

1 実験動物等における影響（慢性毒性及び発がん性試験）

2

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（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。

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（有意
19 差の記載なし）。

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

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

24 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
25 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
26 最高用量である 2,074 mg/kg 体重/日と判断した。

27

28 ② 103 週間発がん性試験（ラット、混餌）◎

29 NTP（1982 ◎）は、F344/N ラット（雌雄、各群 50 匹、4 週齢）を用い
30 て、BBP（0、6,000、12,000 ppm）の混餌投与による 103 週間発がん性試
31 験を行った。NTP-CERHR（2003）では、体重当たりの BBP 摂取量につい
32 て、F344/N ラットの体重及び摂餌量に関する EPA の推定値（雄：0.380 kg
33 及び 0.030 kg/日、雌：0.229 kg 及び 0.021 kg/日）を用い、雄を 0、474、948
34 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。

35 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 6-7 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。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) 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 6-7 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 ²⁾ ↓摂餌量 (対照群の 70 ～80%) ²⁾ ↑単核細胞白血病 (MNCL)
雄 : 474 雌 : 550 (6,000ppm)		↓体重 ²⁾ ↓摂餌量 (対照群の 70 ～80%) ²⁾ <u>発がん性の毒性所見なし</u>

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 (1997a ◎) は、FDA の GLP 規則に従って実施した F344/N ラット

1 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
2 (雄雌、各群 60 匹、6 週齢) に、BBP (雄: 0、3,000、6,000、12,000 ppm、
3 雌: 0、6,000、12,000、24,000 ppm) が混餌投与された。一群当たり雌雄各
4 10 匹は、試験開始後 15 か月の中間評価に用いられた。 摂餌量から推定され
5 た BBP 摂取量は、雄の 3,000、6,000、12,000 ppm 投与群で 120、240、500
6 mg/kg 体重/日、雌の 6,000、12,000、24,000 ppm 投与群で 300、600、1,200
7 mg/kg 体重/日であった。

8 本専門調査会において毒性と判断した所見を表7-8に示す。

9 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
10 500 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
11 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
12 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、
13 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
14 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つ
15 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
16 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
17 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
18 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%、
19 $p<0.05$) 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
20 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
21 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
22 いる。腎臓では雌の ~~300 mg/kg 体重/日以上~~の投与群で慢性腎症が有意に増加
23 した (対照群 ~~68%~~に対して、各投与群で ~~94%、86%、90%~~、 $p<0.05$)。雌の
24 ~~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
25 ~~($p<0.01$)~~。皮膚では雄の ~~500 mg/kg 体重/日投与群~~で棘細胞増殖 (~~20%~~、
26 ~~$p<0.01$~~) と角化症 (~~26%~~、 ~~$p<0.01$~~) が有意に増加した (いずれも対照群 0%)。

27 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
28 (MNCL) の発生率に差はみられなかった。

29 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
30 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
31 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
32 evidence of carcinogenic activity)¹ と評価している。また、雌の F344/N ラ

1 NTP (1997a) 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、

1 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
2 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
3 evidence of carcinogenic activity)と評価している。

4 雌の腎臓の移行上皮過形成の増加について、300及び1,200 mg/kg 体重/
5 日投与群では有意差がないが、本専門調査会としては、移行上皮過形成の発
6 生頻度が全投与群で同等であることから、300 mg/kg 体重/日投与群以上の全
7 投与群で毒性所見と判断した。

8 15か月の中間評価では、臓器重量については、雌の1,200 mg/kg 体重/日
9 投与群の腎臓相対重量の増加、雌の600 mg/kg 体重/日投与群の腎臓絶対重量
10 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
11 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
12 投与群の肝臓相対重量の増加、雄の240 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣上
13 体相対重量の増加が有意であった(いずれも $p < 0.05$)。

14 EU RAR (2007) は、雄のNOAELを腎重量増加に基づき240 mg/kg 体
15 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、
16 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。

17 NTP-CERHR (2003) は、NTPによって実施された2年間試験から、非
18 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
19 腎症に基づき、120(雄)及び300(雌) mg/kg 体重/日と判断している。

20
21 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
22 づき、発がん性に関する雄のLOAELを500 mg/kg 体重/日、NOAELを
23 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
24 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
25 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、
26 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
27 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
28 を500 mg/kg 体重/日、NOAELを240 mg/kg 体重/日と判断した。雌につい
29 ては、慢性腎症及び腎臓移行上皮過形成の増加に基づき、LOAELを300
30 mg/kg 体重/日とし、NOAELは設定できないと判断した。

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、
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。

表 78 F344/N ラット 2 年間慢性毒性及び発がん性試験（混餌）（NTP 1997a）

投与群 (mg/kg 体重/日) ¹⁾	雄 (60 匹/群)	雌 (60 匹/群)
雄：実施せず 雌：1,200 (飼料中 24,000 ppm)		↓体重 ^{2) 4)} ↑腎相対重量 ²⁾ ↑肝相対重量 ²⁾ ↑膵臓の腺房細胞腺腫 ²⁾ ↑膀胱移行上皮過形成 ↑膀胱移行上皮乳頭腫 ²⁾
雄：500 雌：600 (飼料中 12,000 ppm)	↓体重 ⁴⁾ ↑肝相対重量 ²⁾ ↑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 ²⁾ ↑棘細胞増殖、角化症	↑腎絶対重量 ²⁾ ↑腎臓移行上皮過形成 <u>なし</u>
雄：240 以上 雌：300 以上 (飼料中 6,000 ppm)	<u>毒性所見なし</u>	↑慢性腎症 <u>↑腎臓移行上皮過形成 ³⁾</u>
雄：120 以上 雌：実施せず (飼料中 3,000 ppm)	<u>毒性所見なし</u>	

- 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 2-3) 有意差なし
4 3) 600 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差あり
5 4) 有意差の記載なし

7 <参考 ²⁾>

8 ④ 食餌制限試験（ラット、混餌）

²⁾ 給餌制限条件下での試験であること及び一用量の試験であることから、参考とする。

1 NTP (1997b) は、ラット及びマウスにおいて食餌制限及びこれに伴う体
2 重減少は寿命を延長し腫瘍発生頻度を減少させることが知られているため、
3 自由に餌を摂取させた条件で混餌投与した上述の③2年間慢性毒性及び発がん
4 性試験 (NTP 1997a) と併せて、給餌を制限した条件で2年間又は生涯に
5 わたって混餌投与した試験を報告している。この試験では、F344/Nラット
6 (雌雄、各群50又は60匹、6週齢) にBBP (雄: 0、12,000 ppm、雌: 0、
7 24,000 ppm) を混餌投与し、①2年間自由に摂餌させた条件下でのBBP投
8 与群と対照群との比較、②2年間自由に摂餌させたBBP投与群と給餌制限に
9 よって体重を一致させた対照群との比較、③2年間給餌制限を行った条件下
10 でのBBP投与群と対照群との比較、④生涯 (雄30か月間、雌32か月間)
11 にわたって給餌制限を行った条件下でのBBP投与群と対照群との比較が行
12 われた。給餌制限した③及び④では、自由摂餌対照群と比べて給餌制限対照
13 群の体重が15%減少する量の餌が与えられた。①～③では一群当たり雌雄各
14 60匹中10匹が試験開始後15か月の中間評価に用いられた。本試験はFDA
15 のGLP規則に従って実施された。本試験の結果を表9に示す。

16 自由摂餌させたBBP投与群の雄では、膵臓腺房細胞腺腫の発生頻度 (20%、
17 10/50匹) が自由摂餌対照群 (6%、3/50匹) 及び体重一致対照群 (0%、0/50
18 匹) と比べて増加した (両対照群との比較でいずれも $p<0.05$)。これについ
19 てNTP (1997b) は、膵臓腺房細胞腺腫の増加は膵臓腺房細胞過形成の増加
20 (自由摂餌対照群8% (4/50匹)、体重一致対照群4% (2/50匹)、BBP投与
21 群24% (12/50匹)、有意差の記載なし) を伴っていることから、これらの病
22 変がBBP投与に関連したものであることが示唆されたとし、この解釈は他の
23 ペルオキシゾーム増殖剤でも膵臓腺房細胞腫瘍の誘発が観察されていること
24 から支持されると考察している。一方、2年間給餌制限試験では膵臓の腫瘍性
25 病変の発生頻度は増加しなかったが、30か月間給餌制限試験ではBBP投与群
26 の3例の雄に腺房細胞腺腫が観察された (有意差なし)。NTP (1997b) は、
27 給餌制限が膵臓腺房細胞腫瘍の発生頻度に影響を与えることが知られており、
28 BBPによる影響が完全に発現することを給餌制限が妨げた可能性がある
29 と考察している。

30 32か月間給餌制限試験において、BBP投与群の雌で、膀胱移行上皮乳頭腫
31 又は癌腫の発生頻度 (12%、6/50匹、乳頭腫2匹、癌腫4匹) が給餌制限対
32 照群 (2%、1/49匹、乳頭腫1匹) と比べて増加した (有意差なし)。NTP
33 (1997b) は、未投与のF344/Nラットの雌に膀胱移行上皮腫瘍が観察される
34 ことは稀で、NTPの背景データにおける発生頻度は0.3% (4/1,182匹) であ
35 り、その4匹はすべて乳頭腫で癌腫は観察されていないとしている。また、
36 膀胱移行上皮腫瘍の発生頻度の増加は膀胱移行上皮過形成の発生頻度の増加

1 (32か月間給餌制限試験では、対照群0% (0/49匹)、BBP投与群32% (16/50
2 匹)、 $p<0.05$) を伴っており、膀胱移行上皮における腫瘍及び過形成の発生
3 頻度の増加の一貫性はこれらの病変がBBP投与に関連したものであること
4 を示すとしている。さらに、2年間の試験では、いずれの試験においても雌の
5 ラットで膀胱腫瘍の発生頻度は有意に増加しなかったことから、NTP (1997b)
6 は、これは体重ではなく試験期間の長さが発がん応答検出の主要因であるこ
7 とを示唆すると考察している。

8 本専門調査会としては、著者らの考察を是認し、BBPは、2年間自由摂餌
9 試験における12,000 ppm投与群の雄ラットに膵臓腺房細胞腺腫を誘発し、生
10 涯給餌制限試験における24,000 ppm投与群の雌ラットに膀胱移行上皮乳頭
11 腫又は癌腫を誘発したと判断した。また、本試験は一用量の試験のため
12 NOEL 及びLOELは設定できないと判断した。

表9 F344/N ラット食餌制限試験の結果 (NTP 1997b)

性別	項目	①自由摂餌条件下での比較 (2年間)		②体重一致対照群との比較 (2年間) 1)		③2年間給餌制限条件下での比較 2)		④生涯給餌制限条件下での比較 2) 3)	
雄	飼料中 BBP 濃度 (ppm) 4)	0	12,000	0	12,000	0	12,000	0	12,000
	体重 (g) 5)	417	379	377	379	355	336	363	340
	生存率 6)	28/50	22/50	34/50	↓22/50*	34/50	31/50	10/50	13/50
	非腫瘍性病変：膵臓腺房細胞過形成 7)	4/50	12/50	2/50	12/50	0/50	3/50	0/50	2/49
	腫瘍性病変：膵臓腺房細胞腺腫 7)	3/50	↑10/50*	0/50	↑10/50*	0/50	0/50	0/50	3/49
雌	飼料中 BBP 濃度 (ppm) 4)	0	24,000	0	24,000	0	24,000	0	24,000
	体重 (g) 5)	225	199	203	199	187	175	189	175
	生存率 6)	25/50	29/50	41/50	↓29/50*	35/50	39/50	10/50	11/50
	非腫瘍性病変：膀胱移行上皮過形成 7)	4/50	10/50 ⁹⁾	0/50	10/50 ¹⁰⁾	0/50	↑14/50*	0/49	↑16/50*
	腫瘍性病変：膀胱移行上皮乳頭腫又は癌腫 7)8)	1/50	2/50	0/50	2/50	0/50	2/50	1/49	6/50

* 対応する対照群と比べて統計学的に有意な増加又は減少を示す。

1) ②の BBP 投与群は①の BBP 投与群と同一の試験群で、自由に摂餌させた。体重一致対照群は BBP 投与群と体重が等しくなるよう給餌制限を行った。

2) ③④の給餌制限対照群には自由摂餌対照群より体重が 15%減少する量の餌を与え、BBP 投与群には給餌制限対照群と同量の餌を与えた。

3) ④の生涯試験は生存率が 20%となった時点まで行われ、その期間は雄 30 か月間、雌 32 か月間であった。

4) BBP 摂取量 (mg/kg 体重/日) は記載されていない。

5) 体重は 14～52 週における週ごとの平均体重の平均値を示す。

6) 生存数 / 試験対象数

7) 病変を有する動物数 / 電子顕微鏡で組織を検査した動物数

8) 膀胱移行上皮腫瘍のうち、癌腫は生涯給餌制限 BBP 投与群の雌 4 匹のみで、他はすべて乳頭腫であった。

9) NTP (1997a) は、BBP 投与群の膀胱移行上皮過形成は対照群と比べて有意に増加した ($p<0.05$) と記載している。

10) 有意差の記載なし。

④⑤ 慢性毒性及び発がん性試験のまとめ

マウスを用いた 103 週間混餌投与試験 (NTP 1982) において、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) 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意に上昇した。

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 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 (NTP 1997a) であり、雄の睪臓の腺房細胞腫瘍の増加に基づき、発がん性に関する LOAEL が 500mg/kg 体重/日、NOAEL が 240mg/kg 体重/日であった。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、発がん性は不明確と考えた。

フタル酸エステル類の一つである DEHP は、マウス及びラットにおいて肝臓に対する発がん性があることが知られているが (内閣府食品安全委員会 2013)、BBP については肝臓に対する発がん性はみられていない。

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 ラットを用いた 2 年間混餌投与試験 (NTP 1997a) のみであり、非発がん毒性に関する最も低い LOAEL 及び NOAEL は、雌の慢性腎症の増加に基づき、LOAEL が 300 mg/kg 体重/日であり、NOAEL は設定できないと判断した。