

## 1 実験動物等における影響（慢性毒性及び発がん性試験）

### 3 【参考】

4 試験名または引用文献の年号の後に示された○×等の記号は、調査事業検討会において  
5 N/LOAEL の設定という観点で判断された文献の重要度です。

6 ◎：特に重要、○：N/LOAEL の検討に用いることができる、△：参考データ、×：重要性が低  
7 い、無：特段の意見なし、事務局：事務局で追加した文献

### 8 (3) 慢性毒性試験及び発がん性試験

#### 9 ① 103 週間発がん性試験（マウス、混餌）◎

10 NTP (1982 ◎) は、B6C3F1 マウス（雌雄、各群 50 匹、4～5 週齢）を  
11 用いて、BBP (0、6,000、12,000 ppm) の混餌投与による 103 週間発がん  
12 性試験を行った。NTP-CERHR (2003) では、体重及び摂餌量に対する EPA  
13 の推定値仮定（体重：0.03733 kg（雄）、0.0353 kg（雌）、摂餌量：0.0064 kg/  
14 日（雄）、0.0061 kg/日（雌））を用いて、各投与群の BBP 摂取量をそれぞれ  
15 0、1,029、2,058 mg/kg 体重/日（雄）及び 0、1,037、2,074 mg/kg 体重/日  
16 （雌）と推定している。各投与群で認められた毒性所見を表 6 に示す。

17 投与に関連した生存率の変化や腫瘍性・非腫瘍性病変の発生は認められな  
18 かった。試験期間を通して用量依存的な体重の低値が雌雄でみられた。

19 EU RAR (2007) では、BBP への暴露は雌雄マウスの腫瘍発現頻度の増  
20 加に関連しなかったとしている。

21 NTP-CERHR (2003) では、体重の低値に基づき、雄の LOAEL を  
22 1,029mg/kg 体重/日とし、雌の LOAEL を 1,037mg/kg 体重/日としている。

23 本専門調査会としては、本試験において、発がん性に関する雄の NOAEL  
24 を本試験の最高用量である 2,058 mg/kg 体重/日、雌の NOAEL を本試験の  
25 最高用量である 2,074 mg/kg 体重/日と判断した。

#### 27 【事務局より】

28 この試験では、体重低値以外の毒性所見はみられていませんが、体重低値  
29 に基づいて LOAEL を設定することは可能でしょうか。

30 → 【中江専門委員コメント】

31 これは発がん性試験なので、基本的にその判定のみを行うべきです。その  
32 ため、この場合、体重低下のみでは LOAEL/NOAEL の判定をすべきであり  
33 ません。

34 「本調査会としては、本試験において、発がん性に関する雄の NOAEL を  
35 2,058 mg/kg 体重/日、雌の NOAEL を 2,074 mg/kg 体重/日と判断した。」

表6 ~~B6C3F1 マウス 103 週間発がん性試験 (混餌) (NTP 1982)~~

投与群 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>	雄 (50 匹/群)	雌 (50 匹/群)
雄 : 2,058 雌 : 2,074 (12,000ppm)	↓体重	↓体重
雄 : 1,029 雌 : 1,037 (6,000ppm)	↓体重	↓体重

1) ~~BBP 摂取量は NTP-CERHR 2003 の推定~~

注) ~~体重について、有意差の記載なし。~~

② 103 週間発がん性試験 (ラット、混餌) ◎

NTP (1982 ◎) は、F344/N ラット (雌雄、各群 50 匹、4 週齢) を用いて、BBP (0、6,000、12,000 ppm) の混餌投与による 103 週間発がん性試験を行った。NTP-CERHR (2003) では、体重当たりの BBP 摂取量について、F344/N ラットの体重及び摂餌量に関する EPA の推定値仮定 (雄 : 0.380 kg 及び 0.030 kg/日、雌 : 0.229 kg 及び 0.021 kg/日) を用い、雄を 0、474、948 mg/kg 体重/日、雌を 0、550、1,100 mg/kg 体重/日相当と推定している。

各投与群で認められた毒性所見を表 7-6 に示す。本専門調査会において毒性と判断した所見を表 6 に示す。

雄の投与群では、内出血によると疑われる早期死亡例が増加したため、試験開始後 29~30 週で全ての雄ラットがと殺された。雌の投与群ではこのような生存率低下はみられず、103 週間の投与継続が可能であった。6,000 及び 12,000 ppm 投与群において、雌雄の体重は試験期間を通して対照群より低値であり、雌の摂餌量は対照群の 70~80%であった (いずれも有意差の記載なし)。

剖検において、1,100 mg/kg 体重/日投与群の雌で、単核細胞白血病 (MNCL) の発生頻度が有意に上昇した (対照群 14% (7/49) に対して 36% (18/50)、p=0.011)。著者らによると、この白血球増殖性疾患は、全体的に脾腫

(splenomegaly) や肝腫大 (hepatomegaly) を伴っており、病理組織学的に、脾臓の赤脾髄に鬱血及び低分化・芽球様でドーナツ形・腎臓型の核を有する単核球による浸潤が観察されたとしている。雄では病理組織検査は行われなかった。

EU RAR (2007) では、雌の LOAEL を、体重低値に基づき、360 mg/kg 体重 (飼料中 6,000 ppm を 360 mg/kg 体重に相当するとしている) としている。

本専門調査会としては、本試験において、発がん性に関する雌の LOAEL を 1,100mg/kg 体重/日とし、NOAEL を 550 mg/kg 体重/日と判断した。

表7-6 F344/N ラット 103 週間発がん性試験（混餌）（NTP 1982）

投与群 (mg/kg 体重/日) 1)	雄 (50 匹/群)	雌 (50 匹/群)
雄 : 948 雌 : 1,100 (12,000ppm)	(死亡例増加のため 29 ~30 週でと殺)	↓体重 <sup>2)</sup> ↓摂餌量 (対照群の 70 ~80%) <sup>2)</sup> ↑単核細胞白血病 (MNCL)
雄 : 474 雌 : 550 (6,000ppm)		↓体重 <sup>2)</sup> ↓摂餌量 (対照群の 70 ~80%) <sup>2)</sup>

1) BBP 摂取量は NTP-CERHR 2003 の推定

2) 有意差の記載なし

### ③ 2 年間慢性毒性及び発がん性試験（ラット、混餌）◎

NTP (1997 ◎) は、FDA の GLP 規則に従って実施した F344/N ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験を報告している。F344/N ラット（雄雌、各群 60 匹、6 週齢）に、BBP（雄：0、3,000、6,000、12,000 ppm、雌：0、6,000、12,000、24,000 ppm）が混餌投与された。摂餌量から推定された BBP 摂取量は、雄の 3,000、6,000、12,000 ppm 投与群で 120、240、500 mg/kg 体重/日、雌の 6,000、12,000、24,000 ppm 投与群で 300、600、1,200 mg/kg 体重/日であった。各投与群で認められた毒性所見を表 8-7 に示す。

本専門調査会において毒性と判断した所見を表 7 に示す。

生存率については雌雄の全投与群で対照群と同様であった。体重については、雄の 500 mg/kg 体重/日投与群及び雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群において、試験期間を通して対照群よりそれぞれ 4~10%及び 7~27%低下していた（有意差の記載なし）。15 か月の中間評価における剖検時の体重は、雄の 240 mg/kg 体重/日以上、及び雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群で有意な低値であった（ $p < 0.05$ ）。摂餌量については、雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群で試験開始時に摂餌量が低下したが、試験開始後 6 週間には対照群と同様になった（有意差の記載なし）。

臓器重量については、15 か月の中間評価において、雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群の腎臓相対重量の増加、雌の 600 mg/kg 体重/日投与群の腎臓相対重量の増加、雄の 120 mg/kg 体重/日以上全投与群の腎臓相対重量の増加、雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群の肝臓相対重量の増加、雄の 500 mg/kg 体重/日投与群の肝臓相対重量の増加、雄の 240 mg/kg 体重/日以上で精巣上体相対重量の増加が有意であった (いずれも  $p < 0.05$ )。

病理組織検査において、膵臓に腫瘍性病変の増加が認められており、雄の 500 mg/kg 体重/日投与群で膵臓の腺房細胞腺腫 (20%、 $p=0.016$ )、腺房細胞腺腫+腺房細胞腺癌 (22%、 $p=0.014$ ) の発生頻度が有意に増加した (いずれも対照群 6%)。さらに、腺房細胞の局所的な過形成の増加も観察されたが、有意差はなかった (対照群 8%に対して 24%)。雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群では膵臓の腺房細胞腺腫が 2/50 例 (4%) にみられたが有意差はなかった (対照群 0/50 例)。著者らは、この動物における当該腫瘍の発生が希であり、雄で膵臓に腫瘍が発生したことから、雌における膵臓の腺房細胞腺腫も BBP への暴露に関連している可能性があると考えしている。膀胱では、雌の 1,200 mg/kg 体重/日投与群で移行上皮過形成 (対照群 8%に対して 20%、 $p < 0.05$ ) が有意に増加した。移行上皮乳頭腫は 2/50 例にみられたが、有意差はなかった (対照群 1/50 例)。著者らは、雌の 2 例の乳頭腫の発生及び移行上皮過形成の増加は、BBP への暴露に関連している可能性があると考えしている。腎臓では雌の 300 mg/kg 体重/日以上全投与群で慢性腎症が有意に増加した (対照群 68%に対して、各投与群で 94%、86%、90%、 $p < 0.05$ )。雌の 600 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の移行上皮過形成が有意に増加した

( $p < 0.01$ )。皮膚では雄の 500 mg/kg 体重/日投与群で棘細胞増殖 (20%、 $p < 0.01$ ) と角化症 (26%、 $p < 0.01$ ) が有意に増加した (いずれも対照群 0%)。

雌のいずれの群でも先の試験 (NTP 1982) でみられた単核細胞白血病 (MNCL) の発生率に差はみられなかった。

著者らは、この 2 年間試験における発がん性の証拠のレベルについて、雄の F344/N ラットにおける発がん性は、膵臓の腺房細胞腺腫及び腺房細胞腺腫+腺癌の発生率の増加に基づき、ある程度の発がん性の証拠がある (some evidence of carcinogenic activity)<sup>1</sup> と評価している。また、雌の F344/N ラ

<sup>1</sup> NTP (1997) は、個々の試験でみられた発がん性の証拠のレベルを示すため、clear evidence、some evidence、equivocal evidence、no evidence 及び inadequate study の 5 分類を用いている。

Clear evidence: 用量に関連した、①悪性腫瘍の増加、②悪性+良性腫瘍の増加、又は、③良性腫瘍の顕著な増加 (悪性に進展する可能性があることが示されている場合) を示していると解釈される場合。

Some evidence: clear evidence より反応は弱い、化学物質に関連した腫瘍 (悪性、

ットにおける発がん性は、膵臓の腺房細胞腺腫及び膀胱の移行上皮乳頭腫の発生率のわずかな増加に基づき、発がん性の証拠は不明確である(equivocal evidence of carcinogenic activity)と評価している。

EU RAR (2007) では、雄の NOAEL を腎重量増加に基づき 240 mg/kg 体重/日(10%超の増加がみられたのは500 mg/kg 体重/日投与群のみ)とし、雌の LOAEL を腎症の発生頻度増加に基づき 300 mg/kg 体重/日としている。

NTP-CERHR (2003) では、NTP によって実施された2年間試験から、非発がん性の一般毒性に関する雌雄の LOAEL を、雄の腎臓重量変化及び雌の腎症に基づき、120 (雄) 及び 300 (雌) mg/kg 体重/日と判断している。

**中江専門委員コメント**

本専門調査会としては、本試験において、膵臓の腺房細胞腫瘍の増加に基づき、発がん性に関する雄の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 240mg/kg 体重/日と判断した。雌については、膵臓及び膀胱に関する著者らの考察を是認し、それらにおける増殖性病変の発生が BBP への暴露に関連した変化である可能性が残るものの、発がん性が不明確(equivocal)と考え、発がん性に関する NOAEL を 1,200 mg/kg 体重/日と判断した。一方、非腫瘍性病変に関して、皮膚の棘細胞増殖と角化症の増加に基づき、雄の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 240 mg/kg 体重/日と判断した。雌については、慢性腎症の増加に基づき、LOAEL を 300 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。

**表 8-7 F344/N ラット 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (混餌) (NTP 1997)**

投与群 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>	雄 (60 匹/群)	雌 (60 匹/群)
雄：実施せず 雌：1,200 (飼料中 24,000 ppm)		↓体重 <sup>2)</sup> ↑腎相対重量 <sup>2)</sup> ↑肝相対重量 <sup>2)</sup> ↑膵臓の腺房細胞腺腫 <sup>4)</sup> ↑膀胱移行上皮過形成 ↑膀胱移行上皮乳頭腫 <sup>4)</sup>

良性又は、悪性+良性) の発生率の増加を示していると解釈される場合。

Equivocal evidence: 化学物質に関連している可能性がある腫瘍の僅かな増加を示していると解釈される場合。

雄：500 雌：600以上 (飼料中 12,000 ppm)	↑肝相対重量 <sup>2)</sup> ↑膵臓の腺房細胞腺腫 ↑膵臓の腺房細胞腺腫 +腺房細胞腺癌 ↑膵臓の腺房細胞の局 所的な過形成 <sup>3)</sup> ↑棘細胞増殖、角化症	↑腎絶対重量 <sup>2)</sup> ↑腎臓移行上皮過形成
雄：240以上 雌：300以上 (飼料中 6,000 ppm)	↓体重 <sup>2)</sup> ↑精巣上体相対重量 <sup>2)</sup>	↑慢性腎症
雄：120以上 雌：実施せず (飼料中 3,000 ppm)	↑腎相対重量 <sup>2)</sup>	

- 1 1) BBP 摂取量は著者らの推定  
2 2) 15 か月の中間評価 (各群 10 匹)  
3 3) 有意差の記載なし  
4 ~~4) 有意差なし~~

6 【事務局より】

7 原著 P158 の Table D3 では、雌の腎臓の絶対重量の増加について、24,000  
8 ppm (1,200 mg/kg 体重/日) 投与群では有意差はなく、12,000 ppm (600  
9 mg/kg 体重/日) 投与群で有意差ありとされていますが、12,000 ppm (600  
10 mg/kg 体重/日) 投与群では毒性所見としてよろしいでしょうか。

11 →【小野専門委員コメント】

12 良いと思います。

13 →【中江専門委員コメント】

14 相対重量が変化していませんが、絶対重量・相対重量をみても全用量で同  
15 等の変化があると考えてよく、また、試験終了時に全用量で慢性腎症が発生  
16 するので、腎毒性の manifestation のひとつと考えて良いと思います。ただ  
17 し、これは、あくまでも 15 ヶ月時のデータなので、参考レベルの情報で  
18 す。

20 【事務局より】

21 原著 P46 の Table 11 では、雌の腎臓の移行上皮過形成について、24,000  
22 ppm (1,200 mg/kg 体重/日) 投与群では有意差はなく、12,000 ppm (600  
23 mg/kg 体重/日) 投与群で有意差ありとされていますが、12,000 ppm (600

1 mg/kg 体重/日) 投与群では毒性所見としてよろしいでしょうか。

2 →【小野専門委員コメント】

3 良いと思います。

4 →【中江専門委員コメント】

5 統計学的有意差だけを言えば中用量群のみにあるのですが、各用量の頻度  
6 が3・7・4/50なので、全用量で同等に発生したと考えるべきでしょう。

7  
8 ④ 慢性毒性及び発がん性試験のまとめ事務局作成、小野専門委員修正

9 マウスを用いた103週間混餌投与試験(NTP 1982)において、おおむね  
10 2,100mg/kg 体重/日投与群でマウスに投与に関連した腫瘍性病変の発生は認  
11 められなかった。また、ラットを用いた103週間混餌投与試験(NTP 1982)  
12 において、1,100mg/kg 体重/日投与群の雌で単核細胞白血病の発生頻度が有  
13 意に上昇した。

14 慢性毒性及び発がん性試験において、発がん性に関する最も低いLOAEL  
15 及びNOAELが得られたのは、F344/Nラットを用いた2年間混餌投与試験  
16 (NTP 1997)であり、雄の睪臓の腺房細胞腫瘍の増加に基づき、発がん性  
17 に関するLOAELが500mg/kg 体重/日、NOAELが240mg/kg 体重/日であつ  
18 た。雌については、1,200mg/kg 体重/日投与群で睪臓の腺房細胞腺腫及び膀  
19 胱の移行上皮乳頭腫のわずかな増加がみられたが、有意差はなく、発がん性  
20 は不明確と考えた。

21 非発がん毒性について報告している長期間の試験はF344/Nラットを用い  
22 た2年間混餌投与試験(NTP 1997)のみであり、非発がん毒性に関する最  
23 も低いLOAEL及びNOAELは、雌の慢性腎症の増加に基づき、LOAELが  
24 300 mg/kg 体重/日であり、NOAELは設定できないと判断した。