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BLM + BHA:</td> <td>3</td> <td>9</td> <td>7</td> <td>0</td> <td>5</td> <td>7</td> <td>7</td> <td>0</td> <td>6</td> <td>10</td> <td>3</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>BLM + 基礎飼料:</td> <td>0</td> <td>7</td> <td>6</td> <td>3</td> <td>1</td> <td>7</td> <td>6</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>5</td> <td>6</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>BHA:</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>基礎飼料:</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table> <p>-: 変化なし、1+: 軽度、2+: 中等度、3+: 重度 BLM: ブレオマイシン</p>	処置	肺線維症				マクロファージ集簇				上皮増生				-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	BLM + BHA:	3	9	7	0	5	7	7	0	6	10	3	0	BLM + 基礎飼料:	0	7	6	3	1	7	6	2	3	5	6	2	BHA:	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	基礎飼料:	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	Ikezaki et al., 1996
処置	肺線維症					マクロファージ集簇				上皮増生																																																																								
	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+																																																																						
BLM + BHA:	3	9	7	0	5	7	7	0	6	10	3	0																																																																						
BLM + 基礎飼料:	0	7	6	3	1	7	6	2	3	5	6	2																																																																						
BHA:	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0																																																																						
基礎飼料:	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0																																																																						

GST-P: 胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ

7.4 ヒト健康への影響 (まとめ)

BHA は、ヒト及び動物において経口投与後消化管から吸収される。吸収後、BHA は器官に広く分布し、肝臓で代謝される。代謝物は、主に BHA のグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体であり、次いで *tert*-ブチルヒドロキノンや *tert*-ブチルキノン及びそれらのグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体である。また、BHA はラジカルを形成して、タンパク質付加体を形成する。ラットではタンパク質付加体は前胃に多く、次いで腺胃、肝臓、腎臓に分布する。投与後、ヒトにおいては 2~11 日以内に、動物では 2~4 日以内に投与量の大部分が尿中及び少量が糞中に排泄される。

ヒトの健康影響に関しては、BHA に刺激性はないが、ヒトの皮膚に感作反応を引き起こす可能性がある。食物経路での日常的な BHA の摂取による健康リスクに関しては、オランダでのコホート研究で胃がんとの関連性はみられていない。

急性毒性について、動物を用いた試験では、経口投与での LD₅₀ はマウスで 1,100 mg/kg (雄)、1,320 mg/kg (雌)、ラットで 2,000 mg/kg (雄)、2,200 mg/kg (雌) であった。腹腔内投与での LD₅₀ は、ラットで 881 mg/kg であった。マウス、ラットとも経口投与約 10 分後から歩行失調状態となり、腹臥、呼吸促迫し、死亡する。死亡時には胃腸の出血と潰瘍形成、肝臓のうっ血が認め

られた。

刺激性、腐食性及び感作性については、動物を用いた試験データはない。

反復投与毒性については、イヌを用いた2つの6か月間混餌投与試験で、で肝臓及び甲状腺の重量増加がみられた。肝臓及び甲状腺の重量増加は、一世代生殖毒性試験でBHAを7週間経口投与された親ラットにもみられている。吸入経路の試験データはない。

生殖・発生毒性については、動物を用いた試験で、BHAによる催奇形性はみられていない。ラットに混餌投与した試験で、0.5%群の児動物の回転かご法による運動量の増加傾向がみられた。また、ラットの一世代生殖試験では、生殖能に影響はみられないものの、比較的高用量である500 mg/kg/日の強制経口投与で発育遅延による障害、内分泌かく乱作用を疑わせる所見もみられている。

遺伝毒性試験については、代謝活性化系を添加した *in vitro* の染色体異常試験で陽性、*in vivo* のコメットアッセイの高用量で腺胃と結腸のDNA損傷が検出されたが、それ以外の遺伝毒性試験で陰性であった。陽性の結果は、BHAの代謝にかかわる何らかの影響がうかがわれた。従って、BHA自体には遺伝毒性はないと判断した。

発がん性については、BHAは、げっ歯類の前胃上皮に扁平上皮がんを引き起こすが、前胃のない動物種には発がん性の兆候はない。本評価書では、ラット発がん性試験で、0.25% (109.6 mg/kg/日) 以上の群で用量依存的に有意な前胃上皮の過形成がみられたことから、その下の用量0.125% (54.8 mg/kg/日) をNOAELと判断した。

その他として、BHAは、少量の発がん物質でイニシエーション処置をしたラットの前胃や膀胱のがん発生を促進し、反対に発がん物質でイニシエートされた肝臓や乳腺に生じたがんを阻害するとの報告がある。実験からは他の抗酸化剤と同様に抗酸化物質、酸化促進物質、低濃度での抗発がん物質、発がん物質、発がんプロモーターと、いくつかの矛盾した特質が報告されている。IARCは、BHAをグループ2B(ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質)に分類している。

文 献 (文献検索時期 : 2008 年 10 月¹⁾)

- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2008) TLVs and BEIs.
- Abe, S. and Sasaki, M. (1977) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J. Natl. Cancer Inst.*, **58**, 1635-1641.
- Ahmed, A.E., Ansari, G.A., Dencker, L. and Ullberg, S. (1991) Differential distribution and placental transport of 2- and 3-*t*-[methyl-¹⁴C]butyl-4-hydroxyanisole (BHA) in pregnant mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **16**, 356-264. (Jeong et al., 2005 から引用)
- Alauddin, M. and Verrall, R.E. (1984) Apparent Molal Volume Studies of 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, 2-*tert*-Butyl-4-methoxyphenol, and 2,6-Di-*tert*-butyl-4-(hydroxymethyl) phenol in Aqueous Micelle Solutions of Sodium Dodecanoate as a Function of Micelle Concentration and Temperature. *J. Phys. Chem.*, **88**, 5725-5730.
- Allen, J.R. (1976) Long-term antioxidant exposure effects on female primates. *Arch. Environ. Health*, **31**, 47-50. (IARC, 1986 から引用)
- Altman, H.J., Grunow, W., Mohr, U., Richter-Reichhelm, H.B. and Wester, P.W. (1986) Effects of BHA and related phenols on the forestomach of rats. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1183-1188. (Nordic Council of Ministers, 2002; WHO, 1989 から引用)
- Amo, H., Kubota, H., Lu, J. and Matsuyama, M. (1990) Adenomatous hyperplasia and adenomas in the lung induced by chronic feeding of butylated hydroxyanisole of Japanese house musk shrew (*Suncus murinus*). *Carcinogenesis*, **11**, 151-154.
- Ansari, G.A.S. and Hendrix, P.Y. (1985) Tissue distribution and pharmacokinetics of 3-*t*-[methyl-¹⁴C]butyl-4-hydroxy-anisole in rats. *Drug Metab. Depos.*, **13**, 535-541. (WHO, 1989 から引用)
- Armstrong, K.E. and Wattenberg, L.W. (1985) Metabolism of 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole to 3-*tert*-butyl-4,5-dihydroxyanisole by rat liver microsomes. *Cancer Res.*, **45**, 1507-1510. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Astill, B.D., Fassett, D.W. and Roudabush, R.L. (1960) The metabolism of phenolic antioxidants. 2. The metabolism of butylated hydroxyanisole in the rat. *Biochem. J.*, **75**, 543-551. (IARC, 1986 から引用)
- Astill, B.D., Mills, J., Fassett, D.W., Roudabush, R.L. and Terhaar, C.J. (1962) Fate of butylated hydroxyanisole in man and dog. *J. Agric. Food Chem.*, **10**, 315-319. (IARC, 1986; WHO, 1974, 1976 から引用)
- Batzinger, R.P., Ou, S.Y. L. and Bueding, E. (1978) Antimutagenic effects of 2(3)-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole and of antimicrobial agents. *Cancer Res.*, **38**, 4478-4485.
- Bonin, A.M. and Baker, R.S.U. (1980) Mutagenicity testing of some approved food additives with the Salmonella/microsome assay. *Food Technol. Austr.*, **32**, 608-611. (Whysner and Williams, 1996 から引用)

¹⁾ データベースの検索を 2008 年 10 月に実施し、発生源情報等で新たなデータを入手した際には文献を更新した。

- Botterweck, A.A., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., Kleinjans, J. and van den Brand, P.A. (2000) Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem. Toxicol.*, **38**, 599-605.
- Castelli, M.G., Benfenati, E., Pastorelli, R., Salmona, M. and Fanelli, R. (1984) Kinetics of 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) in man. *Food Chem. Toxicol.*, **22**, 901-904. (IARC, 1986 から引用)
- Clayson, D.B., Iverson, F., Nera, E.A., Lok, E., Rogers, C. and Rodrigues, C. (1986) Histopathological and radioautographical studies on the forestomach of F344 rats treated with butylated hydroxyanisole and related chemicals. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1171-1182. (Nordic Council of Ministers, 2002; WHO, 1989 から引用)
- Clayson, D.B., Iverson, F., Nera, E.A. and Lok, E. (1990) The significance of induced forestomach tumors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**, 441-463.
- Clegg, D.J. (1965) Absence of teratogenic effect of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in rats and mice. *Food Cosmet. Toxicol.*, **3**, 387-403. (IARC, 1986 から引用)
- Cope, W.G., Bartsch, M.R. and Marking, L.L. (1997) Efficacy of Candidate Chemicals for Preventing Attachment of Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 1930-1934.
- Cosmetic Ingredient Review (1984) *J. Am. Coll. Toxicol.*, **3**, 83. (Patty, 2001 から引用)
- Cummings, S.W. and Prough, R.A. (1983) Butylated hydroxyanisole-stimulated NADPH oxidase activity in rat liver microsomal fractions. *J. Biol. Chem.*, **258**, 12315-12319. (Whysner and Williams, 1996から引用)
- Cummings, S.W., Ansari, G.A.S., Guengerich, F.P., Crough, L.S. and Prough, R.A. (1985) Metabolism of 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole by microsomal fractions and isolated rat hepatocytes. *Cancer Res.*, **45**, 5617-5624. (Whysner and Williams, 1996から引用)
- Dacre, J.C., Denz, F.A. and Kennedy, T.H. (1956) The metabolism of butylated hydroxyanisole in the rabbit. *Biochem. J.*, **64**, 777-782.
- Daniel, J.W., Gage, J.C., Jones, D.I. and Stevens, M.A. (1967) Excretion of butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) by man. *Food Cosmet. Toxicol.*, **5**, 475-479. (IARC, 1986; WHO, 1974, 1976 から引用)
- Degre, R. and Saheb, S.A. (1982) Butylated hydroxyanisole as a possible mutagenic agent. *FEMS Microbiol. Lett.*, **14**, 183-186.
- El-Rashidy, R. and Niazi, S. (1983) A new metabolite of butylated hydroxyanisole in man. *Biopharm. Drug Dispos.*, **4**, 389-396. (WHO, 1987 から引用)
- Fernandez, M. and Jaylet, A. (1987) An Antioxidant Protects Against the Clastogenic Effects of Benzo(a)pyrene in the Newt *in vivo*. *Mutagenesis*, **2**, 293-296.
- Fernandez, M., Gauthier, L. and Jaylet, A. (1989) Use of Newt Larvae for *in vivo* Genotoxicity Testing of Water: Results on 19 Compounds Evaluated by the Micronucleus Test. *Mutagenesis*, **4**, 17-26.

- Golder, W.S., Ryan, A.J. and Wright, S.E. (1962) The urinary excretion of tritiated butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, **14**, 268-271. (WHO, 1974, 1976 から引用)
- Grice, H.C. (1988) Safety evaluation of butylated hydroxyanisole from the perspective of effects on forestomach and oesophageal squamous epithelium. *Food Chem. Toxicol.*, **26**, 717-723.
- Hageman, G.J., Verhagen, H. and Kleinjans, J.C. (1988) Butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene and *tert*-butylhydroquinone are not mutagenic in the *Salmonella*/microsome assay using new tester strains. *Mutat. Res.*, **208**, 207-211.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1989) Lipid peroxidation: a radical chain reaction. In: *Free Radicals in Biology and Medicine*, pp. 188-266, Clarendon Press, Oxford. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Hansen, E. and Meyer, O. (1978) A study of the teratogenicity of butylated hydroxyanisole on rabbits. *Toxicol.*, **10**, 195-201. (IARC, 1986 から引用)
- Hirose, M., Asamoto, M., Hagiwara, A., Ito, N., Kaneko, H., Saito, K., Takamatsu, Y., Yoshitake, A. and Miyamoto, J. (1987b) Metabolism of 2- and 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (2- and 3-BHA) in the rat (II): Metabolism in forestomach and covalent binding to tissue macromolecules. *Toxicology*, **45**, 13-24. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Hirose, M., Hagiwara, A., Inoue, K., Ito, N., Kaneko, H., Saito, K., Matsunaga, H., Isobe, N., Yoshitake, A. and Miyamoto, J. (1988) Metabolism of 2- and 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole in the rat (III): Metabolites in the urine and feces. *Toxicology*, **53**, 33-43. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Hirose, M., Hagiwara, A., Inoue, K., Sakata, T., Ito, N., Kaneko, H., Yoshitake, A. and Miyamoto, J. (1987a) Metabolism of 2- and 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (2- and 3-BHA) in the rat (I): Excretion of BHA in urine, feces and expired air and distribution of BHA in the main organs. *Toxicol.*, **43**, 139-147. (WHO, 1989から引用)
- Hirose, M., Takesada, Y., Tanaka, H., Tamano, S., Kato, T. and Shirai T. (1997) Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis*, **19**, 207-212.
- Horvathova, E., Slamenova, D., Bonatti, S. and Abbondandolo, A. (1999) Reduction of genotoxic effects of MNNG by butylated hydroxyanisole. *Neoplasma*, **46**, 356-362.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1986) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. **40**, 123-159. IARC, Lyon.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2008) IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (<http://www.iarc.fr/ENG/Classification/Listagentsalphorder.pdf> から引用)
- Ikeda, G.J., Stewart, J.E., Sapienza, P.P., Peggins III, J.O., Michel, T.C., Olivito, V., Alam, H.Z. and O'Donnel, M.W.Jr. (1986) Effect of subchronic dietary administration of butylated

- hydroxyanisole on canine stomach and hepatic tissues. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1201-1221.
- Ikezaki, S., Nishikawa, A., Enami, T., Furukawa, F., Imazawa, T., Uneyama, C., Fukushima, S. and Takahashi, M. (1996) Inhibitory effects of the dietary antioxidants butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on bronchioloalveolar cell proliferation during the bleomycin-induced pulmonary fibrosing process in hamsters. *Food Chem. Toxicol.*, **34**, 327-335.
- Ishidate, M. Jr., and Odashima, S. (1977) Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells *in vitro* - a screening for chemical carcinogens. *Mutat. Res.*, **48**, 337-354.
- Ishiwata, H., Nishijima, M. and Fukasawa, Y. (2002) Estimation of Inorganic Food Additive (Nitrite, Nitrate and Sulfur Dioxide), Antioxidant (BHA and BHT), Processing Agent (Propylene Glycol) and Sweetener (Sodium Saccharin) Concentrations in Foods and Their Daily Intake Based on Official Inspection Results in Japan in Fiscal Year 1998. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **44**, 132-143.
- Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M. and Ogiso, T. (1983) Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl Cancer Inst.*, **70**, 343-352.
- Ito, N., Fukushima, S., Tamano, S., Hirose, M. and Hagiwara, A. (1986a) Dose response in butylated hydroxyanisole induction of forestomach carcinogenesis in F344 rats. *J. Natl Cancer Inst.*, **77**, 1261-1265.
- Ito, N., Hagiwara, A., Shibata, M., Ogiso, T. and Fukushima, S. (1982) Induction of squamous cell carcinoma in the forestomach of F344 rats treated with butylated hydroxyanisole. *Gann*, **73**, 332-334.
- Ito, N., Hirose, M. and Takahashi, S. (1991) Cellular proliferation and stomach carcinogenesis induced by antioxidants. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **369**, 43-52. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Ito, N., Hirose, M. and Takahashi, S. (1993) Cell proliferation and forestomach carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.*, **101**, 107-110.
- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T. and Tatematsu, M. (1986b) Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1071-1082.
- Iverson, F. (1999) *In vivo* studies on butylated hydroxyanisole. *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 993-997.
- Iverson, F., Truelove, J., Nera, E., Lok, E., Clayson, D.B. and Wong, J. (1986) A 12-week study of BHA in the cynomolgus monkey. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1197-1200.
- JECFA (1989) Evaluation of certain food additives and contaminants, Thirty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (Tech. Rep. Ser. No.776), Geneva. (http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_776.pdf)
- Jeong, S.H., Kim, B.Y., Kang, H.G., Ho, K. and Cho, J.H. (2005) Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicol.*, **208**, 49-62.
- Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M.G. and Sumpter, J.P. (1995) A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Perspect.*, **103**, 582-587.

- Joner, P.R. (1977) Butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluene (BHT) and ethoxyquin (EMQ) tested for mutagenicity. *Acta Vet. Scand.*, **18**, 187-193. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Kagawa, M., Hakoi, K., Yamamoto, A., Futakuchi, M. and Hirose, M. (1993). Comparison of reversibility of rat forestomach lesions induced by genotoxic and non-genotoxic carcinogens. *Jpn. J. Cancer Res.*, **84**, 1120-1129.
- Kaneko, M., Morimura, K., Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Takada, N., Osugi, H., Kinoshita, H. and Fukushima, S. (2002) Different genetic alterations in rat forestomach tumors induced by genotoxic and non-genotoxic carcinogens. *Carcinogenesis*, **23**, 1729-1735.
- Karickhoff, S.W., McDaniel, V. K., Melton, C., Vellino, A.N., Nute, D. E. and Carreira, L.A. (1991) Predicting chemical reactivity by computer. *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**, 1405-1416.
- Kawachi, T., Komatsu, T., Kada, T., Ishidate, M., Sasaki, M., Sugiyama, T. and Tazima, Y. (1980) Results of recent studies on the relevance of various short-term screening tests in Japan. In: *The Predictive value of short-term screening tests in Carcinogenicity Evaluation*, ed. Williames, G.M., Kroses, R., Waaijers, H.W. and van de Poll, K.W. 253-267. Elsevier, Amsterdam. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Le Coz, C.J. and Schneider, G.A. (1998) Contact dermatitis from *tertiary*-butylhydroquinone in a hair dye, with cross-sensitivity to BHA and BHT. *Contact dermatitis*, **39**, 39-40.
- Masui, T., Asamoto, M., Hirose, M., Fukushima, S. and Ito, N. (1987) Regression of simple hyperplasia and papillomas and persistence of basal cell hyperplasia in the forestomach of F344 rats treated with butylated hydroxyanisole. *Cancer Res.*, **47**, 5171-5174.
- Masui, T., Hirose, M., Imaida, K., Fukushima, S., Tamano, S. and Ito, N. (1986) Sequential changes of the forestomach of F344 rats, Syrian golden hamsters, and B6C3F₁ mice treated with butylated hydroxyanisole. *Jpn. J. Cancer Res.*, **77**, 1083-1090.
- Matsuoka, A., Matsui, M., Miyata, N., Sofuni, T. and Ishidate, M.Jr. (1990) Mutagenicity of 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) and its metabolites in short-term tests *in vitro*. *Mutat. Res.*, **241**, 125-132.
- Merck (2006) *The Merck Index*, 14th ed., Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ.
- Miyagi, M.P. and Goodheart, C.R. (1976) Effects of butylated hydroxyanisole in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, **40**, 37-42. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Morimoto, K., Takahashi, T., Okudaira, K., Iio, T., Saito, Y. and Takahashi, A. (1992) Dose-response study on covalent binding to forestomach protein from male F344 rats following oral administration of [¹⁴C]3-BHA. *Carcinogenesis*, **13**, 1663-1666. (Whysner and Williams, 1996から引用)
- Morimoto, K., Tsuji, K., Iio, T., Miyata, N., Uchida, A., Osawa, R., Kitsutaka, H. and Takahashi, A. (1991) DNA damage in forestomach epithelium from male F344 rats following oral administration of *tert*-butylquinone, one of the forestomach metabolites of 3-BHA. *Carcinogenesis*, **12**, 703-708. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Murli, H. and Brusick, D. (1992) Induction of chromosomal aberrations by high concentrations of

- butylated hydroxyanisole (BHA) in Chinese hamster ovary (CHO) cells in the presence of washed microsomes. *In Vitro Toxicol.*, **5**, 93-101.
- Nordic Council of Ministers (2002) Food additives in Europe 2000, Status of safety assessments of food additives presently permitted in the EU. TemaNord 2002:560.
(<http://www.norden.org/pub/velfaerd/livsmedel/sk/TN2002560.pdf>)
- Orton, D.I. and Shaw, S. (2001) Allergic contact dermatitis from pharmaceutical grade BHA in Timodine, with no patch test reaction to analytical grade BHA. *Contact dermatitis*, **44**, 191-192.
- Patty (2001) *Patty's Toxicology* 5th ed., ed. by E. Bingham, B. Cofrancesco, C.H. Powell, Wiley-Interscience Publication, N.Y.
- Phillips, B.J., Carroll, P.A., Tee, A.C. and Anderson, D. (1989) Microsome-mediated clastogenicity of butylated hydroxyanisole (BHA) in cultured Chinese hamster ovary cells: the possible role of reactive oxygen species. *Mutat. Res.*, **214**, 105-114.
- Phillips, B.J., James, T.E.B. and Anderson, D. (1984) Genetic damage in CHO cells exposed to enzymatically generated active oxygen species. *Mutat. Res.*, **126**, 265-271. (Murli and Brusick, 1992 から引用)
- Prasad, O.M. and Kamra, O.P. (1974) Radiosensitization of *Drosophila* sperm by commonly used food additives - butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Int. J. Radiat. Biol.*, **25**, 67-72. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Rahimtula, A. (1983) *In vitro* metabolism of 3-*t*-butyl-4-hydroxyanisole and its irreversible binding to proteins. *Chem. Biol. Interactions*, **45**, 125-135. (IARC, 1986 から引用)
- Roed-Petersen, J. and Hjorth, N. (1976) Contact dermatitis from antioxidants. *Br. J. Dermatol.*, **94**, 233-241.
- Rogers, C.G., Nayak, B.N. and Heroux-Metcalf, C. (1985) Lack of induction of sister chromatid exchanges and of mutation to 6-thioguanine resistance in V79 cells by butylated hydroxyanisole with and without activation by rat or hamster hepatocytes. *Cancer Lett.*, **27**, 61-69.
- Rosin, M.P. and Stich, H.F. (1979) Assessment of the use of the *Salmonella* mutagenesis assay to determine the influence of antioxidants on carcinogen-induced mutagenesis. *Int. J. Cancer*, **23**, 722-727.
- Saito, K., Nakagawa, S., Yoshitake, A., Miyamoto, J., Hirose, M. and Ito, N. (1989) DNA-adduct formation in the forestomach of rats treated with 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole and its metabolites as assessed by an enzymatic ³²P-postlabeling method. *Cancer Lett.*, **48**, 189-195. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Sakai, A., Miyata, N. and Takahashi, A. (1997) Promoting activity of 3-*tert*-butyl-hydroxyanisole (BHA) in BALB/3T3 cell transformation. *Cancer Lett.*, **115**, 213-220.
- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. and Tsuda, S. (2002) The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat. Res.*, **519**, 103-119.

- Schilderman, P.A.E.L., van Maanen, J.M.S., ten Vaarwerk, F.J., Lafleur, M.V.M., Westmijze, E.J., ten Hoor, F. and Kleinjans, J.C.S. (1993) The role of prostaglandin H synthase-mediated metabolism in the induction of oxidative DNA damage by BHA metabolites. *Carcinogenesis*, **14**, 1297-1302. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Slamenova, D., Horvathova, E., Robichova, S., Hrusovska, L., Gabelova, A., Kleibl, K., Jakubikova, J. and Sedlak, J. (2003) Molecular and cellular influences of butylated hydroxyanisole on Chinese hamster V79 cells treated with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine: antimutagenicity of butylated hydroxyanisole. *Environ. Mol. Mutagen.*, **41**, 28-36.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2008) AopWin Estimation Software, ver. 1.90, North Syracuse, NY.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2008) BcfWin Estimation Software, ver. 2.14, North Syracuse, NY.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2008) HenryWin Estimation Software, ver. 3.10, North Syracuse, NY.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2008) KowWin Estimation Software, ver. 1.66, North Syracuse, NY.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2008) PcKocWin Estimation Software, ver. 1.66, North Syracuse, NY.
- Takahashi, O., Sakamoto, Y. and Hiraga, K. (1985) Lung hemorrhagic toxicity of butylated hydroxyanisole in the rat. *Toxicol. Lett.*, **27**, 15-25. (IARC, 1986から引用)
- Takizawa, Y., Matsuda, Y. and Yamasita, J. (1985) The absorption and excretion of butylated hydroxyanisole in beagle dogs. *Toxicol. Lett.*, **27**, 27-34. (WHO, 1989 から引用)
- Tamano, S., Hirose, M., Tanaka, H. Hagiwara, A. and Shirai, T. (1998) Variation in susceptibility to the induction of forestomach tumours by butylated hydroxyanisole among rats of different strains. *Food Chem. Toxicol.*, **36**, 299-304.
- Tan, E.L., Schenley, R.L. and Hsie, A.W. (1982) Microsome-mediated cytotoxicity to CHO cells. *Mutat. Res.*, **103**, 359-365.
- The Dictionary of Substances and their Effects (1992) Ed. by Richardson, M.L., Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Tobe, M., Furuya, T., Kawasaki, Y., Naito, K., Sekita, K., Matsumoto, K., Ochiai, T., Usui, A., Kokubo, T., Kanno, J. and Hayashi, Y. (1986) Six-month toxicity study of butylated hydroxyanisole in beagle dogs. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1223-1228.
- Tsuji, S., Tonogai, Y., Ito, Y. and Kanoh, S. (1986) The Influence of Rearing Temperatures on the Toxicity of Various Environmental Pollutants for Killifish (*Oryzias latipes*). *J. Hyg. Chem (Eisei Kagaku)*, **32**, 46-53.
- U.S. EPA, Environmental Protection Agency (2008) Integrated Risk Information System, National Library of Medicine. (<http://toxnet.nlm.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?IRIS> から引用)
- U.S. NTP, National Toxicology Program (2008) U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service, National Toxicology Program 11th Report on Carcinogens.

- (<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s027bha.pdf> から引用)
- Verhagen, H., Furnee, C., Schutte, B., Bosman, F.T., Blijham, G.H., Henderson, P.Th., ten Hoor, F. and Kleinjans, C.S. (1990) Dose-dependent effects of short-term dietary administration of the food additive butylated hydroxyanisole on cell kinetic parameters in gastro-intestinal tract. *Carcinogenesis*, **11**, 1461-1468. (The Dictionary of Substances and their Effects, 1992 から引用)
- Verhagen, H., Maas, L.M., Beckers, R.H., Thijssen, H.H., ten Hoor, F., Henderson, P.T. and Kleinjans, J.C. (1989) Effect of subacute oral intake of the food antioxidant butylated hydroxyanisole on clinical parameters and phase-I and -II biotransformation capacity in man. *Hum. Toxicol.*, **8**, 451-459.
- Vorhees, C.V., Butcher, R.E., Brunner, R.L., Wootten, V. and Sobotka, T.J. (1981) Developmental neurobehavioral toxicity of butylated hydroxyanisole (BHA) in rats. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.*, **3**, 321-329. (IARC, 1986 から引用)
- WHO (1974) Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents (WHO Food Add. Ser. No. 5), Geneva. (<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je22.htm>)
- WHO (1976) Toxicological evaluation of certain food additives (WHO Food Add. Ser. No. 10), Geneva. (<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v10je02.htm>)
- WHO (1987) Toxicological evaluation of certain food additives (WHO Food Add. Ser. No. 21), Geneva. (<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v21je02.htm>)
- WHO (1989) Toxicological evaluation of certain food additives (WHO Food Add. Ser. No. 24), Geneva. (<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je02.htm>)
- Whysner, J. and Williams, G.M. (1996) Butylated hydroxyanisole mechanistic data and risk assessment: conditional species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. *Pharmacol. Ther.*, **71**, 137-151.
- Williams, G.M. and Iatropoulos, M.J. (1996) Inhibition of the hepatocarcinogenicity of aflatoxin B₁ in rats by low levels of the phenolic antioxidants butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Cancer Lett.*, **104**, 49-53.
- Williams, G.M., Iatropoulos, M.J. and Jeffrey, A.M. (2002) Anticarcinogenicity of monocyclic phenolic compounds. *Eur. J. Cancer Prev.*, **11** (suppl 2), S101-S107.
- Williams, G.M., Iatropoulos, M.J. and Whysner, J. (1999) Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 1027-1038.
- Williams, G.M., McQueen, C.A. and Tong, C. (1990) Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. I. Genetic and cellular effects. *Food Chem. Toxicol.*, **28**, 793-798. (Whysner and Williams, 1996 から引用)
- Williams, G.M., Mori, H. and McQueen, C.A. (1989) Structure-activity relationships in the rat hepatocyte DNA-repair test for 300 chemicals. *Mutat. Res.*, **221**, 263-286. (Whysner and Williams, 1996 から引用)

- Williams, G.M., Tanaka, T. and Maeura, Y. (1986) Dose-related inhibition of aflatoxin B₁ induced hepatocarcinogenesis by the phenolic antioxidants, butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Carcinogenesis*, **7**, 1043-1050. (Williams et al., 2002 から引用)
- Wurtzen, G. and Olsen, P. (1986) BHA study in pigs. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1229-1233.
- Yang, C.S., Strickhart, F.S. and Woo, G.K. (1974) Inhibition of the mono-oxygenase system by butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Life Sci.*, **15**, 1497-1505. (IARC, 1986から引用)
- Yaws, C. L. (2005) *The Yaws Handbook of Physical Properties for Hydrocarbons and Chemicals*, Gulf Publishing Company, Houston, TX.
- 大久保智子、加納いつ (2003) ヒト乳がん由来 MCF-7 細胞を用いた食品添加物等の内分泌かく乱作用の検索と BHA、OPP を中心とした機構の解析. *YAKUGAKU ZASSHI*, **123**, 443-452.
- 化学工業日報社 (2008) 15308 の化学商品, 化学工業日報社, 東京.
- 化学物質評価研究機構 (2008) 平成 20 年度環境省請負調査研究化管法対象物質見直しに係る情報収集・整理業務報告書.
- 環境省 (2006a) 平成 17 年度環境省化学物質の生態影響試験事業, JCL バイオアッセイ、平成 18 年 4 月
- 環境省 (2006b) 平成 17 年度環境省化学物質の生態影響試験事業, JCL バイオアッセイ、平成 18 年 4 月
- 環境省 (2006c) 平成 17 年度環境省化学物質の生態影響試験事業, JCL バイオアッセイ、平成 18 年 4 月.
- 産業技術総合研究所 (2008) 有機化合物スペクトルデータベース.
(http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=jp (2008.12) から引用)
- 鈴木郁生, 野島庄七, 谷村顕雄 (1999) 第 7 版 食品添加物公定所解説書, 広川書店, 東京.
- 通商産業省 (1980) 通商産業公報 (1980 年 12 月 25 日), 3 省共同化学物質データベース.
(<http://www.safe.nite.go.jp/tmdb/Init.do> から引用)
- 日本産業衛生学会 (2008) 許容濃度等の勧告 (2008 年度), *産衛誌*, **50**, 157-182.
- 平賀興吾, 林田志信, 市川久次, 米山允子, 藤井孝, 池田虎雄, 矢野範男 (1971) 食品添加物の相乗毒性に関する研究 (I) Butylated hydroxyanisole, Butylated hydroxytoluene ならびに両者併用の急性および亜急性毒性について. *東京都立衛生研究所研究年報*, **22**, 231-249.
- 広瀬雅雄, 伊東信行 (1991) 酸化防止剤による発癌とその機序. *Oncologia*, **24**, 31-37.

有害性評価責任者及び担当者一覧

有害性評価責任者及び担当者

有害性評価責任者	石井 聡子
有害性評価担当者	
1. 化学物質の同定情報	川原 和三 吉川 治彦 林 浩次
2. 一般情報	川原 和三 吉川 治彦 林 浩次
3. 物理化学的性状	川原 和三 吉川 治彦 林 浩次
4. 発生源情報	川原 和三 吉川 治彦 林 浩次
5. 環境中運命	川原 和三 吉川 治彦 林 浩次
6. 生態影響評価	野坂 俊樹 北村 公義
7. ヒト健康影響評価	馬野 高昭 浦谷 善彦 山根 重孝

有害性評価書外部レビュー一覧

環境中の生物への影響 (6章)

小林 邦男 九州大学名誉教授

ヒト健康への影響 (7章)

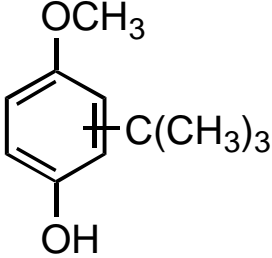
高橋 道人 昭和大学客員教授

改訂記録

2009年3月 Ver. 0.4 初期リスク評価指針及び作成マニュアル ver.2.0 に基づき原案作成

2009年3月 Ver.1.0 有害性評価専門委員会審議了承

まとめ表

化学物質の 同定情報	物質名	ブチルヒドロキシアニソール (別名 BHA)
	化学物質排出把握 管理促進法政令号 番号	1-365
	化学物質審査規制 法官報公示整理番 号	3-608
	CAS 登録番号	25013-16-5 (異性体混合物) <i>tert</i> -ブチル基の位置の違いにより 2 種類の異性体が存在し、それぞれ CAS 登録番号が異なる。 88-32-4 (2-異性体) 121-00-6 (3-異性体)
	構造式	
	分子式	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
	分子量	180.25
物理化学的 性状	外観	無色の結晶、白色の結晶性粉末
	融点	48～55℃
	沸点	264～270℃ (733 mmHg)
	引火点	データなし
	発火点	データなし
	爆発限界	データなし
	比重	1.0121 (25℃、推定値)
	蒸気密度	6.21 (空気=1)
	蒸気圧	データなし
	分配係数	オクタノール/水分配係数 log Kow = 3.50 (推定値)

	解離定数	pKa=10.24 (2-異性体、推定値)、pKa=11.35 (3-異性体、推定値)
	土壌吸着係数	Koc=1,390 (推定値)
	溶解性	水：3.04 mmol/kg (548 mg/L 相当)(25℃) 石油エーテル、プロピレングリコール、アルコール類：可溶
	ヘンリー定数	0.264 Pa・m ³ /mol (2.608×10 ⁻⁶ atm・m ³ /mol) (25℃、推定値)
	換算係数 (気相、20℃)	1 ppm=7.50 mg/m ³ 、1 mg/m ³ =0.133 ppm
	その他	—
発生源	用途情報	パーム原料油の酸化防止剤、ゴム用老化防止剤、ポリオレフィン・ポリスチレンの酸化防止剤
環境中運命	生分解性	好氣的生分解 (化審法)：難分解性と判定
		好氣的生分解 (その他)：データなし
		嫌氣的生分解：データなし
	生物濃縮性	濃縮性はない、または低いと判定されている (化審法)
		生物濃縮係数 (BCF)：35 (オクタノール/水分配係数 log Kow=3.50 (推定値) から計算)
環境水中での動態	生分解されにくく、水中の懸濁物質に吸着されたものは底質に移行すると推定	
環境中生物への影響	藻類に対する毒性	急性：72 時間 EC ₅₀ ：5.2 mg/L (セレナストラム、生長速度)
		長期：72 時間 NOEC：0.25 mg/L (セレナストラム、バイオマス及び生長速度)
	無脊椎動物に対する毒性	急性：48 時間 EC ₅₀ ：2.3 mg/L (オオミジンコ、遊泳阻害)
		長期：評価できる試験報告なし
	魚類に対する毒性	急性：48 時間 LC ₅₀ ：1 mg/L (ニジマス)
		長期：評価できる試験報告なし
ヒト健康への影響	急性毒性	経口 マウス：LD ₅₀ 1,100 mg/kg (雄)、1,320 mg/kg (雌) ラット：LD ₅₀ 2,000 mg/kg (雄)、2,200 mg/kg (雌)
		吸入：データなし
		経皮：データなし
		腹腔内 ラット：LD ₅₀ 881 mg/kg (雄)

	刺激性及び腐食性	皮膚：データなし
		眼：データなし
		備考：ヒトでは刺激性なし（7.2章「疫学調査及び事例」参照）
	感作性	皮膚：データなし
		ヒトでは皮膚感作性あり（7.2章「疫学調査及び事例」参照）
	反復投与毒性	経口：イヌを用いた6か月間混餌投与試験で0.25%（54-62 mg/kg/日）以上の群の雌雄で肝臓及び甲状腺の重量増加
		吸入：データなし
		備考：標的器官：肝臓及び甲状腺
	生殖・発生毒性	500 mg/kg/日群の雌雄で、生殖器の軽度の機能障害と発育遅延
		内分泌かく乱作用を疑わせる所見あり
	遺伝毒性	遺伝毒性なし
		<i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> 試験について多数の報告あり
	発がん性	経口：NOAEL: 0.125% (54.8 mg/kg/日) (ラット 2年間混餌投与試験 前胃の過形成)
		げっ歯類の前胃に扁平上皮がん（閾値あり）
		備考：IARCでは2Bに分類 疫学研究では食物経由での日常の摂取では胃がんとの関連性はみられない
その他	イニシエートされたがんを促進または阻害する報告がある。抗酸化物質、酸化促進物質、低濃度での抗発がん物質、発がん物質、発がんプロモーターといくつかの矛盾した特質を持つ可能性がある。	