

内閣府食品安全委員会事務局
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る
食品健康影響評価に関する調査報告書

酢酸トレンボロン

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー

はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、酢酸トレンボロンについて FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月
株式会社三菱化学テクニサーチ

目 次

酢酸トレンボロン

1. 調査の目的.....	5
2. 作業の概要.....	5
2.1. 調査対象物質.....	5
2.2. 評価書の翻訳.....	7
2.2.1. 評価書.....	7
2.3. 翻訳の整理.....	7
3. 評価書和訳.....	7
3.1 JECFA(1987年).....	9
3.2 JECFA(1987年).....	23
3.3 JECFA(1989年).....	57
3.4 JECFA(1989年).....	73

海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

酢酸トレンボロン

1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成 15 年法律第 55 号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成 18 年 5 月 29 日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758 物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議)及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議)と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会)の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表 1 に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうち酢酸トレンボロンの調査について報告した。

表 1 調査対象の農薬等

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン(アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストロール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤

番号	物質名	主な用途
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2.2. 評価書の翻訳

2.2.1. 評価書

酢酸トレンボロンに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JECFA における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JECFA	1987	FNP 41/1-JECFA 32/30, 1987
JECFA	1987	FAS 23-JECFA 32/73, 1987
JECFA	1989	FNP 41/2-JECFA 34/88, 1989
JECFA	1989	FAS 25-JECFA 34/101, 1989

2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

3. 評価書と訳

以下に評価書の指定箇所の全和訳を、評価書ごとに掲載した。

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1987

ウェブサイト:ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-1-trenbolone_acetate.pdf
FNP 41/1-JECFA 32/30, 1987

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理 JECFA 1987 目次

酢酸トレンボロン	13
評価対象動物薬の概要 (原文 P. 29)	13
その他の特性概要(原文 P. 29)	13
純粋な活性成分: (原文 p. 29)	13
食品中残留物及びその評価 (原文 P. 30)	14
使用条件 (原文 P. 30)	14
全般事項 (原文 p. 30)	14
投与量: (原文 p. 30)	14
放射能標識残留試験 (原文 P. 30)	14
全般事項 (原文 p. 30)	14
子牛 (原文 p. 30)	14
未経産牛 (原文 p. 31)	15
残留試験 (原文 P. 31)	15
去勢子牛 (原文 p. 31)	15
未経産牛 (原文 p. 33)	17
子牛 (原文 p. 34)	18
残留分析法 (原文 P. 35)	19
全般事項 (原文 p. 35)	19
RIA (原文 p. 35)	19
評価 (原文 P. 35)	19
酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1987)	21
略称.....	21

原文 目次

原文ページ

IDENTITY -----	29
OTHER INFORMATION ON IDENTITY AND PROPERTIES -----	29
Pure active ingredient -----	29
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION -----	30
CONDITIONS OF USE -----	30
General -----	30
Dosages -----	30
RADIOLABELED RESIDUE STUDIES -----	30
General -----	30
Calves -----	30
Heifers -----	31
RESIDUE STUDIES -----	31
Steers -----	31
Heifers -----	33
Calves -----	34
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS -----	35
General -----	35
RIA -----	35
APPRAISAL -----	35
REFERENCES -----	36

酢酸トレンボロン

評価対象動物薬の概要 (原文 p. 29)

化学名: トレンボロン (Trenbolone)

17β-ヒドロキシエストラ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one)

4,9,11-エストラトリエン-17β-オール-3-オン (4,9,11-estratrien-17β-ol-3-one)

17β-ヒドロキシ-19-ノルアンドロスタ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-hydroxy-19-norandrosta-4,9,11-trien-3-one)

19-ノルアンドロスタ-4,9,11-トリエン-17β-オール-3-オン (19-norandrosta-4,9,11-trien-17β-ol-3-one)

酢酸トレンボロン (Trenbolone acetate)

17β-アセトキシ-3-オキソエストラ-4,9,11-トリエン (17β-acetoxy-3-oxoestra-4,9,11-triene)

17β-アセトキシエストラ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-acetoxyestra-4,9,11-triene-3-one)

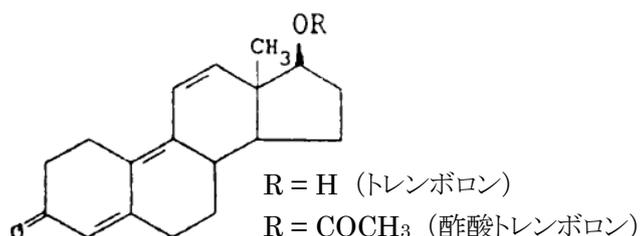
3-オクソ-17β-ヒドロキシ-4,9,11-エストラトリエンアセテート (3-oxo-17β-hydroxy-4,9,11-estratrieneacetate)

同義語: トレンボロン (Trenbolone)

トリエンボロン (trienbolone)

トリエノロン (trienolone)

構造式:



分子式: C₁₈H₂₂O₂ (トレンボロン)、C₂₀H₂₄O₃ (酢酸トレンボロン)

分子量: 270.38 (トレンボロン)、312.39 (酢酸トレンボロン)

その他の特性概要 (原文 p. 29)

純粋な活性成分: (原文 p. 29)

	<u>トレンボロン</u>	<u>酢酸トレンボロン</u>
外観:	淡黄色、結晶	結晶
融点:	183~186°C	96~97°C
旋光度:	$[\alpha]_D^{20} = +19^\circ$ (c=0.45、エタノール中)	$+36.8^\circ$ (c=0.37、メタノール中)
UV _{max} :	239、 (Windholz, 1983)	340.5 nm

食品中残留物及びその評価 (原文 p. 30)

使用条件 (原文 p. 30)

全般事項 (原文 p. 30)

酢酸トレンボロン(TBA)は同化作用を持つ合成ステロイドである。牛の耳基部の皮下に埋め込むことで投与されるが、牛の体重、飼料転換及び窒素保持を向上する目的で、と殺予定日の 60～90 日前又はそれよりも早い時点で使用する。単独又は他のホルモン剤と併用で用いる。耳の部分は、と殺時にそこに残留している可能性のある薬物と共に廃棄する。

投与量: (原文 p. 30)

フィナプリックス (Finaplix, TBA 300 mg) = 未経産牛

トレラー (Torelor, TBA 200 mg + エストラジオール-17 β 40 mg) = 去勢子牛

レバラー (Revalor, TBA 140 mg + エストラジオール-17 β 20 mg) = 子牛

放射標識残留試験 (原文 p. 30)

全般事項 (原文 p. 30)

酢酸トレンボロンは循環系に入ると急速に加水分解されて、その遊離型活性体であるトレンボロン(TBOH)になる。ラットでは 17 β -エピマーが主要代謝物である。一方、牛では排泄物、胆汁、及び肝臓中に生成される主要代謝物は 17 α -エピマーであり、筋肉中に生成される主要代謝物は 17 β -エピマーである。(Jouquey, et al., 1983)

子牛 (原文 p. 30)

子牛(去勢雄 6 頭、雌 6 頭の計 12 頭。体重 150～200 kg)を用いた[6,7-³H]-酢酸トレンボロン(TBA、200 mg)の埋め込み試験が実施された。この試験では、埋め込み 15 及び 30 日後にそれぞれ 6 例ずつと殺した。と殺時には、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び胆汁の試料を採取して分析に用いた。試料中の放射能の測定は、無処置のままで行うとともに、凍結乾燥した後にも行った。試料中の放射能の測定では、試料をサンプルオキシダイザーで燃焼した。

組織中の放射能濃度は、表 I(総放射能濃度)及び表 II(非揮発性放射能濃度)に示された。

表 I. 組織中の総放射能濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

組織	埋め込み後の日数	
	15 日	30 日
肝臓	43.8 \pm 21.7	50.5 \pm 11.4
腎臓	16.4 \pm 5.6	21.8 \pm 5.1
筋肉	2.41 \pm 0.65	3.23 \pm 0.50
脂肪	2.45 \pm 1.15	2.40 \pm 0.88
胆汁	1,163 \pm 1,046	741 \pm 148

表 II. 組織中の非揮発性放射能濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

組織	埋め込み後の日数	
	15 日	30 日
肝臓	42.5 \pm 22.0	49.3 \pm 10.9
腎臓	15.1 \pm 6.3	20.5 \pm 5.2
筋肉	1.58 \pm 0.49	2.64 \pm 0.36
脂肪	2.38 \pm 1.36	2.31 \pm 0.74
胆汁	1,073 \pm 918	736 \pm 151

肝臓試料をホモジナイズし、その一部をジエチルエーテル又は酢酸エチルを用いて抽出した。またホモジナイズした肝臓試料の一部は β -グルクロニダーゼで一晩培養してから、抽出した。肝臓から抽出された放射能量を表 III に示した。

表 III. 肝臓から抽出した放射能 (試料中の総放射能に占める割合 (%))

	非処理のホモジネート		グルクロニダーゼ処理	
	エーテル	EtOAC	エーテル	EtOAC
15 日	11.1 \pm 3.1	14.9 \pm 3.3	25.9 \pm 5.5	28.9 \pm 5.1
30 日	8.1 \pm 2.1	11.7 \pm 2.5	18.3 \pm 3.2	21.4 \pm 3.9

(Hawkins, et al., 1984)

未経産牛 (原文 p. 31)

未経産牛 (2 頭) を用いた ^3H -TBA (300 mg) の埋め込み試験が実施された。この試験では、埋め込み後 60 日にと殺した。総残留物は平均で肝臓では 32.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、筋肉では 2.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。酵素加水分解した場合、放射能の組織からのエーテルによる回収率割合は、肝臓では 15 %、筋肉では 5 % とわずかであった。肝臓ホモジネートを用いた *in vitro* 試験の結果及び比較的低い CBI (共有結合指数: 3.79 ~ 7.36) から、著者らは、抽出されない放射能は DNA 以外のものに結合した残留物である可能性があると推論した (Hoffman et al., 1984)。

残留試験 (原文 p. 31)

去勢子牛 (原文 p. 31)

去勢子牛 (5 群、一群 6 頭) を用いた試験が実施された。この試験では、I 群を未処置の対照群とした。

II 群 ~ V 群の 24 例には、酢酸トレンボロン (TBA, 200 mg) 及びエストラジオール (E2 β , 40 mg) を埋め込み、埋め込み 15、30、60 及び 75 日後にそれぞれ 1 群ずつと殺した。これらの各時点では、対照群の子牛もと殺した。

17 β -トレンボロン (17 β -TBOH)、17 α -トレンボロン (17 α -TBOH) 及びエストラジオール-17 β のそれぞれの遊離体及び抱合体について、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の濃度を測定した。遊離エストロンについては肝臓及び脂肪中の濃度を、17 α -TBOH 抱合体及び E2 α *抱合体については尿中の濃度を測定した。分析は HPLC-RIA 法で行った。

* E2 α の正式名は原文に記載されていないが、E2 β からの類推で、略号一覧では、estradiol-17 α の略とした。

17 β -TBOH 及び 17 α -TBOH のそれぞれ遊離体及び抱合体の組織中残留物濃度を表 IV ~ VII に示した。標準偏差を示していない濃度は、用いた定量法の検出限界以下のものである。

表 IV. トレラー埋め込み後の去勢子牛における 17β-TBOH 遊離体の組織中平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照	17	33	8	21
15 日	254 ± 62	467 ± 162	78 ± 41	392 ± 147
30 日	272 ± 80	323 ± 131	67	293 ± 171
60 日	108 ± 29	180 ± 105	78 ± 24	120 ± 106
75 日	71 ± 32	83 ± 52	52	111 ± 86

表 V. トレラー埋め込み後の去勢子牛における 17β-TBOH 抱合体の組織中平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照	34	56	15	34
15 日	66	1,110 ± 568	35	27
30 日	43	772 ± 618	36	31
60 日	38	695 ± 337	33	32
75 日	43	401 ± 177	33	20

表 VI. トレラー埋め込み後の去勢子牛における 17α-TBOH 遊離体の組織中平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照	36	41	50	38
15 日	0	213 ± 71	95 ± 44	74 ± 20
30 日	9	226 ± 80	76 ± 8	62 ± 19
60 日	41	89 ± 26	24	60
75 日	40	39	23	55

表 VII. トレラー埋め込み後の去勢子牛における 17α-TBOH 抱合体の組織中平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照	13	47	39	41
15 日	21	1,918 ± 864	386 ± 282	59
30 日	10	1,708 ± 758	210 ± 44	36
60 日	27	908 ± 664	143 ± 27	52
75 日	16	656 ± 331	182 ± 51	16

筋肉、肝臓及び脂肪中の 17β-TBOH の遊離体は、互いに同じような濃度であったが、腎臓においては検出限界近くの低い濃度であった。17β-TBOH の抱合体が検出可能であったのは肝臓だけであった。

17α-TBOH の遊離体が埋め込み後 60 日まで検出されたのは肝臓だけであり、腎臓及び脂肪では埋め込み後 30 日までしか検出されなかった。17α-TBOH の抱合体は肝臓及び腎臓で検出された。[Arts, et al., 1986(a)]

未経産牛（原文 p. 33）

未経産牛(24頭、体重約280kg)を用いたフィナプリックス(Finaplix、TBAを300mg含有)の埋め込み試験が実施された。埋め込み後15、30、60及び75日にそれぞれ6例をと殺し、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿については17β-TBOH、17α-TBOH及びE2βのそれぞれの遊離体及び抱合体を測定し、尿については17α-TBOH及びE2αの抱合体を測定した。

17β-TBOH及び17α-TBOHのそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留物を表VIII～XIに示した。

表 VIII. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における17β-TBOH遊離体の組織中平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	526 ± 237	528 ± 162	530 ± 310	1,091 ± 546
30日	645 ± 328	440 ± 148	445 ± 195	1,021 ± 535
60日	152 ± 24	253 ± 67	340 ± 72	345 ± 164
75日	187 ± 103	110 ± 63	145 ± 66	158 ± 109

表 IX. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における17β-TBOH抱合体の組織中平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	60	1,031 ± 650	179 ± 62	31
30日	75	972 ± 470	167 ± 38	46
60日	34	909 ± 268	144 ± 34	31
75日	97 ± 34	499 ± 176	33	30

表 X. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における17α-TBOH遊離体の組織中平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	73 ± 78	440 ± 192	144 ± 87	152 ± 48
30日	102 ± 106	286 ± 78	155 ± 47	113 ± 54
60日	60	63 ± 30	57	93 ± 19
75日	42	71 ± 25	26	70 ± 27

表 XI. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における17α-TBOH抱合体の組織中平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	75	4,255 ± 1,729	464 ± 353	62
30日	59	2,920 ± 1,130	309 ± 176	60
60日	20	1,699 ± 755	200 ± 103	40
75日	81	1,572 ± 733	242 ± 107	44

標準偏差は絶対標準偏差で表示した。標準偏差を示していない数値は、用いた分析法の検出限界以下の数値である。

埋め込み後 15 日の筋肉、肝臓及び腎臓中の遊離 17 β -TBOH 濃度は、ほぼ同様である。脂肪中では、その他の組織中の濃度のほぼ倍であった。埋め込み後 60 日には遊離 17 β -TBOH 濃度は、埋め込み後 15 日や 30 日の濃度と比較して有意に減少した。

17 β -TBOH の抱合体が検出されたのは肝臓及び腎臓だけであった。遊離 17 α -TBOH は、筋肉及び腎臓においては埋め込み後 30 日まで、また肝臓及び脂肪においては試験期間を通して検出された (Arts, et al., 1986(b))。

子牛 (原文 p. 34)

子牛を用いたレバラー (Revalor、酢酸トレンボロン 140 mg+エストラジオール 20 mg) の埋め込み試験が実施された。埋め込み試験群は雄 12 頭及び雌 12 頭の計 24 頭とし、埋め込み後 15、30、50 及び 70 日にそれぞれ雌雄各 3 例をと殺した。対照群は雄 4 頭及び雌 4 頭の計 8 頭とし、埋め込み後 30 日及び 70 日にそれぞれ雌雄各 2 頭をと殺した。肝臓及び腎臓については 17 α -TBOH 及び 17 β -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体を RIA によって分析した。筋肉については、17 α -TBOH 及び 17 β -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の合計量で測定した。その結果を表 XII 及び XIII に示した (Roberts and Cameron, 1986)。

表 XII. レバラー埋め込み後の子牛における 17 β -TBOH の組織中平均濃度 (ng/kg)

	筋肉		肝臓		腎臓	
	合計*	遊離体	抱合体	遊離体	抱合体	抱合体
対照	29.5 ± 10.9	90.5 ± 51.0	50.8 ± 24.0	34.8 ± 9.84	33.3 ± 8.6	
15 日	237 ± 87.5	414 ± 178	404 ± 198	23 ± 208	240 ± 43.7	
30 日	228 ± 108	908 ± 404	366 ± 112	586 ± 52.7	207 ± 47.6	
50 日	261 ± 91.6	787 ± 413	366 ± 95.7	226 ± 156	198 ± 50.4	
70 日	219 ± 125	763 ± 226	436 ± 56.9	389 ± 211	252 ± 61.5	

* 17 β -TBOH** の遊離体と抱合体の合計

** 原文では 17 α -TBOH となっているが、この表のタイトルからこれは 17 β -TBOH であることは明らかであり、また JECFA1989 の表 XIX では 17 β -TBOH となっているため、訳文では 17 β -TBOH とした。

表 XIII. レバラー埋め込み後の子牛における 17 α -TBOH の組織中平均濃度 (ng/kg)

	筋肉		肝臓		腎臓	
	合計*	遊離体	抱合体	遊離体	抱合体	抱合体
対照	30.3 ± 17.0	62.4 ± 25.6	46.8	19.6 ± 15.9	34.8 ± 11.6	
15 日	81.2 ± 39.6	982 ± 245	1,202 ± 598	322 ± 184	312 ± 283	
30 日	105 ± 43.7	1,078 ± 353	754 ± 315	196 ± 90.8	221 ± 34.0	
50 日	66.6 ± 32.5	683 ± 301	584 ± 226	193 ± 54.6	139 ± 37.7	
70 日	44.2 ± 16.5	540 ± 149	733 ± 206	142 ± 37.7	91.6 ± 1.92	

* 17 α -TBOH の遊離体と抱合体の合計

残留分析法 (原文 p. 35)

全般事項 (原文 p. 35)

血漿、排泄物及び組織中のトレンボロンの定量法としていくつか分析法が用いられてきた。TLC 法は経済的だが、感度は 10~100 µg/kg と限られている。HPLC 法及び GC-MS 法では、1~10 µg/kg までの定量ができるようになった。RIA では、さらに 0.1~1 µg/kg までの定量ができるだけでなく、代謝物である 17α-TBOH 及び 17β-TBOH の両方を測定できる。(Hoffman and Ryan, 1978) (Hoffman and Oettel, 1976) (Jouquey, et al., 1983) (O'Keefe, 1984a) (O'Keefe, 1984b)

RIA (原文 p. 35)

組織ホモジネートをトルエン:エーテル(7: 3)で抽出し、ステロイドの遊離体と抱合体に分離する。ステロイド抱合体はグルクロニダーゼ及びスルファターゼと共にインキュベートし、生成した遊離のステロイドをトルエン:エーテルで抽出する。それらのステロイドは固相クロマトグラフィーで精製したのち、HPLC で分離し、RIA で定量される。組織中の検出限界は、遊離 17β-TBOH で 70 ng/kg、17β-TBOH 抱合体で 75 ng/kg、遊離 17α-TBOH で 60 ng/kg、また 17α-TBOH 抱合体で 75 ng/kg であると報告されている。(Arts, et al., 1986(b))

評価 (原文 p. 35)

酢酸トレンボロン(200 mg)を埋め込んだ場合、肝臓中のこの薬物に関連した総残留物は最高で約 50 µg/kg、また筋肉においては 3 µg/kg である。肝臓をグルクロニダーゼ処理すると、総残留物の約 25 %がエーテル又は酢酸エチルにより抽出される。Hawkinsら(1984)及び Hoffmanら(1984)の試験によると、埋め込み期間が 60 日未満の場合は、筋肉から抽出される総残留物は 10 %と推定されるので、筋肉中及び肝臓中の総残留物が 3 及び 50 µg/kg だとすると、筋肉及び肝臓中の酢酸トレンボロンの可溶性残留物は 0.3 及び 12.5 µg/kg と計算することができる。酢酸トレンボロン由来の残留物の大部分は有機溶媒では抽出できず、なんらかの形で組織に「結合」している。酢酸トレンボロンの安全性についてどのような評価をするにしても、これらの「結合型」の残留物を考慮する必要がある。

去勢子牛、未経産牛及び子牛における埋め込み後 30 日の筋肉及び肝臓中の 17β-TBOH 及び 17α-TBOH 並びにそれぞれの抱合体の残留物濃度を表 XIV にまとめた。ここに示した 3 つの試験における用量及び休薬期間は同じではないが、残留物に関するデータは組織中の可溶性残留物の定性的な特徴を特定するのに有用である。

去勢子牛で得られたデータによると、筋肉組織中のほとんどすべての可溶性残留物は 17β-TBOH である。未経産牛では、17α-TBOH が検出され、遊離 17α-TBOH は 17β-TBOH のほぼ 1/3 である。肝臓組織中の残留物に関しては、去勢子牛及び未経産牛では、17β-TBOH の遊離体が 17α-TBOH の遊離体より多いが、抱合体を含めると 17β-TBOH は合わせた 17α-TBOH の 30~70 %である。

要約すると、筋肉中の主残留物は 17β-TBOH であるが、残留物中に占める 17α-TBOH の遊離体の割合が著しく少ないというわけではない。17α-TBOH 及び 17β-TBOH の両者を合わせれば、遊離体の残留物は筋肉中で 0.3~0.7 µg/kg となる。

表 XIV. 酢酸トレンボロン埋め込み後の去勢子牛、未経産牛及び子牛の筋肉及び肝臓中の残留物濃度
(ng/kg)

		筋肉		肝臓	
		<u>17β-TBOH</u>	<u>17α-TBOH</u>	<u>17β-TBOH</u>	<u>17α-TBOH</u>
去勢子牛:	遊離体	272	—	323	226
	抱合体	—	—	772	1,708
未経産牛:	遊離体	645	102	440	286
	抱合体	—	—	972	2,920
子牛:	遊離体	228*	105*	908	1078
	抱合体			366	754

* これらの数値は、17β-TBOH 及び 17α-TBOH の遊離体及び抱合体の合計。

酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 1987）

該当する試験なし

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
CBI	covalently binding index	共有結合指数
E2 α	estradiol-17 α	エストラジオール-17 α
E2 β	estradiol-17 β	エストラジオール-17 β
EtOAC	ethyl acetate	酢酸エチル
GC-MS	gas-chromatography-mass spectrometry	ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメリー
RIA	radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
TBA	trenbolone acetate	酢酸トレンボロン
TBOH	trenbolone	トレンボロン

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1987

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v23je03.htm>

FAS 23-JECFA 32/73, 1987

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1987) 目次

説明 (原文 P.1)	29
生物学的データ (原文 P.1)	29
生化学的側面 (原文 P.1)	29
吸収,分布,排泄, 及び代謝 (原文 P.1)	29
ラット (原文 P.1)	29
牛 (原文 P.1)	29
リレー生物学的利用能 (原文 P.8)	33
タンパク質結合作用 (原文 P.9)	34
エストラジオール-17B 排泄及び窒素貯留に対する効果 (原文 P.9)	34
牛 (原文 P.9)	34
豚 (原文 P.10)	35
毒性試験 (原文 P.10)	35
発がん可能性に関する特殊試験 (原文 P.10)	35
ラット (原文 P.10)	35
IMMUNORESPONSE に関する特殊試験 (原文 P.11)	36
牛 (原文 P.11)	36
変異原性の特殊試験 (原文 P.11)	36
NO -ホルモンの影響に関する特殊試験 (原文 P.12)	36
豚 (原文 P.12)	36
サル (原文 P.17)	41
通信障害に関する特別試験 (原文 P.18)	41
ラット (原文 P.18)	41
繁殖に関する特殊試験 (原文 P.18)	41
ラット (原文 P.18)	41
催奇形性に関する特殊試験 (原文 P.22)	44
ラット (原文 P.22)	44
急性毒性 (原文 P.23)	44
イヌ (原文 P.24)	45
短期試験 (原文 P.24)	45
マウス (原文 P.24)	45
ラット (原文 P.25)	45
ウサギ (原文 P.27)	47
豚 (原文 P.27)	47

牛 (原文 P.28).....	48
長期試験 (原文 P.30).....	49
マウス (原文 P.30).....	49
ラット (原文 P.31).....	49
人での観察 (原文 P.32).....	50
コメント (原文 P.234).....	51
評価 (原文 P.34).....	52
全くホルモン作用を引き起こしていないレベル (原文 P.34).....	52
一時的一日摂取許容量の推定 (原文 P.35).....	52
さらなる研究又は情報 (原文 P.35).....	52

原文 目次

原文ページ

酢酸トレンボロン	1
説明	1
生物学的データ	1
生化学的側面	1
吸収、分布、排泄及び代謝	1
ラット	1
牛	1
リレー生物学的利用能	8
タンパク質結合への影響	9
エストラジオール-17 β の排泄と窒素保持への影響	9
牛	9
豚	10
毒性試験	10
潜在的発癌性に関する特殊試験	10
ラット	10
免疫応答に関する特殊試験	11
牛	11
変異原性に関する特殊試験	11
ホルモン無作用量に関する特殊試験	12
豚	12
サル	17
リレー毒性に関する特殊試験	18
ラット	18
生殖に関する特殊試験	18
ラット	18
催奇形性に関する特殊試験	22
ラット	22
急性毒性	23
イヌ	24
短期試験	24
マウス	24
ラット	25
ウサギ	27
豚	27
牛	28
長期試験	30
マウス	30
ラット	31
ヒトにおける所見	32
コメント	34
評価	34
引用文献	34

TRENBOLONE ACETATE	1
EXPLANATION	1
BIOLOGICAL DATA	1
Biochemical aspects	1
Absorption, distribution, excretion, and metabolism	1
Rats	1
Cattle	1
Relay bioavailability	8
Effects on protein binding	9
Effects on estradiol-17 β excretion and nitrogen retention	9
Cattle	9
Pigs	10
Toxicological studies	10
Special studies on carcinogenicity potential	10
Rats	10
Special studies on immunoresponse	11
Cattle	11
Special studies on mutagenicity	11
Special studies on no-hormonal effect levels	12
Pigs	12
Monkeys	17
Special studies on relay toxicity	18
Rats	18
Special studies on reproduction	18
Rats	18
Special studies on teratogenicity	22
Rats	22
Acute toxicity	23
Dogs	24
Short-term studies	24
Mice	24
Rats	25
Rabbits	27
Pigs	27
Cattle	28
Long-term studies	30
Mice	30
Rats	31
Observations in human beings	32
COMMENTS	34
EVALUATION	34
REFERENCES	55

酢酸トレンボロン

説明 (原文 p.1)

酢酸トレンボロンは、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(添付 1、参照 59)の第 26 回の会合で調査されたが、当時は残留物濃度、薬剤の使用に適した家畜の飼育及び分析の方法の詳細に関する必要な文書が入手できなかったため評価できなかった。

第 27 回の会合(添付 1、参照 62)で、会議はヒトの食用肉生産に対する同化剤として酢酸トレンボロンを適正飼育規範に従い使用することを暫定的に認め、ヒト以外の霊長類にホルモン無作用量を設定するために、進行中とわかっている試験の結果の提出を求めた。

本評価書には、最近提出されたデータと、以前会議によって検討したデータも含まれる。

生物学的データ (原文 p.1)

生化学的側面 (原文 p.1)

吸収、分布、排泄及び代謝 (原文 p.1)

ラット (原文 p.1)

胆管にカニューレ挿入された Sprague-Dawley ラット(雄)に、28 mg/kg 体重の用量で ^3H -標識酢酸トレンボロン(TBA)を単回静脈内投与した。投与放射能のうちの 84 %は、投与後 24 時間に胆汁を介して排泄された(6 %は「遊離」、37 %はグルクロニド、及び 37 %は硫酸として)。3-Ketotrienic 構造体は胆汁中放射能の 66 %を占めた。17- α -ヒドロキシトレンボロン(α -TBOH)は、胆汁中では検出されなかった。同定された 3-ketotrienic 代謝物を、図 1 に示す(Pottier et al., 1978)。

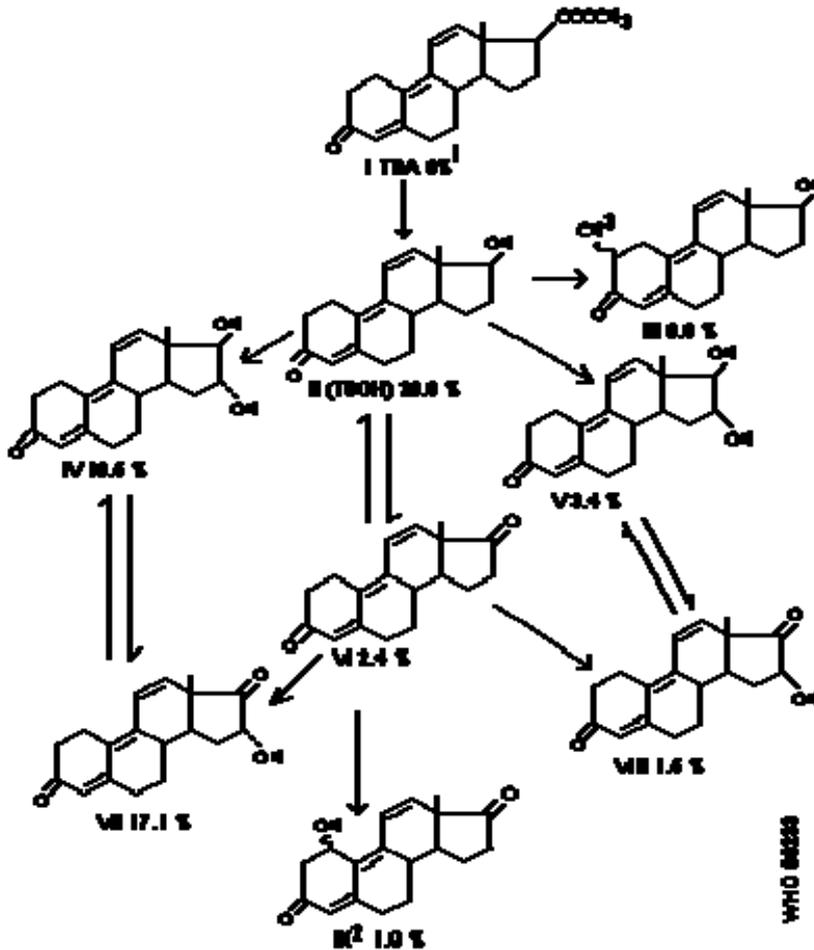
牛 (原文 p.1)

子牛雄 2 頭の右耳の付け根に TBA 140 mg をそれぞれ皮下埋め込み投与したところ、尿中に高濃度のトレンボロン(TBOH)が排泄された(蛍光定量で検出)。投与後 3 時間以内に、比較的高い濃度が測定された(50-80 ng/mg クレアチニン)；最大 TBOH 濃度は 10 時間後(およそ 120 ng/mg クレアチニン)に示され、その後 2 日以内に急落した。エストラジオール 17 β を追加投与すると、TBOH の排泄がごくわずかに減少した(Bouffault, 1977)。

子牛(一群雄 3-4 頭)に、 ^3H -エストラジオール-17 β 20 mg 又は ^3H -エストラジオール-17 β 20 mg + TBOH 140 mg を皮下埋め込み投与した。TBOH はエストラジオールの排泄の顕著な遅れを引き起こした。エストラジオールのみを投与された子牛では、血漿中エストラジオール-17 β の最高値は 3 nmole/L で、投与放射能の 95 %は 20 日以内に尿及び糞中に排泄された；31 日以上では放射能は尿又は糞中で検出できなかった。TBOH を投与された子牛では、最高で 0.33 nmole/L の血漿中エストラジオール-17 β 値がみられ、投与後 107 日まで放射能の排泄が認められた。その時の糞及び尿中放射能濃度は、依然 1.4-3 nCi/g であった(Riis & Suresh, 1976)。

子牛(12 頭、体重 150-200 kg)に、 ^3H -TBA 200 mg を含む埋め込み剤を耳に投与した。半数の動物は投与 15 日後、残る半数は 30 日後にと殺された。投与からと殺までの期間、血液サンプルを定期的に採取した。と殺時に、肝臓及び腎臓、筋肉、脂肪及び胆汁のサンプルを解析用に採取した。血漿中の放射能濃度は、試験期間中に極めて一定しており、平均濃度は 4~5 ng eq/mL であった。組織中放射能濃度は、15 及び 30 日で同様であるか、又は 30 日の方が高かった。

図1 ラットの胆汁における酢酸トレンボロンの胆汁中代謝物



1. 胆汁放射能のパーセンテージを意味する
2. 暫定的に同定された構造物を表示している
3. 化合物IX及びIIIの1-又は2-水酸基の配置は詳細不明
4. 二重矢印は可逆性の可能性を意味する

最高濃度は、肝臓中でみられた(15及び30日でそれぞれ42及び49 ngeq/g)。腎臓(15-20 ng eq/g)並びに筋肉及び脂肪(2-3 ng eq/g)中ではより低い濃度で認められた。胆汁中の高濃度の放射能(15及び30日でそれぞれ1,073及び736 ng eq/mL)は、この化合物の排泄の重要性を示唆している。総放射能及び不揮発性放射能を比較すると、わずかなトリチウム水しか生成されなかったことが示された。肝臓サンプル中の放射能の約10%がジエチルエーテル又は酢酸エチルにより抽出され、この割合はβ-グルクロニダーゼと共にインキュベーションした後では20~30%増加したことから、グルクロニドの存在が示唆された(Hawkins et al., 1984)。

雌牛2頭に³H-標識TBA 300 mgを単回皮下埋め込み投与した。雌牛1頭を、投与60日後にと殺した。もう1頭の雌を60日後に埋め込み剤を除去し、その16日後にと殺した。肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中のHの含有量は、0.5~25 ppbの間であった。これらの残留物のうち、1~5%は、TBA、TBOH及びトレンボロングルクロニドであった。5%までは、他の有機溶媒中で検出された。残りの放射能のうち約50%

は水溶性であり、不溶性残留物はタンパク分解酵素のペプシン及びトリプシンで処理することにより水溶性となった(Ryan & Hoffman, 1978)。

雌牛 2 頭に ^3H -標識 TBA 300 mg を単回皮下埋め込み投与した。60 日後、埋め込み剤は、初期の放射能の 31 % をなお含んでいたが、除去された。雌牛 1 頭を直ちにと殺したが、もう 1 頭を埋め込み剤除去 16 日後にまで飼育し、と殺した。血漿中において酢酸エチル抽出された放射能は、主として TBOH と考えられた。大半の症例では、血漿中において TBA は全く確認されなかった。投与 1~55 日後の血漿中濃度は、5~13 ppb であった。総放射能及び不揮発性放射能はいずれも 58 日後に大幅な増加が認められた(17-20 ppb)。総放射能及び不揮発性放射能の血漿中の消失半減期は、埋め込み中はそれぞれ 32 日及び 29 日、休薬期間中はそれぞれ 18 日及び 14 日であった。血漿中の酢酸エチル抽出できる放射能は埋め込み後 1-55 日間で合わせて総放射能の 10-74 % に達し、これは、埋め込み剤除去 16 日後で 5 % まで減少した。埋め込み剤除去からと殺までの 16 日間では、放射能は筋肉中 58 %、肝臓中 75 %、腎臓中 77 % 及び脂肪中 74 % まで減少した(Chasseaud et al., 1976)。

未経産牛(15 ヶ月齢、頭数不明)に、1 頭あたり TBA 0.4 又は 8 mg を 9 週間毎日経口投与した。1、2 週後、TBA は尿中から検出された。休薬 2 週間後、化合物はいくつかの尿サンプルから検出されたが、一方 3 週間後には TBA は検出できなかった(Stephany et al., 1976)。

14 月齢の未経産牛に 10 mg/kg 体重の TBA を静脈内投与後、最初の 24 時間で胆汁中に投与放射能の 80 % が排泄された。3.5 % は遊離型で、30 % はグルクロニド、そして 30 % は硫酸塩として排泄された。胆汁で同定された 3-ketotrienic 構造の代謝物を図 2 に示す。ketotrienic 構造体を失った 3 種の化合物も分離された。これらの代謝物を図 3 に示す。投与放射能の 1 % 未満は、トリチウム水として分離された(Pottier et al., 1978)。

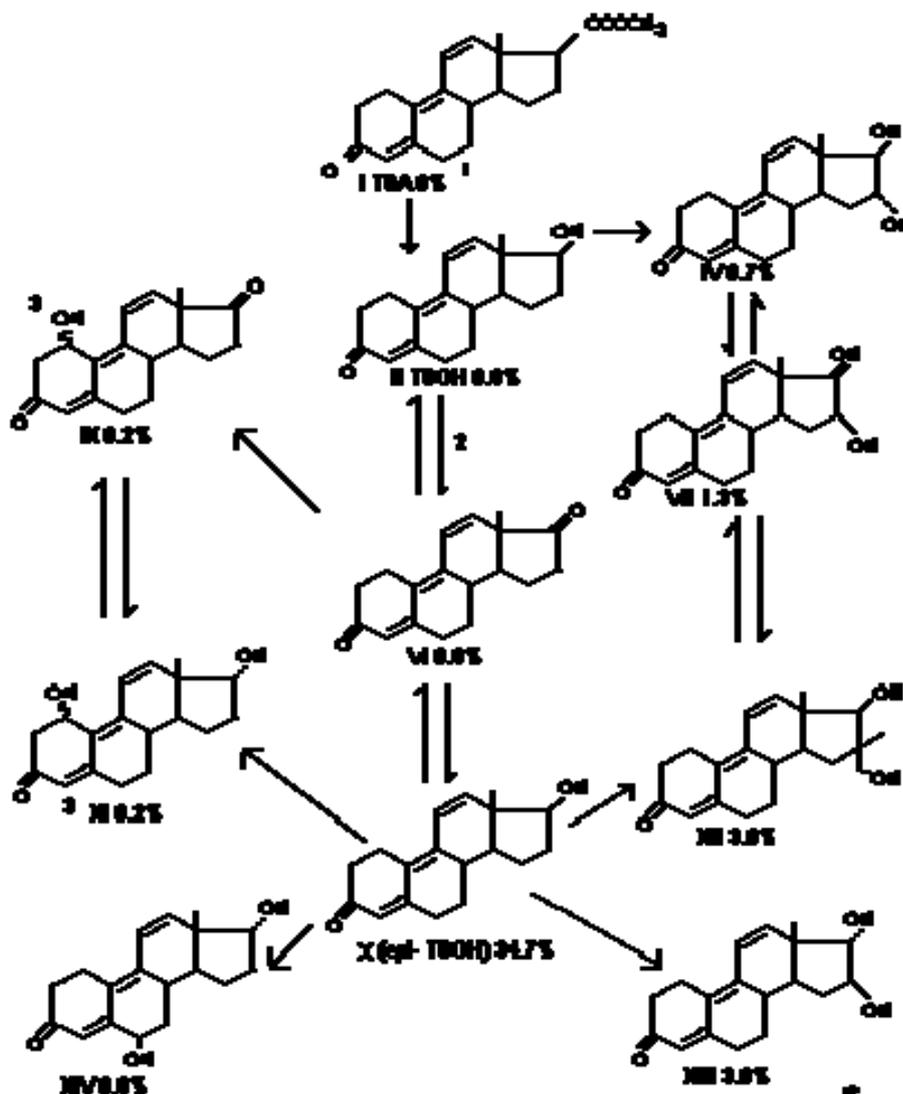
2 ヶ月前に ^3H -TBA 300 mg を投与した雌牛 2 頭から背部及び後肢由来の筋肉サンプル並びに肝臓サンプルを採取した。さらに、雌牛 1 頭からと殺前にカテーテル留置によって胆汁を採集した。

筋肉中の放射エネルギーは部位に関係なく肝臓中の濃度の 1/10 であったが、一方胆汁中の放射エネルギーは肝臓の 15 倍高く、 α -TBOH 及び β -TBOH 濃度は放射性同位体逆希釈法により測定された。平均して、 β -TBOH の濃度は種々の組織において 0.05~0.1 ppb であったが、それに対して α -TBOH の濃度は筋肉中では 0.005 ppb にすぎないが、肝臓中では 0.88 ppb に達した。酵素分解後、 β -TBOH は胆汁中には検出されなかったが、対照的に、 α -TBOH は約 200 ppb 含まれていた。このように、 α -TBOH は、筋肉中で総 TBOH の 10 %、肝臓中で 90-95 %、胆汁中で全体の 99 % より多いことが示された(Pottier, 1979)。

未経産牛 2 頭の耳に ^3H -TBA(300 mg; 388 mCi) を埋め込み、厳密に標準化した有機溶媒又は水による抽出手順を用いて、直接又は後述の酵素加水分解及びタンパク質分解の手順で、肝臓及び筋肉組織中の放射能の分布を測定した。これらの過程による放射能回収率はほぼ 100 % となり、このことから総残留物の 5~15 % しか有機溶媒から抽出できなかったことが示された。残存放射能は、水性媒体に可溶であるか、又は組織構造物に結合状態で残存しているかのいずれかであった。別の試験では、TBA/TBOH 比率を決定するラジオイムノアッセイ法を用いて、と殺 68 日前に TBA 3,500 mg を投与された子牛由来の肝臓組織を分析した。トリエンを有するステロイド系残留物は、有機溶媒で抽出できる残留物を含む画分からのみ得られた(Hoffman et al., 1984)。

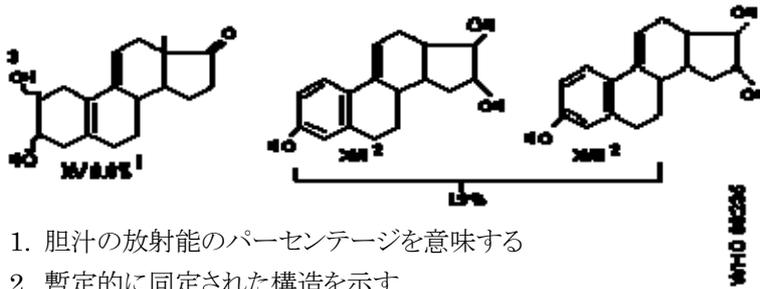
不妊牛 2 頭に 1 頭当たり ^3H -TBA 10 mg を静脈内投与した後、血漿中の ^3H -TBA は非常に速やかに加水分解された。0.1 時間後、TBA として回収された放射能は 2 % にすぎなかったが、一方 TBOH として 70 % が回収された。2 時間後、放射能を抽出することはもはやできず、抽出画分には極性化合物が占めていた。3~8 時間から、TBOH は、血液中から消失した(半減期、1.5 時間) (Pottier et al., 1975)。

図 2 未妊産牛の胆汁中の 3-ketotrienic 代謝物



1. 胆汁活性のパーセンテージを意味する
2. 二重矢印は可逆性の可能性を示す
3. 構造物IX及びX I の 1-ヒドロキシルの配置は暫定的に同定されたものを記述しており、詳細不明

図3 未経産牛の胆汁中の非3-ketotrienic代謝物



1. 胆汁の放射能のパーセンテージを意味する
2. 暫定的に同定された構造を示す
3. 水酸基の配置は詳細不明

不妊牛 2 頭の耳の付け根の皮下に、1 頭当たり ^3H -TBA 300 mg を埋め込み後、埋め込み剤からゆっくりした吸収が生じた。埋め込みからの消失半減期は、68-84 日であった。放射能の約 33 % は、埋め込み投与後 3 ヶ月かけて血漿中に排泄され、そのうちの 70 % が TBOH に占められていた。排泄の主要経路は、胆汁及び尿であった。3 ヶ月後の組織中濃度は、肝臓 (6.5 ppb) 及び腎臓 (4.5 ppb) を除き、約 1 ppb であった。組織中放射能の 25 % は抽出可能で、そのうちの 40 % は TBOH であった。しかし、肝臓及び腎臓において抽出可能なものは 10 % に過ぎず、一方腎周囲脂肪においては 88 % まで抽出可能であった。腎周囲脂肪中の放射能の 50 % は TBA であった。投与部位における放射能濃度は、投与量の 8-21 % であった (Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)。

泌乳牛 2 頭においては、 ^3H -TBA 300 mg は皮下の埋め込み剤からゆっくり吸収された。埋め込みからの消失半減期は、約 60 日であった。埋め込み投与後 5 ヶ月間にわたり血漿中に存在する放射能の約 17 % は抽出可能であった。放射能のうち 1 % 未満は、乳汁中に排泄された。乳汁中の放射能の 10 % は抽出可能であり、そのうち 25 % は、TBOH であった。肝臓 (3.4 ppb) 及び腎臓 (2.7 ppb) を除き、5 ヶ月後の組織中濃度は、約 1 ppb であった。肝臓及び腎臓 (どちらも 10 %) を除き、組織中放射能の約 25 % は抽出可能であり、そのうち約 40 % は TBOH であった。対照的に、腎周囲脂肪では総放射能の 88 % は抽出可能で、そのうち 50 % は TBA であった。未変化体 TBA は、別の組織には存在しなかった。5 ヶ月後の埋め込み部位の放射能濃度は、投与量の 8-21 % であった (Pottier et al., 1973; Pottier et al., 1975)。

去勢雄牛 2 頭に ^3H -TBA 300 mg 及びエストラジオール 40 mg の混合物を単回皮下埋め込み投与した。埋め込み剤を 60 日後に除去したが、その時点で 28 % の放射能が埋め込み剤に残っていた。血漿中の酢酸エチル抽出画分の放射能は、主に TBOH であるとされた。大半の事例で、血漿中に TBA はみられなかった。1 頭は、埋め込み剤の除去直後にと殺された。この動物における血漿中濃度は、総放射能及び不揮発性放射能のいずれも 26 日の半減期で消失した。この動物の血漿中の酢酸エチル抽出画分の放射能は、総放射能の 3-5 % の範囲であった。埋め込み剤除去の 16 日後にと殺されたもう 1 頭では、血漿中濃度は 1~60 日間に減少し、総放射能及び不揮発性放射能の半減期は、それぞれ 50 及び 55 日であった。埋め込み剤除去からと殺までの 16 日間では、放射能は筋肉で 46 %、肝臓及び腎臓で 2 %、脂肪で 29 % まで減少した (Chasseaud et al., 1976)。

リレー生物学的利用能 (原文 p.8)

^3H -TBA 300 mg を皮下埋め込み投与して 60 日後にと殺した未経産牛 2 頭から得られた凍結乾燥又は酢酸エチル抽出された肝臓、腎臓又は筋肉を、ラット (一群 3 匹) に混餌投与した。未経産牛における

$^3\text{H-TBA}$ 濃度は、平均して肝臓で 30 ng eq/g、腎臓で 24 ng eq/g 及び筋肉で 3.2 ng eq/g であった。これらの組織をラットに混餌投与後 3 日間の放射能の排泄を表 1 に示す(Hawkins et al., 1979)。

胆管カニューレを挿入されたラットを 24 時間絶食させ、前項目に記載した 2 頭の未経産牛由来の肝臓、腎臓又は筋肉の凍結乾燥飼料を 1 時間混餌投与させた。これらの組織混餌投与後 48 時間の放射能の体内動態を表 2 に示す(Hawkins et al., 1979)。

表 1. $^3\text{H-TBA}$ 投与未経産牛由来の組織を混餌投与した後のラットの放射能の排泄

投与	組織	投与放射能のうち排泄された百分率			合計
		尿	糞		
凍結乾燥組織	肝臓	3	81		84
	腎臓	2	93		94
	筋肉	6	85		91
抽出組織	肝臓	5	78		83
	腎臓	2	103		105
	筋肉	2	73		75

表 2. $^3\text{H-TBA}$ 投与未経産牛由来の組織を混餌投与した後の胆管カニューレ挿入ラットにおける放射能の排泄

組織	胆汁	投与放射能のうち排泄された百分率			合計
		尿	糞	胃腸管+内容物	
肝臓	7	5	59	2	74
腎臓	3	1	31	60	95
筋肉	3	2	56	未検出	61

タンパク質結合作用 (原文 p.9)

ヒト高齢女性の血漿を用いて *in vitro* で測定されたコルチコステロイド結合グロブリンに対する $\alpha\text{-TBOH}$ 及び $\beta\text{-TBOH}$ の親和性は、テストステロンに対する 10 %と比べて 0.1 %未満と、非常に低かった。テストステロン及びエストラジオール結合グロブリンに対する $\alpha\text{-TBOH}$ 及び $\beta\text{-TBOH}$ の親和性は、テストステロンに対して測定したものの 1 %であった。*in vitro* でヒト女性血漿共にインキュベートすると、 $\alpha\text{-}^3\text{H-TBOH}$ は容易にアルブミン画分に結合し、遊離 TBOH としての存在は 4 %にすぎなかった。 $\beta\text{-TBOH}$ の総血液クリアランスは、テストステロンの 2 倍であった(Philibert & Moguilewsky, 1983)。

エストラジオール-17 β の排泄及び窒素貯留に対する作用 (原文 p.9)

牛 (原文 p.9)

牛におけるエストラジオール-17 β の血漿中残留物は、皮下埋め込み投与した TBA によって影響を受けた。TBA 200 mg 及びエストラジオール-17 β 40 mg の混合物を投与した去勢牛において、9 週間後にはエストラジオール-17 β の血漿中濃度は 0.05 ppb 以上残っていたが、それに対してエストラジオール-17 β 40 mg のみを投与した場合の残留濃度は、5 週間以内に 0.05 ppb を下回った(Heitzman & Hardwood, 1977)。

雄牛(フリージアン種、11-16 週齢)の胸垂への 40 mg の TBA 投与は窒素貯留に影響を与えなかった。しかし同じ部位にエストラジオール-17 β 20 mg 及び TBA 140 mg の混合物を投与した場合、窒素貯留が 47 %減少した(van der Wal, 1975)。

豚(原文 p.10)

豚(雄、雌及び去勢雄)に、エストラジオール-17 β 20 mg、又は TBA 140 mg 及びエストラジオール-17 β 20 mg の混合物を皮下埋め込み投与した。投与 5 週間後において、ステロイドエストロゲンは糞便中にほとんど検出されず、エストラジオール-17 β の血清値は両群で非常に低かった。尿中のエストラジオール-17 β 濃度は、エストラジオール-17 β 単独投与群においては 6~82 $\mu\text{g/L}$ であり、併用群においては 16~135 $\mu\text{g/L}$ であった(Kroes et al., 1976a)。

毒性試験(原文 p.10)

発がん可能性に関する特殊試験(原文 p.10)

ラット(原文 p.10)

Wistar ラット(雄、動物数不明)に、 ^3H -エストラジオール-17 β (53.6 Ci/mmol)を 15 $\mu\text{g/kg}$ 体重、 ^3H -テストステロン(54.0 Ci/mmol)を 19 $\mu\text{g/kg}$ 体重、 ^3H -TBA(57.0 Ci/mmol)を 17 $\mu\text{g/kg}$ 体重又は ^3H -ゼラノール(50.0 Ci/mmol)を 30 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で、全て 95 %エタノール溶液に溶解して腹腔内投与した。投与 16 時間後にと殺し、肝臓中の DNA への化学物質の共有結合指数(CBI、Lutz, 1979)を定量した。CBIは、エストラジオール-17 β 、テストステロン、TBA 及びゼラノールでそれぞれ 11.4、4.80、5.62 及び 1.65 であった(弱い発がん物質は CBI が約 10 又は 10。Lutz, 1979)。陽性対照(N-ヒドロキシアセチルアミノフルオレン)の CBI は 262 であった(Barraud et al., 1983)。

ラット(雄 8 匹)に 0.83 mCi(22-40 $\mu\text{g/kg}$ 体重)の ^3H -TBA を腹腔内投与することにより、経時的に TBA の CBI を測定した。被験動物を 4、8、12、20、24、36、48 及び 96 時間で、と殺した。CBI 最高値は 7.82 で、24 時間後に得られた。96 時間後の CBI は、1.11 であった(Barraud et al., 1983)。

げっ歯類に対する肝臓がんイニシエーターの投与は、適切な条件下では、表現型的変質細胞の増加を引き起こし、潜在的ながん細胞が病巣へと進行する可能性がある。これらの病巣は、退行又は悪性腫瘍結節に進行する可能性があるが、わずか数週間で明らかになるため、そのような病巣の誘導は腫瘍形成能の有用な短期的指標である。

Fisher 344 CDF ラット(一群雌雄各 5 匹)の肝部分切除の約 18 時間後に、 α -TBOH 又は β -TBOH (2.5、5 又は 10 mg/kg 体重)、エチニルエストラジオール(0.05 mg/kg 体重)、テストステロン(10 mg/kg 体重)、ニトロソモルホリン(25 mg/kg 体重)又はジエチルニトロソアミン(200 mg/kg 体重)を腹腔内投与した。対照群(一群雌雄各 5 匹)として、溶媒のみを投与する 2 群及び未投与の 1 群を用いた。動物には被験物質の投与後更に 13 日の回復期間を与えた。続いて、被験動物には水道水及び 0.02 % 2-アセチルアミノフルオレンを含む粉状飼料を与えたが、溶媒対照群の飼料にはアセチルアミノフルオレンは含まれなかった。新たな給餌計画の開始 7 日後に、被験動物には 2 mL/kg 体重の四塩化炭素を胃内への強制経口投与によって与えた(アセチルアミノフルオレンを与えない溶媒対照群の動物には、四塩化炭素を投与されなかった)。7 日後に、被験動物を頸椎脱臼によってと殺し、顕微鏡検査のために肝臓を摘出した。

手術手技後 2、3 日間に、ほとんどの動物は中等度の嗜眠及びその他の臨床症状がみられたが、化合物に関連した悪影響はなかった。体重又は肝臓重量に明らかにならぬ投与に関連した影響は全く報告されな

かった。溶媒陽性対照又は非投与群に比べ、ニトロソモルホリン又はジエチルニトロソアミン投与群の動物にのみ、肝臓病変の有意な増加がみられた。

本試験で検討されたステロイド(α -TBOH 及び β -TBOH を含む)のいずれについても、試験用量における肝臓の前がん病変を誘発する兆候は全く示されなかった。著者らは、これらのステロイドは全て、本試験において肝腫瘍イニシエーターである証拠は認められなかったと結論した(Allen & Proudlock, 1987)。

免疫応答に関する特殊試験 (原文 p.11)

牛 (原文 p.11)

プラセボ(乳糖)、エストラジオール-17 β 20 mg、TBA 140 mg 又は TBA140 mg+エストラジオール-17 β 20 mg の皮下埋め込み投与後に、子牛(一群雌雄約 25 頭)における抗体産生が調べられた。軽度だが有意ではない免疫抑制作用がエストラジオール-17 β 又は TBA のみのいずれかを投与した雄の子牛でみられた。混合物を投与した雄では、この作用が大きかった。雌の子牛では免疫抑制はみられなかった(Gropp et al., 1975)。

変異原性の特殊試験 (原文 p.11)

TBOH 及び TBA の変異原性試験の結果を表 3 にまとめる。

ホルモン無作用量の影響に関する特殊試験 (原文 p.12)

豚 (原文 p.12)

成熟した雄豚(ラージホワイト系交雑種、8~10 ヶ月齢、一群 3~7 頭、対照群は 11 頭)に、0.1、1、10、16、24 又は 36 μg β -TBOH/kg 体重/日、又は 0.1、10、100、160、240 又は 360 μg α -TBOH/kg 体重/日を、去勢後 14 日間連続でゼラチンカプセル経口投与した。被験動物を更に 14 日間飼育し、その後と殺して検死解剖した。一連の血液サンプルは、去勢前(0 日)、7、14、21 及び 28 日に採取された。 α -TBOH 投与動物については 0 及び 14 日、 β -TBOH 投与動物については 0、14 及び 28 日に LH を測定した。と殺後、肉眼病理学及び組織病理学によって、脳下垂体、前立腺及び精嚢腺を調べた。血中黄体形成ホルモン(LH)濃度の変化に基づく、特徴的なホルモン作用は、160 μg α -TBOH/kg 体重/日及び 16 μg β -TBOH/kg 体重/日投与群で生じた。このように、本試験における無作用量は、10 μg β -TBOH/kg 体重/日及び 100 μg α -TBOH/kg 体重/日であった。最終投与からと殺まで 14 日が経過しているため、本試験で行われた形態学的検査は限界値であり、影響の回帰が考えられる。また、16、28 及び 36 μg β -TBOH/kg 体重/日投与群でみられた投与に関連したアンドロゲン作用は、本化合物の高ホルモン活性を示している(Roberts & Cameron, 1985)。

豚(ラージホワイト系交雑種、一群雌雄各 4 頭)の 4 群に、0、0.1、2 又は 20 ppm(0、2.0~3.1、40~62 又は 400~620 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当)の TBA を 14 週間連続で混餌投与した。投与開始前、投与 6 及び 12 週後にステロイドホルモン試験のために血液サンプルを採取した。

表 3. TBOH 及び TBA の変異原性試験の結果

試験系	試験対象	試験物質の濃度	結果	参照
エームス試験 ¹	<u><i>S. typhimurium</i></u> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538	10-10,000 µg/プレート TBA 又は 7:1 (TBA: エ ストラジオール-17β ²)	陰性	Hossat et al., 1978
エームス試験 ¹	<u><i>S. typhimurium</i></u> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538	1,000、2,000、3,000 µg/プレート TBOH	1,000 µg/プレート で陰性 細胞毒性濃度は 不明瞭	Ingerowski et al., 1981
エームス試験 ¹	<u><i>S. typhimurium</i></u> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538	0.5-500 µg/プレート α-TBOH; 15-1,500 µg/プレート β-TBOH;	陰性	Richold et al., 1982a
エームス試験 ¹	<u><i>S. typhimurium</i></u> TA98、TA100	0.06-2 µg/プレート TBOH	陰性	Schiffman et al., 1985
染色体異常 誘発能	<i>in vitro</i> ヒトリンパ球	6、30又は60 µg/mL α-TBOH又は β-TBOH ^{2、3}	陰性	Richold et al., 1982b
細胞突然変異 試験 ⁴	マウスリンパ腫 L5178Y 細胞	15 - 45 µg/mL α-TBOH; 65 µg/mL β- TBOH ⁵	不明瞭 ⁶	Richold et al., 1982c, 1983

表 3. TBOH 及び TBA の変異原性試験の結果

試験系	試験対象	試験物質の濃度	結果	参照
細胞形質転換試験	シリアンハムスター 胚線維芽細胞	5、10、15 µg/mL TBOH	不明瞭 ⁷	Schiffman et al., 1985
細胞形質転換試験 ¹	マウス C3H10T1/2 細胞	2 - 25 µg/mL β-TBOH (-S9 mix) ⁵ 5 - 20 µg/mL β-TBOH (+S9 mix) ⁸	不明瞭 (-act.) 陽性 (+act.)	Henderson et al., 1987a
前進突然変異試験 ¹	チャイニーズ ハムスター卵巣細胞 (HGPRT 遺伝子座)	25 - 100 µg/mL β-TBOH (-S9mix) ⁹ 25 - 150 µg/mL β-TBOH (+S9mix) ⁵	陰性	Edgar et al., 1985
前進突然変異試験 ¹	チャイニーズ ハムスター卵巣細胞 (HGPRT 遺伝子座)	25 - 500 µg/mL β-TBOH ⁵	陰性	Henderson et al., 1986a
前進突然変異試験 ¹	チャイニーズ ハムスターV79 細胞 (HGPRT 遺伝子座)	3 - 75 µg/mL β-TBOH (-S9mix) ⁹ 12 - 125 µg/mL β-TBOH (+S9mix)	陰性	Henderson et al., 1987b

表 3. TBOH 及び TBA の変異原性試験の結果

試験システム	試験対象	試験物質の濃度	結果	参照
小核誘導 ¹	チャイニーズ	1 - 10 µg/mL β-TBOH	不明瞭	Henderson et al., 1986b
	ハムスター卵巣細胞	(-S9mix) ¹⁰ 6 - 60 µg/mL β-TBOH (+S9mix) ¹⁰	(-act.) 陰性 (+act.)	
染色体異常試験 ¹	チャイニーズ	1 - 10 µg/mL β-TBOH	陰性	Allen et al., 1985
	ハムスター卵巣細胞	(-S9mix) ¹¹ 6 - 60 µg/mL β-TBOH (+S9mix) ¹¹		
不定期DNA合成	HeLa 細胞及び シリアンハムスター胚 細胞	2.5 - 15 µg/mL	陰性	Schiffman et al., 1985
DNA 修復試験	ヒト培養上皮細胞	1 - 512 µg/mL α-TBOH 又は β-TBOH ¹²	陰性 ¹³	Allen & Proudlock, 1983
<i>in vivo</i> 細胞遺伝学的 試験	ラット骨髄細胞	100 mg/kg 体重 α-TBOH 又は β-TBOH を 1 回; 25 又は 50 mg α-TBOH 又は β-TBOH を 4 回 ³	陰性	Richard & Richardson, 1982

表 3. TBOH 及び TBA の変異原性試験の結果

試験システム	試験対象	試験物質の濃度	結果	参照
<i>in vivo</i> 小核試験	赤血球	100 mg/kg 体重 β-TBOH ³	陰性	Allen et al., 1980

1. ラット肝臓 S9 画分の存在下及び非存在下の両方。
2. ジメチルスルホキシドを溶媒として使用した。
3. マイトマイシン C を陽性対照として使用した。
4. ラット肝臓 S9 画分の存在下のみ。
5. 20-メチルコラントレンを陽性対照として使用した。
6. >22 µg/mL の α-TBOH 及び >15 µg/mL の β-TBOH は細胞に有害であった。両物質は突然変異出現頻度を 2 倍増加させたが、α-TBOH においてはこれは高毒性濃度のみで生じた。
7. 投与用量と逆に相関しており、最も形質転換の数が多かったのは最低用量であった。
8. 2-アセトアミドフルオレンを陽性対照として使用した。
9. エチルメタンスルホン酸塩を陽性対照として使用した。
10. コルヒチンを陽性対照として使用した。
11. シクロホスファミドを陽性対照として使用した。
12. 4-ニトログイノリン-1-オキシド (-S9 mix) 及び 2-アミノアントラセン (+S9mix) を陽性対照として使用した。
13. 1 つの試験だけ限定的な数の培養において核グレイン数の増加がみられた。

全ての豚において試験終了時に詳細な検死解剖を実施し、組織学的検査のために組織を保存した。試験期間を通じて全ての豚は一般的に健康良好とされる状態を維持し、投与に起因する可能性のある異常な臨床的兆候は全く認められなかった。体重、摂餌量又は眼科学的検査において、明確な投与による影響はみられなかった。雄豚で血清テストステロン濃度における著しい用量依存的な減少があり、最高用量群の豚における6週、2及び20 ppm TBA投与群の豚における12週の平均値は対照値よりも明らかに低かった($p < 0.01$)。雌豚のテストステロン濃度は、3点の試験のポイント全てで低かった。

雌の血中プロゲステロン値はさまざまであった。プロゲステロン及びエストラジオールのどちらも顕著な周期変動をみせたが、試験サンプルは個々の豚の発情周期を考慮せず任意の時点で得られたため、これは意外ではない。しかし、12週目の平均値は、雌豚の血清プロゲステロンレベルの用量依存的な減少を示し、統計学的試験によって、投与用量に有意な傾向があることが判明した($p < 0.05$)。雄豚のプロゲステロン値の変動はより小さく、雌に比べて平均値は低く、用量依存的な一定の変化はみられなかった。

全群の豚で12週目にエストロゲン分泌が若干増加する兆候があったが、雌豚のエストラジオール-17 β 濃度は一般に低く、群間に明らかな違いはみられなかった。雄のエストラジオール濃度は、一般的に雌より高く、エストラジオールの平均値の用量依存的減少は、6及び12週目に認められた。ホルモン試験の結果から、ホルモン無作用量は2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日未満であることが示された。

精巣、卵巣及び子宮の平均重量は投与に関連した減少が示された。見たところ、最も感度が高い臓器は、精巣及び卵巣である。最低用量群では、いずれの組織重量に影響は全く観察されなかった。2つの高用量群における投与に関連した主な所見は、精巣間質細胞の萎縮、周期的な卵巣活動の抑制、子宮内膜腺の発達の結果的な欠如、及び乳腺の腺房の発達及び分泌の欠如(最高用量群のみ)であった。最低用量群の動物は、生殖腺、子宮又は乳腺において投与の影響による変化は全くみられなかった(Robert & Cameron, 1985)。

豚(一群雌雄各5頭)の4群に、ゼラチンカプセル中のトウモロコシオイルを介して0、5、7.5又は10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日のTBAを飼料とともに14週間経口投与した。静脈血サンプルは、投与開始前及び試験期間中毎週採取された。テストステロン、エストラジオール-17 β 及びプロゲステロンについて血漿の放射性免疫測定を行った。豚は14週間後にと殺され、剖検に付された。精巣、卵巣、精嚢腺、子宮及び乳腺などについて組織学的検査を実施した。雄では、対照群と比較すると、1及び5週のテストステロン濃度で多少の相違が示され、2つの最高用量投与群においては、統計的に有意であった。しかし、これらの相違は持続せず、先の段落で記述された試験でみられた用量依存的な変化(すなわち抑制)とは反対(すなわち対照群と比べて増加)であった。雌のテストステロン値は、全群において一般的に低かった。

雄のエストラジオール濃度では、群間の有意差は全くみられなかった。雌のエストラジオール濃度は全群で一般的に低いままだった。雄の平均プロゲステロン濃度は、最高用量群の7~10週及び7.5 μg TBA/kg 体重/日投与群の10週では、対照群と比べて統計的に有意に低かった。しかし、これら2つの投与群の豚の投与前濃度の平均値は対照群と比べるとまた低く、6~14週にわたる平均値の解析では有意な影響はみられなかった。これらの違いは実質的な投与の影響を表すために、報告書の著者らには考慮されなかった。雌豚では周期的変化のため、プロゲステロン濃度の平均値は変動し、一貫した群間差は明らかではなかった。周期の開始時期及びプロゲステロン濃度のピークを調べた試験では、明らかな影響はみられなかった。いずれの群においても臓器重量に有意な差は認められなかった。またいずれの群においても調べた臓器の形態には、投与に関連した変化は記載されていなかった(Roberts & Cameron, 1985)。

サル (原文 p.17)

去勢後間もない雄アカゲザル(8~17歳齢)を用いて、 β -TBOHの抗性腺刺激活性を試験した。TBOHによって誘導される男性ホルモン活性の可能性の変化を検討するために、30日間の投与期間の最後に精囊腺の生検を実施した。0、1、20又は400 $\mu\text{g}/\text{日}$ (対照動物3頭及び投与群当たり2頭の動物)の β -TBOHを経口投与した。去勢17日後から試験終了時までの間、最低用量群には、1,600 $\mu\text{g}/\text{日}$ の β -TBOHを投与した。化合物の投与は、精巣摘出後に起こるLH又は卵胞刺激ホルモン(FSH)分泌の去勢後の上昇を抑制しなかった。このモデルシステムでは、TBOH及びテストステロンの抗性腺刺激活性を示さなかったが、400及び1,600 $\mu\text{g}/\text{日}$ のTBOHを投与したサルでは、男性ホルモン作用に一致して部分的又は完全な精囊腺の形態を維持した。テストステロン及びエストラジオールの血清中濃度の予想されていた減少は去勢後に生じ、TBOH投与はこれらのホルモン血清中濃度又は視床下部-下垂体-副腎皮質系における活性の典型的な日周パターンに変化を与えなかった。著者らは、本試験のホルモン無作用量は20 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当であったと結論づけた(Hess, 1983)。

成獣アカゲザル(体重6 kg、一群雌6頭)の3群に、それぞれ60、240又は960 $\mu\text{g}/\text{日}$ のTBAをSustagen/Jello/bran固形食により3周期又は最高122日間投与した。血液サンプルは、投与前の月経周期の間は毎日、最初の2周期の投与月経周期の間は3日間隔で、最後の投与月経周期では毎日、全ての動物から採取された。エストラジオール、プロゲステロン、LH及びFSHの血清濃度は、放射性免疫測定法により測定された。TBAの960 $\mu\text{g}/\text{日}$ 投与群では、 β -TBOHの最大平均血清濃度は2.3 ng/mLであり、この用量は16の生殖サイクルのうち3つでゴナドトロピン(性腺刺激ホルモン)の分泌及び卵巣機能を阻害している可能性がある。

960 μg TBA/日投与群では、脳下垂体性腺軸の阻害作用を有するという結論に達した。無排卵性ステージにはかなり急激に達したが、示されたデータから、この作用の引き金となり得る内因性ホルモン濃度の変化に関する結論は、記述できない。240 $\mu\text{g}/\text{日}$ 投与群の1頭において、投与に関連していると思われる無排卵がみられた。60 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当の投与群においては、影響は全くみられなかった(Hess, 1984)。

リレー毒性に関する特別試験 (原文 p.18)

ラット (原文 p.18)

食用子牛の雌に、0、140又は3,500 mg/動物のTBAを皮下埋め込み投与し、10週後にと殺した。この子牛由来の食用肉及び食用組織(舌、心臓、肺、脾臓、肝臓(一部)及び片方の腎臓)のホモジネートを、2世代繁殖試験のラットに混餌投与した。試験の総期間は114週であった。F_{1a}世代は、催奇形性作用の試験に用いられた。230 ppb TBAを混餌投与された群のラットでは、わずかな成長率低下がみられた。死亡率、摂餌量、成長率、受胎能、生殖(交配、受胎率、妊娠期間、平均同腹児重量、同腹児数、胎児体重、死亡率及び3週後の胎児体重)、血液学、生化学、臓器重量並びに肉眼的及び組織病理学を含む他のパラメータにおける影響は全く確認されなかった(Gropp et al., 1978)。

繁殖に関する特殊試験 (原文 p.18)

ラット (原文 p.18)

ラット(体重133~143 g、雄40匹及び雌80匹)に、交配9週前から分娩21日後まで、0、0.5、1、4又は16 ppmのTBAを混餌投与した。別の群も同様に、雌に妊娠1日から分娩21日まで50 ppmのTBA

を混餌投与した。分娩 21 日に、親動物はそれ以上の検査なしに全てと殺した。試験の開始時及び終了時における、飼料中の TBA 濃度の名目上の値及び検出された値に大きな相違はなかった。4 及び 16 ppm 群の雌において試験中の成長率は、増加し(10-20%)、50 ppm 群では交配後に増加した(10%)。1、4、16 及び 50 ppm 群において、用量依存的な妊娠率の減少がみられた(最大・30%)。分娩 4 日後に、各同腹児が雌 4 匹及び雄 4 匹に減少した。その時までには、全投与群で児動物の死亡率は対照群と比較して上昇した。分娩後 0、4、12 及び 21 日の同腹児数及び同腹児重量は、4 及び 16 ppm 群(最大およそ・10%)、そして 50 ppm 群(約・25%)で減少した。児動物の平均体重は、50 ppm 群において分娩後 4 日以降でのみ減少した(最大・15%) (Hunter et al., 1982)。

ラット(一群雄雌各 12 匹)に、0、25、50 又は 100 ppm の TBA を 63 日間混餌投与し、その後交配させた。これらのグループでは、それぞれ 12/12、10/12、4/12 及び 1/12 の雌が交配後妊娠した(Ross, 1980)。

CRL COBS CD(SD)BR Charles River ラットにおける多世代繁殖試験:では、F₀ 世代のラットに、0、0.5、3 及び 18 ppm の TBA を雄では 9 週間、雌では交配 2 週間前から試験終了まで混餌投与した。F₁ 世代ラットの 2 群は選別され、飼育され、交配させた。1 群は、F₀ 世代のラットと同様の飼料中濃度を継続的に投与し(“投与”群)、もう 1 群は 3 週齢から TBA の投与を中止して、その後は投与せずに飼育した(“未投与”群)。

TBA の 18 ppm 群では、以下の作用を及ぼした: a) F₀ 及び F₁ 世代の両投与群の雌雄及び F₁ 世代の未投与群の雌における一般的に高い体重; b) F₀ 世代の両方の交配における妊娠中の平均体重増加量の低下; c) F₀ 世代の動物及び F₁ 世代の投与群の雌において男性化の兆候、即ち粗毛及び皮膚の変色; d) 投与群の F₁ 世代の雌におけるクリトリスの隆起がみられ、未投与群の F₁ 世代の雌にもよりわずかではあるがそれがみられた。同様の効果は投与群の F₁ 親動物からの F₂ 世代の雌で認められたが、未投与群の F₁ 世代の児には認められなかった; e) 膈の閉塞性鎖(occlusive strands)の存在、及び/又は、投与群の F₁ 児動物及び投与群の F₁ 世代からの F₂ 児動物における早成/不完全な膈口; f) 投与群の F₁ 世代からの F₂ 児動物における精巣下降発生の遅延; g) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の 2 回目の交配の妊娠率の顕著な低下; h) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の 2 回目の交配における交尾前時間の増加; i) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の妊娠期間の限界的延長; j) 投与群の F₁ 世代における分娩延長及び全同腹児の死亡発生頻度の顕著な増加、同腹児あたりの雄の割合の有意な増加; k) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の両方の交配後、出生時又は 20 日のと殺時における同腹児数及び体重の低下; l) F₀ 及び投与群の F₁ 世代における着床後/出産前の死亡の増加; m) 最終剖検時では、前述の所見に加えて、即ち F₀ 及び F₁ 世代の雄の前胃部上皮抑制の発生頻度; n) F₀ 及び F₁ 世代の雄における精囊腺/前立腺重量の有意な減少、並びに F₀ 及び投与群の F₁ 世代の雌における平均卵巣重量の増加; o) F₁ 及び F₂ 世代の 6 週齢の児動物の雄における精囊腺/前立腺、精巣及び精巣上体の重量の有意な減少。F₁ 及び F₂ 世代の 6 週齢の児動物の雌は副腎重量の減少を示した; p) F₀ 世代のラットの 2 回目の交配後、雄胎児における肛門生殖器間距離の有意な減少及び骨格変異の発生頻度の微増(催奇形性相)。

TBA 3 ppm 投与群では、以下の作用を及ぼした: a) F₀ 世代の最初の交配における体重増加量の遅れ; b) F₁ 世代の雌 1 匹において粗毛及び皮膚の変色; c) F₁ 世代及び投与群の F₁ 世代の親に由来する F₂ 世代の児の雌における膈開口の平均年齢の有意な遅延; d) 6 週における剖検で F₁ 世代の動物の不完全な膈開口又は膈の閉塞性鎖(occlusive strands)の偶発的発生の影響; e) 投与群の F₁ 世代を親とする F₂ 世代の児動物の雄における軽度だが統計学的に有意ではない精巣下降の遅延; f) F₀ 世代の最初の交配後の出生時の同腹児数の有意な低下; g) F₀ 世代の 2 回目の交配後、同腹児重量の低下; h)

投与群の F₁ 世代の同腹児数のわずかな低下; i) F₁ 及び F₂ の 6 週齢の児動物の雄における精囊腺/前立腺、精巣及び精巣上体の重量の有意な低下。

0.5 ppm 投与群のみでみられた作用は次のとおりであった: a) F₀ 世代からの雄において、群の平均体重の増加; b) F₁ 児動物及び投与群の F₁ 世代からの F₂ 児動物における膣開口の平均年齢のわずかだが統計学的に有意ではない遅れ(続く交配能及び同腹児のパラメータは対照群のものと同様); c) 投与群の F₁ 世代の児動物の雄及び投与群の F₁ 世代を親とする F₂ 世代の児動物の雄の 6 週齢で精囊腺/前立腺の重量の統計学的に有意な減少; d) F₂ 世代の雄における精巣上体重量の有意な低下。

著者らは、本試験で検討した 2 世代の生殖能に関して、親動物が児動物を出産し維持する能力で評価したように、TBA 18 ppm において顕著な影響、3 ppm においていくらかの影響を及ぼしたと結論づけた。試験した最低用量(0.5 ppm)群では、軽微な影響が観察され、同齢においては F₁ 児動物よりも F₂ 児動物でさらに顕著であった。しかし、TBA の 0.5 ppm 群においては、生殖能に関する影響は全くみられなかったと著者らは結論づけた。休薬後の全ての F₁ 動物群の生殖能には、対照群との明らかな違いは全くみられなかった(James et al., 1985)。

上述の試験の投与 F₁ 世代に由来する F₂ 世代の 6 週齢の雄において、対照群と比べて投与群の平均体重は低かったが、精巣、精巣上体、精囊腺及び前立腺の組織学検査では、形態的異常は全くみられなかった。ラットは性的にまだ未成熟で、精巣において精子の尾部が形成される段階であり、精巣上体に精子が存在しない状態であったが、その年齢では正常であると考えられた(Offer, 1985)。

ラットを用いた試験において、0、0.1、0.3、0.5、3 又は 18 ppm の TBA を交配 2 週前から妊娠終了までの間、F₀ 世代の雄及び雌に混餌投与した。F₁ の同腹児は、離乳期間を通して飼育された。児動物の雄を分娩 22 日後にと殺し、肉眼的に検査し、各児動物の精巣、精囊腺/前立腺及び精巣上体を計量し保存した。雌児動物を分娩 24 日後にと殺し、肉眼的に検査した。

TBA の 18 ppm 投与群では、以下の作用を及ぼした: a) F₀ 雌の平均体重のわずかな上昇、しかし妊娠期間中の体重増加量は低く、最終投与後 3 週間における雄の体重増加量はわずかに低下; b) F₀ 雌 22/29 例及び 3 週齢以降全ての F₁ 児動物の雌の剖検におけるクリトリスの隆起; c) 妊娠期間の統計学的に有意な延長; d) F₀ の雌 4/29 例における全同腹児の死亡; e) 同腹児数の減少、同腹児重量の低下、児動物死亡率のわずかな増加及び児動物の平均体重の増加を含む、同腹児パラメータへの影響; f) 22 日齢の F₁ 雄の精巣重量の低下及び精囊腺/前立腺の平均重量の増加。

3 ppm 投与群では、以下の影響を及ぼした: a) 終了 3 週間前における雌の平均体重のわずかな増加及び雄の体重のわずかな低下; b) 妊娠期間のわずかな延長; c) 同腹児数の減少並びに児動物の死亡率及び平均体重のわずかな増加を含む、同腹児パラメータへの影響; d) F₁ 雄における精巣重量の低下及び精囊腺/前立腺の平均重量の上昇。

TBA の 0.1、0.3 及び 0.5 ppm 投与に伴う唯一の作用は、雌の平均体重のわずかな増加であり、3 及び 18 ppm 投与における同腹児パラメータではわずかな変化がみられた(James et al., 1986)。

催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.22)

ラット (原文 p.22)

妊娠ラット(一群 6 匹)の 4 群に、妊娠 6~15 日に 0、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日の TBA を強制経口投与した。1 %メチルセルロースの 2.5 %エタノール溶液を溶剤とした。死亡率、成長率、黄体数、生存率並びに若年死亡の数及び分布、同腹児体重、胎児平均体重、顕微鏡的胎児異常、性比及び胎児頭殿長 (fetal crown-rump distance) の全てにおいて投与の影響を受けなかった (James et al., 1982)。

妊娠ラット(一群 20 匹)に、妊娠 6~15 日に 0、5、10 又は 20 mg/kg 体重/日の TBA を強制経口投与した。1 %メチルセルロースの 2.5 %エタノール溶液を溶剤とした。10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群で、それぞれ母動物 9/20 匹及び 15/20 匹に脱毛症がみられた。用量依存的な成長率の減少が、全投与群でみられた(最大 20 %)。妊娠率、**生存***及び若年死亡数、着床及び黄体数、同腹児重量、胎児平均体重、主要な外表奇形の発生頻度、軽度の内臓奇形の発生頻度(ウィルソンの技術、)及び胎児頭殿長の全てにおいて、投与の影響を受けなかった。骨格変異(肋骨の数、正常及び変異胸骨分節の数)の発生頻度は、影響を受けなかった。Bouin 溶液で保存された雄胎児における肛門-生殖器の平均距離は、対照群よりもわずかに短く、投与量の増加に伴い明らかに減少する傾向がみられた。20 mg/kg 体重/日群における差は、統計的に有意なボーダーライン(P <0.05)に達した。高用量群の児動物における肛門生殖器間距離のばらつきは対照群に比べて大きいにも関わらず、アルコール保存された雄の胎児の平均値は同様の傾向を示さなかった。固定量及び頭殿長の範囲もまた、対照群に比べて高用量群で高かった。Bouin 溶液及びアルコール保存された雌の平均肛門-生殖器間距離は、全群で同等であった (James et al., 1982)。

*原文では “number of liver and dead young”とありますが、“number of live and dead young”だと思われる。

急性毒性 (原文 p.23)

TBA に関する急性毒性試験の結果を表 4 にまとめた。

表 4. TBA の急性毒性

種	性	経路	溶媒	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス	雄	/ 経口	40%エタノール トウモロコシオイル中	1,500	Audegond et al., 1981a
	雌				
	雄	腹腔内	エタノール+10 %ゴマ油	565	Escuret&Bas, 1978
	雌	腹腔内	エタノール+10 %ゴマ油	643	Escuret&Bas, 1978
ラット	雄	/ 経口	10 %エタノール トウモロコシオイル中	5,000	Audegond et 1981b
	雌				
	雄	腹腔内	10 %エタノール トウモロコシオイル中	1,601	Escuret&Bas, 1978
	雌	腹腔内	10 %エタノール トウモロコシオイル中	1,772	Escuret&Bas, 1978
イヌ	雄	/ 経口	カプセルを介して	1,000	Audegond et al., 1981c
	雌				

イヌ (原文 p.24)

麻酔したイヌに、92 %アセチルメチルアミン溶液中の濃度が 20 mL/mg の TBA を 1、2、5 又は 10 mg/kg 体重の用量で静脈内投与した。2、5 及び 10 mg/kg 体重投与群のイヌでは、用量依存的な血圧低下がみられた。10 mg/kg 体重群においては、軽度の徐脈を伴った。同一群において、アドレナリン及びノルアドレナリンの投与後、血圧低下がみられ、アセチルコリン投与後は上昇がみられた。ヒスタミンに対する反応変化は、いずれの群についても指摘されなかった(Seeger, 1971a)。

短期試験 (原文 p.24)

マウス (原文 p.24)

マウス(体重 19~25 g、一群雄雌各 8 匹)に、0、25、50 又は 100 ppm の TBA を 8 週間混餌投与した。死亡率、外観、行動、体重、摂餌量及び飼料変換率は、投与による影響を受けなかった。全投与群の雌において、肝臓の絶対及び相対重量の有意な低下並びに子宮の絶対及び相対重量の有意な増加がみられた。50 及び 100 ppm 投与群の雌において、卵巣の絶対及び相対重量が有意に減少し、最高用量群の雄において精巣の絶対及び相対重量が有意に減少した。副腎、腎臓、前立腺、精嚢腺又は脾臓の重量への影響は全く現れなかった。雌は、性腺における黄体の欠如又は減少、間質の用量依存的な量の減少、子宮内の子宮内膜腺の数の減少によって病理組織学的に特徴づけられる、卵巣の周期的活動の用量依存的な抑制を示した(Hunter et al., 1976a)。

スイスアルビノ CFLP マウス(一群雄雌各 8 匹の)に、0、1、2、5 又は 10 ppm の飼料中濃度、平均摂取量にして雄で 0、0.12、0.24、0.56 又は 1.2 mg/kg 体重/日相当、雌で 0、0.13、0.25、0.66 又は 1.4 mg/kg 体重/日相当を 10 週間混餌投与した。投与への反応の兆候は、摂餌量又は体重増加量における投与に関連した影響を含め、全くみられなかった。調査した全ての臓器の絶対及び相対重量は、この品種及びこの年齢のマウスにおける正常値以内であると思われ、投与に関連した影響はみられなかった。組織学的に調べた臓器は、対照群及び最高用量群のマウスに由来する前立腺、精嚢腺、精巣、卵巣及び子宮のみであった。全ての病理組織学的パラメータは、正常値以内であった(Hunter et al., 1976b)。

ラット (原文 p.25)

去勢されたラット(21~24 日齢、雄 16 匹)に、去勢後 2~11 日から、1 日 10 回に分け、総用量にして 0、0.75、3、12 又は 48 mg の TBA を経口投与した。最終投与 1 日後の剖検において、用量依存的な前立腺の絶対重量の増加(最大+440 %)及び精嚢腺の絶対重量の増加(最大+400 %)が全ての投与群で認められた。3 つの最高用量群では、肛門挙筋重量の用量依存的な増加(最大+250 %)が認められた(Schroder, 1971a)。

CFY ラット(一群雄雌各 10 匹)に、0、25、50 又は 100 ppm の TBA を 13 週間混餌投与した。投与期間中の群の平均摂取量は、雄で 0、1.8、3.8 又は 7.6 mg/kg 体重/日、及び雌で 0、2.2、4.2 又は 8.4 mg/kg 体重/日であった。全投与群において、雌は雄より飼料効率がより高く、その結果体重増加量がより高いことが示された。

25 ppm 群において、形態学的変化を伴わない、前立腺重量の低下(-36 %)がみられた。50 ppm 群において 2 匹のラットで形態学的又は子宮の変化を伴わない、前立腺及び精嚢腺重量の低下(それぞれ-50 又は-30 %)がみられた。

100 ppm 投与群において、以下の変化がみられた：12 及び 13 週の雄における好中球及びリンパ球の値の低下(-35 %)。形態学的変化を伴わない、精嚢腺重量の低下(-60 %)。5 匹のラットにおける立方上

皮に覆われる小胞を伴う前立腺重量の低下(-80%)。ラット6匹における子宮腺の拡張並びに子宮内膜及び腺上皮の波型の外観を伴う、子宮内膜間質の明らかな縮小を特徴とする子宮の変化がみられた(Hunter et al., 1976c)。

ラット(体重60g、一群雄雌各10匹)に、0、50、100、200又は1,000 µg/kg 体重/日のTBAを、週に6日、3ヶ月間経口投与した。化合物は、0.9% NaCl、0.4%ポリソルベート80、0.5%カルボキシメチルセルロース及び0.9%ベンジルアルコールを含む水溶液0.5 mLの形態であった。終了時においてのみ、半数の動物で測定を実施した。

雌の成長率はわずかに増加したが、2つの最高用量群の雄においては減少した。血液パラメータに影響はみられなかった。全投与群で、SGOT及びSGPTが減少したが、総コレステロールは、100、200及び1,000 µg/kg 体重/日投与群において低下した。最高用量群では、血液中のグルコースのわずかな減少がみられたが、この群の雌のみにおいて、尿素はわずかに上昇した。200及び1,000 µg/kg 体重/日投与群の雌雄の肝臓重量、最高用量群の雌雄の腎臓重量、並びに200及び1,000 µg/kg 体重/日投与群の雌の脾臓重量で増加がみられた。雌において、卵巣重量は最高用量群で増加し、子宮重量は100及び200 µg/kg 体重/日投与群で低下した。雄において、100、200及び1,000 µg/kg 体重/日投与群で精嚢腺重量、並びに100及び1,000 µg/kg 体重/日投与群で前立腺重量の減少がみられた。肉眼的病理検査では、最高用量群のラットにおいて、前立腺、精嚢腺及び精巣の萎縮がみられた。組織学的に、卵巣(すべての試験群において、嚢胞及び放出された卵胞)及び子宮(200及び1,000 µg/kg 体重/日投与群において“dentelle uterine”)の変化が雌で認められた。最高用量群の雄では、精子形成における遅れ並びに精嚢腺及び前立腺の無形成がみられた(Seeger, 1971a, b)。

雌ラットに0.01、0.1、2.5、5、10、20、40、80又は160 ppmのTBAを混餌投与したところ、40 ppmより高用量の投与群で子宮重量の増加が示された。全群における膣スミアは陰性であったが、膣粘膜のわずかな増殖が最高用量群でみられた(Huis in't Veld et al., 1973)。

卵巣を切除した雌ラット(重量60-65g)に、0、0.2、1.0又は5.0 mg/日のTBAのゴマ油溶液を4日間皮下投与した。5日目の投与終了時に、全ての投与群において、子宮重量の用量依存的な増加(最大+550%)がみられた。TBAのエストロゲン活性は、エストラジオール-17βのエストロゲン作用の0.1%未満であった(Schroder, 1971b)。

去勢した雄ラット(体重100g)に、4、20若しくは100 µg TBA、4、20若しくは100 µg β-TBOH、又は20、100、500若しくは1,000 µg α-TBOHを9日間毎日皮下投与した。去勢1日後から投与を開始した。対照として1群を用いた。最終投与1日後のと殺時、前立腺、肛門挙筋及び精嚢腺の重量を記録した。TBA及びβ-TBOHの両方を投与した動物では、全試験群において臓器重量が用量依存的に増加した。α-TBOHを投与した動物では、3つの最高用量群で臓器重量が増加した(Escuret & Bas, 1978)。

去勢した雄ラット(体重65~75g)に、0、0.02、0.1又は0.5 mgのTBAのゴマ油溶液を去勢後10日間の毎日皮下投与した。11日目のと殺時、全群で肛門挙筋(最大+250%)、前立腺(最大+1,400%)及び精嚢腺(最大+2,500%)の重量に用量依存的な増加がみられた。この試験では、TBAは、テストステロンの5倍、17-エチニル-19-ノルテストステロンの20倍高い、顕著な同化及びアンドロゲン活性を示した(Schroder, 1971b)。

ラット(体重123~131g、一群雄雌各10匹)に、0、200、1,000、又は5,000 µg/kg 体重/日のTBAを

週 6 回、2 ヶ月間皮下投与した。化合物は、syncortyl 及びラッカセイ油の 1: 1 の溶液として用いられた。

雌の成長率は、全群で増加したが、対照的に、最高用量群の雄における成長率は減少した。一群雄雌各 5 匹のラットにおいて、終了時に行われた血液学的及び血液生化学的検査では、全試験群において Hb 及びヘマトクリット値のわずかな増加並びに軽度の白血球数の減少(リンパ球減少症のため)が明らかになった。その他明らかになった血液異常は、5,000 µg/kg 体重/日投与群の雌におけるグルコースの減少(他の群では測定されなかった)、1,000 及び 5,000 µg/kg 体重/日投与群の雌並びに 5,000 µg/kg 体重/日投与群の雄における BUN の減少、そして 1,000 及び 5,000 µg/kg 体重/日投与群の雌雄におけるコレステロールの低下であった。

すべての試験群で、腎臓の絶対及び相対重量は増加し、副腎及び胸腺の絶対及び相対重量は減少した。卵巣重量は、全試験群の雌で用量依存的に減少した。200 及び 1,000 µg/kg 体重/日投与群の雌において、子宮重量は減少した。投与した雌は全て、肝臓の絶対重量の増加を示した。投与群の全ての雄の精巣重量並びに 1,000 及び 5,000 µg/kg 体重/日投与群の雄の精囊腺及び前立腺重量において、減少がみられた。これらの重量変化に加え、胸腺、卵巣及び精巣において萎縮が認められ、精囊腺及び前立腺においては肥大がみられた(Sovetal, 1970; Seeger, 1971a)。

ウサギ (原文 p.27)

ウサギ(体重 2 kg、一群 4~6 匹)に、0、0.05、0.5、2 又は 5 mg/kg 体重/日の TBA を 4 日間皮下投与した。肝機能(SGOT 活性及び BSP 排泄)を試験した。2 mg/kg 体重/日において SGOT 活性はわずかに増大し、一方 5 mg/kg 体重/日においては有意に増加した。BSP 排泄は、いかなる試験群においても影響を受けなかった(Seeger, 1971a)。

豚 (原文 p.27)

雄、雌及び去勢された雄豚に、1-2 ppm の TBA を単独又はエストラジオール 17β 2 ppm 若しくはエチニルエストラジオール 2 ppm と組み合わせて 5-8 週間混餌投与した。休薬 5 及び 6.5 週後では、尿中から TBOH は検出されなかった。尿中へ排泄された総ステロイドエストロゲン量は、休薬 7 週後において増加しなかった(Kroes et al., 1976a)。

豚(*Sus scrofa*、一群雄雌各 4 匹)に、0、0.1、2 又は 20 ppm の TBA(それぞれ 0、4、80 又は 800 µg/kg 体重/日の TBA に相当)を 14 週間混餌投与した。死亡率、体重又は眼科学的検査に対して投与に関連した影響は全くみられなかった。6 及び 12 週後、いくつかの血液学的パラメータ(すなわち、Hb、RBC、PCV、WBC、diff. WBC 及びプロトロンビン指数)及び血液生化学的パラメータ(すなわち、グルコース、タンパク質、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、SAP、カルシウム及びクレアチニン)に影響はみられなかった。2 及び 20 ppm において、血小板(最大+70 %、有意ではない)、尿素(最大+3 %、有意)及びコレステロール(最大+100 %、有意)に用量依存的な上昇がみられた。SGOT は、全試験群において用量依存的に増加した(最大+100 %、有意)。全投与群の雄において、テストステロン及びエストラジオールの血中濃度の用量依存的な減少があった(どちらも最大-95 %、有意)が、2 つの最高用量群の雌において、プロゲステロンは著しく減少した(最大-99 %、有意)。同じ投与群において、肝臓(最大+30 %、有意)、子宮(最大-50 %、有意)、腎臓(最大+25 %、有意)及び精巣(最大-55 %、有意)の絶対及び相対重量の用量依存的な変化がみられた。最高用量群では、脳下垂体(-15 %、有意)及び精囊腺(+280 %、有意)の重量で変化がみられた。3 つの投与群の全てで、甲状腺重量の増加(最大+20 %、有意ではない)があった。

組織病理学的検査では、2 及び 20 ppm 群で以下に示す用量依存的な異常が示された：肝臓において、細胞原形質のくもり硝子変性を伴う肝細胞の腫大；精巣において、間質細胞の中等度～完全な萎縮（輸精管内の正常な精子形成を伴う）；卵巣における成熟卵胞の欠如及び/又は黄体の成熟若しくは早期退行を特徴とする、周期活動の抑制又は異常の痕跡；そして子宮における子宮内膜における腺の発達の欠如。この最後の所見並びに 2 ppm 群の乳腺において認められた腺房の発達及び分泌の欠如は、おそらく卵巣の所見により示唆される非発情期の状態と関連していた (Ross et al., 1980)。

牛 (原文 p.28)

子牛(一群雄 8 頭)に TBA 140 mg + エストラジオール-17 β 20 mg を、と殺の 8 又は 4 週前に皮下埋め込み投与した。別の群には、テストステロン 200 mg/kg 体重 + エストラジオール-17 β 20 mg/kg 体重の両方を投与した。全投与群において、前立腺の組織学的検査では、分泌活性並びに増殖性及び化生性の変化の増加が示された (Verbeke et al., 1975)。

子牛の雄にエストラジオール-17 β 20 mg を単回皮下埋め込み投与した 6 週後、組織学的検査により精囊腺に顕著な変化がみられた。子牛に、TBOH 140 mg 及びエストラジオール-17 β 20 mg の混合物を皮下投与したところ、4/11 頭の子牛において精囊腺のごくわずかな変化を引き起こした一方、3/7 頭の子牛では精囊腺の変化はみられず、男性ホルモンの刺激が認められた (Kroes, 1972)。

11 週齢の雄子牛に、エストラジオール-17 β 20 mg のみ、又は TBA 140 mg と混合したエストラジオール-17 β 20 mg を皮下埋め込み投与した。投与後最初の 12 日間の総ステロイドエストロゲン量の尿中への分泌は、エストラジオール-17 β のみの投与群では高かった。3 週後に正常値に達した。エストラジオール-17 β /TBA 併用群では、埋め込み投与後 42 日間までにステロイドエストロゲンの段階的及び長期の排泄が起こったが、56 日後に正常値に達した。エストラジオール-17 β 及び尿中エストラジオール-17 β の定量的測定により、 α -エピマーがほとんどの尿サンプルに存在したことが示され、エストラジオール-17 β は、エストラジオール-17 β を単独投与した牛の尿中にのみみられた。併用群では、エストラジオール-17 β が尿中にみられたのは 21 日目のみであった。前立腺の組織学検査では、いずれの投与の後も腺上皮の扁平上皮化生が認められた (Kroes et al., 1976b)。

合計 1,480 頭の雌の子牛 (7 週齢) に、TBA 0、140 又は 3,500 mg (それぞれ第 1～3 群) 又は TBA 140 mg + エストラジオール-17 β 20 mg (第 4 群)、TBA 1,400 mg + エストラジオール-17 β 200 mg (第 5 群) 又は TBA 3,500 mg + エストラジオール-17 β 500 mg (第 6 群) を経皮埋め込み投与した。子牛を投与 10 週後にと殺した。

全投与群において、血液パラメータ (グルコース、GOT、GPT、AP、LDH、コレステロール、ビリルビン、Hb 及び PCV)、尿比重及び pH については、影響はみられなかった。血清及び骨中のカルシウム及びリンの値は変化しなかったが、血清中のマグネシウム濃度及び骨へのマグネシウム沈着は、第 3、5 及び 6 群において低下した。子宮の腺細胞の増殖を伴う、子宮重量の増加が第 3 群でわずかに、第 4、5 及び 6 群では有意にみられた一方、これらの群では子宮内腔が部分的に液体で満たされた。投与群では、卵胞の大きさの減少を伴う卵巣重量の減少がみられた。これらの重量変化は、第 2、3 及び 6 群で最も顕著であった。卵胞数の減少を伴う卵胞の縮小は、第 5 及び 6 群において最も顕著であった。全投与群で、用量依存的な胸腺重量の減少がみられた。第 3 群においてクリトリスの発達異常が認められた。病理組織学的検査では、第 4、5 及び 6 群の動物の乳房の腺組織において、用量に相関しない増殖及び分泌が示された。心臓、肝臓、腎臓、脳下垂体、松果体、副腎、甲状腺及び骨格筋には、異常はみられなかった (Gropp et al., 1975)。

去勢牛及び未経産牛に、7つのTBA 300 mgを皮下埋め込み投与した。別の去勢牛の群にTBA 140 mg+エストラジオール-17 β 20 mgを投与した。投与後9週間の観察期間中、血漿中尿素は全群において減少した。その他血漿パラメータ(グルコース、カルシウム、リン、マグネシウム、ナトリウム、カリウム及び総タンパク質)には、影響はみられなかった。インスリン又は成長ホルモンの血漿中濃度に変化はみられなかった。去勢牛において、投与後9週の観察期間中、チロキシン濃度の低下が認められたが、最も顕著だったのは、TBA及びエストラジオール-17 β を併用して投与した牛であった。去勢牛において、胸腺重量の顕著な低下が認められた(およそ50%) (Heitzman, 1975)。

去勢牛及び雄牛に、TBA 140 mgのみ、又はTBA 140 mgとエストラジオール-17 β 20 mgを組み合わせて皮下埋め込み投与した。対照動物は、担体を投与した。薬剤の併用は、雄牛及び去勢牛において、外因性エストラジオール-17 β の尿中への排泄に影響を与えた。前立腺の組織学的検査は、薬剤併用群において扁平上皮化生を示した。両投与群では、対照群に比べて前立腺上皮の更なる活性化がみられた (Kroes et al., 1976c)。

長期試験 (原文 p.30)

マウス (原文 p.30)

スイスアルビノCFLPマウス(体重22-25 g、一群雄雌各64匹)に、TBA 0、0.5、1.0、10又は100 ppm(それぞれ、雄で0、0.004、0.09、0.86又は8.6 mg/kg体重/日、及び雌で0、0.005、0.10、0.96及び9.5 mg/kg体重/日に相当)を、95~104週間(生存率が対照群の雄又は雌において20%となった時に試験終了)混餌投与した。13週後、雄雌各12匹のマウスをと殺した。その時点で、100 ppm群の雌雄において、腎臓の絶対及び相対重量の有意な増加がみられた(20-40%増)。最高用量群の雌において、脾臓重量の有意な低下がみられ(-20%)、1.0、10及び100 ppm群の雄においては有意な増加がみられた(+25%)。全ての投与群の雌において、子宮の相対重量の用量依存的な減少がみられた(最大-25%)。中間と殺時に、最高用量群の全ての雌において、黄体欠如を特徴とする排卵抑制が認められた。卵胞発達は、成熟卵胞段階に進んだ。100 ppm群の全ての雌の子宮(の状態)は、周期の発情間期と一致していた。100 ppm群の雄6/12匹の脾臓では、赤脾髄における多形核白血球の増加がみられた(対照群では0/12)が、同群の雄2/12匹で、洞のうっ血(congested sinuses)が認められた(対照群で0/12)。

最終と殺では、いずれの臓器重量も記録されなかった。最終の肉眼的及び病理組織学的検査により、投与群の雄で肝臓における結節性過形成及び用量依存的な腫瘍増加が認められたが、これらの増加は、2つの最高用量群で統計学的に有意であった。肝臓の腫瘍の発生頻度も、最高用量群の雌で増加した(8/52に対し対照群は4/51)。100 ppm群の雄において肝細胞の空胞化の発生頻度の増加があった。100 ppm群の雌において、肉眼的病理検査では、腎炎の発生頻度のわずかな増加を伴った腎臓の腫大及び肥大の発生頻度増加が示された。同群において、卵巣嚢胞の増加(10/20匹に対し対照群1/11匹)並びに肥大化、膿瘍化、又は嚢胞性の包皮腺(雌4/20匹に対し対照群0/11匹)がみられた。100 ppm群の雌4/20匹では、脾臓の小型化が見られた(Hunter et al., 1981)。

ラット (原文 p.31)

スピローグ・ドーリーCFYラット(体重150-200 g、一群雄雌各65匹)に、0、0.5、1.0、4.0、16又は50 ppmのTBA(雄で0、0.02、0.04、0.14、0.56又は1.80 mg/kg体重/日、雌で0、0.02、0.04、0.16、0.64又は1.92 mg/kg体重/日に相当)を112週間混餌投与した。試験動物の親動物には、交配9週間前から分娩21日後まで同量を投与した(母動物のみ妊娠0日から分娩21日後まで投与した50 ppm群を除く)。

4.0、16 及び 50 ppm 群の雌では、外陰部の隆起がみられた。全投与群の雌において、肛門性器皮膚の下垂の用量依存的な発生がみられた(最大発生頻度、85%)。0.5 ppm 群を除く全投与群の雄において、精巣の大きさの用量依存的な縮小がみられた(最大発生頻度、45%)。TBA の 50 ppm 群の雄において、成長率及び摂餌量の試験期間を通じた減少がみられた(それぞれ-15%及び-10%)。同群において、51 週目まで飲水量の低下がみられた(-15%)。尿検査(0、16 及び 50 ppm 群の一群雄雌各 5 匹のラットを用いて、試験期間を通じて 9 つのパラメータを 6 回測定)において、投与に関連した変化は全くみられなかった。

血液学的検査(各 0、16 及び 50 ppm 群の一群雄雌 10 匹のラットで、試験期間を通じて 10 のパラメータを 6 回測定)では、16 及び 50 ppm 群の雌において一部のパラメータの用量依存的なわずかな上昇を確認した。雄の血液学的検査値は、一般的に投与の影響はみられなかった。血液生化学(13 パラメータ)は、被験物質による変化は全くみられなかった。

ラットの一群雄雌各 13~14 匹を、78 週目に中間と殺した。肉眼検査では、TBA 16 ppm 群の雌 5/14 匹及び TBA 50 ppm 群の雌 13/13 匹において、クリトリスの隆起がみられた。50 ppm 群の雄は、精巣、精囊腺及び前立腺の萎縮を示した。臓器の中間計量では、TBA 16 及び 50 ppm 群の雄において、精巣及び前立腺の絶対重量の用量依存的な減少が明らかになった。副腎及び脳下垂体重量は、50 ppm 群の雌雄において減少した。卵巣重量は、全投与群において用量に関係なく増加した。

試験終了時に、精巣、前立腺及び副腎の絶対重量の同様の変化が認められた。最高用量群の雄では、脳下垂体(-30%)、甲状腺(-20%)、腎臓(-30%)、脾臓(-30%)及び肝臓(-20%)の重量の減少が認められた。卵巣重量は、最高用量群の雌において著しく低下した(-60%)。

最終の肉眼的及び組織病理学的評価では、最高用量群の雌の肝臓において、病巣の発生頻度及び肝細胞のくもり硝子変性の領域がわずかに増加したことが明らかになった。膀胱結石並びにそれに関連した膀胱炎及び腎盂炎を伴う上皮過形成が、同用量群の雌においてみられた。雌雄両方において、生殖器官に影響を及ぼした。16 及び 50 ppm 群の雄において、精巣、前立腺及び精囊腺の*萎縮がみられた。50 ppm 群の雌において、黄体の欠如、膣の炎症及び粘液分泌、子宮の内膜炎、拡張、子宮内膜厚の低下及びクリトリスの骨の発達がみられた。2 つの最高用量群の雌においてクリトリスの肥大がみられた。腫瘍の病理組織学的検査では、50 ppm 群において睪島細胞腫瘍の発生頻度の増加が示された(Hunter et al., 1982)。

*原文には“vesicular”とあるが、“seminal vesicle”の形容詞と考えた。

人での観察(原文 p.32)

ヒトの男女のボランティアに、TBA 5 又は 10 mg を 14 日間毎日筋肉内投与した。TBA 5 mg 投与群では、窒素保持を含めた窒素バランスが崩れた。10 mg 投与群では、一部の女性で月経周期の乱れを示した。同用量群において、軽度ではあるが有意な 17-ケトステロイドの排泄の減少が示された。17-ヒドロキシコルチコステロイド排泄への影響は全くみられなかった。血液パラメータ(タンパク質、コレステロール、凝固因子並びにプロトロンビン及びトロンビン時間)は投与による影響を受けなかった(Kruskemper et al., 1967)。

コメント (原文 p.34)

TBA は、同化特性を備えた合成ステロイドである。分子内の 17-位で、 α 及び β の 2 つのエピマーが存在する。TBA の β -エピマーは市販品である。体重、飼料変換率及び窒素保持の改善のために、単独、又はエストラジオール-17 β やゼラノールと組み合わせて、牛の耳に皮下埋め込み投与する。投与は通常と殺予定日の 60-90 日前である。

牛への投与後、TBA は速やかに TBOH に加水分解され、主要代謝物は α -TBOH であり、糞尿、胆汁及び肝臓中に生成される。筋肉においては、ほとんどの TBOH は β -TBOH として存在している。放射標識した TBA 200 mg を子牛及び未経産牛に投与した試験では、残留物の最大値は投与の約 30 日後に生じることが示された。TBOH 当量としての残留物の平均濃度が最も高いのは、肝臓の 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、一方筋肉は 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

第 27 回会合で要求された試験結果は、検討のために本委員会に提出された。さらに、毒性データについて生殖及び変異原性を検討した。委員会は代謝、催奇形性及び癌原性を含む以前のデータをまた検討した。

いくつかの種における短期毒性試験で、TBA を経口投与した際の毒性は低いことが示された。

ラットを用いて、妊娠、多世代の生殖機能及び離乳までの児動物の発達における、TBA の影響を評価するための試験を行った。0.3 及び 0.5 ppm、20-30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当の混餌投与により、雌の週平均体重が対照群よりわずかに高くなり、同腹児パラメータにわずかな変化がもたらされた一方、3.0 ppm 及び 18.0 ppm TBA の混餌投与はホルモン作用に影響した。0.5 ppm、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当の TBA を投与したラットでは、生殖能において全く影響を及ぼさなかったと見なされた。ラットにおける 2 つの混餌試験では、極めて高用量の TBA 投与においても、催奇形性作用は全くみられなかった。*in vivo* 及び *in vitro* の変異原性試験では、全範囲で、 β -TBOH 及び α -TBOH について曖昧な結果が示されたマウスリンフォーマ細胞の突然変異試験を除き、TBA、 β -TBOH 及び TBA の主要代謝物である α -TBOH については全て陰性であった。委員会は、シリアンハムスター胚線維芽細胞における β -TBOH の形質転換試験の曖昧な結果の報告書にも注目し、この種の試験結果の解釈に対する認識の問題を検討した。

委員会は、第 27 回審議会で表明された、ラット及びマウスにおける TBA の長期混餌試験の結果に関する意見を再確認した(添付 1、参照 62)。TBOH のホルモン活性の結果、TBA の最高用量群(0.9-9 mg/kg 体重/日)のマウスにおいて肝臓の過形成及び腫瘍が生じ、TBA の 1.85 mg/kg 体重/日(試験の最高用量)投与群のラットの膵島細胞における腫瘍発生頻度のわずかな上昇が生じた。

その結果、ホルモン無作用量を設定に基づきその安全性評価はできると委員会は結論した。 β -TBOH を経口投与したアカゲザルの去勢雄を用いた試験を評価し、このモデルがヒトに関連すると考えられた。去勢雄アカゲザルは、抗性腺刺激活性のある化合物に敏感に反応し、そのため委員会はヒトの ADI 設定の基準として本試験を用いることにより保守的アプローチを採択した。各群において試験サルは少数で、高齢であったにもかかわらず、精囊腺における組織学的変化の評価に基づいて、委員会は 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日をホルモン無作用量と設定した。未経産の雌アカゲザルでは、TBA のホルモン無作用量は 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日が明らかであった。委員会は、豚がホルモン作用の検討には敏感なモデルであることを考慮し、ここでも、精巣における病理学的変化の評価に基づく TBA のホルモン無作用量 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に注目した。豚における別の試験では、 β -TBOH のホルモン活性が α -TBOH の約 10 倍であったことが示された。各個体のデータはいずれの豚を用いた試験にも全く利用できなかった。

十分な毒性データがないため、委員会は、 α -TBOH 代謝物について個別の無影響レベルを設定することができなかった。この代謝物はラットにおいて十分量産生されず、 β -エピマーの試験で得たデータから外挿するのは不適切と注意された。

評価 (原文 p.34)

ホルモン無作用量 (原文 p.34)

豚: 飼料中に 0.1 ppm、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当

サル: 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

一時的一日摂取許容量の推定 (原文 p.35)

0 - 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重

さらなる試験又は情報 (原文 p.35)

必要(1990 年までに):

- (a) TBA を未経産牛に及びエストラジオール-17 β と併用して去勢雄牛に投与した場合の、組織における残留試験のデータで裏付けた、最終報告書。
- (b) 委員会によって見直された、豚における 3 つのホルモンの試験に由来する各個体の病理組織学的解析
- (c) 適切な種における α -TBOH の 90 日経口投与試験の結果

酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要（評価書:JMPR 1987）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
発癌性試験 (皮下)	ラット	15 µg/kg 体重 ³ H-エスト ラジオール-17β、19 µg/kg 体重 ³ H-テストス テロン、17 µg/kg 体重 ³ H-TBA、30 µg/kg 体 重 ³ H-ゼラノール	それぞれの CBI は以下の通り エストラジオール-17β、11.4 テストステロン、4.80 TBA、5.62、 ゼラノール、1.65
発癌性試験 (腹腔内)	ラット	0.83 mCi (22-40 µg/kg 体重) の ³ H-TBA	24 時間後 CBI 7.82 96 時間後 CBI 1.11
発癌性試験 (腹腔内)	ラット	TBOH 又は β-TBOH (2.5、5 又は 10 mg/kg 体重)、エチニルエストラ ジオール(0.05 mg/kg 体重)、テストステロン (10 mg/kg 体重)、ニト ロゾモルホリン(25 mg/kg 体重)、ジエチル ニトロサミン(200 mg/kg 体重)	いずれも肝腫瘍のイニシエーターとならない
変異原性試 験			表 3 に記載の通り
リレー毒性	ラット	0、140、3,500 mg/動物 の TBA を投与した牛の 組織をラットに 230 ppb TBA 混餌投与	わずかな成長率低下 死亡率、飼料消費量、成長率、生殖能力、生殖(3 週後の交尾、受胎率、妊娠期間、平均同腹児重 量、1 腹胎児数、胎児体重、死亡率及び胎児体 重)、血液学、生化学、臓器重量並びに肉眼及び 組織病理学を含む他のパラメータに影響なし
繁殖試験	ラット	0、0.5、1、4、16、 50ppm TBA	児動物の死亡率上昇 4 ppm、16 ppm 投与群の雌で試験中の成長率増 加(10-20%) 50 ppm 投与群の交配後の成長率増加(10%) 1、4、16、50 ppm で妊娠率減少(最大-30%) 4、16 ppm(最大およそ-10%)、50 ppm(約 -25%)で産子数、同腹児重量減少
繁殖試験	ラット	0、25、50 及び 100 ppm の TBA	妊娠率はそれぞれ、12/12、10/12、4/12 及び 1/12

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
多世代繁殖試験	ラット	0、0.5、3 及び 18 ppm	<p>18 ppm 投与群</p> <p>a) F₀ 及び F₁ 世代の両投与群の雌雄及び F₁ 世代の未投与群の雌における一般的に高い体重; b) F₀ 世代の両方の交配における妊娠中の平均体重増加量の低下; c) F₀ 世代の動物及び F₁ 世代の投与群の雌において男性化の兆候、即ち粗毛及び皮膚の変色; d) 投与群の F₁ 世代の雌におけるクリトリスの隆起、未投与群 F₁ 世代の雌におけるクリトリスのわずかな隆起。同様の効果は投与群の F₁ 親からの F₂ 世代の雌で認められたが、未投与群の F₁ 世代の児には認められなかった; e) 膣の閉塞性鎖(occlusive strands)の存在、及び/又は、投与群の F₁ 児動物及び投与群の F₁ 世代からの F₂ 児動物における早成/不完全な膣口; f) 投与群の F₁ 世代からの F₂ 児動物における精巣下降の発生の遅延; g) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の 2 回目の交配の妊娠率の顕著な低下; h) F₀ 世代及び投与 F₁ 世代の 2 回目の交配における交尾前の時間の増加; i) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の妊娠期間の限界的延長; j) 投与群の F₁ 世代における分娩延長及び全同腹児の死亡発生頻度の顕著な増加、同腹児あたりの雄の割合の有意な増加; k) F₀ 世代及び投与群の F₁ 世代の両方の交配後、出生時又は 20 日のと殺時における同腹児数及び体重の低下; l) F₀ 及び投与群の F₁ 世代において、着床後/出産前の死亡の増加; m) 最終剖検時、前述の所見に加えて、即ち F₀ 及び F₁ 世代の雄の前胃部上皮の抑制の発生頻度; n) F₀ 及び F₁ 世代の雄における精嚢腺/前立腺の重量の有意な減少、並びに F₀ 及び投与群の F₁ 世代雌における平均卵巣重量の増加; o) F₁ 及び F₂ 世代の 6 週齢の児動物の雄における精嚢腺/前立腺、精巣及び精巣上体の重量の有意な減少。F₁ 及び F₂ 世代の 6 週齢の児動物の雌は副腎重量の減少を示した; p) F₀ 世代のラットの 2 回目の交配後、雄胎児における肛門生殖器間距離の有意な減少及び骨格変異の発生頻度の微増(催奇形性相)。</p> <p>3 ppm</p> <p>a) F₀ 世代の最初の交配における体重増加量の遅れ; b) F₁ 世代の雌 1 匹において粗毛及び皮膚の変色; c) F₁ 世代及び投与群の F₁ 世代の親に由来する F₂ 世代の児の雌における膣開口の平均年齢の有意な遅延; d) 6 週における剖検で F₁ 世代の動物の膣の不完全な膣開口又は閉塞性鎖(occlusive strands)の偶発的発生の影響; e) 投与群の F₁ 世代を親とする F₂ 世代の児動物の雄における軽度だが統計学的に有意ではない精巣下降の遅延; f) F₀ 世代の最初の交配後の出生時の</p>

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
多世代繁殖試験	ラット	0、0.1、0.3、0.5、3 又は 18 ppm	<p>18 ppm</p> <p>a) F₀雌の平均体重のわずかな上昇、しかし妊娠期間中の体重増加量は低く、最終投与後 3 週間における雄の体重増加量はわずかに低下; b) F₀ 雌 22/29 例及び 3 週齢以降全ての F₁ 児動物の雌の剖検におけるクリトリスの隆起; c) 妊娠期間の統計学的に有意な延長; d) F₀の雌 4/29 例における全同腹児死亡; e) 同腹児数の減少、同腹児重量の低下、児動物死亡率のわずかな増加及び児動物の平均体重の増加を含む、同腹児パラメータへの影響; f) 22 日齢の F₁雄の精巣重量の低下及び精嚢腺/前立腺の平均重量の増加</p> <p>3ppm</p> <p>a) 終了 3 週間前における雌の平均体重のわずかな増加及び雄の体重のわずかな低下; b) 妊娠期間のわずかな延長; c) 同腹児数の減少並びに児動物の死亡率及び平均体重のわずかな増加を含む、同腹児パラメータへの影響; d) F₁ 雄における精巣重量の低下及び精嚢腺/前立腺の平均重量の上昇</p> <p>3 及び 18 ppm において同腹児パラメータに影響 0.1、0.3、0.5 ppm において雌の体重の微増</p>
催奇形性 (経口)	ラット	0、2.5、5 及び 10 mg/kg 体重/日	死亡率、成長率、黄体数、生存率並びに若年死亡の数及び分布、同腹児体重、胎児平均体重、顕微鏡的胎児異常、性比及び胎児頭殿長の全てにおいて投与の影響なし
催奇形性 (経口)	ラット	0、5、10 又は 20 mg/kg 体重/日	<p>妊娠率、生存及び若年死亡数、着床及び黄体数、同腹児重量、胎児平均体重、主要な外表奇形の発生頻度、軽度の内臓奇形の発生頻度、胎児頭殿長並びに骨格変異(肋骨の数、正常及び変異胸骨分節の数)の発生頻度は影響なし</p> <p>10、20 mg/kg 体重/日で一部母動物に脱毛症 全ての群で成長率減少(最大 20%)</p>
急性毒性			表 4 に記載の通り
急性毒性	イヌ	1、2、5、10 mg/kg 体重	<p>血圧低下</p> <p>10 mg/kg 体重において軽度の徐脈</p> <p>アドレナリン及びノルアドレナリンを伴う投与後血圧低下</p> <p>アセチルコリン投与後血圧上昇</p>
その他			
			暫定的 ADI 0 - 0.01 µg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
ADI	Acceptable daily intake	1 日摂取許容量
LD ₅₀	50% Lethal Dose	半数致死量

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1989

ウェブサイト:ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-2-trenbolone_acetate.pdf
FNP 41/2-JECFA 34/88, 1989

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理 JMPR (1989) 目次

その他の概要特性 (原文 P. 88)	61
食物中の残留物及びその評価 (原文 P. 89)	62
使用状況 (原文 P. 89)	62
全般事項 (原文 p. 89)	62
投与量: (原文 p. 89)	62
残留試験 (原文 P. 89)	62
去勢子牛 (原文 p. 89)	62
未経産牛 (原文 p. 92)	66
子牛 (原文 p. 95)	68
残留分析法 (原文 P. 95)	69
全般事項 (原文 p. 95)	69
ラジオイムノアッセイ RIA (原文 p.96)	69
評価 (原文 P.96)	69
酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要 (評価書: JECFA 1989)	71
略称	71

原文 目次

	原文ページ
IDENTITY -----	88
OTHER INFORMATION ON IDENTITY AND PROPERTIES -----	88
Pure active ingredient -----	88
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION -----	89
CONDITIONS OF USE -----	89
General -----	89
Dosages -----	89
RESIDUE STUDIES -----	89
Steers -----	89
Heifers -----	92
Calves -----	95
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS -----	95
General -----	95
Radioimmunoassay RIA -----	96
APPRAISAL -----	96
REFERENCES -----	98

酢酸トレンボロン

評価対象動物薬の概要 (原文 p. 88)

化学名: トレンボロン (Trenbolone)

17β-ヒドロキシエストラ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one)

4,9,11-エストラトリエン-17β-オール-3-オン (4,9,11-estratrien-17β-ol-3-one)

17β-ヒドロキシ-19-ノルアンドロスタ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-hydroxy-19-norandrosta-4,9,11-trien-3-one)

19-ノルアンドロスタ-4,9,11-トリエン-17β-オール-3-オン (19-norandrosta-4,9,11-trien-17β-ol-3-one)

酢酸トレンボロン (Trenbolone acetate)

17β-アセトキシ-3-オキソエストラ-4,9,11-トリエン (17β-acetoxy-3-oxoestra-4,9,11-triene)

17β-アセトキシエストラ-4,9,11-トリエン-3-オン (17β-acetoxyestra-4,9,11-triene-3-one)

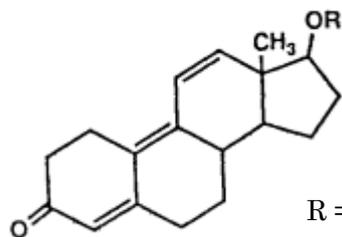
3-オクソ-17β-ヒドロキシ-4,9,11-エストラトリエンアセテート (3-oxo-17β-hydroxy-4,9,11-estratrieneacetate)

同義語: トレンボロン (Trenbolone)

トリエンボロン (trienbolone)

トリエノロン (trienolone)

構造式:



R = H (トレンボロン)

R = COCH₃ (酢酸トレンボロン)

分子式: C₁₈H₂₂O₂ (トレンボロン)、C₂₀H₂₄O₃ (酢酸トレンボロン)

分子量: 270.38 (トレンボロン)、312.39 (酢酸トレンボロン)

その他の概要特性 (原文 p. 88)

純粋な活性成分: (原文 p. 88)

	<u>トレンボロン</u>	<u>酢酸トレンボロン</u>
外観:	淡黄色、結晶	結晶
融点:	183~186°C	96~97°C
旋光度:	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +19^{\circ}$ (c=0.45、エタノール中)	$+36.8^{\circ}$ (c=0.37、メタノール中)
UVmax:	239, 340.5 nm	
(Windholz, 1983)		

食物中の残留物及びその評価 (原文 p. 89)

使用状況 (原文 p. 89)

全般事項 (原文 p. 89)

酢酸トレンボロン(TBA)は同化作用を持つ合成ステロイドである。牛の耳基部の皮下に埋め込むことで投与し、牛の体重、飼料転換及び窒素保持を向上する目的で、と殺予定日の 60~90 日前又はそれよりも早い時点で使用する。単独又は他のホルモン剤と併用で用いる。と殺時に耳の部分は、そこに残留している可能性のある薬物と共に廃棄される。

酢酸トレンボロンは、循環系に入ると速やかに加水分解されて、その遊離の活性体であるトレンボロン(TBOH)になる。ラットにおける主代謝物は 17 β -エピマーである。一方、牛においては、17 α -エピマーが排泄物、胆汁及び肝臓中にみられる主代謝物であり、17 β -エピマーは筋肉中にみられる主代謝物である。(Jouquey, et al., 1983)。

このモノグラフでは、酢酸トレンボロンがエストラジオール及びその他のエストラジオール含有製品と併用された場合、17 β -トレンボロン(17 β -TBOH)又は17 α -トレンボロン(17 α -TBOH)のいずれの濃度が上昇するのかという観点から、酢酸トレンボロンの残留物に関する情報を調査する。この調査で対象とする試験は、去勢子牛を用いた 3 試験、未經産牛を用いた 2 試験及び子牛を用いた 1 試験である。

投与量: (原文 p. 89)

フィナプリックス (Finaplix, TBA 300 mg) = 未經産牛

トレラー (Torelor, TBA 200 mg + エストラジオール-17 β 40 mg) = 去勢子牛

レバラー (Revalor, TBA 140 mg + エストラジオール-17 β 20 mg) = 子牛

残留試験 (原文 p. 89)

去勢子牛 (原文 p. 89)

去勢子牛(一群 6 頭)の 5 群を用いた試験が実施された。この試験では、I 群を未処置の対照群とした。II 群~V 群の 24 例には、酢酸トレンボロン(TBA, 200 mg)及びエストラジオール(E2 β , 40 mg)から成るトレラーを埋め込み、埋め込み後 15 日、30 日、60 日及び 75 日にそれぞれ 1 群ずつと殺した。これらの各時点では、対照群の子牛もと殺した。

17 β -TBOH、17 α -TBOH 及びエストラジオール-17 β のそれぞれの遊離体及び抱合体について、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の濃度を測定した。遊離エストロンについては肝臓及び脂肪中の濃度を、17 α -TBOH 抱合体及び E2 α 抱合体については尿中の濃度を測定した。分析は HPLC-RIA 法で行われた。

17 β -TBOH 及び 17 α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留物濃度を表 I~IV に示した。標準偏差を示していない濃度は、用いた定量法の検出限界以下のものである。

その検出限界は 70 ng/kg とされたが(この分析法では、これよりも低い濃度でも残留物の検出は可能であるが)、信頼性を伴って測定できる残留物の濃度として、この検出限界は定義された。

表 I. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17β-TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15 日	254 ± 62	467 ± 162	78 ± 41	392 ± 147
30 日	272 ± 80	323 ± 131	67	293 ± 171
60 日	108 ± 29	180 ± 105	78 ± 24	120 ± 106
75 日	71 ± 32	83 ± 52	52	111 ± 86

表 II. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17β-TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15 日	66	1,110 ± 568	35	27
30 日	43	772 ± 618	36	31
60 日	38	695 ± 337	33	32
75 日	43	401 ± 177	33	20

表 III. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17α-TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15 日	0	213 ± 71	95 ± 44	74 ± 20
30 日	9	226 ± 80	76 ± 8	62 ± 19
60 日	41	89 ± 26	24	60
75 日	40	39	23	55

表 IV. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17α-TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15 日	21	1,918 ± 864	386 ± 282	59
30 日	10	1,708 ± 758	210 ± 44	36
60 日	27	908 ± 664	143 ± 27	52
75 日	16	656 ± 331	182 ± 51	16

筋肉、肝臓及び脂肪中における 17β-TBOH の遊離体の濃度は互いに同様であったが、腎臓中濃度においては検出限界近くの低い濃度であった。17β-TBOH の抱合体が検出できたのは肝臓だけであった。

17α-TBOH の遊離体は、肝臓でのみ埋め込み後 60 日まで、腎臓及び脂肪では埋め込み後 30 日までしか検出されなかった。17α-TBOH の抱合体は肝臓及び腎臓で検出された。[Arts, et al., 1986(a)]

去勢子牛(24 頭、体重 400~450 kg)を用いて 2 つ目の試験が実施された。この試験では、牛 24 頭を I ~IV 群の 4 つの群に一群 6 頭ずつ割り当てた。I 群にはトレラー(エストラジオール 40 mg+酢酸トレンボロン 200 mg 含有)を 1 回埋め込み、埋め込み 60 日後にと殺した。II 群、III 群及び IV 群には、トレラーを 2 回埋め込み(初回と 2 回目の埋め込みは 60 日間の間隔をあける)、2 回目の埋め込み 15、30 及び 60 日後にそれぞれと殺した。この試験では、トレラーの再埋め込みは、初回とは反対側の耳に行われたこ

とを記述しておかねばならない。

筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の 17β -TBOH 及び 17α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度を測定した。これらの生体試料中の異なるステロイドの測定には HPLC-RIA 法を用いた(Heister, M., 1986)。この分析法は、前回の試験で用いられた方法と同じものであり、検出限界も同じである。

17β -TBOH 及び 17α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留物量を表 V~VIII に示した。

表 V. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17β -TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数		15 日	30 日	60 日
筋肉	188 ± 55	295 ± 88	351 ± 103	282 ± 85
肝臓	103 ± 37	219 ± 111	99 ± 47	48
腎臓	256 ± 76	402 ± 96	188 ± 50	163 ± 45
脂肪	631 ± 395	1,149 ± 473	636 ± 131	826 ± 269

表 VI. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17β -TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数		15 日	30 日	60 日
筋肉	35	35	37	18
肝臓	551 ± 182	976 ± 330	779 ± 330	330 ± 130
腎臓	82 ± 37	105 ± 22	84 ± 17	63 ± 23
脂肪	15	21	12	16

表 VII. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17α -TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数		15 日	30 日	60 日
筋肉	70 ± 46	61 ± 56	36	48
肝臓	141 ± 60	211 ± 108	115 ± 42	47
腎臓	35	43	65 ± 19	48
脂肪	20	24	77 ± 16	62 ± 20

表 VIII. トレラー埋め込み後の去勢子牛における組織中の 17α -TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数		15 日	30 日	60 日
筋肉	63	80 ± 37	88 ± 21	87 ± 21
肝臓	1,731 ± 475	3,085 ± 2,183	4,652 ± 1,513	2,055 ± 575
腎臓	183 ± 104	191 ± 90	163 ± 81	95 ± 18
脂肪	29	35	76 ± 35	60

標準偏差は絶対標準偏差で表示した。標準偏差を示していない数値は、用いた分析法の検出限界以下の数値である。

埋め込みを単回のみ行った場合に比べて、二段階で順次行った場合は、筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の 17β -TBOHの遊離体の濃度は、有意に高かった。 17β -TBOHの抱合体は、肝臓及び腎臓中のみに検出された。

17α -TBOHの遊離体は主として肝臓で確認された。 17α -TBOHの残留物のほとんどは抱合体として主に肝臓及び腎臓で有意なレベルで検出された(Arts et al., 1986(b))。

去勢子牛(8頭、体重約280 kg)を用いて3つ目の試験が実施された。この試験では、牛の左耳にフィナプリックス-S(TBA 140 mg)を、また右耳にはシノベックス-S(プロゲステロン 200 mg + E2 β 20 mg)を同時に埋め込んだ。4例を埋め込み後15日に、残りの4例を埋め込み後30日にと殺した。これらの動物から採取した脂肪及び筋肉の試料についてはE2 β 、プロゲステロン、 17α -TBOH及び 17β -TBOHを分析し、また腎臓及び肝臓の試料については 17α -TBOH及び 17β -TBOHのみを分析した。

RIA法を用いて筋肉、腎臓、肝臓及び脂肪中の 17α -TBOH及び 17β -TBOH濃度を測定した。筋肉及び脂肪については 17α -TBOH及び 17β -TBOHの非結合性残留物を測定し、肝臓及び腎臓についてはそれらの遊離体だけでなくグルクロニド及び硫酸抱合体を合わせて測定した。

組織中の 17β -TBOH及び 17α -TBOHの残留物を表IX～Xに示した：

表 IX. フィナプリックス及びシノベックス-Sの同時埋め込み後の去勢子牛における組織中 17β -TBOHの平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓*	腎臓*	脂肪
15日	147 ± 15	491 ± 39	< 250	421 ± 53
30日	241 ± 40	596 ± 108	< 250	505 ± 52

*肝臓及び腎臓は遊離体と抱合体を合わせた数値、筋肉及び脂肪は遊離体のみの数値である。

表 X. フィナプリックス及びシノベックス-Sの同時埋め込み後の去勢子牛における組織中 17α -TBOHの平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓*	腎臓*	脂肪
15日	< 15	1,128 ± 242	< 250	51 ± 14
30日	< 15	1,045 ± 165	< 250	< 30

*肝臓及び腎臓は遊離体と抱合体を合わせた数値、筋肉及び脂肪は遊離体のみの数値である。

標準偏差は絶対標準偏差で表示した。標準偏差を示していない数値は、用いた分析法の検出限界以下の数値である。

埋め込み後30日の肝臓中の 17β -TBOH遊離体とその抱合体を合わせた濃度並びに脂肪及び筋肉中の 17β -TBOH遊離体の濃度は、埋め込み後15日の濃度に比べて有意に高かった。腎臓中には 17β -TBOH残留物は検出されなかった。

17 α -TBOHの遊離体とその抱合体の合計量として残留物が有意に検出されたのは、肝臓中においてのみであった(Herschler, R.C., 1988)。

未経産牛 (原文 p. 92)

未経産牛(24頭、体重約280 kg)を用いたフィナプリックス(TBA 300 mg 含有)の埋め込み試験が実施された。埋め込み後15日、30日、60日及び75日にそれぞれ6例ずつをと殺し、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の17 β -TBOH、17 α -TBOH及びE2 β *のそれぞれの遊離体及び抱合体を測定し、尿については17 α -TBOH及びE2 α **の抱合体を測定した。

* 原文ではe2 β となっているが、E2 β とした

**原文ではe2 α となっているが、E2 α とした

17 β -TBOH及び17 α -TBOHのそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留物を表XI~XIVに示した:

表 XI. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の17 β -TBOH遊離体の平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	526 ± 237	528 ± 162	530 ± 310	1,091 ± 546
30日	645 ± 328	440 ± 148	445 ± 195	1,021 ± 535
60日	152 ± 24	253 ± 67	340 ± 72	345 ± 164
75日	187 ± 103	110 ± 63	145 ± 66	158 ± 109

表 XII. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の17 β -TBOH抱合体の平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	60	1,031 ± 650	179 ± 62	31
30日	75	972 ± 470	167 ± 38	46
60日	34	909 ± 268	144 ± 34	31
75日	97 ± 34	499 ± 176	33	30

表 XIII. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の17 α -TBOH遊離体の平均濃度(ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15日	73 ± 78	440 ± 192	144 ± 87	152 ± 48
30日	102 ± 106	286 ± 78	155 ± 47	113 ± 54
60日	60	63 ± 30	57	93 ± 19
75日	42	71 ± 25	26	70 ± 27

表 XIV. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の 17 α -TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

	組織			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
15 日	75	4,255 \pm 1,729	464 \pm 353	62
30 日	59	2,920 \pm 1,130	309 \pm 176	60
60 日	20	1,699 \pm 755	200 \pm 103	40
75 日	81	1,572 \pm 733	242 \pm 107	44

標準偏差は絶対標準偏差で表示した。標準偏差を示していない数値は、用いた分析法の検出限界以下の数値である。

埋め込み後 15 日の筋肉、肝臓及び腎臓中の 17 β -TBOH 遊離体濃度は、同様である。脂肪中濃度は、その他の組織中の濃度のほぼ 2 倍であった。埋め込み後 60 日には 17 β -TBOH 遊離体濃度は、埋め込み後 15 日又は 30 日の濃度と比較して有意に減少した。

17 β -TBOH の抱合体が検出されたのは肝臓及び腎臓だけであった。17 α -TBOH 遊離体は、筋肉及び腎臓においては埋め込み後 30 日まで、また肝臓及び脂肪においては試験期間を通して検出された。(Arts, et al., 1986(b))

未経産牛(30 頭、約 270 kg)を用いて 2 つ目の試験が実施された。この試験では、牛 30 頭を I~V 群の 5 つの群に一群 6 頭ずつ割り当てた。I 群を対照とし、II~V 群にはフィナプリックス(TBA, 300 mg)を 2 回埋め込み(初回と 2 回目の埋め込みは 60 日間の間隔をあける)、被験動物を 2 回目の埋め込み後 0 日、15 日、30 日及び 60 日にそれぞれと殺した。この試験では、フィナプリックスの再埋め込みは、初回とは反対側の耳に行われたことを記述しておかねばならない。

筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び血漿中の 17 β -TBOH、17 α -TBOH 及びエストラジオール 17 β のそれぞれの遊離体及び抱合体の濃度を測定した。これらの生体試料中における異なるステロイドの測定には HPLC-RIA 法を用いた(Heister, M., 1986)。

17 β -TBOH 及び 17 α -TBOH のそれぞれの遊離体及び抱合体の組織中残留物量を表 XV~XVIII に示した。

表 XV. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の 17 β -TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数	0 日	15 日	30 日	60 日
筋肉	164 \pm 143	460 \pm 196	210 \pm 70	268 \pm 116
肝臓	95 \pm 71	331 \pm 150	212 \pm 84	181 \pm 125
腎臓	176 \pm 162	586 \pm 221	259 \pm 129	156 \pm 91
脂肪	523 \pm 502	2,258 \pm 980	716 \pm 188	511 \pm 224

表 XVI. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の 17 β -TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数	0 日	15 日	30 日	60 日
筋肉	48	25	26	23
肝臓	385 \pm 378	1,172 \pm 571	1,091 \pm 353	1,029 \pm 480
腎臓	69	137 \pm 76	123 \pm 23	128 \pm 23
脂肪	14	8	10	17

表 XVII. フィナプリックス埋め込み後の未経産雌牛における組織中の 17 α -TBOH 遊離体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数	0 日	15 日	30 日	60 日
筋肉	53	96 \pm 24	44	45
肝臓	97 \pm 54	247 \pm 134	256 \pm 78	187 \pm 115
腎臓	37	110 \pm 51	72 \pm 30	44
脂肪	21	60	86 \pm 32	77 \pm 19

表 XVIII. フィナプリックス埋め込み後の未経産牛における組織中の 17 α -TBOH 抱合体の平均濃度 (ng/kg)

初回埋め込み後のと殺までの日数	60 日	75 日	90 日	120 日
2 回目埋め込み後のと殺までの日数	0 日	15 日	30 日	60 日
筋肉	64	59	78 \pm 11	74
肝臓	1,052 \pm 1,026	4,178 \pm 1,791	3,232 \pm 462	2,376 \pm 968
腎臓	116 \pm 78	245 \pm 88	339 \pm 199	212 \pm 71
脂肪	14	25	57	57

標準偏差は絶対標準偏差で表示した。標準偏差を示していない数値は、用いた分析法の検出限界以下の数値である。

17 β -TBOH 遊離体の濃度は脂肪で最も高く、筋肉、肝臓及び腎臓中の残留物濃度の 3 倍以上であった。なお、筋肉、肝臓及び腎臓中の残留物濃度はいずれもほぼ同様であった。17 β -TBOH 抱合体は肝臓でのみ検出された。

17 α -TBOH 遊離体及びその抱合体は肝臓及び腎臓のみで有意な濃度で検出され、肝臓中での最高濃度は 4,000 ng/kg であった。

17 α -TBOH 又は 17 β -TBOH のそれぞれの遊離体又は抱合体の濃度は、再埋め込み後 15 日にと殺された未経産牛のほぼ全例で最も高かった。

子牛 (原文 p. 95)

子牛を用いたレバラー (Revalor、酢酸トレンボロン 140 mg+エストラジオール 20 mg) の埋め込み試験が実施された。埋め込み試験群は雄 12 頭及び雌 12 頭の計 24 頭とし、埋め込み後 15、30、50 及び 70 日にそれぞれ雌雄各 3 例をと殺した。対照群は雄 4 頭及び雌 4 頭の計 8 頭とし、埋め込み後 30 日及び 70 日にそれぞれ雌雄各 2 頭をと殺した。肝臓及び腎臓については 17 α -TBOH 及び 17 β -TBOH のそれ

それぞれの遊離体及び抱合体を RIA 法により測定した。筋肉については総 17 α -TBOH 及び総 17 β -TBOH (いずれも遊離体+抱合体)を測定した。TBOH の濃度については有意な性差は認められなかった。まとめた結果を表 XIX 及び XX に示した (Roberts and Cameron, 1986)。

表 XIX. レバラー埋め込み後の子牛における組織中の 17 β -TBOH の平均濃度 (ng/kg)

	筋肉		肝臓		腎臓	
	合計*	遊離体	抱合体	遊離体	抱合体	
15 日	237 \pm 87.5	414 \pm 178	404 \pm 198	423* \pm 208	240 \pm 43.7	
30 日	228 \pm 108	908 \pm 404	366 \pm 112	586 \pm 52.7	207 \pm 47.6	
50 日	261 \pm 91.6	787 \pm 413	366 \pm 95.7	226 \pm 156	198 \pm 50.4	
70 日	219 \pm 125	763 \pm 226	436 \pm 56.9	389 \pm 211	252 \pm 61.5	

* 17 β -TBOH の遊離体及び抱合体の合計

* この数値は JECFA(1987)のレポートの表 XII では 23 であった。1987 及び 1989 のいずれのレポートの訳文でも原文のままの数値とした。

表 XX. レバラー埋め込み後の子牛における組織中の 17 α -TBOH の平均濃度 (ng/kg)

	筋肉		肝臓		腎臓	
	合計*	遊離体	抱合体	遊離体	抱合体	
15 日	81.2 \pm 39.6	982 \pm 245	1,202 \pm 598	322 \pm 184	312 \pm 283	
30 日	105 \pm 43.7	1,078 \pm 353	754 \pm 315	196 \pm 90.8	221 \pm 34.0	
50 日	66.6 \pm 32.5	683 \pm 301	584 \pm 226	193 \pm 54.6	139 \pm 37.7	
70 日	44.2 \pm 16.5	540 \pm 149	733 \pm 206	142 \pm 37.7	91.6 \pm 1.92	

* 17 α -TBOH の遊離体及び抱合体の合計

残留分析法 (原文 p. 95)

全般事項 (原文 p. 95)

血漿、排泄物及び組織中のトレンボロンの定量法としていくつか分析法が用いられてきた。TLC 法は経済的だが、感度は 10~100 ppb と限られている。HPLC 法及び GC-MS 法では、1~10 ppb までの定量ができるようになった。RIA 法では、さらに 0.1~1 ppb までの定量ができるだけでなく、代謝物である 17 α -TBOH 及び 17 β -TBOH の両方を測定できる。先の残留試験において実施された分析は、いずれも RIA を用いたものであった。(Heister, 1986; Hoffman and Ryan, 1978; Hoffman and Oettel, 1976; Jouquey, et al., 1983; O'Keefe, 1984a and 1984b)

放射性免疫測定法 RIA (原文 p.96)

組織ホモジネートをトルエン:エーテル(7:3)で抽出し、ステロイドの遊離体及び抱合体に分離する。ステロイド抱合体はグルクロニダーゼ及びスルファターゼと共にインキュベートし、生成した遊離のステロイドをトルエン:エーテルで抽出する。ステロイドは固相クロマトグラフィーで精製されたのち、HPLC で分離され、RIA で定量される。組織中の遊離 17 β -TBOH は 70 ng/kg、17 β -TBOH 抱合体は 75 ng/kg、遊離 17 α -TBOH は 60 ng/kg、また 17 α -TBOH 抱合体は 75 ng/kg のレベルで検出可能であると報告されている (Arts, et al., 1986 (b))。

評価 (原文 p.96)

去勢子牛、未経産牛及び子牛における埋め込み後又は再埋め込み後 30 日の筋肉及び肝臓中の 17 β -TBOH 及び 17 α -TBOH 並びにそれぞれの抱合体の残留物濃度を表 XXI に示した。ここに示した 6

つの試験における用量及び埋め込み期間はそれぞれ互いに全く同じではないが、残留物に関するデータは組織中の可溶性残留物の定性的な特徴を特定するのに有用である。

去勢子牛、未経産牛及び子牛で得られたデータによると、筋肉組織中のほとんどすべての可溶性残留物は 17β -TBOH であった。筋肉中では 17β -TBOH の 17α -TBOH に対する比は、去勢雄牛では 10、未経産牛では 3、子牛では 2 である。肝組織中の 17β -TBOH 及び 17α -TBOH のそれぞれの遊離体の量は、去勢子牛、未経産牛及び子牛でほぼ同じであるが、それらの抱合体を含めると、 17β -TBOH は 17α -TBOH の 30-60 % であった。

要約すると、筋肉中の主残留物は 17β -TBOH であるが、残留物中に占める遊離 17α -TBOH の割合が著しく少ないというわけではない。肝臓中の主な抽出可能な残留物は 17α -TBOH だが、 17β -TBOH は遊離体及び抱合体両方合わせた抽出可能残留物の有意な部分を占める。 17α -TBOH と 17β -TBOH の両者を合わせれば、遊離体の残留物は筋肉中では 0.25~0.75 ppb、肝臓中では 0.2~2.0 ppb となる。

表 XXI. 酢酸トレンボロン埋め込み後の去勢子牛、未経産牛及び子牛の筋肉及び肝臓中の残留濃度 (ng/kg)

		筋肉		肝臓	
		17β -TBOH	17α -TBOH	17β -TBOH	17α -TBOH
去勢雄子牛:	遊離体 ¹	272	9	323	226
	抱合体 ¹	43	10	772	1708
	遊離体 ²	351	36	99	115
	抱合体 ²	37	88	779	465
	遊離体 ³	241	< 15	596*	1,045*
	抱合体 ³	—	—	—	—
未経産牛:	遊離体 ⁴	645	102	440	286
	抱合体 ⁴	75	59	972	2,920
	遊離体 ⁵	210	44	212	256
	抱合体 ⁵	26	78	1,091	3,232
子牛:	遊離体 ⁶	228*	105*	908	1,078
	抱合体 ⁶	—	—	366	754

1 — 去勢子牛へのトレラー (TBA 200 mg + E2 β 40 mg) の埋め込み。

2 — 去勢子牛へのトレラーを 2 回埋め込みで 2 回目の埋め込み後 30 日の数値。

3 — 去勢子牛へのフィナプリックス-S (TBA 140 mg) 及びシノベックス-S (プロゲステロン 200 mg+E2 β 20 mg) の同時埋め込み。

4 — 未経産牛へのフィナプリックス (TBA 300 mg) の埋め込み。

5 — 未経産牛へのフィナプリックス (TBA 300 mg) の 2 回埋め込みで 2 回目の埋め込み後 30 日の数値。

6 — 子牛へのレバラー (TBA 140 mg+E2 β 20 mg) の埋め込み。

* これらの数値は、 17β -TBOH 及び 17α -TBOH の遊離体及び抱合体の合計である。

酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 1989）

該当する試験なし

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
CBI	covalently binding index	共有結合指数
E2 α	estradiol-17 α	エストラジオール-17 α
E2 β	estradiol-17 β	エストラジオール-17 β
EtOAC	ethyl acetate	酢酸エチル
GC-MS	gas-chromatography-mass spectrometry	ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメリー
RIA	radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
TBA	trenbolone acetate	酢酸トレンボロン
TBOH	trenbolone	トレンボロン

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1989

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v25je08.htm>

FAS 25-JECFA 34/101, 1989

酢酸トレンボロン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1989) 目次

1.	説明 (原文 P.1)	77
2.	生物学的データ (原文 P.1)	77
2.2	毒性試験 (原文 P.1)	77
2.2.2	短期試験 (原文 P.1)	77
2.2.2.1	ラット (原文 P.1)	77
2.2.5	高分子結合に関する特殊試験 (原文 P.2)	77
2.2.6	遺伝毒性に関する特殊試験 (原文 P.2)	78
2.2.7	NO-ホルモン作用に関する特殊試験は横ばいである (原文 P.3)	78
2.2.7.1	豚 (原文 P.3)	78
3.	コメント (原文 P.5)	80
4.	評価 (原文 P.6)	81

原文 目次

	原文ページ
酢酸トレンボロン	1
1. 説明	1
2. 生物学的データ	1
2.2. 毒性試験	1
2.2.2. 短期試験	1
2.2.2.1. ラット	1
2.2.5. 高分子結合に関する特殊試験	2
2.2.6. 遺伝毒性に関する特殊試験	2
2.2.7. ホルモン作用を及ぼさないレベルに関する特殊試験	3
2.2.7.1. 豚	3
3. コメント	5
4. 評価	6
5. 引用文献	6
TRENBOLONE ACETATE	1
1. EXPLANATION	1
2. BIOLOGICAL DATA	1
2.2. Toxicological studies	1
2.2.2. Short-term studies	1
2.2.2.1. Rats	1
2.2.5. Special studies on macromolecular binding	2
2.2.6. Special studies on genotoxicity.	2
2.2.7. Special studies on no-hormonal effect levels.	3
2.2.7.1. Pigs	3
3. COMMENTS	5
4. EVALUATION	6
5. REFERENCES	6

酢酸トレンボロン

1. 説明 (原文 p.1)

酢酸トレンボロンは、以前に FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(添付 1、参考文献 59、62 及び 80)の第 26、27 及び 32 回総会で評価された。第 32 回総会では、委員会は 2 µg/kg 体重/日のホルモン無影響量に基づき、酢酸トレンボロン(TBA)の暫定的 ADI を 0-0.01 µg/kg 体重と設定した。

第 32 回総会で、委員会は、(1) 未経産牛に対する TBA の投与、及び去勢雄牛に対する TBA 及びエストラジオール-17β 混合物の投与における組織残留試験の補足データを記載した最終報告書、(2) 第 32 回総会において検討された豚における 3 種のホルモン試験から得られた個体データ、(3) 適切な種を用いたアルファトレンボロンヒドロキシド(α-TBOH)の 90 日経口投与試験の結果の提出を求めた。

このモノグラフではこの要求に応じて提出されたデータ及び近年発表された遺伝毒性データを要約する。

2. 生物学的データ (原文 p.1)

2.2 毒性試験 (原文 p.1)

2.2.2 短期試験 (原文 p.1)

2.2.2.1 ラット (原文 p.1)

CD(UK)ラット(一群雄雌各 10 匹)に、メチルセルロース中の 17α-トレンボロン(17α-TBOH)を 0、10、40、360 又は 3,600 µg/kg 体重/日の懸濁液を 23 週間投与した。別の投与群(一群雄雌各 10 匹)には、参照化合物として 17β-トレンボロン(17β-TBOH)を 40 µg/kg 体重/日投与した。すべての動物の臨床症状及び死亡の有無を観察した。体重、飲水量及び摂餌量、飼料変換率、血液学的検査、眼科学的検査、生化学検査、臓器重量、肉眼検査及び組織病理学的検査を記録した。

高用量群の雄ラットの 1 匹は試験 2 週目で死亡が確認されたが、おそらく挿管ミスの結果であった。高用量群の雄ラットにおいて流涎が認められた。3,600 µg/kg 体重/日投与群の雄ラットの摂餌量は有意に増加し、血小板数、PCV 及び Hb の値は、全投与群の雄ラットで減少した。MCV 値及びトロンボテスト時間は、最高用量群でのみ有意に減少した。雌では、最高用量群のみに Hb 及び RBC 値並びにトロンボテスト時間の有意な増加がみられた。カルシウムイオン濃度は減少しているように見えたが、恐らく対照値が比較的高いためであろう。雄においてナトリウムイオン及びカリウムイオン濃度が有意に上昇し、高用量群の雄及び雌ラットのコレステロール値は有意に減少した。17α-TBOH の 360 及び 3,600 µg/kg 体重/日投与群の雌において、総タンパク質濃度は有意に低下し、アルカリホスファターゼ活性は増加した。最高用量群において、雄の前立腺及び精嚢腺重量並びに雌の子宮重量が有意に減少した。3,600 µg/kg 体重/日投与群において、脳下垂体重量が雄で有意に増加し、雌で有意に減少した。著者らは、肉眼及び組織病理学的観察では投与に関連した変化はみられなかったと述べている。特定のホルモンのパラメータは本試験では測定されなかった。本試験における NOAEL は、17α-TBOH 40 µg/kg 体重である(Dean, 1988; Hooks et al., 1988)。

2.2.5 高分子結合に関する特殊試験 (原文 p.2)

β-TBOH(純度> 97%)は、³H β-TBOH とインキュベーションしたネズミチフス菌 TA 100 から分離した DNA と不可逆的に結合した(Lutz et al., 1988)。

子牛の胸腺 DNA に対する β-TBOH(純度> 97%)の共有結合が、*in vitro*でラット肝 S9 の存在下及

び非存在下でのインキュベーションにより調べられた。最大 DNA 結合は、「活性化」系の非存在下で認められた。非活性 S9(補酵素非存在下)の添加により、DNA 結合は約 20 倍低下した。中間的結果が活性 S9 存在下でみられた(Lutz et al., 1988)。

SD ラットの雌及び Wistar ラットの雄に、 β -TBOH(純度 99%)をそれぞれ経口及び腹腔内投与した。8 時間後(雌)又は 16 時間後(雄)に、DNA を肝臓から分離し、一定の比放射能になるまで精製した。共有結合指数(CBI)値は 8~17 までの範囲であった。これは、アフラトキシン B1 及びジメチルニトロソアミンのそれぞれの CBI、10,000 及び 6,000 と比較すると比較的低い(Lutz et al., 1988)。

2.2.6 遺伝毒性に関する特殊試験(原文 p.2)

遺伝毒性試験の成績を表 1 にまとめる。

表 1: TRA、 α -TBOH 及び β -TBOH についての遺伝毒性試験の結果

試験系	試験物質	試験物質の濃度	純度	結果	参照
エームス試験 (活性化あり、 なしの両方)	ネズミチフス菌	0-1,000 μ g/プレート?			Lutz et al.,1988
	TA 100	β -TBOH、333 μ g/プレート		「陽性」 ⁽¹⁾	
	TA 98			陰性	
	TA 102			陰性	
細胞形質転換	シリアンハムスター 胚線維芽細胞	1.0-7.5 μ g mL β -TBOH	>99 %	陽性	Schiffmann et al. 1988
		1.0-7.5 μ g mL α -TBOH	>99 %	陽性	
細胞形質転換	マウスC3H10T1/2 細胞	1-10 μ g mL β -TBOH	>99 %	陰性 ⁽²⁾	Schiffmann et al., 1988
小核誘導	シリアンハムスター 胚線維芽細胞	5×10^{-6} - 10^{-4} M β -及び α -TBOH	どちらも 99 %	陽性	Shiffmann et al., 1988
	マウスC3H10T1/2 細胞	5×10^{-6} - 10^{-4} M β -及び α -TBOH	どちらも 99 %	陰性	

表 1(続き)

(1) ラット肝 S9 画分非存在下の TA 100 においてのみ観察され、1.3 x 陽性対照を超えない一貫した投与用量依存的な増加がみられたため、陽性として評価した

(2) 対照の結果は陽性

2.2.7 ホルモン無影響レベルに関する特殊試験(原文 p.3)

2.2.7.1 豚(原文 p.3)

去勢後の成熟豚(ラージホワイト種、一群 3~7 頭、計 60 頭)に、 17α -TBOH(0.1、10、100、160、240 又は 360 μ g/kg 体重/日)及び 17β -TBOH(0.1、1、10、16、24 又は 36 μ g/kg 体重/日)のトウモロコシオイ

ル溶液を、ゼラチンカプセルにより 14 日間、飼料と共に経口投与した。去勢豚 11 頭の対照群は、トウモロコシオイルのみを投与した。血液サンプルは、0、7、14、21 及び 28 日目に採取された。去勢前、14 及び 28 日目(対照群動物及び 17 β -TBOH 投与群動物のみ)に、LH を測定した。全ての豚を 28 日目に殺した。脳下垂体、前立腺及び精嚢腺を計量し、肉眼的病理学的及び組織病理学的に検査した。

体重及び臓器重量に関しては、全く影響はみられなかった。17 β -TBOH 16、24 及び 36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日において、14 日目と 0 日目の間に LH 濃度の減少に差がみられたが、28 日目と 14 日目の LH 値の間により顕著な有意差がみられた。17 α -TBOH 160、240 及び 360 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日において、それ以外の投与群の差は有意ではなかったにも関わらず、14 日目と 0 日目の間で LH 値は減少した。 β -TBOH 16、24 及び 36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群において、前立腺上皮の形態学的変化(高さ及び腺房の大きさの増加)が認められた(それぞれ 3/7、2/7 及び 6/7 頭)。

この試験のホルモン無影響レベルは、過去の評価試験でみられたように、17 β -TBOH 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日及び 17 α -TBOH 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった(Roberts et al., 1983)。

豚(ラージホワイト交雑種、5-6 ヶ月齢、一群雄雌各 5 頭)に、0、5、7.5 又は 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の TBA のトウモロコシオイル溶液をゼラチンカプセルにより飼料と共に経口投与した。観察には、臨床症状、体重、摂餌量、テストステロン、エストラジオール-17 β 及びプロゲステロン分析(血液サンプルを毎週採取した)、肉眼的検査及び病理組織学的検査(精巣、精嚢腺、子宮、卵巣、乳房及び肝臓)が含まれていた。

対照群の雌豚 1 頭は、11 週で死亡した(原因は心筋破裂)。体重及び摂餌量は、TBA 投与によって悪影響を受けなかった。他の試験の雄ラットにおける所見と比べると、対照群と比べて雄のテストステロンの偶発的な増加がみられた。2 つの最高用量群の雄では、プロゲステロンの偶発的な統計学的に有意な低下が観察された。しかし、用量依存的な影響は全く認められなかった。エストラジオールによる統計学的に有意な変化は、雄又は雌において全く観察されなかった。雌のプロゲステロン濃度は発情周期変動のため、投与群と同様に対照群でもばらつきがみられた。2 つの最高用量群の雄において、用量依存的な胸腺重量の減少及び肝臓重量の増加がみられた。TBA 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群では、雄において精巣上体の重量が減少し、雌において脾臓重量が上昇した。肝細胞の細胞質の組織学的変化(「部分的なくもり硝子」様と表現されている)は、投与群の雄の肝臓でみられた(5、7.5 又は 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日でそれぞれ 4/5、5/5 及び 5/5)。著者らは、この作用はいかなる変性変化も伴わず、恐らく適応応答によるものであり、本試験の NOEL は TBA 5~7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日とした(Cherry, 1986; Roberts et al., 1986)。

豚(*Sus scrofa*、ラージホワイト系交雑種、26 週齢、雄雌各 4 頭)に、TBA 0、0.1、2.0 又は 20 ppm (2-3、40-100 又は 400-600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当)を 14 週間(春機発動期に渡り)混餌投与した。観察には、臨床症状、死亡率、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、生化学的検査、ステロイドホルモン分析、臓器重量(雄雌共に平均値及び相対的データが示されたのみ)、肉眼検査、骨髄塗抹検査及び組織病理学が含まれていた。

ほとんどのパラメータで影響は全く確認されなかった。最高用量群の 1 頭は、10 週間で後躯の部分麻痺を発症した後、と殺された。用量依存的で有意な血液学的影響は、2.0 又は 20 ppm TBA を投与した雌においてみられた(12 週で)。

コレステロール値は、2.0 及び 20 ppm の雌雄において上昇した(6 及び 12 週で)。尿素の血清中濃度及び ASAT は、最高用量群のみで増加した。テストステロン及びエストラジオール濃度は TBA 2.0 及び 20

ppm 群の雄で有意に減少し、0.1 ppm 群では投与前のエストラジオール値は比較的低かったが、わずかで有意ではない減少が認められた。血清中プロゲステロン濃度は、2 つの最高用量群の雌において有意に減少した。精嚢腺重量及び脳下垂体重量は、最高用量群においてのみ増加した。TBA 2 及び 20 ppm における用量依存的な変化は、肝臓及び腎臓重量(増加)、子宮重量(減少)及び精巣重量(減少)で観察された。精巣重量における限界効果は最低用量の 0.1 ppm で認められた。

TBA 2 及び 20 ppm 群における、用量依存的な異常は、肝臓(肝細胞の腫大で、“くもり硝子”様の細胞質を伴う)、精巣(間質細胞の萎縮)、卵巣(周期的活動の抑制又は異常で、成熟卵胞の欠如及び/又は成熟又は初期の黄体退行が特徴)及び子宮(子宮内膜の腺発達の欠如)が観察された。

限界ホルモン無作用量は、TBA 0.1 ppm (2-3 µg/kg 体重/日の範囲に相当)とされる(Ross et al., 1980)。

3. コメント (原文 p.5)

シリアンハムスター胚線維芽細胞では、 α -TBOH 及び β -TBOH の両方によって形質転換が誘発された。ヌードマウスの皮下にこれらを投与することにより、転換細胞の腫瘍性の可能性を検討したところ、線維肉腫が、投与部位の β -TBOH 形質転換細胞で発生したが、 α -TBOH 形質転換細胞では発生しなかった。マウス C3H2OT1/2 細胞では、細胞形質転換の発生は全く起こらなかった。シリアンハムスターの胚細胞では、 α -TBOH 及び β -TBOH の両方を用いて小核誘導が認められたが、C3H10T1/2 細胞では認められなかった。回帰分析に基づき、 β -TBOH はネズミチフス菌において(代謝活性化非存在下で)復帰突然変異体数の微増を示したが、一般的には陽性結果とはみなされないであろう。 β -TBOH の *in vitro* の共有結合がネズミチフス菌由来の DNA 及び子牛胸腺 DNA で観察された。近年の試験の中で、不活性ラットミクロソームタンパク質の添加により結合が約 20 倍低減された。

しかし、ラット及びマウスの長期混餌投与試験及び短期試験の総合的バッテリーの両方の結果を踏まえると、TBA の遺伝毒性は考えにくいという結論に達した。

第 32 回会合で採択された決議に従い、TBA 及びその代謝物の評価は、それらのホルモン無作用量に基づき決定することが承認された。

ラットにおける α -TBOH を用いた 90 日試験の結果を見直したが、 α -エピマーのホルモン無作用量の設定には不適當であることが判明した。

豚を用いた TBA、 α -TBOH 又は β -TBOH による 3 種のホルモンの試験結果の再評価を行った。以前去勢豚において決定されたホルモン無作用量である、 β -TBOH 10 µg/kg 体重/日及び α -TBOH 100 µg/kg 体重/日が確認された。

豚の雄及び雌を用いた TBA による 14 週間カプセル投与試験では、雄豚のホルモン無作用量は、精巣上体重量及び血漿プロゲステロン濃度の変化に基づき、5~7.5 µg/kg 体重/日であった。成獣豚を用いた TBA の 2 つめの 14 週間混餌投与試験では、観察された最も感度の高い作用は、雄豚における血清テストステロン及びエストラジオールの濃度並びに精巣重量の変化であった。これらの作用は用量依存的で、高用量で有意であったが、限界は 0.1 ppm (2~3 µg/kg 体重/日の範囲の TBA 用量に相当)であった。

豚を用いた 14 週間試験において、TBA について 2 µg/kg 体重/日の作用限界量に対して安全係数 100

を適用して、TBA に関する ADI は 0-0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重とされた。TBA に関するホルモン無作用量の 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日は、 β -TBOH のホルモン無作用量の 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日により支持される。

4. 評価 (原文 p.6)

ホルモン作用を全く引き起こしていないレベル

豚: TBA の限界無作用量: 飼料中で 0.1 ppm、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当

サル: 17 β -TBOH : 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

一日摂取許容量の推定

0-0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 TBA.

酢酸トレンボロンの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 1989）

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
23 週間投与試験	ラット	0、10、40、360 又は 3,600 µg/kg 体重/日の 17α-TBOH	NOAEL = 40 µg/kg 体重 17α-TBOH 雄におけるナトリウムイオン及びカリウムイオン濃度の上昇 3,600 µg/kg 体重/日の雄における摂餌量の増加、MCV 値及びトロンボテスト時間の減少、前立腺及び精囊腺重量の減少、脳下垂体重量の増加 全ての雄ラットにおける血小板数、PCV、Hb 値の減少、 高用量投与の雌における流涎、 3,600 µg/kg 体重/日の雌における Hb 及び RBC 値並びにトロンボテスト時間の増加、子宮重量の減少、脳下垂体重量の減少 高用量群の雌におけるコレステロール値の減少、360 及び 3,600 µg/kg 体重/日の雌における総蛋白質濃度の低下とアルカリホスファターゼ活性の増加、
遺伝毒性試験			表 1 に記載の通り
その他			ADI 0-0.02 µg/kg 体重 TBA.

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level	無毒性量
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量

