

1

2 実験動物等における影響（内分泌系及び生殖・発生への影響）

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N/LOAELの設
5 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、×：重要性が低い、無：
7 特段の意見なし、事務局：事務局で追加した文献

8 （6）内分泌系及び生殖・発生への影響

9 【事務局より】

10 本専門調査会において毒性と判断した所見を表にまとめ、本文については、下線
11 部を削除してよろしいでしょうか。

12 →【曾根専門委員コメント】

13 削除して良いと思います。

14 →【田中専門委員コメント】

15 削除しても良いと考えます。

16

17 ① 10週間改良型交配試験（ラット、混餌）◎

18 NTP（1997 ◎）は、F344/Nラットを用いて、10週間反復投与試験を改良し
19 た繁殖試験を行った。雄ラット（各群15匹、6週齢）にBBP（0、300、2,800、
20 25,000 ppm：0、20、200、2,200 mg/kg体重/日相当）を10週間混餌投与し、2
21 日間の回復期間を設けた後、1匹の投与雄に対して2匹のBBP未投与の雌（20
22 ～24週齢）を同居させ、7日間の交配を行った。雌は膣栓又は精子が検出された
23 最初の日に雄から離し、妊娠13日に剖検が行われた。雄は交配させた後、最終投
24 与の10日又は11日後に剖検が行われた。病理組織検査は、0及び2,200 mg/kg
25 体重/日投与群の雄ラットについて行われた。精巣、精巣上体、精囊及び前立腺に
26 ついては、全ての投与群で検査され、精巣上体の精子検査も実施された。

27 本専門調査会において毒性と判断した所見を表1に示す。

28 2,200 mg/kg体重/日投与群の雄では、試験終了時の最終平均体重(対照群の71%)
29 及び体重増加量が有意な低値 ($p \leq 0.01$) で、摂餌量も減少していた(有意差の記
30 載なし)。血液検査では2,200 mg/kg体重/日投与群で軽微な貧血が観察された。
31 剖検において、2,200 mg/kg体重/日投与群では精巣及び前立腺の絶対及び相対重
32 量が有意に減少し、精巣上体の絶対重量が有意に減少した。病理組織検査では、
33 2,200 mg/kg体重/日投与群で精巣上体の変性を伴った精巣の著しい変性が認めら
34 れ、精巣では精細管萎縮(15/15匹)及び巨細胞(10/15匹)の発生頻度が有意に

1 増加し、精巣上体では精子過少症 (15/15 匹)、尾部の慢性炎症 (4/15 匹) 及び残
2 層 (11/15 匹) の発生頻度が有意に増加した (いずれも $p \leq 0.05$)。精巣上体の精
3 子検査において、20、200、2,200 mg/kg 体重/日投与群の精子数は、それぞれ対
4 照群の 87、70 及び 0.2 % であり、200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群において精子
5 数減少が有意であった ($p \leq 0.05$)。他の精子パラメータ (運動性、形態) につい
6 ては、2,200 mg/kg 体重/日投与群では精子数が少な過ぎたため測定されなかった
7 が、20 及び 200 mg/kg 体重/日投与群では対照群と同様であった。交配において、
8 2,200 mg/kg 体重/日投与群では交尾成立までの日数¹の有意な延長、雄の受精率²
9 (対照群 77%に対して 33%) 及び雌の受胎率³ (対照群 87%に対して 0%) の有
10 意な低下が認められており、2,200 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配させた雌の
11 10/30 匹で精子が確認されたが、剖検ではどの動物も妊娠していなかった。一腹
12 当たりの着床数、黄体数、生存胎児数、胚吸収などについては、対照群と比べて
13 有意な差はなかった (NTP 1997 ©)。

14 NTP-CERHR (2003) は、この 10 週間試験において観察された 200 mg/kg 体
15 重/日投与群の有意な精子数減少について、次のように考察している。精巣上体尾
16 部の精子数は射精によって有意に減少することを示す相当数の報告があり、対照
17 群の 50%未満まで減少した報告例 (Judd et al. 1997、Ratnasooriya et al. 1987)
18 もある。ラットでは精巣上体の精子数が交配後に正常値に戻るまでには少なくと
19 も 4~7 日必要であることが報告されている (Ruangsomboon et al. 1985)。さら
20 に、精子の分析法をレビューした NTP-CERHR の専門家パネルは、精子数データ
21 の射精による交絡を避けるために、交配と剖検の間には少なくとも 1 週間おくべ
22 きであるとの見解を示している (Seed et al. 1996)。しかしながら、この 10 週間
23 試験において、200 mg/kg 体重/日投与群では 13/15 例の雄が雌に膣栓が検出され
24 てから 4 日未満でと殺されたが、対照群では交配後に同様の間隔でと殺されたの
25 は 7/15 匹のみであった。このことから、専門家パネルは 200 mg/kg 体重/日投与
26 群の精子数の減少は疑わしいと判断し、2,200 mg/kg 体重/日投与群における影響
27 は投与及び用量に関連するとして、NOAEL に 200 mg/kg 体重/日を選択した。た
28 だし、この値について専門家パネルは、雌における影響を評価するための指標の
29 欠如や F1 世代における生殖系の評価の欠如を理由に、正確に NOAEL を示して
30 いない可能性があることを指摘している。

31 EU RAR (2007) は、対照群と比較した精巣上体の精子数の用量依存的な減少
32 は、BBP の 200 mg/kg 体重/日投与群から報告されており、NOAEL は 20 mg/kg
33 体重/日であったとしている。交配から剖検までの日数を考慮に入れて分析すると、

1 雌雄の同居開始後、雌に精子が確認された日までの日数

2 雄の受精率 = (雌の精子確認動物数) ÷ (雌の交配動物数)

3 雌の受胎率 = (剖検時の妊娠動物数) ÷ (雌の精子確認動物数)

1 200 mg/kg 体重/日投与群の精子数減少は、5%の有意差水準では対照群と比較して
 2 有意ではなかったが、用量依存的な精巣上体の精子数減少は明らかであったとし
 3 ている。 曾根専門委員修正精子上体の精子数について雄における交配から剖検ま
 4 での日数を考慮に入れて分析すると、200 mg/kg 体重/日投与群の精子数減少は対
 5 照群と比較して有意ではなかったとしている。しかし、用量依存的な精子数減少
 6 は明らかであったことから、本試験の NOAEL を精子影響について、精巣上体の
 7 精子数減少に基づき、20 mg/kg 体重/日と判断している。また、受胎能について、
 8 血液学的検査値の変化、体重低値、前立腺及び精巣重量の減少、精細管変性、交
 9 配後に妊娠がみられなかったことに基づき、NOAEL を 200 mg/kg 体重/日と判断
 10 している。全身毒性について、血液学的パラメーター（RBC 減少、MCH 増加及
 11 び血小板数増加）及び組織重量の変化に基づき、NOAEL を 200 mg/kg 体重/日と
 12 判断している。

13 なお、この 10 週間試験（F344 ラット、混餌）と並行して 26 週間試験（F344
 14 ラット、混餌）が実施されており、交配は行われていないが 10 週間試験と同一の
 15 指標を用いて雄の影響が評価されている。両試験の成績を比較すると、体重増加
 16 量、臓器重量、病理組織学的所見及び精子運動性については同様であったが、10
 17 週間試験の 200 mg/kg 体重/日投与群の精子数が 30%減少したのに対して、26 週
 18 間試験の 550 mg/kg 体重/日投与群の精子数は減少していない。

表 1 F344 /N 雄ラット 10 週間改良型交配試験（混餌、未投与雌と交配）
 (NTP1997 ©)

投与群 (mg/kg 体重/日) ¹⁾	雄 (15 匹/群)
2,200 (飼料中 25,000 ppm)	↓最終平均体重、体重増加量 ↓摂餌量 ²⁾ ↓精巣、前立腺の絶対及び相対重量 ↓精巣上体の絶対重量 ↑精巣：精細管萎縮、巨細胞 ↑精巣上体：精子過少症、尾部の慢性炎症、残屑 ↓精巣上体の精子数（対照群の 0.2%） ↑交配成立までの日数 ³⁾ ↓受精率 ⁴⁾ ↓受胎率 ⁵⁾ （交配を行った BBP 未投与の雌） ・軽微な貧血
200	↓精巣上体の精子数（対照群の 70%）

(飼料中 2,800 ppm)	
20 (飼料中 300 ppm)	毒性所見なし

- 1) NTP-CERHR (2003) による推定
- 2) 摂餌量の有意差の記載なし
- 3) 雌雄の同居開始後、雌に精子が確認された日までの日数
- 4) 雄の受精率 = (雌の精子確認動物数) ÷ (雌の交配動物数)
- 5) 雌の受胎率 = (剖検時の妊娠動物数) ÷ (雌の精子確認動物数)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

【事務局より】
 原著 168 ページの Table F1 では、精巣上体の精子数について 200 mg/kg 体重/日 (2,800 ppm) 投与群以上で有意な減少がみられていますが、毒性所見としてよろしいでしょうか。

→ **【曾根専門委員コメント】**
 それ自体は毒性所見として良いと思いますが、NTP1997 試験のコントロールの精子数がそもそも低いという指摘があります。(事務局より EU RAR (2007) 169 ページより抜粋 : In the parallel 26-week oral toxicity study in rats where BBP was administered in the diet (NTP, 1997), the control value for epididymal spermatozoa concentration may not be valid due to a reported possible inadequate mincing of the cauda epididymis tissue from control animals. The NOAEL for reduced epididymal spermatozoa concentration and fertility in the 26 week study was 550 mg/kg bw/day.)

→ **【田中専門委員コメント】**
 実際の数値 (精子数) が確認可能であれば、それをみてから判断したい。交尾から解剖までの日数を考慮した解析では有意差はない。26 週間試験の 550 mg/kg 体重/日投与群の精子数は減少していない。これらのことから正確に NOAEL を示していない可能性があるという NTP-CERHR の見解に同意します。

【事務局より】
 (案)
 本専門調査会としては、精細管萎縮等に基づき、LOAEL を 2,200 mg/kg 体重/日、NOAEL を 200 mg/kg 体重/日と判断した。

【事務局より】
 精巣上体の精子濃度 (10⁶/g 精巣上体尾部)

1 ○10 週間試験 (原著 Table F1 より)

0 ppm	300 ppm (20 mg/kg 体重/日)	2,800 ppm (200mg/kg 体重/日)	25,000 ppm (2,200mg/kg 体重/日)
373.94±39.52	324.14±49.56	261.47±39.50*	0.567±0.39**

2

3 ○26 週間試験 (原著 Table F3 より)

0 ppm	300 ppm (30 mg/kg 体重/日)	8,300 ppm (550mg/kg 体重/日)	25,000 ppm (1,650mg/kg 体重/日)
284.52±32.23	285.75±40.18	376.79±22.68	2.06±2.06**

4

5

6 ②一世代生殖毒性試験 (ラット、混餌) ◎

7 NTP-CERHR (2003) によれば、TNO NaFRI (1993◎) が Wistar ラットを
 8 用いて OECD ガイドライン 415 に沿った一世代生殖毒性試験を実施している。
 9 一群当たり雄 12 匹及び雌 24 匹のラットに BBP (0、0.2、0.4 又は 0.8%) を混餌
 10 投与し、2 回の交配が行われた。最初の交配前に、雄に対して 10 週間、雌に対し
 11 て 2 週間 BBP を投与し、2 回目の交配による出生児の離乳 (生後 21 日) まで投
 12 与を継続した。1 回目の交配による出生児が離乳した後、7~13 日の間隔を空けて
 13 2 回目の交配を行った。各投与群における体重当たりの BBP 摂取量は、雄の交配
 14 前 10 週間が 0、108、206、418 mg/kg 体重/日、雌の交配前 2 週間が 0、106、217、
 15 446 mg/kg 体重/日、妊娠期間が 0、116、235、458 mg/kg 体重/日、及び哺育期間
 16 が 0、252、580、1,078 mg/kg 体重/日であった。

17 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 2 に示す。

18 その結果、親動物において投与に関連した臨床所見及び死亡は認められなかつ
 19 た。しかし、0.8% BBP 投与群の雌では、1 回目及び 2 回目の交配において妊娠及
 20 び哺育期間に体重又は体重増加量が低値を示した期間があり、妊娠 0~14 日には
 21 投与に関連した影響と考えられる摂餌量減少がみられた (統計学的有意差があっ
 22 たと記載されているのは体重増加量のみ)。初回の交配では出産した BBP 投与雌
 23 がわずかに減少したが (有意差の記載なし)、2 回目の交配では変化がなかった。
 24 児動物については、0.8% BBP 投与群で哺育期間中の児動物の平均体重がわずかに
 25 減少し、この体重減少は 2 回目の交配で生まれた児動物の生後 21 日で統計学
 26 的有意に達した。これについて著者らは、生後 21 日の所見は児動物による生後
 27 14 日以降の飼料中 BBP の直接摂取に起因すると考察している。標準的な生殖指
 28 標 (受胎能、着床及び繁殖力) は全て正常範囲内であった。剖検時に対照群及び
 29 0.8% BBP 投与群の雄雌の生殖器官が採取され、病理組織検査が行われた。0.8%
 30 BBP 投与群の雌において肝臓相対重量が有意に増加したが、肝臓及び生殖器官の

1 組織は正常であった。

2 筆者ら及びNTP-CERHR (2003) は、繁殖能のNOAELを雄で418 mg/kg 体
3 重/日、雌で446 mg/kg 体重/日とした。また、親動物の全身毒性のNOAELを雄
4 で206 mg/kg 体重/日、雌で217 mg/kg 体重/日、LOAELを雌における体重増加
5 量の減少及び肝臓重量の増加に基づき雄で418 mg/kg 体重/日、雌で446 mg/kg
6 体重/日とした。

7 本専門調査会としては、親動物について、雄のNOAELを本試験の最高用量で
8 ある418 mg/kg 体重/日とし、雌の体重増加量の減少及び肝臓相対重量の増加に基
9 づき、雌のLOAELを446~1,078 mg/kg 体重/日、NOAELを217~580 mg/kg
10 体重/日と判断した。

11 表2 Wistar ラット一代生殖毒性試験(混餌) (TNO NaFRI 1993)

投与群 (mg/kg 体重/日) 1)	親動物 (F0)		児動物 (F1)
	雄(12 匹/群)	雌 (24 匹/群)	
雄: 418 雌: ①446 ②458 ③1,078 (飼料中 0.8%)	毒性所見なし	↓妊娠及び哺育期 間の体重増加量 ↑肝相対重量	↓PND21 の体 重 (F _{1b}) 2)
雄: 206 雌: ①217 ②235 ③580 (飼料中 0.4%)	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
雄: 108 雌: ①106 ②116 ③252 (飼料中 0.2%)	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

本表はNTP-CERHR (2003) のTable7-14 (ページII-54) をもとに作成。

1) 雄は交配前10週間の投与量、雌は①交配前2週間②妊娠期間③哺育期間の投与量を
示す

2) F_{1b} は2回目の交配で生まれた児動物

12
13 **【事務局より】**

14 児動物について、著者らは、生後21日の体重低値は児動物による生後14日
15 以降の飼料中BBPの直接摂取に起因すると考察していますが、毒性所見としてよ
16 ろしいでしょうか。

17 → **【曾根専門委員コメント】**

18 NTP-CERHR (2003) では、21%で有意差有の記載となっておりますが、原著に
19 あたれない、試験した匹数の情報がないので、判断ができないと思います。従っ

1 て、参考データにとどめておくべきと考えます。②一世代生殖毒性試験（ラット、
2 混餌）◎は、△とすべきです。

3 →【田中専門委員コメント】

4 毒性所見としてよいと考えます。原著がないので詳細はわかりませんが、
5 NTP-CERHR 2003 の記載では、哺育期間中に軽度な体重低値が認められ、生後
6 21 日に有意になったとありますので生後 14 日より前から体重増加抑制傾向は
7 認められていたかもしれません。また、この変化に対する著者らの生後 14 日以
8 降の飼料中 BBP の直接摂取に起因するという考察は、児動物への毒性影響を否定
9 する根拠にはなりません。

10
11 【事務局より】

12 雌の LOAEL 及び NOAEL の記載について、BBP 摂取量が①交配前 2 週間、②
13 妊娠期間、③哺育期間で異なるため、最小値～最大値の幅で記載をしてよろしい
14 でしょうか。

15 →【曾根専門委員コメント】

16 投与量の範囲とした記載で良いと思います。

17 →【田中専門委員コメント】

18 DBP での同様な事例では、TDI 算出のために範囲の記載ではなく、平均値を記
19 載したはずです。

20
21 【事務局より】

22 （案）

23 本専門調査会としては、児動物については、生後 21 日の体重低値に基づき、
24 LOAEL を 418（雄）/690（雌）mg/kg 体重/日、NOAEL を 206（雄）/362（雌）
25 mg/kg 体重/日と判断した。

26
27 * 雌の LOAEL 及び NOAEL について、妊娠期間を 22 日、哺育期間を 22 日
28 と仮定し、全投与期間の BBP 摂取量の加重平均（（BBP 摂取量×期間）/投与日
29 数）を算出。

30 LOAEL :

31 $(446 \times 14 + 458 \times 22 + 1,078 \times 22) / (14 + 22 + 22) = 690 \text{ mg/kg 体重/日}$

32 NOAEL :

33 $(217 \times 14 + 235 \times 22 + 580 \times 22) / (14 + 22 + 22) = 362 \text{ mg/kg 体重/日}$

34
35 ③生殖毒性スクリーニング試験（ラット、強制経口）◎

36 Piersma ら（1995 ◎）は、WU ラット（雄雌、各群 10 匹、10-11 週齢）を用

1 いて、BBP (0、250、500、又は 1,000 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解) の強制
2 経口投与による生殖毒性スクリーニング試験を行った。本試験は OECD 421 プロ
3 トコールに従って実施された。雌雄のラットに交配前 14 日から投与を開始し、雌
4 雄を 1 対 1 で同居させて最大 14 日間交配させた。交配がみられた場合は雌雄を別
5 離させた。雄は 29 日間投与した後にと殺し、剖検が行われた。妊娠雌は分娩後 6
6 日まで投与し、非妊娠雌は交配期間終了から 28 日間投与した後にと殺し、剖検が
7 行われた。児動物は生後 1 及び 6 日にと殺して外部奇形の検査が行なわれた。一
8 部のデータについてのみ統計学的有意差の検定が行われた。

9 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 3 に示す。

10 親動物では体重増加量への影響が 1,000 mg/kg 体重/日投与群において観察さ
11 れ、F0 雄では投与期間を通して体重増加量が対照群より有意に低下したが、F0
12 雌では投与 7~14 日の体重増加量が有意に増加し、交配後 0~20 日の妊娠中の体
13 重増加量が有意に低下した。摂餌量の変化については、F0 雄では 1,000 mg/kg 体
14 重/日投与群で投与 0~7 日の摂餌量が対照群より有意に減少し、投与 7~14 日及
15 び交配後 0~7 日の摂餌量が有意に増加した。F0 雌では 500 mg/kg 体重/日以上
16 の投与群で投与 7~14 日の摂餌量が有意に増加し、1,000 mg/kg 体重/日投与群で交
17 配後 0~7 日の妊娠中の摂餌量が有意に増加したが、分娩後 0~6 日の摂餌量が有
18 意に減少した。妊娠した F0 雌は、0、250、500、1,000 mg/kg 体重/日投与群に
19 ついてそれぞれ 10 匹中 9、8、7 及び 4 匹であった (有意差の値記載なし)。1,000
20 mg/kg 体重/日投与群では、着床後胚損失率が高く (対照群 16.8%に対して 90.3%、
21 有意差の記載なし)、生後 1 日の平均生存同腹児数 (対照群 9.4 匹に対して 1.5 匹)
22 及び生後 6 日の平均生存同腹児数 (対照群 9.2 匹に対して 0.8 匹) が有意に減少
23 した ($p<0.05$)。児動物では 500 mg/kg 体重/日以上
24 の投与群で生後 1 日の平均体
25 重が有意な低値を示し (それぞれ対照群の 7%及び 29%減)、1,000 mg/kg 体重/
26 日投与群で生後 6 日の平均体重が有意な低値を示した (対照群の 43%減) (い
27 ずれも $p<0.05$)。生後 6 日の外部奇形の検査では、1 本の肢に指の位置異常が観察
28 された 250 mg/kg 体重/日投与群の 1/89 匹を除き、児動物に異常は認められな
29 かった。F0 雄では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で精巣及び精巣上体を合わせた絶対
30 重量が有意に減少し、ライディッヒ細胞の過形成及び細胞残屑を伴った精巣変性
31 が有意に増加した (いずれも $p<0.05$)。一方、F0 雌では卵巣への影響は認められ

32 NTP-CERHR (2003) では、発生毒性の NOAEL を 500 及び 1,000mg/kg 体
33 重/日投与群における F1 児動物の出生時の体重低値に基づき 250 mg/kg 体重/日と
34 した。また、生殖毒性の LOAEL を受胎率低下、精巣病変、及び同腹児数減少に
35 基づき 1,000 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日とした。ただし、専
36 門家パネルは、本試験の質に対する信頼性は中~高であるが、F1 世代の測定値の

1 不足など試験計画の限界のため生殖毒性の NOAEL は不確実とした。また、親動物の全身毒性の LOAEL を体重増加量の減少に基づき 1,000 mg/kg 体重/日、
 2 NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。
 3

4 EU RAR (2007) では、500 mg/kg 体重/日投与群における児動物の体重減少に
 5 基づき、NOEL を 250 mg/kg 体重/日とし、精巣変性等に基づき生殖器官への影
 6 響に対する NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。

7 本専門調査会としては、親動物について、雄の精巣変性等に基づき、雄の
 8 LOAEL を 1,000 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日とし、雌の出生時
 9 及び生後 6 日の平均生存同腹児数の低下等に基づき、雌の LOAEL を 1,000 mg/kg
 10 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日と判断した。児動物について、生後 1 日
 11 の体重低値に基づき、LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重
 12 /日と判断した。
 13

表3 WU ラット生殖毒性スクリーニング試験（強制経口）
 (Piersma et al. 1995)

投与群 (mg/kg 体重/日)	親動物 (F0)		児動物 (F1)
	雄 (10 匹/群)	雌 (10 匹/群)	
1,000	↓体重増加量 (投与 0～29 日) ↓摂餌量 (投与 0～ 7 日) ↑摂餌量 (投与 7～ 14 日、交配後 0～ 7 日) ↓精巣+精巣上体 の絶対重量 ↑精巣変性	↑体重増加量 (投与 7 ～14 日) ↓体重増加量 (交配後 0～20 日) ↑摂餌量 (投与 7～14 日、交配後 0～7 日) ↓摂餌量 (分娩後 0～6 日) ・妊娠 4/10 匹 ¹⁾ ↓出生時の平均生存同 腹仔数 ↓生後 6 日の平均生存 同腹仔数	↓生後 1 及び 6 日 の体重 ↓生後 1 及び 6 日 の平均生存同 腹児数
500	毒性所見なし	↑摂餌量 (投与 7～14 日)	↓生後 1 日の体重
250	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

1) 妊娠動物数の有意差の記載なし。対照群で 9/10 匹、250 mg/kg 体重/日投与群で 8/10

匹、500 mg/kg 体重/日投与群で 7/10 匹。

【事務局より】

○原著 194 ページの Table 1 では、摂餌量の増加、減少ともに有意差があるとされていますが、いずれも毒性所見としてよろしいでしょうか。

→【曾根専門委員コメント】

毒性所見として良いと思います。

→【田中専門委員コメント】

体重および摂餌量の増加は毒性所見としない。

体重および摂餌量の減少は毒性所見とする。

【事務局より】

○1,000 mg/kg 体重/日投与群の F0 雌における有意な体重増加量の増加は毒性所見としてよろしいでしょうか。

→【曾根専門委員コメント】

毒性所見として良いと思います。理由：Day 0-PND20 全体を通してみると、影響がありそうに見える。

→【田中専門委員コメント】

体重および摂餌量の増加は毒性所見としない。

④発生毒性試験（ラット、飲水又は混餌）△

NTP-CERHR（2003）によれば、Bayer（1998 △）が Wistar ラット（雌 21～25 匹/群）の交配前 2 週間、妊娠及び授乳期間に 0、1、又は 3 ppm の BBP を含む飼料又は水を摂取させ、未投与の雄と交配する試験を行った。投与期間全体での飼料及び水を介した BBP 摂取量は、1 ppm 投与群で 0.06～0.16（混餌）及び 0.10～0.24 mg/kg 体重/日（飲水）、3 ppm 投与群で 0.19～0.49（混餌）及び 0.34～0.80 mg/kg 体重/日（飲水）であった。母動物は授乳期間終了後にと殺して剖検し、着床痕が調べられた。児動物は出生時の個体数、体重及び形態異常、生後 21 日までの生存率及び体重増加量が調べられ、生後 21 日にと殺して剖検が行われた。

本試験における飼料及び水を介した BBP 摂取量と試験結果を表 4 に示す。

その結果、母動物では体重増加、摂餌量、飲水量、及び受胎能への有意な影響は認められなかった。また、胚吸収、児動物の生後 4 日までの生存率及び体重への有意な影響は認められなかった。

表4 雌のWistarラットの発生毒性試験（飲水又は混餌）（Bayer 1998）

飼料・水の BBP含有量 (ppm)	BBP摂取量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾ ①交配前②妊娠期間③授乳期間		母動物 (21~25匹/ 群、未投与雄 と交配)	児動物
	混餌投与群	飲水投与群		
3 ppm	①0.27~0.28 ②0.19~0.25 ③ <u>0.34</u> ~0.49	①0.34~0.35 ②0.35~0.35 ③ <u>0.54</u> ~0.80	毒性所見なし	毒性所見なし
1 ppm	①0.08~0.09 ②0.06~0.07 ③ <u>0.11</u> ~0.16 ²⁾	①0.10~0.12 ②0.11~0.11 ③ <u>0.17</u> ~0.24	毒性所見なし	毒性所見なし

1) BBP摂取量はNTP-CERHR (2003) のTable7-12に基づく。下線で示した摂取量はTable 3に記載されている代表値。

2) NTP-CERHR (2003) のTable 7-12では0.11~0.06となっているが、Table 5では0.11~0.16と記載されており、後者を採用した。

【事務局より】

本試験では毒性所見がみられておりませんが、NOAELの設定が必要でしょうか。

→【曾根専門委員コメント】

参照NOAELとして、設定する場合は良いと思います。

→【田中専門委員コメント】

NOAELの設定は不要と考えます。NOAELを設定するための試験では母動物あるいは児動物に毒性変化が認められる用量を高用量に設定するべきです。

→【事務局より】

設定されているBBP濃度が非常に小さいため、参考資料としてよろしいでしょうか。

⑤発生毒性試験（ラット、飲水）△

a. Sharpeら（1995）の試験

Sharpeら（1995△）は、雌のWistarラット（各群5匹）に交配2週間前からBBP（1 mg/L、エタノールに溶解、一用量のみ）を飲水投与し、未投与の雄と交配した後、分娩後22日（離乳）まで投与を継続した。雄の児動物を

90～95 日齢でと殺し、生殖器官に対する影響を評価した。著者らは、授乳期間の母動物の体重を 350g と仮定し、生後 1～2 日、生後 10～11 日及び生後 20～21 日の飲水量に基づき、母動物の BBP 摂取量をそれぞれの期間で 0.126、0.274、及び 0.366 mg/kg 体重/日と推定している (Sharpe et al. 1995△)。

本専門調査会において毒性と判断した所見を表 5 に示す。

同腹児数、出生児の性比に対する影響はなかった。BBP 投与群の雄の児動物では、有意な体重高値 (22 日齢) ($p<0.01$)、精巣絶対及び相対重量の減少 (90～95 日齢) ($p<0.001$) が認められた。精巣の病理組織学的変化は認められなかったが、平均 1 日精子産生量が有意に減少した (対照群より 10～21%減少) ($p<0.001$)。

本専門調査会では、本試験について 1 用量の試験のため NOAEL 及び LOAEL は設定できないと判断した。

表 5 Wistar ラット発生毒性試験 (飲水) (Sharpe et al. 1995)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (5 匹/群) (未投与雄と交配)	雄児動物 (F1)
0.126～0.366 (飲水中濃度 1 mg/L)	データの記載なし	↑体重 (22 日齢) ↓精巣の絶対及び相対重量 ↓平均 1 日精子産生量

b. Ashby ら (1997) の試験

Ashby ら (1997△) はより大きな群サイズを用いて Sharpe ら (1995) による試験の再現性について検討している。雌の Alpk : APfSD (AP) ラット (各群 19 匹) の妊娠及び授乳期間に BBP (1 mg/L、0.1826 mg/kg 体重/日相当) を飲水投与し、F1 児動物を生後 90 日又は生後 137 日に剖検した (Ashby et al. 1997△)。

本試験の試験結果を表 6 に示す。

精巣及び副性器重量、精巣上体尾部及び精巣の精子数、雌雄の下垂体における FSH-陽性細胞数等が調べられたが、BBP 投与の影響は認められなかった。

本専門調査会では、本試験について 1 用量の試験のため NOAEL 及び LOAEL は設定できないと判断した。

表 6 Alpk : APfSD (AP) ラット発生毒性試験 (飲水) (Ashby et al. 1997)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (19 匹/群)	児動物 (F1)

0.1826 (飲水中濃度 1 mg/L)	毒性所見なし	毒性所見なし
--------------------------	--------	--------

1
2 c. NTP-CERHR (2003) の評価

3 NTP-CERHR (2003) によれば、TNO NaFRI (1998△) から、Sharpe
4 ら (1995) による試験の再現性等を検討した飲水投与試験が報告されている。
5 非近交系の Wistar (CrI: (WI) WU BR) ラット (雌、各群 28 匹) において、
6 交配前 2 週間から妊娠及び授乳期間にかけて 0、0.1、1、3 mg/L の BBP (0、
7 0.012、0.14、0.385 mg/kg 体重/日相当) の飲水投与が行われた。陽性対照群
8 には DES (0.0011~0.0055 mg/kg 体重/日相当) が投与された。飲水投与した
9 雌を未投与の雄と 1 週間交配し分娩させた。母動物は児動物の離乳後にと殺し、
10 剖検が行われた。児動物は奇形及び性成熟について調べられ、89~101 日齢で
11 と殺し、剖検が行われた。

12 本試験及び後述の追試について、本専門調査会において毒性と判断した所見
13 を表 7 に示す。

14 その結果、陽性対照群の母動物では有意な妊娠中の体重増加量低下及び妊娠
15 期間の延長がみられたが、BBP 投与群の母動物では交尾率、受胎率、着床後胚
16 死亡率に対する影響は認められなかった。しかし、F1 児動物では、0.14 及び
17 0.385 mg/kg 体重/日の BBP 投与群及び陽性対照群で生後 1~4 日の死亡率が有
18 意に上昇した (BBP 投与群の一腹当たりの解析では有意差なし)。一方、性成
19 熟、性周期、雄の生殖器官の重量及び精子数に対する BBP 投与の影響は認め
20 られなかった。

21 0.14 及び 0.385 mg/kg 体重/日の BBP 投与群で F1 児動物の死亡率上昇が認
22 められたため、この 2 用量について直ちに同じ研究室で同一プロトコールによ
23 る追試が行われた。

24 児動物の生後 1~4 日の死亡率については、0.14 mg/kg 体重/日投与群で有意
25 に減少し、0.385 mg/kg 体重/日投与群では有意に増加した (一腹当たりの解析
26 では有意差なし)。死産児数は 0.385 mg/kg 体重/日投与群で有意に増加した (一
27 腹当たりでは有意差なし)。

28 NTP-CERHR (2003) のパネルは、これら 2 つの試験における対照群の生
29 後 0~4 日の児動物死亡数はこの研究室における背景値を超えており、他の試
30 験においても同様の児動物の高死亡が観察されていることを指摘している。

31 NTP-CERHR (2003) は、母動物の NOAEL を 0.385 mg/kg 体重/日とした。
32 また、発生毒性の NOAEL を児動物の生後 1~4 日の死亡率の増加に基づき、
33 0.14 mg/kg 体重/日とした。
34

表7 Wistar ラット発生毒性試験（飲水）（TNO NaFRI 1998）

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物	児動物
0.385 (飲水中濃度 3 mg/L)	毒性所見なし	1回目 ↑生後1～4日の死亡率 ¹⁾ (12 vs 08%) ↑体温低下した出生児(生後1日) ↑大きな出生児(生後4日) ↑脱毛 2回目 ↑生後1～4日の死亡率 ¹⁾ (17 vs 10%)
0.14 以下 (飲水中濃度 1 mg/L 以下)	毒性所見なし	毒性所見なし

本表は NTP-CERHR (2003) の Table7-11 (ページ II-51) 及び本文 (ページ II-15) をもとに作成。

注) 1 回目と 2 回目を合わせた児動物の生後 0～4 日の死亡率: 対照群で 10.7%、0.012 mg/kg 体重/日投与群で 0.86%、0.14 mg/kg 体重/日投与群で 10.65%、0.385 mg/kg 体重/日投与群で 20.19% (Table 2 より)

1) 一腹当たりの死亡児数は有意差なし

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

【事務局より】
 児動物について、NTP-CERHR (2003) のパネルは、これら 2 つの試験における対照群の生後 0～4 日の児動物死亡数はこの研究室における背景値を超えていると指摘していますが、児動物の NOAEL の設定が可能でしょうか。
 →【曾根専門委員コメント】
 参照 NOAEL として設定すべきです。
 →【田中先生コメント】
 哺育期間中の出生児の生存率は、試験を行う施設（実験者）の飼育管理技術に大きく左右されます。パネルは、実験データの精度に疑問を持っているので、この試験の結果から NOAEL を設定しない方が良いと考える。
 →【事務局より】
 設定されている BBP 投与量が非常に小さいため、参考資料としてよろしいでしょうか。

1
2 ⑥二世代生殖毒性試験（ラット、強制経口）◎

3 CERI（財団法人 化学物質評価研究機構）は、Crj:CD（SD）IGS ラット（雌
4 雄、各群 24 匹、F0：5 週齢、F1：3 週齢）に用いて、BBP（0、100、200、400
5 mg/kg 体重/日）の強制経口投与による二世代生殖毒性試験を実施した。BBP の投
6 与は、F0 及び F1 親動物ともに雄で約 15 週間、雌で約 19 週間行われた。雌雄の
7 ラットに交配前 10 週間から投与を開始し、雌雄を 1 対 1 で同居させて最大 14 日
8 間交配させた。交配がみられた場合は雌雄を別離させた。雄は交配期間終了以降、
9 分娩した雌は哺育 21 日以降に剖検が行われた。F1 児動物の一部は生後 25～27
10 日、F2 児動物は生後 21 日に剖検が行われた。

11 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 8 に示す。

12 親動物への影響としては、一般状態に関する指標のうち、流涎が 100 mg/kg 体
13 重/日投与群の F1 雄、200 mg/kg 体重/日投与群の F0 雌及び F1 雌雄、400 mg/kg
14 体重/日投与群の F0 及び F1 の雌雄で増加したが、対照群でも観察された。摂餌量
15 及び体重への影響は認められなかった。繁殖能力に関する指標のうち、精巣及び
16 精巣上体の精子、膣開口、性周期、交尾率、出産率、着床数等への有意な影響は
17 みられなかったが、生後 43 日に包皮分離が確認できた雄が F1 の 400 mg/kg 体重
18 /日投与群で有意に減少していた。剖検時の臓器重量については、肝重量増加は 200
19 mg/kg 体重/日投与群の F0 雌（絶対及び相対）及び F1 雄（相対）、400 mg/kg 体
20 重/日投与群の F0 雄（相対）、F0 雌（絶対及び相対）及び F1 雌雄（相対）で有意
21 であった。腎重量増加は 200 mg/kg 体重/日投与群の F0 雌雄（絶対）、400mg/kg
22 体重/日投与群の F0 雌雄（絶対及び相対）で有意であった。精巣上体の重量減少
23 は 200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の F1 雄（絶対）、400 mg/kg 体重/日投与群の
24 F0 雄（絶対）で有意であり、400 mg/kg 体重/日投与群の F1 雄では精囊の絶対重
25 量減少も有意であった。肉眼的観察において、F1 の 400 mg/kg 体重/日投与群で
26 精巣矮小化が有意に増加した。また、F1 の 100mg/kg 体重/日以上以上の投与群で精
27 巣の軟化、F1 の 400mg/kg 体重/日投与群で精巣上体の無形性、低形成及び矮小
28 が認められた（有意差なし）。病理組織検査において、精細管のびまん性萎縮が
29 F1 で 100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群でみられ（有意差なし）、F1 の 400 mg/kg
30 体重/日投与群で有意に増加した。ライディッヒ細胞の過形成が F0 の 400 mg/kg
31 体重/日投与群でみられ（有意差なし）、F1 の 400 mg/kg 体重/日投与群で有意で
32 あった。精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣が F0 の 400 mg/kg 体
33 重/日投与群、F1 の 100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群でみられた（いずれも有意差
34 なし）。

35 児動物への影響としては、哺育 0 日（分娩日）の体重低値が 100 mg/kg 体重/
36 日以上以上の投与群の F1 雄で有意であった。哺育 4 日の肛門生殖突起間距離（AGD）

1 が 100 mg/kg 体重/日以上の投与群において F1 雌で有意に高値、F2 雄で有意に
 2 低値であった。400 mg/kg 体重/日投与群の F1 雄及び F2 雄で有意な脾臓重量(絶
 3 対及び相対)の減少(生後 21 日)がみられた。

4 経済産業省は、親動物に対する影響については、100 mg/kg 体重/日投与群で流
 5 涎、精巣の精細管びまん性萎縮、精巣上体管腔内精子減少及び管腔内性細胞残屑
 6 がみられたことから NOEL (無影響量) 及び NOAEL は 100 mg/kg 体重/日未満
 7 であるとし、児動物の発生及び発育に対する NOEL 及び NOAEL は、100 mg/kg
 8 体重/日投与群で雄の体重低値及び AGD 低値がみられたことから、100 mg/kg 体
 9 重/日未満と結論した (経済産業省、2003◎)。

10

表 8 SD ラット二世世代生殖毒性試験 (強制経口) (経済産業省 2003)

投与群 (mg/kg 体重 /日)	F0	F1		F2
	親動物	児動物	親動物	児動物
400	<ul style="list-style-type: none"> ・雌雄の流涎* ・雌の受胎率 21/23 ↑雌の肝臓絶対及び相対重量* ↑雄の肝臓相対重量* ↑雌雄の腎臓絶対及び相対重量* ↓精巣上体絶対重量* ・精巣のライディッヒ細胞過形成 ・精巣上体の管腔内精細胞残屑 	<ul style="list-style-type: none"> ↓雄の体重 (哺育 0 日) * ↑雌の AGD* ↓雄の脾臓絶対及び相対重量* 	<ul style="list-style-type: none"> ・雌雄の流涎* ・雌の受胎率 13/20 ・雄の包皮分離遅延* ↑雌雄の肝臓相対重量* ↓精巣上体絶対重量* ↓精囊絶対重量* ・精巣の矮小* ・精巣の軟化 ・精巣上体の無形成、低形成、及び矮小 ・精巣の精細管のびまん性萎縮 (9/24)* ・ライディッヒ細胞過形成* ・精巣上体の管腔内精子減少 (3/24)、管腔内精 	<ul style="list-style-type: none"> ↓雄の AGD* ↓雄の脾臓絶対及び相対重量*

			細胞残屑(1/24)	
200	<ul style="list-style-type: none"> ・雌の流涎* ・雌の受胎率 20/22 ↑雌の肝臓絶対及び相対重量* ↑雌雄の腎臓絶対重量* 	<ul style="list-style-type: none"> ↓雄の体重(哺育0日)* ↑雌のAGD* 	<ul style="list-style-type: none"> ・雌雄の流涎* ・雌の受胎率 17/20 ↑雄の肝臓相対重量* ↓精巣上部絶対重量* ・精巣軟化 ・精巣の精細管のびまん性萎縮(3/24) ・精巣上部の管腔内精子減少(2/24)及び管腔内精細胞残屑(3/24) 	↓雄のAGD*
100	<ul style="list-style-type: none"> ・雌の受胎率 19/22 	<ul style="list-style-type: none"> ↓雄の体重(哺育0日)* ↑雌のAGD* 	<ul style="list-style-type: none"> ・雄の流涎* ・雌の受胎率 21/22 ・精巣軟化 ・精巣の精細管のびまん性萎縮(1/24) ・精巣上部の管腔内精子減少(1/24)及び管腔内精細胞残屑(1/24) 	↓雄のAGD*
対照群	<ul style="list-style-type: none"> ・雌の受胎率 20/24 	毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・雌の受胎率 16/21 	毒性所見なし

* 統計学的有意差あり (いずれも $p \leq 0.05$)

1
2
3
4
5
6
7

【事務局より】

○F1 親動物の精細管のびまん性萎縮について、原著の表 2「試験結果の概要(続き 4)」では、対照群：1/24、100mg/kg/day：1/24、200mg/kg/day：3/24、400mg/kg/day：9/24 であり、400mg/kg/day のみ有意差ありとされていますが、100mg/kg/day 以上を毒性所見としてよろしいでしょうか。

1 →【曾根専門委員コメント】

2 200 mg/kg 体重/日投与群以上を毒性所見とすべき。

3 →【田中専門委員コメント】

4 原著では、精細管のびまん性萎縮と精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細
5 胞残渣を合わせて 100mg/kg/day 以上の毒性影響としているのではないでしょ
6 か。

7
8 【事務局より】

9 ○以下の案でいかがでしょうか。

10 (案)

11 本専門調査会としては、F0 親動物については、雌の流涎、雌の肝臓絶対及び相対
12 重量の増加、雌雄の腎臓絶対重量の増加に基づき、雌雄の LOAEL を 200 mg/kg
13 体重/日、NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。F1 親動物については、雄の流
14 涎等に基づき、雄の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できな
15 いと判断した。また、F1 親動物の雌の流涎に基づき、雌の LOAEL を 200 mg/kg
16 体重/日、NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。F1 児動物については、雄の体
17 重低値に基づき、雄の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できな
18 いと判断した。また、F1 児動物の雌の AGD 増加に基づき、雌の LOAEL を 100
19 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。F2 児動物について、
20 雄の AGD 短縮に基づき、LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定で
21 きないと判断した。F2 児動物の雌の NOAEL を本試験の最高用量である 400
22 mg/kg 体重/日と判断した。

23 →【曾根専門委員コメント】

24 雌雄別々に LOAEL 及び NOAEL を設定すべきと思います。

25 →【田中専門委員コメント】

26 ガイドラインで求められているのは、親動物 (F0, F1) と児動物 (F1, F2)
27 および生殖能に関する NOAEL です。

28
29 ⑦二世世代生殖毒性試験 (ラット、強制経口) ◎

30 Nagao ら (2000) は、Crj : CD (SD) IGS ラット (雌雄、各群 25 匹、雄 : 6
31 週齢、雌 : 13 週齢) を用いて、BBP (0、20、100、500 mg/kg 体重/日) の強制
32 経口投与による二世世代生殖毒性試験を実施した。投与期間は、F0 雄は交配前 12
33 週間から 23 週齢での剖検まで、F0 雌は交配前 2 週間から分娩後 22 日の剖検ま
34 で、F1 動物は離乳 (生後 22 日) から剖検 (雄 : 18 週齢、雌 : F2 の分娩後 22
35 日) までであった。交配期間は 2 週間であった。F1 動物の一部は生後 22 日に剖
36 検され、F2 動物は生後 21 日に剖検された。

1 本専門調査会において毒性と判断した所見（F0 及び F1 動物）を表 9 に示す。
2 その結果、F0 親動物に対する影響として、雄では 100 mg/kg 体重/日以上投与
3 群で卵胞刺激ホルモン（FSH）の増加、500 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、
4 腎臓重量増加、肝臓重量増加、脳重量増加、肺重量増加、血清中テストステロン、
5 トリヨードチロニン（T₃）及びチロキシシン（T₄）減少が観察された。雌では 100
6 mg/kg 体重/日以上投与群で腎臓重量増加、500 mg/kg 体重/日投与群で卵巣重量
7 減少、血清中プロラクチン増加及び血清中 T₄減少が観察された（いずれも p<0.05）。
8 生殖器系、肝臓、腎臓、及び乳腺における病理組織学的異常や、精巣上体の精子
9 数及び精子運動性に対する影響、雌雄の F0 親動物の繁殖成績（交尾率、受胎率、
10 妊娠期間、出産率）に対する影響は認められなかった。

11 F1 世代については、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で有意な出生時体
12 重の低値が認められた。500 mg/kg 体重/日投与群で生後 1~4 日の生存率低下、
13 生後 14 及び 21 日の雌雄の体重低値、出生時 AGD の雄での減少及び雌での増加
14 が観察された（いずれも p<0.05）。また、生後 22 日の剖検では、100 mg/kg 体重
15 /日以上投与群で雄の血清中甲状腺刺激ホルモン（TSH）濃度低下、雌の血清中
16 T₃ 濃度低下がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群で雌雄の体重低値、精巣重量減
17 少、精巣上体重量減少、精巣の組織変化（精母細胞の減少）、雄の血清中 FSH 濃
18 度低下、卵巣重量減少、子宮重量増加が観察された（いずれも p<0.05）。離乳後
19 の観察において、雄では 500 mg/kg 体重/日投与群で有意な包皮分離遅延が認めら
20 れたが、雌の膣開口及び性周期への影響は認められなかった。雄の 18 週齢（性成
21 熟後）における剖検では、100 mg/kg 体重/日以上投与群で臓器重量の変化がみ
22 られた。500 mg/kg 体重/日投与群で有意な血清中テストステロン、LH、及び T₄
23 濃度の低下が観察され、病理組織検査では有意な精細管萎縮、生殖細胞減少、精
24 巣の間質浮腫、精巣上体の精子減少が認められた。しかし、雌雄の F1 動物の繁殖
25 成績に対する影響は認められなかった。雌の血清中ホルモン濃度及び生殖器系へ
26 の影響はみられなかった。

27 F2 児動物の生存率（出生時、生後 0~4 日、及び生後 4~21 日）、性比、及び
28 体重（生後 0、4、7、14、21 日）への影響は認められなかった。また、生後 21
29 日の剖検においても有意な影響は認められなかった。

30 筆者らは、親動物及び次世代に対する生殖影響の NOAEL を 20 mg/kg 体重/
31 日とした（Nagao et al. 2000©）。

32 EU RAR（2007）では、発生影響の NOAEL を 100 mg/kg 体重/日以上投与
33 群における雌雄の F1 児動物の体重低値に基づき 20 mg/kg 体重/日とした。受胎能
34 に対する影響は認められないとし、受胎能に対する影響の NOAEL は設定できな
35 いとした。雄の生殖器官に対する影響の NOAEL を 500 mg/kg 体重/日投与群に
36 における F1 世代（10 週齢又は 18 週齢）の生殖器官の重量変化及び萎縮に基づき、

1 100 mg/kg 体重/日と評価した。

2

表9 SD ラット二世代生殖毒性試験（強制経口）（Nagao et al. 2000）

投与群 (mg/kg 体重/日)	F0	F1	
	親動物	児動物	親動物
500	↓雄の体重増加 ↓雄の最終体重 ↑雄の脳相対重量 ↑雄の肺相対重量 ↑雄の肝臓絶対及び相対重量 ↑雄の腎臓絶対重量 ↓雄の血清中テストステロン、T ₃ 、T ₄ 濃度 ↑雌の血清中プロラクチン ↓雌の血清中T ₄ 濃度 ↓卵巣の絶対及び相対重量	↓PND1～4の生存率(腹単位) ↓雌雄の体重(PND14、21、22) ↓雄の出生時AGD ↑雌の出生時AGD ↓精巣の絶対及び相対重量 ↓精巣上体の絶対重量 ↓精巣の精母細胞 ↓雄の血清中FSH濃度 ↓卵巣絶対重量 ↑子宮相対重量	・雌雄の流涎 ¹⁾ ・包皮分離遅延 ↑雄の脳相対重量 ↑雄の肺相対重量 ↑雄の肝臓相対重量 ↓雄の脾臓絶対重量 ↓生殖器系(精巣、精巣上体及び腹側前立腺)の絶対重量 ↑雄の甲状腺相対重量 ↑雄の下垂体相対重量 ↓雄の血清中テストステロン、LH、T ₄ 濃度 ・精細管萎縮(6/10匹)、生殖細胞減少(4/10匹)、精巣の間質浮腫(4/10匹)、精巣上体の精子減少(5/10匹)
100 以上	・雌雄の流涎 ¹⁾ ↑雌の腎臓絶対及び相対重量 ↑雌雄の血清中FSH濃度	↓雌雄の出生時体重 ↓雄の血清中TSH濃度 ↓雌の血清中T ₃ 濃度	↓雄の最終体重 ↓雄の心臓絶対重量 ↑雄の腎臓相対重量
20	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

注) F2 児動物については生後 21 日までの毒性所見なし

1) 有意差の記載なし

T₃ : トリヨードチロニン、T₄ : チロキシン、FSH : 卵胞刺激ホルモン、TSH : 甲状腺刺激ホルモン、LH : 黄体形成ホルモン

3

1 【事務局より】

2 原著 521 ページ Table 5 より抜粋

F0	0	20	100	500
	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日
雄 LH(ng/mL)	11.5±5.1	8.3±2.2*	8.8±2.1	10.7±3.9
TSH(ng/mL)	14.8±3.1	13.4±2.3	13.0±2.3*	13.3±2.0
雌 TSH(ng/mL)	17.4±2.8	19.5±2.3*	17.5±5.8	18.5±3.6

3
4 原著 524 ページ Table 7 より抜粋

F1 児動物	0	20	100	500
	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日	mg/kg 体重/日
雄 T3(ng/mL)	1.3±0.3	1.6±0.3**	1.4±0.3	1.2±0.2

5
6 20 mg/kg 体重/日投与群における F0 雄の LH 低下(*), F0 雌の TSH 上昇(*), 100
7 mg/kg 体重/日投与群における雄の TSH 低下(*) 及び 20 mg/kg 体重/日投与群にお
8 ける F1 雄の T3 上昇(**)について、毒性所見かどうかご検討をお願いいたします。

9 → 【曾根専門委員コメント】

10 原著 Table 13 では、どの用量においてもホルモンレベルの変化が認められない。
11 用量依存性も認められないので、20 mg/kg 体重/日投与群における離乳時期のホル
12 モンレベルは、この試験においては毒性所見とは認められないと、考えます。

13 → 【田中専門委員コメント】

14 用量相関性無し。関連臓器に変化無し。いずれも毒性所見とは判断しません。

17 【事務局より】

18 以下の案でいかがでしょうか。

19 (案)

20 本専門調査会としては、F0 親動物について、雌の腎臓絶対及び相対重量の増加
21 及び雌雄の血清中 FSH 濃度の増加に基づき、雌雄の LOAEL を 100 mg/kg 体重/
22 日、NOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断した。F1 親動物について、雄の最終体重
23 の低値等に基づき、雄の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 20 mg/kg 体
24 重/日と判断した。また、F1 親動物の雌の NOAEL を本試験の最高用量である 500
25 mg/kg 体重/日と判断した。F1 児動物について、雌雄の出生時体重の低値等
26 に基づき、雌雄の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断
27 した。F2 児動物について、本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日と判断し

1 た。

2 →【首根専門委員コメント】

3 雌雄別々に設定すべきと思います。

4 →【田中専門委員コメント】

5 親動物 (F0, F1) と児動物 (F1, F2) および生殖能に関する NOAEL を設定
6 すればよい。

7 8 ⑧二世世代生殖毒性試験 (ラット、混餌) ◎

9 Ty1 ら (2004) は、CD® (SD) ラット (雌雄、各群 30 匹、7 週齢) を用いて、
10 BBP (0、750、3,750、11,250 ppm : 0、50、250、750 mg/kg 体重/日相当) の
11 混餌投与による二世世代生殖毒性試験⁴を実施した。F0 は交配前 10 週間から、F1
12 は離乳から剖検まで混餌投与が行われ、F2 の離乳まで観察された。交配期間は
13 14 日間であった。F0 及び F1 親動物のうち、雌は哺育期間終了後、雄は児動物
14 の出生後にと殺され、剖検が行われた。F1 児動物のうち、生後 4 日又は 21 日に
15 間引きされと殺された個体に対しても剖検が行われた。AGD の測定 (出生時)、
16 性成熟、性周期の観察も行われた。

17 本専門調査会において毒性と判断した所見 (F0、F1 及び F2 動物) を表 10 に
18 示す。

19 親動物への影響としては、750 mg/kg 体重/日投与群で、明らかな F0 及び F1
20 に対する全身毒性、F1 に対する生殖毒性が認められた。750 mg/kg 体重/日投与
21 群における F0 及び F1 の親動物で観察された全身毒性は、体重増加抑制 (F1 雌
22 雄)、剖検時の体重低値 (F1 雌雄)、肝重量増加 (F0 雌雄の絶対及び相対重量、
23 F1 雄の相対重量) 及び肝臓の軽微な病理組織学的変化 (びまん性巨大細胞、巨大
24 核、細胞質グリコーゲンの減少、細胞質エオシン好性の増加、ペルオキシゾーム
25 増加を示すエオシン好性顆粒を伴う細胞質顆粒の増加) (F0 雌雄及び F1 雌)、腎
26 重量増加 (F0 雄の絶対及び相対重量、F0 雌の相対重量) であった (いずれも
27 p<0.05)。750 mg/kg 体重/日投与群における F1 の親動物で観察された生殖毒性は、
28 繁殖成績への影響 (交尾率低下及び受胎率低下、一腹当たりの着床数減少、生後
29 0 日の一腹当たりの生児数減少)、剖検時の雄の生殖器系の臓器重量の減少 (精巣、
30 精巣上体、精囊、前立腺)、精巣上体の精子数減少及び精子運動性低下、病理検査
31 における精巣及び精巣上体の病理組織学的変化 (器官の全体又は一部欠損、精細
32 管の変性及び萎縮、精巣網の拡張、精巣上体の無精液症)、卵巣及び子宮重量の減
33 少であった (いずれも p<0.05)。一方、250 mg/kg 体重/日投与群の F0 及び F1 親

4 米国 EPA(Environmental Protection Agency) OPPTS(Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances、現在は OCSPP:Office of Chemical Safety and Pollution Prevention に名称変更)の健康影響試験ガイドライン (一部改良)、EPA の GLP 規則等に従い実施。

動物において、腎重量増加（F0 雌・F1 雄の絶対及び相対重量、F0 雄・F1 雌の絶対重量）、肝重量増加（F1 雄）が観察された（いずれも $p < 0.05$ ）。

児動物への影響としては、750 mg/kg 体重/日投与群で雄の出生時 AGD の短縮及び哺育期間における体重の低値（F1 及び F2）、雌雄の性成熟遅延（F1 のみ）、雄の乳首及び乳輪保持（F1 及び F2）、雄の生殖器系の奇形（精巣上体の全体又は一部欠損、精巣上体のサイズ減少、精巣の欠損、精巣のサイズ減少、精巣の下降不全）等が認められた。一方、250 mg/kg 体重/日投与群では、雄の出生時 AGD の短縮（F1 及び F2）及び出生時体重の低値（F1 のみ）が認められた。50 mg/kg 体重/日投与群では、親動物及び児動物に対する有意な影響は認められなかった。

著者らは、F0 及び F1 親動物の全身毒性及び生殖毒性の NOAEL を 250 mg/kg 体重/日とした。また、F1 及び F2 児動物の生殖毒性については、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日とし、雄の NOEL を 250 mg/kg 体重/日以上投与群における出生時の F1 及び F2 の雄児動物の AGD 短縮に基づき 50 mg/kg 体重/日とした。しかし、250 mg/kg 体重/日投与群では、生殖器系の発生、構造又は機能に対する影響は認められなかったと報告している（Tyl et al. 2001、2004©）。

EFSA（2005）は、F1 親動物の全身及び生殖毒性の NOAEL を 250 mg/kg 体重/日としている。児動物の毒性の NOAEL を、250 mg/kg 体重/日投与群における F1 雄及び F2 雄の出生時 AGD 短縮に基づき、50 mg/kg 体重/日としている。

EU RAR（2007）は、受胎能に対する NOAEL を 750 mg/kg 体重/日投与群の F1 親動物の交尾率及び受胎率の低下に基づき 250 mg/kg 体重/日と評価している。また、発生影響に関する NOAEL を 250 mg/kg 体重/日以上投与群における用量依存的な F1 及び F2 児動物の AGD 短縮に基づき 50 mg/kg 体重/日とし、母動物毒性（maternal toxicity）の NOAEL を 750 mg/kg 体重/日投与群の肝臓及び腎臓の重量変化及び肝臓の軽度の病理組織学的変化に基づき 250 mg/kg 体重/日と評価している。

表 10 SD ラット二世世代生殖毒性試験（混餌）（Tyl et al. 2004）

投与群 (mg/kg 体重/日)	F0	F1		F2
	親動物	児動物	親動物	児動物
750 (11,250ppm)	全身毒性 ↓雌の体重増加 ¹⁾ (剖検) ↑雌雄の肝臓の 絶対及び相対重	(出生～離乳前) ↓雄の一腹当たり の出生時 AGD ↓雌雄の一腹当た りの出生時体重 ↓生後 0～21 日の	全身毒性 ↓雌雄の体重増 加 (剖検) ↓雌雄の体重	(出生～離乳前) ↓雄の一腹当た りの出生時 AGD ↓生後 7～21 日 の一腹当たりの 体重（雌雄合算）

	<p>量</p> <p>・雌雄の肝臓の病理組織学的変化²⁾</p> <p>↑雄の腎臓の絶対及び相対重量</p> <p>↑雌の腎臓相対重量</p> <p><u>生殖毒性</u></p> <p>↓卵巣絶対及び相対重量</p> <p>↓子宮の絶対及び相対重量</p>	<p>一腹当たりの体重(雌雄合算)</p> <p>・雌雄の性成熟遅延(陰開口、包皮分離)</p> <p>・雄の乳頭及び乳輪遺残</p> <p>(離乳時の剖検)</p> <p>↓雌雄の体重</p> <p>↓雌雄の胸腺絶対重量</p> <p>↓雌雄の脾臓絶対及び相対重量</p> <p>↓雌雄の脳の絶対重量</p> <p>↑雌雄の脳の相対重量</p> <p>↓精巣絶対及び相対重量</p> <p>↓精巣上体絶対重量</p> <p>↑生殖器系の奇形の発生頻度⁴⁾</p> <p>↓雌の卵巣絶対重量</p> <p>↓子宮の絶対重量</p>	<p>↑雄の肝臓相対重量</p> <p>・雌の肝臓の病理組織学的変化²⁾</p> <p><u>生殖毒性</u></p> <p>(繁殖成績)</p> <p>↓交尾率</p> <p>↓受胎率</p> <p>↓一腹当たりの着床数</p> <p>↓一腹当たりの生存児数(生後0日)</p> <p>(剖検)</p> <p>↓精巣、精巣上体、精囊の絶対重量</p> <p>↓前立腺の絶対及び相対重量</p> <p>↓精巣上体の精子数</p> <p>↓精子運動性</p> <p>・精巣及び精巣上体の病理組織学的変化³⁾</p> <p>↓卵巣相対重量</p> <p>↓子宮の絶対及び相対重量</p>	<p>・雄の乳頭及び乳輪の遺残</p> <p>(離乳時の剖検)</p> <p>↓雌雄の体重</p> <p>↓雌雄の胸腺絶対重量</p> <p>↓雌雄の脾臓絶対及び相対重量</p> <p>↑雌雄の脳相対重量</p> <p>↓雄の精巣絶対及び相対重量</p> <p>↑生殖器系の奇形の発生頻度⁴⁾</p> <p>↓雌の卵巣絶対重量減少</p>
250 (3,750 ppm)	<p><u>全身毒性</u></p> <p>↑雄の腎臓の絶対重量</p> <p>↑雌の腎臓の絶対及び相対重量</p>	<p>(出生～離乳前)</p> <p>↓雄の一腹当たりの出生時 AGD</p> <p>(離乳時の剖検)</p> <p>↑雄の脳絶対重量</p>	<p><u>全身毒性</u></p> <p>↑雄の肝臓の絶対及び相対重量</p> <p>↑雄の腎臓の絶対及び相対重量</p> <p>↑雌の腎臓の絶対</p>	<p>(出生～離乳前)</p> <p>↓雄の一腹当たりの出生時 AGD</p> <p>(離乳時の剖</p>

		↑精巣絶対及び相 対重量	対重量	検) ↑雌の子宮の絶 対重量
50 (750 ppm)	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

- 1) 原著にデータは示されていないと記載されている。
- 2) びまん性巨大細胞、巨大核、細胞質グリコーゲンの減少、細胞質エオシン好性の増加、ペルオキシゾーム増加を示すエオシン好性顆粒を伴う細胞質顆粒の増加（有意差の記載なし）
- 3) 器官の全体又は一部欠損、精細管の変性及び萎縮、精巣網の拡張、精巣上体の無精液症（有意差の記載なし）
- 4) 精巣上体の全体又は一部欠損、精巣上体のサイズ減少、精巣の欠損、精巣のサイズ減少、精巣の下降不全（F1 で 25/76 匹、32.9%、F2 で 13/54 匹、24%）

【事務局より】

○11,250ppm 及び 3,750ppm 投与群における F0 親動物及び F1 親動物の腎臓の重量増加（雌雄）について、原著 249 ページの 3 行目腎臓の絶対及び相対重量は、全ての投与群で、どちらの世代でも、雌雄とも、投与に関連した肉眼的又は病理組織学的変化の証拠を伴わなかったとされていますが、毒性所見としてよろしいでしょうか。

また、F1 親動物の腎臓の絶対及び相対重量（雄）、腎臓の絶対重量（雌）について、原著 248 ページ Table 1 では、3,750ppm で有意差がありますが、11,250ppm では有意差がありません。3,750ppm の所見を毒性所見としてよろしいでしょうか。

→【曽根専門委員コメント】

用量依存性がないため、毒性所見とみなすべきではないと考えます。

○F₁ 児動物の脳重量について、原著 254 ページ Table 4 では、雄では、絶対重量は 3,750ppm 投与群で増加し、11,250ppm 投与群で減少、相対重量は 11,250ppm 投与群で増加しています。雌では、絶対重量は 11,250ppm 投与群で減少し、相対重量は 11,250ppm 投与群で増加しています（有意差あり）。これらの所見を毒性所見としてよろしいでしょうか。

→【田中専門委員コメント】

毒性所見とはしない。

○F₁ 児動物の精巣の絶対及び相対重量について、11,250ppm 投与群では減少していますが、3,750ppm 投与群では増加しています。3,750ppm 投与群の所見を毒性

1 所見としてよろしいでしょうか。

2 →【田中専門委員コメント】

3 毒性所見とはしない

4
5 ○F1 親動物の雄の肝臓の絶対重量について、原著 248 ページ Table 1 では、
6 3,750ppm で有意差がありますが、11,250ppm では有意差がありません。3,750ppm
7 の所見を毒性所見としてよろしいでしょうか。

8 また、F1 親動物の雄の肝臓の相対重量について、3,750ppm 及び 11,250ppm で
9 有意差ありとされていますが、雄では肝臓の病理組織学的変化はみられていま
10 せん。3,750ppm 及び 11,250ppm の所見を毒性所見としてよろしいでしょうか。

11
12 ○3,750ppm 投与群における F2 雌の子宮の絶対重量の増加について、11,250ppm
13 投与群では有意差はなく、相対重量に有意差はありませんが、毒性所見でしょうか。

14 →【田中専門委員コメント】

15 毒性所見とはしない。

16
17 ○以下の案でいかがでしょうか。

18 (案)

19 本専門調査会としては、F0 親動物について、雄の腎臓の絶対重量の増加及び雌
20 の腎臓の絶対及び相対重量の増加に基づき、雌雄の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日、
21 NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。F1 親動物について、雄の肝臓の絶対及
22 び相対重量の増加、雌の腎臓の絶対重量の増加等に基づき、雌雄の LOAEL を 250
23 mg/kg 体重/日、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。F1 児動物について、雄
24 の一腹当たりの出生時 AGD 短縮等に基づき、雄の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日、
25 NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。F1 児動物の雌の卵巣及び子宮の重量減
26 少等に基づき、雌の LOAEL を 750 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/
27 日と判断した。F2 児動物について、雄の一腹当たりの出生時 AGD 短縮に基づき、
28 雄の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。雌
29 の卵巣の絶対重量の減少等に基づき、雌の LOAEL を 750 mg/kg 体重/日、NOAEL
30 を 250 mg/kg 体重/日と判断した。

31
32 ⑨出生前発生毒性試験（マウス、妊娠 6～15 日、混餌）◎

33 NTP-CERHR (2003) によれば、Price ら (1990 ◎) は CD-1 マウス (妊娠
34 雌、各群 30 匹) において、BBP (0、0.1、0.5、又は 1.25% : 0、182、910 又
35 は 2,330 mg/kg 体重/日相当) を妊娠 6～15 日に混餌投与した発生毒性試験

1 (Segment II 試験⁵⁾を行った。母動物は妊娠 17 日にと殺、解剖された。

2 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 11 に示す。

3 母動物への影響としては、910 mg/kg 体重/日以上の投与群における体重増加量
4 の減少、2,330 mg/kg 体重/日投与群における肝臓及び腎臓の相対重量の増加、並
5 びに飲水量の増加がみられた。肝臓又は腎臓においては、病理組織学的変化は認
6 められなかった。

7 胚及び胎児への影響としては、910 mg/kg 体重/日以上の投与群で、胚吸収及び
8 後期胎児死亡の増加、これに付随した一腹当たりの生存胎児数の減少、及び奇形
9 の増加がみられた。観察された奇形は、外脳症 (exencephaly)、短尾、心臓血管
10 の異常、肋骨の癒合、胸骨分節及び椎骨の異常又は癒合であった。2,330 mg/kg 体
11 重/日の投与群で、一腹当たりの胎児体重が低下し、形態に変異の認められる胎児
12 が増加した。

13 NTP-CERHR (2003) は、母動物毒性の NOAEL を 910 mg/kg 体重/日投与群
14 における体重増加量の減少に基づき 182 mg/kg 体重/日とした。また、発生毒性の
15 NOAEL を 910 mg/kg 体重/日投与群における出生前死亡の増加と内臓、骨格及
16 び外部奇形の増加に基づき 182 mg/kg 体重/日とした。

17 本専門調査会としては、母動物について、体重増加量の減少に基づき、LOAEL
18 を 910 mg/kg 体重/日、NOAEL を 182 mg/kg 体重/日と判断した。児動物につい
19 て、後期胎児死亡及び奇形胎児の増加等に基づき、LOAEL を 910 mg/kg 体重/日、
20 NOAEL を 182 mg/kg 体重/日と判断した。

表 11 CD-1 マウス発生毒性試験 (GD6~15、混餌) (Price et al. 1990)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物	児動物
2,330 (飼料中 1.25%)	↓ 体重増加量 (71%減少) ↓ 補正した体重増加量 (25%減少) ↑ 飲水量 ↑ 病理組織学的変化を伴 わない肝臓及び腎臓の 相対重量	↑ 一腹当たりの胚吸収 (対 照群7%に対して91%) ↑ 胚吸収を伴う腹数 (対照 群55%に対して100%) ↑ 一腹当たりの非生存性 着床率% (対照群8%に 対して93%) ↑ 非生存性着床を伴う腹 数 ¹⁾ (対照群59%に対し て100%) ↓ 一腹当たりの生存胎児

⁵ 胚・胎児発生に関する試験

		数（対照群13匹に対して3匹） ↓胎児体重（17%減少） ↑一腹当たりの奇形胎児（対照群4%に対して89%） ↑奇形胎児 ²⁾ を伴う腹数（対照群31%に対して100%） ↑一腹当たりの変異を伴う胎児（対照群29%に対して98%）
910 （飼料中 0.5%）	↓体重増加量（15%減少）	↑一腹当たりの後期胎児死亡（対照群07% ³⁾ に対して29%） ↑一腹当たりの非生存性着床率 ¹⁾ （対照群8%に対して15%） ↓一腹当たりの生存胎児数(対照群13匹に対して12匹) ↑一腹当たりの奇形胎児（対照群4%に対して14%） ↑奇形胎児 ²⁾ を伴う腹数（対照群31%に対して60%）
182 （飼料中 0.1%）	毒性所見なし	毒性所見なし

本表は NTP-CERHR（2003）の Table 7-8（ページ II-48）及び本文をもとに作成。

↑↓は統計学的に有意な増減を示す。

1) 胚吸収及び後期胎児死亡を含む。

2) 910mg/kg 体重/日以上 of 投与群で観察された奇形は、外脳症（exencephaly）、短尾、心臓血管の異常、肋骨の癒合、胸骨分節（sternebrae）及び椎骨（vertebrae）の異常又は癒合であった。

3) 07%は原著のとおり記載

1
2 ⑩出生前発生毒性試験（ラット、妊娠 6～15 日、混餌）◎

3 NTP-CERHR (2003) によれば、Fieldら (1989 ◎) が CD (SD) ラット (妊
4 娠雌、各群 30 匹) において、BBP (0、0.5、1.25、又は 2.0% : 0、420、1,100
5 又は 1,640 mg/kg 体重/日相当) を妊娠 6～15 日に混餌投与した発生毒性試験を
6 行った。母動物は妊娠 20 日にと殺、剖検された。

7 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 12 に示す。

8 母動物への影響としては、1,100 mg/kg 体重/日以上の投与群における体重増加
9 量の減少、絶対摂餌量の減少 (体重当たりの摂餌量は増加)、肝臓の相対重量の増
10 加 (病理組織学的変化なし)、相対飲水量の増加が認められた。1,640 mg/kg 体重
11 /日投与群で腎臓の相対重量が増加したが、腎臓の病理組織学的検査は行われなか
12 った。この用量においては、母動物毒性の臨床所見として運動失調及び歩行異常
13 が観察された。

14 胚及び胎児への影響としては、1,100 mg/kg 体重/日以上の投与群において、一
15 腹当たりの胎児変異の発生頻度の上昇がみられた。1,640 mg/kg 体重/日投与群で
16 は、胚吸収の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少、胎児体重の低値、及び胎児
17 奇形の増加が認められた。観察された胎児の奇形は、尿管拡張、腎臓拡張又は腎
18 臓欠損を含む尿生殖器の奇形、無眼球症 (anophthalmia) (眼球の欠損)、椎骨
19 (vertebrae) の癒合又は不整列、及び肋骨の癒合であった。

20 NTP-CERHR (2003) は、有意な発生毒性は 1,100 及び 1,640 mg/kg 体重/日
21 投与群で生じ、催奇形性は 1,640 mg/kg 体重/日で観察され、発生毒性を引き起こ
22 す用量で母動物毒性が観察されたとしている。母動物毒性の NOAEL を 1,100
23 mg/kg 体重/日投与群における体重増加量の減少及び肝臓重量の増加に基づき 420
24 mg/kg 体重/日とし、発生毒性の NOAEL を 1,100 mg/kg 体重/日における変異の
25 増加に基づき 420 mg/kg 体重/日とした。

26 本専門調査会としては、母動物について体重増加量の減少及び肝臓相対重量の
27 増加に基づき、LOAEL を 1,100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 420 mg/kg 体重/日と
28 判断した。児動物について、変異を有する胎児の増加に基づき LOAEL を 1,100
29 mg/kg 体重/日、NOAEL を 420 mg/kg 体重/日と判断した。

30 表 12 CD (SD) ラット発生毒性試験 (GD6～15、混餌) (Field et al. 1989)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (30 匹/群)	児動物
1,640 (飼料中 2.0%)	↓体重増加量 (93%減少) ↓補正した体重増加量	↓胎児体重 (20%減少) ↓一腹当たりの生存胎児数

	(17%減少) ↓絶対摂餌量、↑体重当たりの相対摂餌量 ↑相対飲水量 ↑病理組織学的変化を伴わない肝臓の相対重量 ↑腎臓相対重量 ・運動失調、歩行異常 ¹⁾	(対照群15匹に対して10匹) ↑一腹当たりの胚吸収 (対照群4%に対して40%) ↑胚吸収を伴う腹数(対照群32%に対して86%) ↑一腹当たりの変異を伴う胎児(対照群19%に対して71%) ↑奇形胎児 ²⁾ (対照群2%に対して53%) ↑奇形を伴う腹数 (内臓・外部・骨格奇形、特に尿路・眼・脊椎の奇形) (対照群25%に対して96%)
1,100 (飼料中 1.25%)	↓体重増加量 (37%減少) ↑肝臓相対重量 ↓絶対摂餌量、↑体重当たりの相対摂餌量 ↑相対飲水量	・一腹当たりの変異を伴う胎児(対照群19%に対して41%)
420 (飼料中 0.5%)	毒性所見なし	毒性所見なし

本表は NTP-CERHR 2003 の Table 7-5 (ページ II-45) 及び本文をもとに作成。

↑↓は統計学的に有意な増減を示す。

1) 有意差の記載なし

2) 観察された胎児の奇形は、尿管拡張、腎臓拡張又は腎臓欠損を含む尿生殖器の奇形、無眼球症 (anophthalmia) (眼球の欠損)、椎骨 (vertebrae) の癒合又は不整列、及び肋骨の癒合であった。

1

2 ⑪出生前発生毒性試験 (ラット、妊娠 0~20 日、混餌) ◎

3 Ema ら (1990 ◎) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 13~17 匹) の妊娠 0
 4 ~20 日に、BBP (0、0.25、0.5、1.0、又は 2.0% : 0、185、375、654、又は 974
 5 mg/kg 体重/日相当) を混餌投与した。母動物は妊娠 20 日にと殺、剖検された。

6 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 13 に示す。

7 いずれの投与群でも母動物の死亡例はなかったが、654 mg/kg 体重/日以上
 8 の投与群において摂餌量が低下し、妊娠中の母動物の体重増加量及びその補正值 (受

1 胎した子宮重量を除いた値)の低下がみられた。974 mg/kg 体重/日投与群では着
 2 床後胚損失率が100%で、生存胎児が得られなかった。654 mg/kg 体重/日投与群
 3 では、雌雄の生存胎児体重が有意な低値を示した。375 mg/kg 体重/日投与群では、
 4 雌雄の生存胎児体重が有意な増加を示し、生存同腹児数が有意に減少したが、著
 5 者らは、この2つの指標には用量依存性がなく、この用量では着床前後の胚損失
 6 率に有意な差がみられないことから、これらの変化は偶発的なものであり、胎児
 7 体重の増加は生存同腹児数の減少による可能性があると考えしている。また、胎
 8 児体重の減少は母動物の妊娠中摂餌量減少による可能性があることから、654
 9 mg/kg 体重/日投与群の胎児体重の減少はBBPの直接的な影響より二次的な影響
 10 の可能性があると考えしている。着床前胚損失率への影響及び催奇形性は認めら
 11 れなかった。

12 著者らは、母動物毒性のNOELを体重増加量及び補正した体重増加量の減少及
 13 び摂餌量の減少に基づき、375 mg/kg 体重/日とし、胚・胎児毒性のNOELを完
 14 全な着床後胚損失に基づき、654 mg/kg 体重/日とした (Ema et al. 1990 ©)。

15 NTP-CERHR (2003) ⁶は、375 mg/kg 体重/日及び654 mg/kg 体重/日投与群
 16 で生存同腹児数が減少したこと及び654 mg/kg 体重/日投与群で胎児体重が減少
 17 したことから、著者らによる発生影響のNOAELに同意せず、発生毒性のNOAEL
 18 を185 mg/kg 体重/日と判断した。

19 EU RAR (2007) は、母動物のNOAELを654 mg/kg 体重/日投与群の補正し
 20 た体重増加量の減少に基づき、375 mg/kg 体重/日とし、児動物のNOAELを375
 21 mg/kg 体重/日投与群の一腹当たりの生存胎児数の減少に基づき、185 mg/kg 体重
 22 /日としている。

23

表 13 出生前発生毒性試験 (Wistar ラット GD0~20、混餌) (Ema et al. 1990 ©)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (13~17 匹/群)	胎児 (GD20)
974 (飼料中 2.0%)	↓ 体重増加量 ↓ 補正した体重増加量 ¹⁾ ↓ 摂餌量	↑ 一腹当たりの着床後胚 損失率 (対照群7.6%に対 して100%) ↑ 一腹当たりの総胚損失 率 ³⁾ (対照群12.7%に対 して100%)
654 (飼料中 1.0%)	↓ 体重増加量 ↓ 補正した体重増加量 ¹⁾	↓ 雌雄の胎児体重 ↓ 一腹当たりの生存胎児

⁶ NTP-CERHR (2003) は、母動物は Segment II 試験計画に従って評価されたと記載している (II-10 ページ)。

	↓摂餌量	数（対照群13.9匹に対して12.3匹） ²⁾
375 （飼料中 0.5%）	毒性所見なし	↑雌雄の胎児体重 ↓一腹当たりの生存胎児数（対照群13.9匹に対して11.3匹）
185 （飼料中 0.25%）	毒性所見なし	毒性所見なし

最高用量では生存胎児が得られなかった。

- 1) 受胎した子宮重量を除いた体重の増加量
- 2) 統計学的有意差なし

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

【事務局より】

645 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重の減少及び、375 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少について、原著 341 ページ Table1 では有意差がありますが、毒性所見としてよろしいでしょうか。

著者らは「375 mg/kg 体重/日投与群では、雌雄の生存胎児体重が有意な増加を示し、生存同腹児数が有意に減少していたが、この 2 つの指標には用量依存性がなく、この用量では着床前後の胚損失率に有意な差がみられないことから、これらの変化は偶発的なものであり、胎児体重の増加は生存同腹児数の減少による可能性がある」、また、「胎児体重の減少は母動物の妊娠中摂餌量減少による可能性があることから、654 mg/kg 体重/日投与群の胎児体重の減少は BBP の直接的な影響より二次的な影響の可能性があると考察しています。

→【曾根専門委員コメント】

著者らの意見と同様に、375 の雌雄胎児体重増加は、毒性影響ではないと判断します。

→【田中専門委員コメント】

645 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重の減少は毒性所見としてよい。375 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少については偶発所見。

【事務局より】

以下の案でいかがでしょうか。

(案)

本専門調査会としては、母動物について、体重増加量、補正した体重増加量及

1 び摂餌量の減少に基づき、LOAEL を 654 mg/kg 体重/日、NOAEL を 375 mg/kg
2 体重/日と判断した。児動物について、胎児体重の低値及び一腹当たりの生存胎児
3 数の減少に基づき、LOAEL を 654 mg/kg 体重/日、NOAEL を 375 mg/kg 体重/
4 日と判断した。

5
6
7 ⑫出生前発生毒性試験（ラット、妊娠 7～15 日、強制経口）◎

8 Ema ら（1992a ◎）は、Wistar ラット（妊娠雌、各群 10 匹）の妊娠 7 日～15
9 に BBP（0、500、750、又は 1,000 mg/kg 体重/日、オリーブ油に溶解）を強制
10 経口投与し、妊娠 20 日にと殺して剖検した。

11 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 14 に示す。

12 500 mg/kg 体重/日投与群では、投与期間中に母動物の摂餌量が有意に減少した
13 が、胚及び胎児への影響は認められなかった。750 mg/kg 体重/日投与群では、母
14 動物の体重増加量及び摂餌量が有意に低下し、胚・胎児死亡が有意に増加し、胎
15 児体重が有意に減少した。3/10 腹で完全な胚吸収が観察された（有意差なし）。ま
16 た、奇形胎児の発生頻度が著しく増加し（ $p<0.05$ ）、奇形のほとんどは口蓋裂、胸
17 骨分節癒合、及び腎盂拡張であった（いずれの発生頻度も $p<0.05$ ）。1,000 mg/kg
18 体重/日投与群では、母動物の体重増加量及び摂餌量が有意に低下し、死亡率が高
19 く、生存した母動物 6/10 匹では着床後の胚が全て吸収され、生存胎児が得られな
20 かった（Ema et al. 1992a ◎）。

21 NTP-CERHR（2003）⁷は、体重増加量の減少に基づき、母動物の LOAEL を
22 750 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日とし、出生前死亡率の増加、
23 胎児体重の低値、外部及び骨格奇形の増加に基づき、発生毒性の LOAEL を 750
24 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。

25 EU RAR（2007）では、摂餌量の減少に基づき、母動物の LOAEL を 500 mg/kg
26 体重/日とし、胎児体重の低値及び奇形に基づき、児動物の NOAEL を 500 mg/kg
27 体重/日としている。

28 本専門調査会としては、母動物について、摂餌量減少に基づき、LOAEL を 500
29 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。児動物について、一腹
30 当たりの胚吸収及び胎児死亡の増加、着床後胚損失率の増加及び生存胎児数の減
31 少、胎児体重の低値、奇形（口蓋裂、胸骨分節の癒合、腎盂拡張）の増加に基づ
32 き、LOAEL を 700 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日と判断した。

33
34

⁷ NTP-CERHR（2003）では、Segment II 試験と記載している（II-11 ページ）。

表 14 出生前発生毒性試験 (Wistar ラット GD7~15、強制経口)
(Ema et al. 1992a)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (10 匹/群)	胎児 (GD20)
1,000	↑死亡 (対照群0/10匹に対して4/10匹) ↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量	↑一腹当たりの胚吸収及び胎児死亡 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 (100%) ↑完全な胚吸収 (対照群 0/0腹に対して6/6腹)
750	↓体重増加量 ↓摂餌量	↑一腹当たりの胚吸収及び胎児死亡 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↑完全な胚吸収 3/10 腹 ¹⁾ ↓一腹当たりの生存胎児数 ↓胎児体重 (雌雄) ↑口蓋裂 (対照群0/121 匹、0/10腹に対して 12/25匹、7/7腹) ↑胸骨分節の癒合 (対照群1/81匹、0/10腹に対して4/16匹、4/7腹) ↑腎盂拡張 (対照群0/40 匹、0/10腹に対して3/9 匹、3/5腹)
500	↓摂餌量 (投与期間の GD7 ~15 のみ有意に低下し、GD0~20 では対照群と有意差なし)	毒性所見なし

1) 有意差なし

2) 受胎した子宮重量を除いた体重の増加量

1

2 ⑬出生前発生毒性試験 (ラット、妊娠 15~17 日、強制経口) 事務局

3 Ema and Miyawaki (2002) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 16 匹) の妊娠
 4 15~17 日に BBP (0、250、500、1,000 mg/kg 体重/日) を強制経口投与し、妊

1 娠 21 日にと殺し、剖検した。

2 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 15 に示す。

3 500 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣下降不全を有する雄胎児数が有意に増
4 加し、雄の AGD が有意に短縮した。

5 著者らは、妊娠 15～17 日における BBP 投与は、雄児動物の生殖系の発生に影響
6 を与えたとしている（Ema and Miyawaki 2002 事務局）。

7 本専門調査会としては、母動物について、体重増加量の減少及び摂餌量の減少
8 に基づき、LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断
9 した。児動物について、精巣下降不全の雄胎児数の増加、雄の AGD 短縮等に基づき、
10 LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。

11 表 15 出生前発生毒性試験（ラット GD15～17、強制経口）（Ema and Miyawaki 2002）

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物 (16 匹/群)	胎児 (GD21)
1,000	↓体重増加量 ↓摂餌量	↓一腹当たりの生存胎児数 ↓雌雄の胎児体重 ↑精巣下降不全の雄胎児数 ↓雄の AGD ↓体重の立方根で除した雄の AGD ↑膀胱頸部・精巣間距離
500	↓体重増加量 ↓摂餌量	↑精巣下降不全の雄胎児数 ↓雄の AGD ↓体重の立方根で除した雄の AGD ↑膀胱頸部・精巣間距離
250	毒性所見なし	毒性所見なし

12
13 ⑭発生毒性に関する臨界影響用量の検討（ラット、妊娠 6～15 日又は妊娠 6～20
14 日、強制経口）◎

15 Piersma ら（2000 ◎）は、Harlan Cpb-WU ラット（交配した雌、各群 10 匹）
16 に、10 用量の BBP（0、270、350、450、580、750、970、1,250、1,600、又は
17 2,100 mg/kg 体重/日）を妊娠 6～15 日又は妊娠 6～20 日に強制経口投与し、妊娠
18 21 日にと殺し、剖検した。母動物及び胎児の用量反応データをベンチマークドー

1 ス法を用いて解析し、エンドポイント毎に臨界影響用量（CED）を算出した。各
 2 エンドポイントの臨界影響サイズ（CES）は著者らによって 1～20%に設定され
 3 た。影響がみられたエンドポイントについて、CES 及び CED を表 16 に示す（著
 4 者らの判断）。

5 母動物毒性としては、肝臓及び腎臓相対重量の増加、血清中肝臓酵素活性（ALT、
 6 AST）の増加、脾臓における骨髓外造血の増加が観察された。胚・胎児毒性とし
 7 ては、胚吸収の増加、胎児体重の減少、骨格異常の発生率上昇、胎児の精巣重量
 8 の減少及び精巣下降遅延の発生率上昇が認められた。筆者らは、BBP による胚・
 9 胎児毒性は母動物毒性が観察された用量に比べて低い用量で認められることから、
 10 BBP は特異的な胚・胎児毒性物質であると考察し、本試験全体のベンチマークド
 11 ース（臨界影響用量の 90%信頼区間の下限値）を精巣位置異常の 1%増加に基づ
 12 く 95 mg/kg 体重/日と評価した（Piersma et al. 2000 ©）。

13 NTP-CERHR（2003）では、著者らが算出した 5 種類の胎児のエンドポイント
 14 （胚吸収率、胎児体重、第 13 過剰腰肋、精巣の位置異常及び胎児精巣の相対重
 15 量）に関する CED について、専門家パネルが決定した NOAEL とほぼ同じか、
 16 もしくはそれよりも高い用量であったとしている。

17 EU RAR（2007）では、母動物の NOAEL を 450 mg/kg 体重/日（妊娠 6～20
 18 日の投与）及び 580 mg/kg 体重/日（妊娠 6～15 日の投与）とし、児動物の NOAEL
 19 を 270 mg/kg 体重/日（妊娠 6～20 日の投与）及び 350 mg/kg 体重/日（妊娠 6～
 20 15 日の投与）としている⁸。

表 16 ラット発生毒性試験の臨界影響用量（Piersma et al. 2000）

指標	CES	CED (mg/kg 体重/日)		CED (mg/kg 体重/日)	
		短期暴露		長期暴露	
		(妊娠 6～15 日)		(妊娠 6～20 日)	
		点推定	90%信頼 区間	点推定	90%信頼 区間
<母動物>					
体重（補正值） ¹⁾	5%	1500	1143-1967	1036	725-1333
肝相対重量	5%	601	493-740	318	284-359
肝 PCO*活性	20%	1440	981-2348	90	77-99
血清中 ALAT 活性	20%	(4229)**		457	248-699
血清中 ASAT 活性	20%	749	562-NA	749	562-NA
腎相対重量	5%	630	420-844	360	244-478

⁸ 原著に各投与群における毒性所見のデータは記載されていない。

脾臓における骨髓 外造血	moderate	162	27-343	560	282-928

<胎児>					
総胚吸収の発生頻 度	1%	199	171-231	199	171-231
胎児体重	5%	463	415-512	463	415-512
第13過剰腰肋	5%	211	182-254	171	145-206
精巣の位置異常	1%	251	153-433	163	95-280
胎児の精巣相対重 量	5%	(600) ***		172	126-271

* PCO=パルミトイル CoA オキシダーゼ

*** 著者らは有意ではないため不適切な値 (irrelevant) であるとしている。

1) 胎児体重を差し引いた体重

1
2 **【事務局より】**

3 本専門調査会として、ベンチマークドーズをどのように評価したらよろしいで
4 しょうか。

5
6 **⑮ 出生前発生毒性試験（ウサギ、妊娠6～18日、経口）△**

7 NTP-CERHR (2003) によれば、Monsanto (1978 △) が New Zealand white
8 ウサギ（各群17把）を用いた発生毒性試験（Segment II）を実施している。BBP
9 （0、3.0、10 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセル入り）が妊娠6～18日に経口投
10 与され、妊娠29日にと殺された。

11 その結果、母動物毒性は認められず、胎児については体重、24時間生存率への
12 影響、投与に関連した外部奇形、内臓及び骨格奇形は観察されず、発生毒性は認
13 められなかった。

14
15 **⑯ フタル酸エステル類の発生毒性の比較試験**

16 **a. 器官形成期のBBP又はDBP投与による発生毒性の比較試験**

17 （ラット、妊娠7～9日、妊娠10～12日又は妊娠13～15日、強制経口）◎

18 Emaら (1995b ◎) は、妊娠したWistarラット（妊娠雌、各群11～13匹）
19 において、BBP 又は DBP（それぞれ0、750、1,000、又は1,250 mg/kg 体重/日、
20 オリーブ油に溶解）を妊娠7～9日、妊娠10～12日、又は妊娠13～15日に強制
21 経口投与した。妊娠20日にと殺し、剖検した。BBP 及び DBP の発生毒性を比較
22 した。

1 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 17 に示す。

2 投与期間によらず全ての DBP 及び BBP 投与群で着床後胚損失率の有意な上昇
 3 が観察された。両化合物について、妊娠 7～9 日及び妊娠 13～15 日における全て
 4 の投与群では奇形発生率が有意に上昇したが、妊娠 10～12 日の投与では奇形発生
 5 率の上昇はみられなかった。脊柱及び肋骨の奇形は主に BBP 及び DBP の妊娠 7
 6 ～9 日の投与後に観察され、口蓋裂及び胸骨分節の癒合は主に BBP 及び DBP の
 7 妊娠 13～15 日の投与後に観察された。

8 これらの結果より著者らは、BBP 及び DBP によって引き起こされる発生毒性
 9 の発現及び胎児奇形スペクトルの妊娠日齢依存性に関する類似性は、BBP 及び
 10 DBP が共通の代謝物（おそらく MBP などの代謝物）を介した同一のメカニズム
 11 によって作用することを示唆すると報告している（Ema et al. 1995b ©）。

12 本専門調査会としては、本試験において、一腹当たりの着床後胚損失率の増加
 13 等に基づき、LOAEL をとし、NOAEL は設定できないと判断した。

14 表 17 器官形成期の BBP 又は DBP 投与による発生毒性の比較試験（ラット GD7～
 9、GD10～12 又は GD13～15、強制経口）（Ema et al. 1995b）

被験物質	投与群 (mg/kg 体重/日)	投与期間		
		GD7～9	GD10～12	GD13～15
BBP	750 以上	↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↓一腹当たりの生存胎児数 ↓胎児体重 ¹⁾ ↑奇形発生率（頸椎 ³⁾ 、胸椎及び肋骨 ³⁾ の癒合及び欠損)	↑一腹当たりの着床後胚損失率	↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↓一腹当たりの生存胎児数 ↑奇形発生率（口蓋裂及び胸骨分節の癒合)
DBP	750 以上	↓一腹当たりの着床数 ²⁾ ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↓一腹当たりの生存胎児数 ↓胎児体重	↓一腹当たりの着床数 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↓一腹当たりの生存胎児数	↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↑奇形発生率（口蓋裂及び胸骨分節の癒合)

		↑ 奇形発生率（頸椎、胸椎、腰椎 ⁴⁾ 、及び肋骨の癒合及び欠損）		
--	--	--	--	--

- 1) 750 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群のみ。1,250 mg/kg 体重/日投与群では生存胎児なし。
 2) 750 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差あり。
 3) 1,000 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差あり。
 4) 1,250 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差あり。

<参考⁹⁾>

b. フタル酸エステル類 6 種による雄性生殖器系に対する発生毒性の比較試験（ラット、妊娠 14 日～生後 3 日、強制経口）◎

Gray ら (2000 ◎) は、SD ラット (妊娠雌、各群 5～10 匹) において、DEHP、BBP、DINP、DEP、DMP、又はテレフタル酸ジエチルヘキシル (DEHT)¹⁰⁾ (0、750 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解) を妊娠 14 日から生後 3 日まで強制経口投与し、抗アンドロゲン作用による性分化への影響についてフタル酸エステル類 6 種の比較を行った。自然分娩させ、雄児動物について AGD の測定 (2 日齢)、乳頭及び乳輪の観察 (13 日齢)、包皮分離の観察 (離乳後毎日) 等を行った。一部の雄児動物を 2 日齢又は 3 日齢でと殺し、精巣の重量測定及び病理組織検査を行った。他の雄は 3～5 か月齢又は 4～7 か月齢でと殺し、剖検を行った。

本専門調査会において BBP 投与群について毒性と判断した所見を表 18 に示す。

BBP を含め全ての投与群において、明らかな母動物毒性や同腹児数の減少は観察されなかった。BBP 及び DEHP 投与群の児動物では、出生時の体重の低値、生殖器の奇形により包皮分離が不完全な雄児の増加、AGD 短縮 (雄児のみ)、2 日齢の精巣重量の低値、雄児の乳輪遺残率の上昇 (DEHP 及び DINP 投与群も上昇) が観察された。剖検において、BBP 及び DEHP 投与群の雄では永続的な残留乳頭や、陰茎裂、尿道下裂、膈嚢 (vaginal pouch)、腹側前立腺、精囊、精巣上体の形成不全、精巣の液体貯留、精巣下降不全、小型精巣、精巣無形成、精巣導帯の形成不全が観察され、アンドロゲン依存性器官及び精巣の奇形発生頻度は 84% で、DEHP 投与群 (82%) と同等であった (対照群は 0%)。DINP 投与群でも 8% に奇形がみられた。臓器重量については、BBP 及び DEHP 投与群の精巣、LABC、精囊 (カウパー腺を含む)、腹側前立腺、亀頭、精巣上体の絶対重量が低値であった。

⁹⁾ 1 用量の試験であるため、参考とする。

¹⁰⁾ 原著では DOTP と記載されている。

1 著者らは、BBP、DEHP、及び DINP は雄の性分化を変化させたが、DEHT、
 2 DEP、及び DMP は同じ用量で影響を与えなかったとし、DEHP と BBP は同等
 3 の効力を有しているが、DINP は一桁活性が低かったと報告している (Gray et al.
 4 2000 ©)。
 5

表 18 BBP 投与群の毒性所見 (SD ラット GD14~PND3、強制経口投与)
 (Gray et al. 2000)

BBP 投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物及び同腹児 に対する影響	雄児の発達に対する影響
750	母動物毒性なし ↓ 出生時の同腹児 の平均体重 (対 照群より 15%減 少、DEHP 投与 群は 15%減少で 同程度の影響)	<u>新生児及び乳児期</u> ↓ PND2 の両側精巣の絶対重量 ¹⁾ (対照群 より 35%減少、DEHP 投与群は 34%減少 で同程度の影響) ↓ PND2 の AGD (対照群より 26%減少、 DEHP 投与群は 30%減少) ↑ PND13 の乳輪遺残率 (対照群 0%に対 して 70%、DEHP 投与群は 87%、DINP 投 与群は 22%) <u>思春期</u> ↑ 生殖器官の奇形による不完全な包皮分 離 (対照群 0%に対して 20%、DEHP 投与 群は 34%) <u>成獣 (剖検)</u> ↑ 一個体当たりの乳頭数 (対照群 0 に対 して 5.1、DEHP 投与群 6.3) ↑ 乳頭遺残率 (対照群 0%に対して 71%、 DEHP 投与群は 76%、DINP 投与群は 4%) ↑ アンドロゲン依存性器官及び精巣の奇 形 ²⁾ (対照群 0%に対して 84%、DEHP 投 与群は 82%、DINP 投与群は 8%) ↓ 精巣、肛門挙筋・球海綿体筋 (LABC ⁴⁾)、 精囊+カウパー腺、腹側前立腺、亀頭、精 巣上体の絶対重量 ↓ 精子産生 ³⁾

		↓精巣上部尾部の精子数 ³⁾
--	--	---------------------------

本試験の DEHT、DEP 及び DMP 投与群では、母動物及び児動物に対する影響が認められなかった。

- 1) 精巣重量は体重で調整した統計解析が行われた。
- 2) 観察された奇形とその発生頻度 (BBP/DEHP/DINP(%)) は、陰茎裂、尿道下裂、陰嚢 (vaginal pouch)、腹側前立腺形成不全、精嚢形成不全、精巣上部形成不全、精巣の液体貯留、精巣下降不全、小型精巣、精巣無形成、精巣導帯形成不全。
- 3) 原著に具体的なデータは示されていないが (data not shown)、著者らは有意な影響として報告している。
- 4) LABC: Levator ani plus bulbocavernosus muscles

1
2
3
4
5
6

<参考¹¹⁾>

⑰ モノエステル代謝物による発生毒性試験

主にラットにおいて、BBP の代謝物である 2 種類のモノエステル体、MBzP 及び MBP について、発生毒性が調べられている。本専門調査会において毒性と判断した所見を表 19 (MBzP) 及び表 20 (MBP) に示す。

¹¹⁾ BBP の代謝物を投与した試験であるため、参考とする。

表 19 MBzP による発生毒性

投与群 (用量)	動物 (匹数)	投与 方法	投与期間	投与量 (mg/kg 体重/日) 及び主な毒性所見	文献
<u>MBzP</u> (0、250、313、 375、438 又は 500 mg/kg 体重/ 日)	Wistar ラット (10～14 匹/群)	強制 経口	GD 7～15	<p><u>500</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少</p> <p><u>438 以上</u> : 一腹当たりの着床後胚損失率の増加、胎児の体重低値 (雄)、外部奇形の増加 (主に口蓋裂、438 mg/kg 体重/日投与群のみ有意)</p> <p><u>375 以上</u> : 胎児の体重低値 (雌)、内部奇形の増加 (主に腎盂拡張、腎形成不全)</p> <p><u>313 以上</u> : 投与期間中の母動物の体重増加量の減少、骨格奇形の増加 (主に頸椎、胸椎及び肋骨の癒合)</p> <p><u>250 以上</u> : 投与期間中の母動物の摂餌量の減少</p> <p>○NTP-CERHR (2003) は、母動物について、LOAEL を摂餌量の低下に基づき 250 mg/kg 体重/日と判断している。また、発生毒性の LOAEL を骨格奇形の増加に基づき 313 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日としている。</p> <p>○EU RAR (2007) は、母動物の LOAEL を摂餌量の低下に基づき 250 mg/kg 体重/日、児動物の NOAEL を奇形の増加 250 mg/kg 体重/日としている。</p>	Ema et al. 1996a ©

<p><u>MBzP</u> (0、375、500、 又は 625 mg/kg 体重/日)</p>	<p>Wistar ラット (11～15 匹/群)</p>	<p>強制 経口</p>	<p>GD 7～9</p>	<p><u>625</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少 <u>500 以上</u> : 一腹当たりの着床後胚損失率の増加、胎児の体重低値 (雄) <u>500</u> : 内部奇形の増加 (腎盂拡張) <u>375 以上</u> : 母動物の体重増加量及び摂餌量の減少、母動物の受胎した子宮重量を除く体重増加量の減少 (375、625 のみ mg/kg 体重/日投与群のみ有意)、胎児の体重低値 (雌)、骨格奇形の増加 (主に脊柱及び肋骨の癒合及び欠損) (375、625 のみ mg/kg 体重/日投与群のみ有意)</p>	<p>Ema et al. 1996c 事務局</p>
<p><u>MBzP</u> (0、250、375、 500、又は 625 mg/kg 体重/日)</p>	<p>Wistar ラット (10～12 匹/群)</p>	<p>強制 経口</p>	<p>GD 10～12</p>	<p><u>625</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加、胎児の体重低値 (雄) <u>500 以上</u> : 母動物の体重増加量の減少、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少、胎児の体重低値 (雌) <u>250 以上</u> : 母動物の受胎した子宮重量を除く体重増加量の減少 (250、500、625 mg/kg 体重/日投与群で有意)、母動物の摂餌量の減少</p>	
	<p>Wistar ラット (10～17 匹/群)</p>	<p>強制 経口</p>	<p>GD 13～15</p>	<p><u>500 以上</u> : 母動物の体重増加量の減少、完全に胚吸収された腹数の増加、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少 <u>500</u> : 外部奇形の増加 (口蓋裂)</p>	

				<p><u>375 以上</u>：骨格奇形の増加（胸骨分節の癒合）</p> <p><u>250 以上</u>：母動物の受胎した子宮重量を除く体重増加量の減少、母動物の摂餌量減少</p>	
<p><u>MBzP</u> (0、167、250、 375 mg/kg 体重/ 日)</p>	<p>Wistar ラット (16 匹/群)</p>	<p>強制 経口</p>	<p>GD15～17</p>	<p><u>375</u>：胎児体重の低値（雌雄）</p> <p><u>250 以上</u>：母動物の受胎した子宮重量を除く体重増加量の減少、精巣下降不全の雄胎児数の増加、膀胱頸部/精巣間距離の増加、雄胎児の AGD 短縮、</p> <p><u>167 以上</u>：母動物の体重増加量及び摂餌量の減少</p> <p>○EU RAR（2007）は、母動物の LOAEL を摂餌量及び体重増加量の減少に基づいて 167 mg/kg 体重/日とし、児動物の NOAEL を、375 mg/kg 体重/日投与群で認められた胎児体重増加量の減少、250 mg/kg 体重/日投与群で認められた精巣下降不全の増加及び AGD 短縮に基づき、250 mg/kg 体重/日としている（原著のとおり記載。</p>	<p>Ema et al. 2003 事務 局</p>

表 20 MBP による発生毒性

被験物質 (投与群)	動物 (匹数)	投与 方法	投与期間	投与量 (mg/kg 体重/日) 及び主な毒性所見	文献
<u>MBP</u> (0、250、500、 又は 625 mg/kg 体重/日)	Wistar ラット (11～15 匹/群)	強制 経口	GD 7～15 GD20 に剖 検	<p><u>625</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加</p> <p><u>500 以上</u> : 母動物の体重増加量及び摂餌量の低下、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少、胎児体重の減少 (雌雄)、胎児奇形 (口蓋裂) の増加</p> <p><u>500</u> : 胎児奇形 (脊柱の癒合及び欠損、腎盂拡張) の増加</p> <p><u>250</u> : 生存胎児の性比 (雄 / 雌) の減少 (250 mg/kg 体重/日のみ有意)</p> <p>○NTP-CERHR (2003) は、母動物について、体重増加量の減少に基づき MBP の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日とした。また、MBP の発生毒性については、胎児死亡率の増加、胎児体重の低下、外部及び骨格奇形の増加、内臓変異の増加に基づき LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。</p> <p>○EU RAR (2007) は、500 mg/kg 体重/日以上で認められた母動物の摂餌量及び体重増加量の減少、胚吸収、死亡胎児及び一腹当たりの着床以後胚損失の増加、奇形の増</p>	Ema et al. 1995a ◎

				加に基づき、MBP の母動物及び児動物における NOAEL を 250 mg/kg 体重/日としている。	
<u>MBP</u> (0、500、625、 又は 750 mg/kg 体重/日)	Wistar ラット (10～15 匹/群)	強制 経口	GD 7～9	<u>750</u> : 一腹当たりの生存胎児数の減少 <u>625 以上</u> : 母動物の体重増加量の減少、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、外部奇形の増加 <u>500 以上</u> : 母動物の摂餌量の減少、胎児体重の低値 (雌雄)、骨格奇形の増加 (主に頸椎の癒合及び欠損)	Ema et al. 1996b ©
			GD 10～12	<u>750</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加、胎児体重の低値 (雌雄) <u>625 以上</u> : 母動物の体重増加量及び摂餌量の減少、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少 <u>500</u> : 胎児体重の低値 (雄) ・奇形は増加せず	
			GD 13～15	<u>750</u> : 完全に胚吸収された腹数の増加 <u>625 以上</u> : 一腹当たりの生存胎児数の減少、外部奇形の増加 (主に口蓋裂)、骨格奇形の増加 (主に胸骨分節の癒合) <u>500 以上</u> : 母動物の体重増加量及び摂餌量の減少、一腹当たりの着床後胚損失率の増加	
<u>MBP</u> (0、300 mg/	Wistar-King A (WKA) ラット	強制 経口	GD 15～18	<u>1,000</u> : GD20 の膀胱頸部/精巣間距離の増加、PND30～40 の停留精巣の増加 (発生率は 84.6%、対照群 0%)	Imajima et al. 1997 ©

日：約 1,000 mg/kg 体重/日相当、ごま油に溶解)					
<u>MBP</u> (0、250、500、750 mg/kg 体重/日)	Wistar ラット (16 匹/群)	強制 経口	GD15~17	<u>750</u> ：母動物の摂餌量の減少、胎児体重の低値（雌雄） <u>500 以上</u> ：母動物の体重増加量減少、一腹当たりの胚吸収及び死亡胎児数の増加、一腹当たりの着床後胚損失率の増加、一腹当たりの生存胎児数の減少 <u>250 以上</u> ：精巣下降不全の雄胎児数の増加、雄胎児の AGD 短縮	Ema and Miyawaki 2001 事務局
<u>MBP</u> (0、300 mg/日：0、約 1,000 mg/kg 体重/日相当、対照群は GD7~18 にごま油投与)	Wistar-King A ラット (2~6 匹/群)	強制 経口	GD7~10、GD11~14、又は GD15~18	<u>1,000</u> ：GD11~14 及び GD15~18 投与群における GD20 の胎児の膀胱頸部/精巣間距離の増加、MBP 投与群の胎児における精巣内テストステロン含有量の低下	Shono ら (2000 事務局)
<u>MBP</u> (0、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日)	Wistar-King A ラット (10 匹/群)	強制 経口	GD15~17	<u>250 以上</u> ：GD20 の胎児における膀胱頸部/精巣間距離の増加、PND60~70 における用量依存的な精巣下降不全	Shono and Suita (2003 事務局)
<u>MBP</u> (0、飼料中濃度)	SD ラット (10 匹/群)	混餌	GD15~18	<u>766.2</u> ：GD19 の胎児における膀胱頸部/精巣間距離の増加、GD19 の胎児における Insl-3 の mRNA 発現量減少、	Shono ら (2005 事

1% : 766.2 mg/kg 体重/日)				PND60 における精巣下降不全、	務局)
<u>MBP</u> (0、500 mg/kg 体重/日)	SD ラット (4 匹/群)	強制 経口	GD15~18	(MBP を投与した母細胞から得られた雄児動物のうち PND90 に正常な精巣下降を示した雄を未投与雌と交配 させ、雌の妊娠率を調べた。その後、これらの雄の精巣 重量等を調べた。) <u>500</u> : 精巣下降が正常な投与雄と交配させた未投与雌の妊娠 率の低下、繁殖に用いた雄の精巣の相対重量減少、精 細管発達の病理組織学的スコアの低下	Kai et al. 2005
	SD ラット (6~8 匹/群)	強制 経口	GD15~18	<u>500</u> : 新生児の精巣内テストステロン濃度の低値	
<u>MBP</u> (0、500 mg/kg 体重/日)	マーモセット	経口	妊娠 7~15 週の母動物 に対する投 与 (9 匹)	<u>500</u> : 精巣の発達及び機能に影響を与えず	McKinnell et al. 2009
			生後 4 日の 雄児動物に 対する 14 日間投与		

1 <参考¹²⁾>

2 ⑩生殖・発生毒性の作用機序、その他の知見

3 a. 胚死亡の検討（ラット、妊娠0～20日、混餌）◎

4 Emaら（1991 ◎）は、前述の試験（Ema et al. 1990）でBBPを混餌
5 投与された妊娠ラットに摂餌量減少が観察されたため、ペアフィード群を設
6 定した試験を行い、胚及び胎児への影響が母動物の摂餌量減少による間接的
7 な作用か、あるいはBBPの直接的な作用かを検討した。

8 Wistar ラット（妊娠雌、各群13～15匹）の妊娠0～20日にBBP（0、
9 2.0%：0、974 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、妊娠20日にと殺し、剖検し
10 た。ペアフィード群はBBP投与群と同量の飼料が与えられた。

11 本専門調査会において毒性と判断した所見を表21に示す。

12 ペアフィード群及び2.0%BBP投与群は、補正した体重増加量について同
13 程度の減少を示した。ペアフィード群では、着床後胚損失率及び総胚損失率
14 が対照群よりも高く、一腹当たりの生存胎児数が対照群より低かったが、着
15 床した胚の完全な吸収はみられなかった。

16 著者らは、2.0%BBP投与群の同腹児の吸収は母動物の妊娠中の摂餌量減
17 少による栄養不良に起因しているのではなく、BBPの影響であると報告し
18 ている（Ema et al. 1991 ◎）。

19 表21 胚死亡の検討（Wistar ラットGD0～20、混餌）（Ema et al. 1991）

投与群	投与期間	母動物及び胎児への影響
2.0% BBP 投与群 (974 mg/kg 体 重/日)	GD0～20	↓体重増加量 ¹⁾ ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ （ペアフィー ド群16.5%に対して100%） ↑一腹当たりの総胚損失率 ¹⁾ （ペアフィード群 21.0%に対して100%） ↓一腹当たりの生存胎児数 ¹⁾ （ペアフィード群 12.1匹に対して0匹）
ペアフィード群	GD0～20	↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 ↑一腹当たりの着床後胚損失率（対照群 7.6%

¹²⁾ a～eは、1用量の試験であるため、参考とする。

		に対して 16.5%) ↑一腹当たりの総胚損失率 (対照群 12.7%に 対して 21.0%) ↓一腹当たりの生存胎児数 (対照群 13.9 匹に 対して 12.1 匹) ↓胎盤重量
--	--	--

↑↓は対照群と比較して有意な増減を示す。

- 1) ペアフィード群との間に有意差のあった所見
- 2) 受胎した子宮重量を除いた体重の増加量

1 b. 胚死亡及び催奇形性の検討 (ラット、妊娠 0~20 日、妊娠 0~11 日又は妊
2 娠 11~20 日、混餌) ◎

3 Ema ら (1992b ◎) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 11 匹) の妊娠 0
4 ~20 日、妊娠 0~11 日、又は妊娠 11~20 日に BBP (0、2.0%) を混餌投
5 与し、全ての母動物を妊娠 20 日にと殺し、剖検した。ペアフィード群は妊
6 娠 0~20 日の BBP 投与群と同量の飼料が与えられた。

7 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 22 に示す。

8 妊娠 0~20 日及び妊娠 0~11 日の BBP 投与では、全ての母動物におい
9 て着床した胚が完全に吸収された。妊娠 11~20 日の投与では着床後胚損失
10 率の増加はみられなかったが、胎児に主として口蓋裂及び胸骨分節の癒合が
11 認められた。

12 著者らは妊娠前期の BBP 投与は胚死亡を生じ、妊娠後期の BBP 投与は
13 催奇形性があると報告している (Ema et al. 1992b ◎)。

14

表 22 胚死亡及び催奇形性の検討 (Wistar ラット GD0~20、GD0~11 又は GD11
~20、混餌) (Ema et al. 1992b)

投与群	投与期間	母動物及び胎児への影響
2.0% BBP 投与群 ³⁾	GD0~20	↓体重増加量 ¹⁾ ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 (GD0~20) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ (ペアフィー ド群16.7%に対して100%) ↑完全に胚吸収された腹数 ¹⁾ (ペアフィード群 0/11に対して11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 ¹⁾ (ペアフィード 群12.0匹に対して0匹)

	GD0~11	↓体重増加量 ¹⁾ ↓補正した体重増加量 ¹⁾²⁾ ↓摂餌量 (GD0~11、GD0~20 ¹⁾) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群 16.7%に対して 100%) ↑完全に胚吸収された腹数 ¹⁾ (ペアフィード群 0/11 に対して 11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 ¹⁾ (ペアフィード群 12.0 匹に対して 0 匹)
	GD11~20	↓体重増加量 (GD11~20 ¹⁾ 、GD0~20) ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↑摂餌量 ¹⁾ (GD11~20、GD0~20) ↓胎児体重 (雌雄) ↑口蓋裂 ¹⁾ ↑胸骨分節の癒合等 ¹⁾
ペアフィード群	GD0~20	↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 ↓胎児体重 (雌雄)

↑ ↓は対照群と比較して有意な増減を示す。

1) ペアフィード群との間に有意差のあった所見

2) 受胎した子宮重量を除いた体重の増加量

3) BBP 投与群の 1 日の体重当たりの摂餌量の記載なし

1

2

c. 発生毒性における投与時期特異性の検討 (ラット、妊娠 0~20 日、妊娠 0~7 日、妊娠 7~16 日又は妊娠 16~20 日、混餌) ◎

3

4

Ema ら (1992c ◎) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 11~12 匹) において、BBP (2.0 %) を妊娠 0~20 日、妊娠 0~7 日、妊娠 7~16 日又は妊娠 16~20 日に混餌投与し、母動物を妊娠 20 日にと殺し、剖検した。発生毒性の投与時期特異性を調べた。ペアフィード群は妊娠 0~20 日の BBP 投与群と同量の飼料が与えられた。

7

8

本専門調査会において毒性と判断した所見を表 23 に示す。

9

10

妊娠 0~20 日の投与では着床した胚の完全な吸収がみられた。妊娠 0~7 日及び妊娠 7~16 日の投与では着床後胚損失率が増加した。妊娠 16~20 日の投与では着床後胚損失率の増加はみられなかった。妊娠 7~16 日の投与では、胎児に著しい催奇形性が認められ、主として口蓋裂及び胸骨分節の癒

11

12

13

1 合が観察された (Ema et al. 1992c ©)。

2

表 23 発生毒性における投与時期特異性の検討 (Wistar ラット GD0~20、GD0~7、GD7~16 又は GD16~20、混餌) (Ema et al. 1992c)

投与群	投与期間	母動物及び胎児への影響
2.0%BBP 投与群 ³⁾	GD0~20	↓体重増加量 ¹⁾ ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群16.7%に対して100%) ↑一腹当たりの総胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群22.0%に対して100%) ↑完全に胚吸収された腹数 ¹⁾ (ペアフィード群0/11に対して11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 ¹⁾ (ペアフィード群12.0匹に対して0匹)
	GD0~7	↓体重増加量 (GD0~7、GD0~20 ¹⁾) ↓摂餌量 (GD0~7、GD0~20 ¹⁾) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群 16.7%に対して 24.8%) ↑一腹当たりの総胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群 22.0%に対して 29.6%) ↓胎児体重 (雌雄)
	GD7~16	↓体重増加量 ¹⁾ (GD7~16、GD0~20) ↓補正した体重増加量 ¹⁾²⁾ ↓摂餌量 ¹⁾ (GD7~16、GD0~20) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群 16.7%に対して 55.8%) ↑一腹当たりの総胚損失率 ¹⁾ (ペアフィード群 22.0%に対して 59.1%) ↓一腹当たりの生存胎児数 ¹⁾ (ペアフィード群 12.0 匹に対して 6.1 匹) ↓胎児体重 (雌雄) ↑口蓋裂 ¹⁾ ↑胸骨分節の癒合 ¹⁾

	GD16~20	↓体重増加量 ¹⁾ (GD16~20、GD0~20) ↓補正した体重増加量 ¹⁾²⁾ ↓摂餌量 ¹⁾ (GD16~20、GD0~20) ↓胎児体重 (雌雄) ¹⁾
ペアフィード群	GD0~20	↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 ²⁾ ↓摂餌量 ↓胎児体重 (雌雄)

↑ ↓は対照群と比較して有意な増減を示す。

1) ペアフィード群との間に有意差のあった所見

2) 受胎した子宮重量を除いた体重の増加量

3) BBP 投与群の1日の体重当たりの摂餌量の記載なし

d. 胚死亡の検討 (ラット、妊娠 0~7 日、妊娠 0~9 日又は妊娠 0~11 日、混餌) ◎

Ema ら (1994 ◎) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 6 匹) において、BBP (0、2.0%) を妊娠 0~7 日、妊娠 0~9 日、又は妊娠 0~11 日に混餌投与し、妊娠初期に対する BBP の影響を検討した。ペアフィード群は妊娠 0 から妊娠 7、9 又は 11 日のと殺まで BBP 投与群と同量の飼料が与えられた。

本専門調査会において毒性と判断した所見を表 24 に示す。

黄体数、着床数、及び着床前胚損失率は、全ての群で同等であったが、妊娠 0~11 日の BBP 投与群のみ着床後胚損失率が高かった (98.8%)。投与期間によらず BBP 投与群では、対照群及びペアフィード群と比べて子宮及び卵巣重量が低下し、血漿中プロゲステロン濃度が低下した (妊娠 0~7 日投与群の卵巣重量を除く)。

筆者らは、妊娠初期の BBP 投与による着床後胚損失には、黄体機能の障害による血漿中プロゲステロンレベルの低下が介在することを示唆すると報告している (Ema et al. 1994 ◎)。

表 24 胚死亡の検討 (Wistar ラット GD0~7、GD0~9 又は GD0~11、混餌)

(Ema et al. 1994)

投与群		投与期間	母動物及び胎児への影響
2.0%BBP 投与群	547 mg/kg体重/日	GD0~7	↓体重増加量 ↓摂餌量 ↓子宮重量 ¹⁾

			↓卵巣重量 ↓血漿中プロゲステロン濃度 ¹⁾
	740 mg/kg 体重/日	GD0~9	↓体重増加量 ↓摂餌量 ↓子宮 ¹⁾ 及び卵巣重量 ¹⁾ ↓血漿中プロゲステロン濃度 ¹⁾
	845 mg/kg 体重/日	GD0~11	↓体重増加量 ↓摂餌量 ↑一腹当たりの胚死亡数 ¹⁾ ↓一腹当たりの胚生存数 ¹⁾ ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ¹⁾ ↓子宮 ¹⁾ 及び卵巣重量 ¹⁾ ↓血漿中プロゲステロン濃度 ¹⁾
ペアフィード群		GD0~7	↓体重増加量 ↓摂餌量 ↓卵巣重量
		GD0~9	↓体重増加量 ↓摂餌量
		GD0~11	↓体重増加量 ↓摂餌量

1 ↑ ↓は対照群と比較して有意な増減を示す。

2 1) ペアフィード群との間に有意差のあった所見

3

4 e. 雄性生殖器系に対する影響検討（ラット、妊娠 14 日～生後 3 日、強制経
5 口）△

6 Parks ら（1999）は、SD ラット（匹数の記載なし）に、BBP 又は DEHP
7 （0、750 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解）を妊娠 14 日から生後 3 日まで
8 強制経口投与する発生毒性試験を実施した。生後 2 日に、AGD、精巣重量、
9 及びテストステロン産生量（*ex vivo*）が測定された。

10 生後 2 日の精巣重量及び AGD は BBP 及び DEHP 投与群で有意に減少
11 した。生後 13 日の乳輪遺残率は、BBP 及び DEHP 投与群で有意に増加し
12 した。テストステロン産生は DEHP 投与群で低下した。

13 著者らは、これらの抗アンドロゲン様作用は、胎児のライディッヒ細胞
14 におけるアンドロゲン産生の低下による可能性があり、精巣が周産期のフタ
15 ル酸エステル暴露の標的臓器であることを示唆していると考察している
16 （Parks et al. 1999 △）。

1
2 f. 生殖発生への影響検討とメタボロミクス（ラット、妊娠 14～21 日、強制
3 経口） ×

4 Sumner ら（2009）は、妊娠 CD ラット（各群 3 匹）において、アンド
5 ロゲン依存的性分化期にあたる妊娠 14～21 日に、BBP（0、25、750 mg/kg
6 体重/日）を強制経口投与し、メタボロミクスを利用して、若齢期暴露と生
7 殖及び発生影響との間の相互関係を評価した。投与された BBP 投与量とし
8 て、児動物に影響を誘発することが知られている用量（750 mg/kg 体重/日）
9 及びこれまでに影響を誘発することが示されていない用量（25 mg/kg 体重/
10 日）が用いられた。尿サンプルは、妊娠 18 日（暴露期間）及び生後 21 日
11 の母動物並びに生後 25 日の児動物から、24 時間の間、収集された。児動
12 物において、体重、AGD 等が評価された。

13 その結果、750 mg/kg 体重/日投与群では雄児に乳輪遺残（6/6 匹）、乳頭
14 遺残（3/6 匹）、AGD 短縮（6/6 匹）、精巣上体の部分的又は全体の欠損（6/6
15 匹）、精囊欠損（6/6 匹）、前立腺の欠損又は異常（2/6 匹）、精巣の欠損又は
16 異常（4/6 匹）、陰茎裂（1/6 匹）、輸精管の部分的又は全体の欠損（3/6 匹）
17 が認められた（有意差の記載なし）。25 mg/kg 体重/日投与群では雄児に生
18 殖影響がみられ（9/16 匹）、乳輪遺残（7/16 匹）、生後 21 日の AGD 短縮（2/16
19 匹）が認められた（有意差の記載なし）。が、生後 26 日の AGD は対照群と
20 同等であった。雌児には有意な所見は認められなかった。溶媒（対照群）又
21 は BBP に暴露された母動物から収集された尿のメタボロミクスは、内因性
22 代謝物に関して異なるパターンを示した。妊娠期暴露の 3 週間後でさえ、尿
23 中の内因性化合物の代謝プロフィールは、溶媒、低用量又は高用量の BBP
24 を投与した母動物で差異が認められた。児動物においても、雄児と雌児の間
25 や、対照群、低用量群又は高用量群の間、影響が観察されない児動物と生殖
26 毒性影響が観察された児動物の間で、差異がみられた（Sumner et al. 2009
27 ×）。

28
29 【事務局より】

30 本試験は複数の用量で行われていますが、各群 3 匹と動物数が少ないた
31 め、参考資料としてよろしいでしょうか。

32
33 g. 乳腺発達に対する影響検討（ラット、妊娠 10～分娩、強制経口） △

34 Moral ら（2011 △）は、CD（SD）ラット（妊娠雌、各群 10 匹）に、
35 BBP（120 又は 500 mg/kg 体重/日、対照群はごま油）を妊娠 10 日から分
36 娩まで強制経口投与する試験を行った。雌の児動物は、21、35、50 及び 100

1 日齢で安楽死された。全載標本及び BrdU（臭素化デオキシウリジン）の取
2 り込みを指標に、乳腺の形態及び増殖指数が評価された。また、マイクロア
3 レイ及びリアルタイム RT-PCR（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応）を用いた遺
4 伝子発現解析が行われた。

5 その結果、高用量群で膺開口の有意な遅延が観察された。乳腺の形態に
6 ついては、低用量群及び高用量群で 21 日齢の末梢乳管の数の増加、高用量
7 群で 35 日齢の腺房芽状突起の数の増加がみられた ($p<0.05$)。また、増殖
8 指数については、高用量群の乳腺組織で 35 日齢の末梢芽状突起 (terminal
9 end buds)、100 日齢の末梢乳管、100 日齢の 1 型小葉における増殖細胞の
10 比率が、対照群と比べて有意に高かった。さらに、遺伝子発現解析の結果、
11 BBP に暴露されたラットの乳腺において遺伝子発現様式には用量依存的な
12 変化がみられ、発現レベルに変化のあった遺伝子は、機能カテゴリー分析に
13 よって免疫機能、細胞シグナル伝達、増殖及び分化、又は代謝に関係するこ
14 とが示された (Moral et al 2011 Δ)。

15
16 【事務局より】

17 本試験は複数の用量で行われていますが、参考資料としてよろしいでしょ
18 うか。

19 【曾根専門委員コメント】

20 原著を確認しました。データはグラフだけですが、参考文献として記載し
21 て良いと思います。

22 【田中専門委員コメント】

23 参考資料で良い。

24
25 h. 抗アンドロゲン様作用

26 *in vivo*において、BBP はラットのアンドロゲン依存的な器官の発達や性
27 分化に影響を与えることが示されている。妊娠ラットに BBP を投与した生
28 殖・発生毒性試験において、雄の児動物に精巣形成不全 (Tyl et al. 2004 \odot 、
29 Gray 2000 \odot)、精巣下降不全 (Gray 2000 \odot 、Tyl et al. 2004 \odot)、精巣
30 上体形成不全 (Tyl et al. 2004 \odot 、経済産業省 2003 \odot 、Gray 2000 \odot)、
31 精巣導帯形成不全 (Gray 2000 \odot)、外部生殖器官の奇形 (Tyl et al. 2004 \odot 、
32 Gray 2000 \odot)、AGD 短縮 (経済産業省 2003 \odot 、Nagao et al. 2000 \odot 、
33 Tyl et al. 2004 \odot 、Gray 2000 \odot 、Parks et al. 1999)、乳頭乳輪の遺残 (Tyl
34 et al. 2004 \odot 、Gray 2000 \odot 、Parks et al. 1999 Δ)、包皮分離遅延、精
35 子数減少 (Tyl et al. 2004 \odot)、血中テストステロン濃度の低下 (Nagao et
36 al. 2000 \odot)、精巣でのテストステロン産生の低下 (Howdeshell et al. 2008b

1 ◎) 等が認められている。妊娠ラットに対する MBP の投与でも出生児に停
2 留精巣が認められている (Imajima et al. 1997 ◎)。このような BBP の抗
3 アンドロゲン様作用は DEHP 及び DBP によるものと類似している。

4 Rider ら (2009 ◎) は、*in vitro* 及び *ex vivo* メカニズム試験において、
5 BBP は DEHP 及び DBP と同様にアンドロゲン受容体 (AR) への作用は示
6 さないが、胎児精巣のテストステロン産生低下や *Insl-3* (インスリン様ホル
7 モン 3) の mRNA 発現レベルの低下を引き起こすと報告している。

8 Howdeshell ら (2008a ◎) は、出生前にフタル酸エステルに暴露された
9 雄ラット胎児のライディッヒ細胞では、雄の分化に必要なテストステロン及
10 び *Insl-3* の産生が減少し、ホルモンレベルの低下が精巣上体形成不全、停
11 留精巣、尿道下裂など、出生後の生殖器官の奇形を生じるとしている。

12 13 i. エストロゲン様作用

14 BBP の *in vivo* でのエストロゲン活性については、卵巣を摘出した SD ラ
15 ット (各群 10 匹) に BBP (0、20、200、2,000 mg/kg 体重/日) を 4 日間
16 強制経口投与した試験において、子宮湿重量及び膈上皮細胞の角化に対する
17 影響は認められなかった (Zacharewski et al. 1998 ×)。著者らは、BBP
18 は *in vivo* でエストロゲン反応を誘発しなかったとしている。

19 Moore (2000 ×) のレビューでは、フタル酸ジエステルは *in vivo* の数
20 多くの試験において全身毒性が生じる用量でエストロゲン活性を示してい
21 ないことから、*in vitro* 試験において認められたフタル酸エステル類のエス
22 トロゲン活性は、「ヒト又は環境に対して関連性がない」と報告している。

23 24 j. 複合影響

25 フタル酸エステル類は、抗アンドロゲン様作用が知られている他の環境
26 化学物質とともに、複合影響をおよぼす可能性が指摘されている。

27 ラット胎児精巣のテストステロン産生 (*ex vivo*) を阻害する 5 種類のフ
28 タル酸エステル (BBP、DBP、DiBP、フタル酸ジペンチル (DPP) び DEHP)
29 を、SD ラットの妊娠 8~18 日に混合物として経口投与すると、用量相加的
30 な雄胎児精巣のテストステロン産生 (*ex vivo*) の減少や胎児死亡率の増加
31 がみられたとの報告 (Howdeshell et al. 2008b) がある。また、SD ラット
32 の妊娠 14~18 日に BBP と DBP の混合物の経口投与を行うと雄児動物の生
33 殖器官の奇形が 50%以上の発生頻度でみられたとの報告 (Rider et al. 2009、
34 Howdeshell et al. 2008b) がある。

35 これらの試験結果から、作用メカニズムが類似したフタル酸エステル類
36 を混合物で投与すると、用量相加的な影響が認められたとしている (Rider

1 et al. 2009、Howdeshell et al. 2008b)。

2 Sharpe (2008) のレビューでは、Howdeshell ら (2008b) の試験は、各
3 フタル酸エステル単独では影響がないか影響が少ない濃度でも、混合物では
4 相加作用により胎児精巣のステロイド産生抑制が生じる可能性を示唆して
5 おり、雄ラット胎児のフタル酸エステル暴露により、雄性プログラム期間
6 (male programming window) 内にテストステロン濃度が低下すると、雄
7 性生殖障害 (disorder) が誘導されると考えられるとしている。

8 また、Rider ら (2010) は、ラットを用いた試験報告において、雄性生
9 殖器官の発生に作用する化学物質混合物の子宮内暴露において、全く毒性機
10 序の異なる化合物も含め、反応相加的な予測を上回る累積作用が認められた
11 ことから、個々の化合物のメカニズムや作用様式にかかわらず累積的な用量
12 相加的影響が生じることを指摘している。

13
14
15