

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（1997a ◎）は、F344 /N ラットを用いて、10 週間反復投与試験を改良  
19 し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 精巣上体の精子検査において、20、200、2,200 mg/kg 体重/日投与群の精子数  
29 は、それぞれ対照群の 87、70 及び 0.2 % であり、200 mg/kg 体重/日以上  
30 の投与群において精子数減少が有意であった（ $p \leq 0.05$ ）（NTP 1997a ◎）。31 NTP-CERHR（2003）は、この 10 週間試験において観察された 200 mg/kg 体  
32 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  
33 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  
34 群の 50%未満まで減少した報告例（Judd et al. 1997、Ratnasooriya et al. 1987）

1 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も  
2 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  
3 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  
4 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  
5 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  
6 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  
7 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  
8 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  
9 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  
10 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  
11 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  
12 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  
13 いない可能性があることを指摘している。

14 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  
15 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  
16 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解析すると、  
17 200 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  
18 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  
19 ている。また、受胎能について、血液学的検査値の変化、体重低値、前立腺及び  
20 精巣重量の減少、精細管変性、交配後に妊娠がみられなかったことに基づき、  
21 NOAELを200 mg/kg 体重/日と判断している。全身毒性について、血液学的パラ  
22 メーター (RBC 減少、MCH 増加及び血小板数増加) 及び組織重量の変化に基づ  
23 き、NOAELを200 mg/kg 体重/日と判断している。

24 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  
25 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  
26 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  
27 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  
28 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  
29 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。

30 本専門調査会としては、200 mg/kg 体重/日投与群でみられた精子数の減少につ  
31 いて、交配から剖検までの日数を考慮した解析では有意差はないこと及び対照群  
32 の値が有効でない可能性があるという指摘があることから、毒性所見とするか判  
33 断不能であった。

34 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/  
35 日と判断した。また、200 mg/kg 体重/日投与群でみられた精子数の減少を毒性所  
36 見とするか判断不能であることから、本試験のNOAELを設定することは適切で

1 はないと判断した。  
2

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)  
(NTP1997a ◎)

投与群 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>	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 <sup>2)</sup> ↓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 <sup>3)</sup> ↓受精率 <sup>4)</sup> ↓受胎率 <sup>5)</sup> (交配を行った BBP 未投与の雌) ・軽微な貧血

- 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)

3

4

5

②一世代生殖毒性試験 (ラット、混餌) ◎

6

NTP-CERHR (2003) によれば、TNO NaFRI (1993◎) が Wistar ラットを用いて 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。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 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、446 mg/kg 体重/日、妊娠期間が 0、116、235、458 mg/kg 体重/日、及び哺育期間が 0、252、580、1,078 mg/kg 体重/日であった。

16

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。

1 標準的な生殖指標（受胎能、着床及び繁殖能）は全て正常範囲内であった。  
 2 0.8% BBP 投与群の親動物の雌において肝臓の相対重量が有意に増加したが、  
 3 本専門調査会としては、絶対重量の記載がなく、肝臓の病理組織学的所見は正常  
 4 であったことから、肝臓の相対重量の増加を毒性所見としないと判断した。

5 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  
 6 かに減少し、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  
 7 学的有意に達した。これについて TNO NaFRI (1993<sup>①</sup>) は、生後 21 日の所見  
 8 は児動物による生後 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  
 9 る。

10 TNO NaFRI (1993<sup>①</sup>) 及び NTP-CERHR (2003) は、繁殖能の NOAEL を  
 11 雄で 418 mg/kg 体重/日、雌で 446 mg/kg 体重/日とした。また、親動物の全身毒  
 12 性の NOAEL を雄で 206 mg/kg 体重/日、雌で 217 mg/kg 体重/日、LOAEL を雌  
 13 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雄で 418 mg/kg 体重/日、  
 14 雌で 446 mg/kg 体重/日とした。

15 本専門調査会としては、親動物の雄について、NOAEL を本試験の最高用量で  
 16 ある 418 mg/kg 体重/日とし、親動物の雌について、体重増加量の減少に基づき、  
 17 LOAEL を 690mg/kg 体重/日、NOAEL を 362mg/kg 体重/日と判断した。親動物  
 18 の生殖能について、NOAEL を本試験の最高用量である 690 mg/kg 体重/日と判  
 19 断した。また、児動物について、生後 21 日の体重低値に基づき、LOAEL を 690  
 20 mg/kg 体重/日、NOAEL を 362 mg/kg 体重/日と判断した<sup>1</sup>。

表 2 Wistar ラット一世代生殖毒性試験（混餌）（TNO NaFRI 1993）

投与群 (mg/kg 体重/日) <sup>1)</sup>	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	↓PND21 の体 重 (F1b) <sup>2)</sup>
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

<sup>1</sup> 雌の LOAEL 及び NOAEL について、妊娠期間を 22 日、哺育期間を 22 日と仮定し、全投  
 与期間の BBP 摂取量の加重平均 ((BBP 摂取量×期間)/投与日数) を算出した。

親動物の雌及び児動物の LOAEL、親動物の生殖能の NOAEL :

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

親動物の雌及び児動物の NOAEL :

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

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) F1<sub>b</sub> は 2 回目の交配で生まれた児動物

1

2

3

### ③生殖毒性スクリーニング試験 (ラット、強制経口) ◎

4 Piersma ら (1995 ◎) は、WU ラット (雄雌、各群 10 匹、10-11 週齢) を用  
5 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  
6 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  
7 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  
8 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  
9 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  
10 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  
11 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  
12 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 (Piersma et al. 1995  
13 ◎)。

14 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。

15 妊娠した親動物 (F0) は、0、250、500、1,000 mg/kg 体重/日投与群において、  
16 それぞれ 10 匹中 9、9、7 及び 4 匹であった (有意差の記載なし)。

17 親動物 (F0) について、1,000 mg/kg 体重/日投与群において、雄で投与 7~14  
18 日及び交配後 0~7 日の摂餌量が有意に増加し、雌で投与 7~14 日の体重増加量  
19 及び交配後 0~7 日の摂餌量が有意に増加した。また、500 mg/kg 体重/日以上  
20 の投与群において、雌で投与 7~14 日の摂餌量が有意に増加した。

21 本専門調査会としては、体重増加量の増加及び摂餌量の増加について、毒性所  
22 見としないと判断した。

23 NTP-CERHR (2003) は、発生毒性の NOAEL を 500 及び 1,000mg/kg 体重/  
24 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/日とし  
25 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基  
26 づき 1,000 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日とした。ただし、専門  
27 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 世代の測定値の不  
28 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  
29 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、NOAEL

1 を 500 mg/kg 体重/日としている。

2 EU RAR (2007) は、500 mg/kg 体重/日投与群における児動物の体重減少に基  
3 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響  
4 に対する NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。

5 本専門調査会としては、親動物について、雄の精巣変性等、雌の交配後 0~20  
6 日の体重増加量の減少、出生時及び生後 6 日の平均生存同腹児数の低下等に基づき、  
7 LOAEL を 1,000 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日と判断した。親動  
8 物の生殖能について、妊娠動物数の減少及び着床後胚損失率の増加に基づき、  
9 LOAEL を 1,000 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日と判断した。児  
10 動物について、生後 1 日の体重低値に基づき、LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、  
11 NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。  
12

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) ↓精巣+精巣上体 の絶対重量 ↑精巣変性 <sup>3)</sup>	↓体重増加量 (交配後 0~20 日) ↓摂餌量 (分娩後 0~6 日) ・妊娠 4/10 匹 <sup>1)</sup> ↑着床後胚損失率 <sup>2)</sup>	↓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	毒性所見なし	↓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。

2) 統計学的解析は実施されていない。対照群 16.8%に対して 90.3%。

3) ライディッヒ細胞の過形成及び細胞残屑を伴う

#### ④発生毒性試験 (ラット、飲水又は混餌) △

##### a. Sharpe ら (1995) の試験

17 Sharpe ら (1995△) は、雌の Wistar ラット (各群 5 匹) に交配 2 週間前  
18 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  
19 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  
20 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

1 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  
2 ～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、  
3 0.274、及び 0.366 mg/kg 体重/日と推定している (Sharpe et al. 1995△)。

4 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  
5 で、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  
6 ～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  
7 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)  
8 ( $p<0.001$ )。

9 Sharpe ら (1998) は、上記試験終了後、対照群の動物において精巣の絶対  
10 重量が一時的に、Sharpe ら (1995) の試験で陽性対照として用いられたジエ  
11 チルスチルベストロール (DES) 投与群の精巣重量の値と同程度まで (6～9%  
12 程度) 減少したことを報告し、対照群における当該変動の理由は説明できない  
13 としている。Sharpe ら (1998) は、Sharpe ら (1995) の試験結果について  
14 は、動物数などの科学的基準を満たしており、有効と考えているとしているが、  
15 何らかの生物学的要因 (生物学的要因について、具体的な記載はない) が対照  
16 群の精巣重量に影響を与えた可能性があると考えしている。

17 本専門調査会としては、0.126～0.366 mg/kg 体重/日投与群でみられた精巣  
18 の絶対及び相対重量の減少及び平均 1 日精子産生量の減少について、試験終了  
19 後に対照群の精巣重量が変動したと報告されていることから、毒性所見とする  
20 か判断不能であった。従って、本試験の LOAEL 及び NOAEL を設定すること  
21 は適切ではないと判断した。

#### 22 23 24 b. Ashby ら (1997) の試験

25 Ashby ら (1997△) はより大きな群サイズを用いて Sharpe ら (1995) に  
26 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  
27 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)  
28 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.  
29 1997△)。

30 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  
31 る卵胞刺激ホルモン (FSH) 陽性細胞数等が調べられたが、BBP 投与の影響は  
32 認められなかった。

33 本専門調査会としては、本試験について一用量の試験のため NOAEL 及び  
34 LOAEL は設定できないと判断した。

1 c. TNO NaFRI (1998) の試験

2 NTP-CERHR (2003) によれば、TNO NaFRI (1998△) から、Sharpe  
3 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。  
4 非近交系の雌の Wistar (CrI: (WI) WU BR) ラット (各群 28 匹) において、  
5 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、  
6 0.012、0.14、0.385 mg/kg 体重/日相当) の飲水投与が行われた。飲水投与し  
7 た雌を未投与の雄と 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  
8 し、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  
9 齢でと殺し、剖検が行われた。

10 その結果、BBP 投与群の母動物において交尾率、受胎率、着床後胚損失率に  
11 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 0.385 mg/kg  
12 体重/日の BBP 投与群で生後 1~4 日の死亡率が有意に上昇した (BBP 投与群  
13 の一腹当たりの解析では有意差なし)。一方、性成熟、性周期、雄の生殖器官の  
14 重量及び精子数に対する BBP 投与の影響は認められなかった。

15 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  
16 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  
17 る追試が行われた。

18 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  
19 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  
20 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  
21 腹当たりでは有意差なし)。

22 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  
23 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  
24 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。

25 NTP-CERHR (2003) は、母動物の NOAEL を 0.385 mg/kg 体重/日とした。  
26 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、  
27 0.14 mg/kg 体重/日としたが、投与群ごとに解析した場合 (有意差あり) と一  
28 腹ごとに解析した場合 (有意差なし) で結果が異なること及び、Bayer AG (1998)  
29 の試験では影響がなかったことから、信頼性は非常に低いとした。

30 本専門調査会としては、0.385 mg/kg 体重/日投与群でみられた児動物の生  
31 後 1~4 日の死亡率の増加について、対照群の値が背景値を超えているという  
32 指摘があることから、毒性所見とするか判断不能であった。従って、本試験の  
33 LOAEL 及び NOAEL を設定することは適切ではないと判断した。

34  
35  
36 d. Bayer AG (1998) の試験

1 NTP-CERHR (2003) によれば、Bayer AG (1998 △) が雌の Wistar ラット  
2 (各群 21~25 匹) の交配前 2 週間、妊娠及び授乳期間に 0、1、又は 3 ppm の  
3 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  
4 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  
5 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)  
6 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  
7 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  
8 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  
9 検が行われた。

10 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  
11 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  
12 有意な影響は認められなかった。

13 NTP-CERHR (2003) は、母動物の NOAEL 及び発生毒性の NOAEL を 0.34  
14 ~0.49 mg/kg 体重/日 (混餌) 及び 0.54~0.80 mg/kg 体重/日 (飲水) とした。

15 本専門調査会としては、本試験について、最高用量で毒性所見が認められてい  
16 ないが、他の試験に比べて、最高用量が非常に低く設定されていることから、本  
17 試験の NOAEL を設定することは適切ではないと判断した。

#### 20 e. a~d の 4 つの試験の評価

21 EU RAR (2007) は、Sharpe ら (1995)、Ashby ら (1997)、TNO NaFRI (1998)  
22 及び Bayer AG (1998) の試験 (上記④a~d の発生毒性試験) は、全体として、  
23 妊娠及び授乳期間に非常に低濃度の BBP に暴露されたラットにおいて、児動物の  
24 生殖器系に障害は観察されないことを示しているとしている。

25 本専門調査会としては、Sharpe ら (1995)、Ashby ら (1997)、TNO NaFRI  
26 (1998) 及び Bayer AG (1998) により報告された雌ラットに BBP を低用量投  
27 与 (0.06~0.80 mg/kg 体重/日) した一連の試験の結果について、

28 ①Sharpe ら (1995) の試験において認められた児動物の精巣重量の減少及び精  
29 子産生量の減少を毒性所見とするか判断不能であること

30 ②TNO NaFRI (1998) の試験において認められた児動物の生後 1~4 日の死亡率  
31 の増加を毒性所見とするか判断不能であること、

32 ③Ashby ら (1997) の試験及び Bayer AG (1998) の試験において、Sharpe ら  
33 (1995) の試験及び TNO NaFRI (1998) の試験の再現性が認められなかったこ  
34 と

35 から、Sharpe ら (1995) の試験において認められた児動物の精巣重量の減少及  
36 び精子産生量の減少並びに TNO NaFRI (1998) の試験において認められた児動

1 物の生後 1～4 日の死亡率の増加を、BBP の児動物への影響と判断するのは困難  
2 と考えた。また、上記の 4 つの試験は他の試験に比べて最高用量が非常に低く設  
3 定されていること等から、これらの試験の NOAEL を設定することは適切ではな  
4 いと判断した。従って、上記の 4 つの試験結果を TDI の設定根拠として用いるこ  
5 とは適切でない判断した。

#### 8 ⑤二世世代生殖毒性試験（ラット、強制経口）◎

9 CERl（財団法人 化学物質評価研究機構）は、Crj:CD (SD) IGS ラット（雌  
10 雄、各群 24 匹、F0 : 5 週齢、F1 : 3 週齢）を用いて、BBP（0、100、200、400  
11 mg/kg 体重/日）の強制経口投与による二世世代生殖毒性試験を実施した。BBP の投  
12 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  
13 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  
14 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、  
15 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  
16 日、F2 児動物は生後 21 日に剖検が行われた。

17 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 4 に示す。

#### 18 (案)

19 親動物の繁殖能に関する指標のうち、正常性周期率、交尾率、出産率、交尾所  
20 要日数、妊娠期間、着床数、分娩率、出産児数、精巣及び精巣上体の精子数、精  
21 子運動率及び精子形態異常率については、F0 及び F1 親動物において有意な影響  
22 はみられなかった。受胎率については、F0 親動物では対照群を含め影響はみられ  
23 なかったが、F1 親動物では対照群を含め低い成績（F1 親動物の雌の受胎率：対  
24 照群で 16/21 匹、100mg/kg 体重/日投与群で 21/22 匹、200mg/kg 体重/日投与群  
25 で 17/20 匹、400mg/kg 体重/日投与群で 13/20 匹）であった。

26 本専門調査会としては、F1 親動物でみられた受胎率の低下について、対照群の  
27 値が低いと報告されていることから、毒性所見とするか判断不能であった。従っ  
28 て、本試験の親動物の生殖能について、LOAEL 及び NOAEL を設定することは  
29 適切でない判断した。

#### 31 【事務局より】

32 ~~原著 P17 及び P20 に、受胎率については、F0 親動物では対照群を含め影響は~~  
33 ~~みられなかったが、F1 親動物では対照群を含め低い成績であったことが記載され~~  
34 ~~ております。~~

35 ~~親動物の生殖能の LOAEL/NOAEL について、上記の案でよろしいでしょうか。~~

1  
2 ~~【小野専門委員コメント】~~

3 ~~事務局案に同意します。~~

4 ~~【曾根専門委員コメント】~~

5 ~~Sharpらの実験に対する評価と同様、対照群の変動が大きいことから「LOAEL~~  
6 ~~及びNOAELを設定することは適切でない」と判断して良いと思います。~~

8  
9 精細管のびまん性萎縮が F1 親動物において全投与群でみられ、400 mg/kg 体  
10 重/日投与群で有意に増加した（100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群では有意差な  
11 し）。

12 本専門調査会としては、100 mg/kg 体重/日投与群でみられた精細管のびまん性  
13 萎縮については、対照群でも同じ発生頻度（1/24 匹）で観察されたことから、毒  
14 性所見としないと判断した。また、200mg/kg 体重/日投与群でみられた精細管の  
15 びまん性萎縮については、有意差がないが、対照群よりも発生頻度が高く（3/24  
16 匹）、用量依存性があることから、毒性所見と判断した。

17 精巣軟化並びに精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残屑が F1 親動物  
18 において全投与群でみられた（有意差なし）。

19 本専門調査会としては、精巣軟化並びに精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内  
20 精細胞残屑について、有意差がないが、対照群（いずれも 0/24 匹）よりも発生頻  
21 度が高く、用量依存性があることから、毒性所見と判断した。

22 本試験の報告書では、親動物に対する影響については、100 mg/kg 体重/日投与  
23 群で流涎、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  
24 胞残屑がみられたことから NOEL（無影響量）及び NOAEL は 100 mg/kg 体重/  
25 日未満であるとし、児動物の発生及び発育に対する NOEL 及び NOAEL は、100  
26 mg/kg 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  
27 mg/kg 体重/日未満と結論した（経済産業省、2003◎、Aso et al. 2005）。

28 本専門調査会としては、親動物の雄について、F1 親動物の流涎、精巣軟化、精  
29 巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残屑に基づき、LOAEL を 100 mg/kg  
30 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。親動物の雌について、F0 親動  
31 物の流涎、肝臓絶対及び相対重量の増加、腎臓絶対重量の増加、F1 親動物の流涎  
32 に基づき、LOAEL を 200 mg/kg 体重/日、NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断  
33 した。また、児動物について、F1 児動物の雄の体重低値、F1 児動物の雌の AGD  
34 増加、F2 児動物の雄の AGD 短縮に基づき、LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、  
35 NOAEL は設定できないと判断した。

表 4 SD ラット二世世代生殖毒性試験（強制経口）（経済産業省 2003、Aso et al. 2005）

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"> <li>・雌雄の流涎</li> <li>↑雌の肝臓絶対及び相対重量</li> <li>↑雄の肝臓相対重量</li> <li>↑雌雄の腎臓絶対及び相対重量</li> <li>↓精巣上体絶対重量</li> <li>・精巣のライディッヒ細胞過形成<sup>1)</sup></li> <li>・精巣上体の管腔内精細胞残屑<sup>1)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓雄の体重（哺育0日）</li> <li>↑雌の AGD</li> <li>↓雄の脾臓絶対及び相対重量</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・雌雄の流涎</li> <li>・雄の包皮分離遅延</li> <li>↑雌雄の肝臓相対重量</li> <li>↓精巣上体絶対重量</li> <li>↓精囊絶対重量</li> <li>・精巣の矮小</li> <li>・精巣の軟化(4/24)<sup>1)</sup></li> <li>・精巣上体の無形成、低形成、及び矮小<sup>1)</sup></li> <li>・精巣の精細管のびまん性萎縮(9/24)</li> <li>・ライディッヒ細胞過形成</li> <li>・精巣上体の管腔内精子減少(3/24)及び管腔内精細胞残屑(1/24)<sup>1)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓雄の AGD</li> <li>↓雄の脾臓絶対及び相対重量</li> </ul>
200	<ul style="list-style-type: none"> <li>・雌の流涎</li> <li>↑雌の肝臓絶対及び相対重量</li> <li>↑雌雄の腎臓絶対重量</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓雄の体重（哺育0日）</li> <li>↑雌の AGD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・雌雄の流涎</li> <li>↑雄の肝臓相対重量</li> <li>↓精巣上体絶対重量</li> <li>・精巣軟化(2/24)<sup>1)</sup></li> <li>・精巣の精細管のびまん性萎縮(3/24)<sup>1)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓雄の AGD</li> </ul>

			・ 精巣上体の管腔内精子減少(2/24) 及び管腔内精細胞残屑(3/24) <sup>1)</sup>	
100	毒性所見なし	↓雄の体重 (哺育0日) ↑雌の AGD	・ 雄の流涎 ・ 精巣軟化(1/24) <sup>1)</sup> ・ 精巣上体の管腔内精子減少 (1/24) 及び管腔内精細胞残屑 (1/24) <sup>1)</sup>	↓雄の AGD

1) 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

#### ⑥二世世代生殖毒性試験（ラット、強制経口）◎

Nagao ら（2000）は、Crj：CD（SD）IGS ラット（雌雄、各群 25 匹、雄：6 週齢、雌：13 週齢）を用いて、BBP（0、20、100、500 mg/kg 体重/日）の強制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 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 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 日に剖検され、F2 動物は生後 21 日に剖検された。

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 5 に示す。

雌雄の F0 親動物の繁殖能（交尾率、受胎率、妊娠期間、出産率）及び雌雄の F1 親動物の繁殖能に対する影響は認められなかった。

500 mg/kg 体重/日投与群で、F0 親動物の雄に脳及び肺の相対重量増加、F1 親動物の雄に脳、肺、肝臓、甲状腺及び下垂体の相対重量増加及び脾臓の絶対重量減少がみられ、F1 児動物の雌に卵巣の絶対重量減少及び子宮の相対重量増加がみられた。また、100 mg/kg 体重/日以上投与群で F1 親動物の雄に心臓の絶対重量減少がみられた。

本専門調査会としては、これらの臓器重量の変化について、絶対重量又は相対重量の一方のみに有意差があり、絶対重量と相対重量に同じ傾向がなく、相応する病理組織学的変化もみられないことから、体重増加抑制の影響である可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。100 mg/kg 体重/日以上投与群において F1 親動物の雄でみられた腎臓の相対重量増加については、絶対重量に有意差はないが増加傾向があることから、毒性所見と判断した。

1 100 mg/kg 体重/日投与群で F0 親動物の雄に血清中甲状腺刺激ホルモン(TSH)  
 2 濃度の低下がみられた。また、20 mg/kg 体重/日投与群で F0 親動物の雄に血清中  
 3 LH 濃度の低下、F0 親動物の雌に血清中 TSH 濃度の上昇がみられ、F1 児動物の  
 4 雄に血清中トリヨードチロニン (T<sub>3</sub>) 濃度の上昇がみられた。

5 本専門調査会としては、これらのホルモンレベルの変化について、用量依存性  
 6 がなく、関連臓器（甲状腺、下垂体、卵巣）に病理組織学的変化もみられないこ  
 7 とから、毒性所見としないと判断した。

8 100 mg/kg 体重/日以上投与群で F1 児動物の雄に血清中 TSH 濃度の低下が  
 9 みられたが、本専門調査会としては、TSH 濃度の低下には毒性学的意義はないこ  
 10 とから、毒性所見としないと判断した。

11 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/  
 12 日とした (Nagao et al. 2000©)。

13 EU RAR (2007) では、発生影響の NOAEL を 100 mg/kg 体重/日以上投与  
 14 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  
 15 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  
 16 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  
 17 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、  
 18 100 mg/kg 体重/日と評価した。

19 本専門調査会としては、親動物について、雌雄の F0 親動物の流涎、F0 親動物  
 20 の雌の腎臓絶対及び相対重量の増加、F0 親動物の雄の血清中 FSH 濃度の上昇、  
 21 F1 親動物の雄の最終体重の低値及び F1 親動物の雄の腎臓相対重量の増加に基づ  
 22 き、LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断した。親  
 23 動物の生殖能について、NOAEL を本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日  
 24 と判断した。児動物について、雌雄の F1 児動物の出生時体重の低値及び F1 児動  
 25 物の雌の血清中 T<sub>3</sub> 濃度の低下に基づき、LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL  
 26 を 20 mg/kg 体重/日と判断した。

27 表 5 SD ラット二世世代生殖毒性試験 (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	↓雄の体重増加量 ↓雄の最終体重 ↑雄の肝臓絶対及び相対重量 ↑雄の腎臓絶対及び相対	↓PND1~4 の生存率 (腹 単位) ↓雌雄の体重 (PND14、 21、22) ↓雄の出生時 AGD	・雌雄の流涎 <sup>1)</sup> ・包皮分離遅延 ↓生殖器系 (精巣、精巣 上体及び腹側前立腺) の 絶対重量

	重量 ↓雄の血清中テストステロン、T <sub>3</sub> 、T <sub>4</sub> 濃度 ↑雌の血清中プロラクチン ↓雌の血清中 T <sub>4</sub> 濃度 ↓卵巣の絶対及び相対重量	↑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	↓雄の血清中テストステロン、LH、T <sub>4</sub> 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 <sup>1)</sup> ↑雌の腎臓絶対及び相対重量 ↑雄の血清中 FSH 濃度	↓雌雄の出生時体重 ↓雌の血清中 T <sub>3</sub> 濃度	↓雄の最終体重 ↑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

T<sub>3</sub>: トリヨードチロニン、T<sub>4</sub>: 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

1

2

3

### ⑦二世世代生殖毒性試験 (ラット、混餌) ◎

4 Tyl ら (2004) は、CD® (SD) ラット (雌雄、各群 30 匹、7 週齢) を用いて、  
5 BBP (0、750、3,750、11,250 ppm : 0、50、250、750 mg/kg 体重/日相当) の  
6 混餌投与による二世世代生殖毒性試験<sup>2)</sup>を実施した。F0 は交配前 10 週間から、F1  
7 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  
8 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  
9 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  
10 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)、  
11 性成熟、性周期の観察も行われた。

12 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 6 に示  
13 す。

14 ~~F0 親動物の雄において、750 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対及び相対重量~~  
15 ~~増加がみられ、250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対重量増加がみられたが、本~~  
16 ~~専門調査会としては、相応する病理組織学的変化がみられないことから、毒性所~~

<sup>2)</sup> 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。

見としないと判断した。

F0 親動物の雄において、250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対重量増加がみられた。本専門調査会としては、腎臓の絶対重量、相対重量ともに用量依存性があることから腎臓に影響があることが示唆されるが、250 mg/kg 体重/日投与群では最終体重が有意差はないものの増加しているため、腎臓の絶対重量増加は体重増加の影響である可能性があると考えられること及び、相応する病理組織学的変化がみられないことから、250 mg/kg 体重/日投与群でみられた腎臓の絶対重量増加を明確な毒性ととらえることは困難であり、LOAEL の根拠所見とはしないと判断した。

【事務局より】

前回の専門調査会において、臓器重量の変化については、絶対重量又は相対重量の一方のみに有意差があり、絶対重量と相対重量に同じ傾向がなく、相応する病理組織学的変化もみられない場合は、毒性所見としないとご判断いただきました。また、Nagao ら (2000) の試験では、100 mg/kg 体重/日以上投与群の F0 親動物の雌でみられた腎臓の絶対及び相対重量の増加（腎臓の病理組織学的異常は認められなかった）を毒性所見とご判断いただきました。また、100 mg/kg 体重/日以上投与群の F1 親動物の雄でみられた腎臓の相対重量増加について、絶対重量に有意差はないが増加傾向があることから、毒性所見とご判断いただきました。

Tyl ら (2004) の試験において、F0 親動物の雄について、750mg/kg 体重/日投与群で、腎臓の絶対重量と相対重量の有意な増加がみられており、250mg/kg 体重/日投与群では腎臓の絶対重量のみ有意に増加していますが、相対重量に増加傾向があります。これらの腎臓の絶対及び相対重量の増加が毒性所見かどうかご検討をお願いいたします。（原著に記載されたデータは以下のとおりです。）

【曽根専門委員コメント】

前回では、毒性かどうか判断できないと回答しましたが、Nagao らのデータとこちらのデータの両方を合わせて考えると、750 mg/kg 体重/日投与群では確かに両指標とも有意差があり、量反応関係の傾向があることから、病理所見がなくても絶対重量及び相対重量で有意差があれば毒性所見とするということですので、毒性と判断して良いと考えます。

⇒【事務局より】

（修正案）

F0 親動物の雄において、250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対重量増加がみられたが、本専門調査会としては、腎臓の相対重量に有意差がなく、相応する病

1 理組織学的変化もみられないことから、毒性所見としないと判断した。  
2

3  
4 ~~【事務局より】~~

5 原著 248 ページ Table 1 より抜粋

6 F0 親動物における腎臓の絶対及び相対重量の変化

雄	0	750 ppm (50 mg/kg 体重/ 日)	3,750 ppm (250 mg/kg 体重/ 日)	11,250 ppm (750 mg/kg 体重/ 日)
絶対重量	4.348±0.067	4.217±0.068	4.655±0.066**	4.683±0.082**
相対重量	0.728±0.010	0.0724±0.012 —(原著のまま)—	0.752±0.010	0.800±0.010***

7  
8  
9  
10 F0 親動物の雌において、750 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の相対重量増加がみ  
11 られ、250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対及び相対重量増加がみられたが、本  
12 専門調査会としては、絶対重量については 750 mg/kg 体重/日投与群では有意差が  
13 なく、用量依存性がないこと及び、両投与群 (750、250 mg/kg 体重/日投与群)  
14 で相応する病理組織学的変化がみられないことから、体重増加抑制の影響である  
15 可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

16 F0 親動物の雌において、肝臓の病理組織学的変化が 250 mg/kg 体重/日投与群  
17 で 30 匹中 2 匹、750 mg/kg 体重/日投与群で 30 匹中 9 匹に観察された (有意差の  
18 記載なし) が、本専門調査会としては、250 mg/kg 体重/日投与群でみられた肝臓  
19 の病理組織学的変化については、対照群でも同等の発生頻度 (1/30 匹) で観察さ  
20 れたことから、毒性所見としないと判断し、750 mg/kg 体重/日投与群でみられた  
21 変化を毒性所見と判断した。

22 F1 親動物の雄において 250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶対及び相対重量増  
23 加がみられ、また、F1 親動物の雌において 250 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の絶  
24 対重量増加がみられたが、本専門調査会としては、750 mg/kg 体重/日投与群では  
25 有意差がなく、用量依存性がないこと及び、相応する病理組織学的変化がみられ  
26 ないことから、毒性所見としないと判断した。

27 F1 親動物の雄において、750 mg/kg 体重/日投与群で肝臓の相対重量増加がみ  
28 られ、250 mg/kg 体重/日投与群で肝臓の絶対及び相対重量増加がみられたが、本  
29 専門調査会としては、絶対重量については 750 mg/kg 体重/日投与群では有意差が  
30 なく、用量依存性がないこと及び、両投与群 (750、250 mg/kg 体重/日投与群)

1 で相応する病理組織学的変化がみられないことから、体重増加抑制の影響である  
2 可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

3 F1 児動物の雄において、750 mg/kg 体重/日投与群で脳の絶対重量減少及び相  
4 対重量増加がみられ、250 mg/kg 体重/日投与群で脳の絶対重量増加がみられた。  
5 また、F1 児動物の雌において、750 mg/kg 体重/日投与群で脳の絶対重量減少及  
6 び相対重量増加がみられた。本専門調査会としては、用量依存性がなく、絶対重  
7 量及び相対重量の変化に一貫性がないことから、750 mg/kg 体重/日投与群の重量  
8 変化は体重低値に伴う変化であり、250 mg/kg 体重/日投与群でみられた雄の脳絶  
9 対重量増加は体重の高値傾向に伴う変化であると考え、毒性所見としないと判断  
10 した。

11 F1 児動物の雄において 250 mg/kg 体重/日投与群で精巣の絶対及び相対重量増  
12 加がみられたが、本専門調査会としては、病理組織学的変化がみられないこと及  
13 び、750 mg/kg 体重/日投与群では F1、F2 児動物ともに精巣の絶対及び相対重量  
14 は減少しており、相応する病理組織学的変化（奇形）を伴うことから、250 mg/kg  
15 体重/日投与群での精巣重量増加を毒性所見としないと判断し、750 mg/kg 体重/  
16 日投与群での精巣重量減少を毒性所見と判断した。

17 F2 児動物の雌において 250 mg/kg 体重/日投与群で子宮の絶対重量増加がみら  
18 れたが、本専門調査会としては、750 mg/kg 体重/日投与群では有意差がなく、用  
19 量依存性がないこと及び、相応する病理組織学的変化がみられないことから、毒  
20 性所見としないと判断した。

21 750 mg/kg 体重/日投与群で、F1 親動物の雌の卵巣の相対重量増加、F1 児動物  
22 の雌雄に胸腺の絶対重量減少、雌に卵巣及び子宮の絶対重量減少がみられ、F2 児  
23 動物の雌雄に胸腺の絶対重量減少及び脳の相対重量増加、雌に卵巣の絶対重量減  
24 少がみられた。本専門調査会としては、これらの臓器重量の変化について、絶対  
25 重量又は相対重量の一方のみに有意差があり、絶対重量と相対重量に同じ傾向が  
26 なく、相応する病理組織学的変化もみられないことから、体重低値の影響である  
27 可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

28 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  
29 体重/日とした。また、F1 及び F2 児動物の毒性については、NOAEL を 250 mg/kg  
30 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  
31 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、  
32 250 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  
33 められなかったと報告している（Tyl et al. 2001、2004©）。

34 EFSA（2005）は、F1 親動物の全身毒性及び生殖毒性の NOAEL を 250 mg/kg  
35 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  
36 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。

1 EU RAR (2007) は、受胎能に対する NOAEL を 750 mg/kg 体重/日投与群の  
 2 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。  
 3 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  
 4 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  
 5 物毒性の 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  
 6 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。

7  
 8 本専門調査会としては、親動物については、F0 親動物の雌及び F1 親動物の雌雄  
 9 の体重増加量の減少、F0 親動物の雌雄の肝臓の絶対及び相対重量の増加、F0 親  
 10 動物の雌雄及び F1 親動物の雌の肝臓の病理組織学的変化等に基づき、LOAEL を  
 11 750 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。親動物の生殖能  
 12 について、F1 親動物の交尾率の減少、受胎率の減少、一腹当たりの着床数減少及  
 13 び一腹当たりの出生時生存児数減少に基づき、LOAEL を 750 mg/kg 体重/日、  
 14 NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。児動物の雄について、F1 及び F2 児  
 15 動物の一腹当たりの出生時 AGD 短縮に基づき、LOAEL を 250 mg/kg 体重/日、  
 16 NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。また、児動物の雌について、F1 及び  
 17 F2 児動物の離乳時の体重低値、脾臓の絶対及び相対重量の減少等に基づき、  
 18 LOAEL を 750 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。

19 表 6 SD ラット二世代生殖毒性試験 (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)	<u>全身毒性</u> ↓ 雌の体重増加量 <sup>1)</sup> (剖検) ↑ 雌雄の肝臓の絶対及び相対重量 ・雌雄の肝臓の病理組織学的変化 <sup>2)</sup> <u>↑ 雄の腎臓の絶対及び相対重量</u>	(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 日の一腹当たりの体重 (雌雄合算) ・雌雄の性成熟遅延 (膺開口、包皮分離) ・雄の乳頭及び乳輪遺残	<u>全身毒性</u> ↓ 雌雄の体重増加量 (剖検) ↓ 雌雄の体重 ・雌の肝臓の病理組織学的変化 <sup>2)</sup> <u>生殖毒性</u> (繁殖能) ↓ 交尾率	(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) ・雄の乳頭及び乳輪の遺残 (離乳時の剖検) ↓ 雌雄の体重 ↓ 雌雄の脾臓絶対及び相対重量

	<u>生殖毒性</u> ↓ 卵巢絶対及び相対重量 ↓ 子宮の絶対及び相対重量	(離乳時の剖検) ↓ 雌雄の体重 ↓ 雌雄の脾臓絶対及び相対重量 ↓ 精巣絶対及び相対重量 ↓ 精巣上部絶対重量 ↑ 雄の生殖器系の奇形の発生頻度 <sup>4)</sup> ↓ 卵巢絶対重量	↓ 受胎率 ↓ 一腹当たりの着床数 ↓ 一腹当たりの生存児数 (生後0日) (剖検) ↓ 精巣、精巣上部、精囊の絶対重量 ↓ 前立腺の絶対及び相対重量 ↓ 精巣上部の精子数 ↓ 精子運動性・精巣及び精巣上部の病理組織学的変化 <sup>3)</sup> ↑ 子宮の絶対及び相対重量	↓ 精巣絶対及び相対重量 ↑ 雄の生殖器系の奇形の発生頻度 <sup>4)</sup> ↓ 卵巢絶対重量
250 (3,750 ppm)	毒性所見なし	(出生～離乳前) ↓ 雄の一腹当たりの出生時 AGD	毒性所見なし	(出生～離乳前) ↓ 雄の一腹当たりの出生時 AGD
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 1) 原著にデータは示されていないと記載されている。
- 2 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 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、精巣上部の無精液症 (有意差の記載なし)
- 4 4) 精巣上部の全体又は一部欠損、精巣上部のサイズ減少、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%)

10 **【事務局より】**

11 ~~750 mg/kg 体重/日投与群における以下の臓器重量の変化について、毒性所見と~~

1 ~~してよろしいでしょうか。~~

2 ○F1 親動物の雌の卵巢の相対重量増加

3 ~~【那須専門委員コメント】 体重の変化と逆の変化。但し卵巢の重量は性周期によ~~  
4 ~~って違うでしょうか。~~

5 ~~【曾根専門委員コメント】 原著 250 ページ Table2 F1 親の卵巢の相対重量の増~~  
6 ~~加は、明確な用量依存性が認められないので、毒性所見と判断できない。体重低~~  
7 ~~下による見かけの相対重量の増加に見えます。~~

8 ~~【小野専門委員コメント】~~

9 ~~—削除~~

10  
11 ○F1 児動物の雌雄の胸腺の絶対重量減少

12 ~~【那須専門委員コメント】 体重の減少に伴う変化~~

13 ~~【曾根専門委員コメント】 有意差のない相対重量に明確な用量相関性が認められ~~  
14 ~~ないので、毒性所見とは考えられません。~~

15 ~~【小野専門委員コメント】~~

16 ~~—削除~~

17  
18 ○F1 児動物の雌の卵巢の絶対重量減少

19 ~~【那須専門委員コメント】 体重の変化に伴う変化。性周期との関連をチェックす~~  
20 ~~る必要がある。~~

21 ~~【曾根専門委員コメント】 有意差のない相対重量に用量依存的な減少が認められ~~  
22 ~~るので、毒性所見として良いです。~~

23 ~~【小野専門委員コメント】~~

24 ~~—卵巢重量の低下は F0 世代から一貫して認められているので影響と思われます。~~

25  
26 ○F1 児動物の雌の子宮の絶対重量減少

27 ~~【那須専門委員コメント】 体重の変化に伴う変化。但し、子宮の重量は性周期に~~  
28 ~~よって異なると思いますので、性周期を補正した解剖であるか、注意する必要が~~  
29 ~~あります。~~

30 ~~【曾根専門委員コメント】 明確な用量依存性が認められないので、毒性所見と判~~  
31 ~~断できない。~~

32 ~~【小野専門委員コメント】~~

33 ~~—削除~~

34  
35 ○F2 児動物の雌雄の胸腺の絶対重量減少

36 ~~【那須専門委員コメント】 体重の減少に伴う変化~~

1 ~~【曾根専門委員コメント】 相対重量に明確な用量相関性が認められないので、毒~~  
2 ~~性所見とは考えられません。~~

3 ~~【小野専門委員コメント】~~

4 ~~削除~~

5  
6 ○F2 児動物の雌雄の脳の相対重量増加

7 ~~【那須専門委員コメント】 体重の減少と逆の影響~~

8 ~~【曾根専門委員コメント】 有意差のない相対重量に明確な用量相関性が認められ~~  
9 ~~ないので、毒性所見とは考えられません。~~

10 ~~【小野専門委員コメント】~~

11 ~~削除~~

12  
13 ○F2 児動物の雌の卵巣の絶対重量減少

14 ~~【那須専門委員コメント】 体重の変化に伴う変化~~

15 ~~【曾根専門委員コメント】 絶対重量及び相対重量に用量依存的な減少が認められ~~  
16 ~~るので、毒性所見としてよいです。~~

17 ~~【小野専門委員コメント】~~

18 ~~卵巣重量の低下は F0 世代から一貫して認められているので影響と思われます。~~

19  
20 ⇒ ~~【事務局より】~~

21 ~~(案)~~

22 750 mg/kg 体重/日投与群で、F1 親動物の雌の卵巣の相対重量増加、F1 児動物  
23 の雌雄に胸腺の絶対重量減少、雌に子宮の絶対重量減少がみられ、F2 児動物の雌  
24 雄に胸腺の絶対重量減少及び脳の相対重量増加がみられた。本専門調査会として  
25 は、これらの臓器重量の変化について、絶対重量又は相対重量の一方のみに有意  
26 差があり、絶対重量と相対重量に同じ傾向がなく、相応する病理組織学的変化も  
27 みられないことから、体重低値の影響である可能性が高いと考え、毒性所見とし  
28 ないと判断した。

30  
31  
32 ⑧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<sup>3</sup>) 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 7 に示す。<sup>4</sup>

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、神経管閉鎖不全 (exencephaly)、短尾、  
10 心臓血管の異常、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  
11 mg/kg 体重/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  
12 れる胎児が増加した。

13 母動物において 2,330 mg/kg 体重/日投与群で肝臓及び腎臓の相対重量の増加  
14 がみられたが、本専門調査会としては、肝臓及び腎臓の絶対重量に有意差がなく、  
15 相応する病理組織学的変化もみられないことから、体重増加抑制の影響である可  
16 能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

17 母動物において 2,330 mg/kg 体重/日の投与群で飲水量の増加がみられたが、本  
18 専門調査会としては、腎臓に障害がみられていないこと及び、尿量等、飲水量増  
19 加が毒性であるかを判断する根拠となるデータがないことから、毒性学的な意義  
20 は不明確であると考えた。

21 NTP-CERHR (2003) は、母動物毒性の NOAEL を 910 mg/kg 体重/日投与群  
22 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  
23 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  
24 び外部奇形の増加に基づき 182 mg/kg 体重/日とした。

25 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  
26 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  
27 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、  
28 NOAEL を 182 mg/kg 体重/日と判断した。

29 表 7 CD-1 マウス出生前発生毒性試験 (GD6~15、混餌) (Price et al. 1990)

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物	児動物
------------------	-----	-----

<sup>3</sup> 胚・胎児発生に関する試験

<sup>4</sup> 本専門調査会において、NTP-CERHR (2003) 及び NTP のデータベースに掲載されて  
いる試験データ  
([http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntptox/?fuseaction=developmental.datasearch&study\\_no=TER89026&protocol\\_no=0000001&CFID=4240453&CFTOKEN=88037853](http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntptox/?fuseaction=developmental.datasearch&study_no=TER89026&protocol_no=0000001&CFID=4240453&CFTOKEN=88037853))を踏  
まえ、毒性所見とするか判断した。

<p style="text-align: center;">2,330 (飼料中 1.25%)</p>	<p>↓ 体重増加量 (71%減少) ↓ 補正した体重増加量 (25%減少) ↑ 飲水量</p>	<p>↑ 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<sup>1)</sup> (対照群59%に対して100%) ↓ 一腹当たりの生存胎児数 (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<sup>2)</sup>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%)</p>
<p style="text-align: center;">910 (飼料中 0.5%)</p>	<p>↓ 体重増加量 (15%減少)</p>	<p>↑ 一腹当たりの後期胎児死亡 (対照群07%<sup>3)</sup>に対して29%) ↑ 一腹当たりの非生存性着床率<sup>1)</sup> (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<sup>2)</sup>を伴う腹数</p>

		(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/日以上投与群で観察された奇形は、神経管閉鎖不全

(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

~~【小野専門委員コメント】~~

~~(2,330 mg/kg 体重/日投与群の母動物における、病理組織学的変化を伴わない肝臓及び腎臓の相対重量の増加について)~~

~~Price らの原著が無いので確実な判断はしかねるが、おそらくは体重増加抑制に伴う変化だと思えます。~~

~~【事務局より】~~

~~2,330mg/kg 体重/日投与群でみられた母動物の飲水量増加は、毒性所見としてよろしいでしょうか。~~

~~⇒【小野専門委員コメント】~~

~~削除で良いと思えます。~~

~~⇒【曽根専門委員コメント】~~

~~オリジナルデータ NTP-CERHR 2003 Price 1990 を見直してみますと、1.25%の最高用量で体重の低下、飲水量の増加と関連した影響が認められます。また、肝臓の絶対重量の低下、腎臓の絶対重量も増加しています。これらの所見を総合的に考えると、毒性所見として良いと考えます。~~

⑨ 出生前発生毒性試験 (ラット、妊娠 6~15 日、混餌) ◎

NTP-CERHR (2003) によれば、Field ら (1989 ◎) が CD (SD) ラット (妊娠雌、各群 30 匹) において、BBP (0, 0.5, 1.25, 又は 2.0% : 0, 420, 1,100 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

1 行った。母動物は妊娠 20 日にと殺、剖検された。

2 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 8 に示す。<sup>5</sup>

3 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  
4 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  
5 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  
6 /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  
7 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  
8 が観察された。

9 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  
10 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  
11 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  
12 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  
13 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  
14 （vertebrae）の癒合又は不整列、及び肋骨の癒合であった。

15 母動物において 1,100 mg/kg 体重/日以上の投与群で肝臓の相対重量増加がみ  
16 られたが、本専門調査会としては、肝臓の絶対重量に有意差がなく、最高用量の  
17 1,640 mg/kg 体重/日投与群で相応する病理組織学的変化がみられないことから、  
18 体重増加抑制の影響である可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

19 母動物において 1,640 mg/kg 体重/日投与群で腎臓の相対重量増加がみられた  
20 が、本専門調査会としては、腎臓の絶対重量に有意差がなく、相応する病理組織  
21 学的変化もみられない（腎臓の病理組織学的検査は行わなかった）ことから、体  
22 重増加抑制の影響である可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

23 母動物の摂餌量について、1,640 mg/kg 体重/日投与群で妊娠 6～15 日（BBP  
24 を混餌投与した期間）は低下し、妊娠 15～20 日は増加しており（有意差の記載な  
25 し）、変化が一貫していないことから、本専門調査会としては、摂餌量の変化は毒  
26 性所見としないと判断した。また、相対摂餌量の増加がみられたが、本専門調査  
27 会としては、体重増加抑制の影響である可能性が高いと考え、毒性所見としない  
28 と判断した。

29 母動物において 1,100 mg/kg 体重/日以上の投与群で相対飲水量の増加がみら  
30 れたが、本専門調査会としては、腎臓に障害がみられていないこと及び、尿量等、  
31 飲水量増加が毒性であるかを判断する根拠となるデータがないことから、毒性学

<sup>5</sup> 本専門調査会において、NTP-CERHR（2003）及び NTP のデータベースに掲載されて  
いる試験データ  
（[http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntptox/?fuseaction=developmental.datasearch&study\\_no=TER88025&protocol\\_no=0000001&CFID=4240453&CFTOKEN=88037853](http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntptox/?fuseaction=developmental.datasearch&study_no=TER88025&protocol_no=0000001&CFID=4240453&CFTOKEN=88037853)）を踏  
まえ、毒性所見とするか判断した。

1 的な意義は不明確であると考えた。

2 NTP-CERHR (2003) は、有意な発生毒性は 1,100 及び 1,640 mg/kg 体重/日  
3 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  
4 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  
5 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  
6 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  
7 増加に基づき 420 mg/kg 体重/日とした。

8 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  
9 の増加、及び飲水量の増加に基づき、LOAEL を 1,100 mg/kg 体重/日、NOAEL  
10 を 420 mg/kg 体重/日と判断した。児動物について、変異を有する胎児の増加に基  
11 づき、LOAEL を 1,100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 420 mg/kg 体重/日と判断した。  
12

表 8 CD (SD) ラット出生前発生毒性試験 (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 (17%減少) <del>↓絶対摂餌量、↑体重当た            りの摂餌量</del> ↑相対飲水量 <u>↑病理組織学的変化を伴            わない肝臓の相対重量</u> ↑腎臓相対重量 ・運動失調、歩行異常 <sup>1)</sup>	↓胎児体重 (20%減少) ↓一腹当たりの生存胎児数 (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 <sup>2)</sup> (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 <del>↓絶対摂餌量、↑体重当た            りの摂餌量</del>	<u>↑一腹当たりの変異を伴            う胎児</u> (対照群19%に対 して41%)

	↑相対飲水量	
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 ~~【事務局より】~~

3 ~~1,100mg/kg 体重/日投与群の母動物における肝臓の相対重量の増加について毒~~  
4 ~~性所見としてよろしいでしょうか。~~

5 ⇒ ~~【小野専門委員コメント】~~

6 ~~—毒性所見としない。~~

7 ⇒ ~~【曾根専門委員コメント】~~

8 ~~—全体的にみると、絶対重量の増加傾向があり、相対重量に有意な増加が認めら~~  
9 ~~れ、用量依存性があるように見えます。総合的に判断すると、毒性所見と判断で~~  
10 ~~きると考えます。~~

11 ⇒ ~~【那須専門委員コメント】~~

12 ~~—量-反応的に上昇しているのでしょうか。あるいは病理検査所見があるでしょ~~  
13 ~~うか。~~

14  
15 ~~【事務局より】~~

16 ~~6月26日の専門調査会において、摂餌量の増加については毒性所見としない~~  
17 ~~と判断されましたが、本試験において、1,640mg/kg 体重/日投与群及び1,100mg/kg~~  
18 ~~体重/日投与群でみられた絶対摂餌量の減少、体重当たりの摂餌量の増加は、毒性~~  
19 ~~所見としてよろしいでしょうか。また、相対飲水量の増加は毒性所見としてよろ~~  
20 ~~しいでしょうか。~~

21 ⇒ ~~【小野専門委員コメント】~~

22 ~~飲水量増加は削除で良いと思います。~~

23 ⇒ ~~【曾根専門委員コメント】~~

24 ~~オリジナルデータをみますと、1,640mg/kg 体重/日投与群及び1,100mg/kg 体重~~  
25 ~~/日投与群では、絶対摂餌量及び絶対飲水量が増加しています。この2用量群では、~~  
26 ~~体重が大きく減少し、相対肝重量も変化があります。有意差はわかりませんが、~~  
27 ~~絶対腎臓重量及び相対腎重量もわずかな増加傾向にあります。これらを合わせて~~

1 考えると、摂餌量の変化及び飲水量の変化は二次的な影響として、毒性所見として  
2 良いと考えます。

3 ⇒【~~那須専門委員コメント~~】

4 体重の増加量が減ったので、絶対摂餌量は変化しないが、相対摂餌量は増加し  
5 たということでしょうか。この場合は体重増加量が減ったということの方が毒性  
6 所見のような気がします。

7  
8  
9  
10 ⑩出生前発生毒性試験（ラット、妊娠0～20日、混餌）◎

11 Emaら（1990◎）は、Wistarラット（妊娠雌、各群13～17匹）の妊娠0  
12 ～20日に、BBP（0、0.25、0.5、1.0、又は2.0%：0、185、375、654、又は974  
13 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。

14 本専門調査会において毒性と判断した所見を表9に示す。

15 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/日以上の投  
16 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  
17 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  
18 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  
19 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、  
20 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  
21 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  
22 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  
23 体重の増加は生存同腹児数の減少による可能性がある」と考察している。また、胎  
24 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  
25 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  
26 の可能性があると考察している。着床前胚損失率への影響及び催奇形性は認めら  
27 れなかった。

28 本専門調査会としては、974 mg/kg体重/日投与群で一腹当たりの着床後胚損失  
29 率及び総胚損失率が100%に増加し、654 mg/kg体重/日及び375 mg/kg体重/日  
30 投与群で生存同腹児数が減少したこと（654 mg/kg体重/日投与群では有意差がな  
31 いが、生存同腹児数は375 mg/kg体重/日投与群と同等レベルである）を一連の変  
32 化であると考え、375 mg/kg体重/日投与群でみられた生存同腹児数の減少を含め、  
33 毒性所見と判断した。

34 雌雄の胎児において375 mg/kg体重/日投与群で体重の高値がみられたが、本専  
35 門調査会としては、生存同腹児数が減少していることから、生存同腹児数の減少  
36 による影響である可能性が高いと考え、毒性所見としないと判断した。

1 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  
 2 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  
 3 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 ©)。

4 NTP-CERHR (2003) <sup>6</sup>は、375 mg/kg 体重/日及び 654 mg/kg 体重/日投与群  
 5 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  
 6 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  
 7 を 185 mg/kg 体重/日と判断した。

8 EU RAR (2007) は、母動物の NOAEL を 654 mg/kg 体重/日投与群の補正し  
 9 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  
 10 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  
 11 /日としている。

12 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  
 13 び摂餌量の減少に基づき、LOAEL を 654 mg/kg 体重/日、NOAEL を 375 mg/kg  
 14 体重/日と判断した。児動物について、一腹当たりの生存胎児数の減少に基づき、  
 15 LOAEL を 375 mg/kg 体重/日、NOAEL を 185 mg/kg 体重/日と判断した。

表 9 Wistar ラット出生前発生毒性試験 (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 <sup>1)</sup> ↓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 <sup>2)</sup> (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 <sup>1)</sup> ↓摂餌量	↓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12.3匹) <sup>2)</sup>
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	毒性所見なし	毒性所見なし

<sup>6</sup> 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)。

(飼料中 0.25%)

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

~~【事務局より】~~

~~654 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】~~

~~654 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、母動物については、体重増加量、補正した体重増加量及び摂餌量の減少に基づき、LOAEL を 654 mg/kg 体重/日、NOAEL を 375 mg/kg 体重/日と判断した。児動物については、胎児体重の低値及び一腹当たりの生存胎児数の減少に基づき、LOAEL を 654 mg/kg 体重/日、NOAEL を 375 mg/kg 体重/日と判断した。~~

~~⇒【曾根専門委員コメント】~~

~~事務局案が良いです。~~

⑪出生前発生毒性試験（ラット、妊娠7～15日、強制経口）◎

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

本専門調査会において毒性と判断した所見を表10に示す。

~~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 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かった（Ema et al. 1992a ◎）。~~

NTP-CERHR（2003）<sup>7</sup>は、体重増加量の減少に基づき、母動物のLOAELを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、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 mg/kg 体重/日、NOAELを500 mg/kg 体重/日としている。

EU RAR（2007）では、摂餌量の減少に基づき、母動物のLOAELを500 mg/kg 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 体重/日としている。

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 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）の増加に基づき、LOAELを700 mg/kg 体重/日、NOAELを500 mg/kg 体重/日と判断した。

表10 Wistar ラット出生前発生毒性試験（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	↑ 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

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

	↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓摂餌量	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 <sup>1)</sup> ↓一腹当たりの生存胎児 数 ↓雌雄の胎児体重 ↑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 <sup>3)</sup>	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

3) 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

1

2

3

#### ⑫出生前発生毒性試験 (ラット、妊娠 15~17 日、強制経口) 事務局

4

Ema and Miyawaki (2002) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 16 匹) の妊娠  
15~17 日に BBP (0、250、500、1,000 mg/kg 体重/日) を強制経口投与し、妊  
娠 21 日にと殺し、剖検した。

7

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。

8

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  
加し、雄の AGD が有意に短縮した。

9

10

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  
響を与えたとしている (Ema and Miyawaki 2002 事務局)。

11

本専門調査会としては、母動物については、体重増加量の減少及び摂餌量の減少

1 に基づき、LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断  
 2 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、LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断した。  
 3  
 4

表 11 Wistar ラット出生前発生毒性試験 (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

5  
 6 ⑬マウス及びラットにおける胚毒性の比較 (出生前発生毒性試験) (マウス、妊娠  
 7 8 日及びラット、妊娠 10 日、単回経口投与)

8 Saillenfait ら (2003) は、OF1 マウス (妊娠雌、各群 15~20 匹) 及び SD ラ  
 9 ット (妊娠雌、各群 7~9 匹) を用いて BBP の単回経口投与による発生毒性試験  
 10 を実施した。未経産の雌と雄を 3 時間同居させ、交配させた。交配後に雌を一匹  
 11 ずつ隔離し、マウスを用いた試験では、妊娠 8 日に BBP (0、0.9、1.8、3.6、5.4  
 12 mmol/kg : 0、280、560、1,120、1,690 mg/kg、オリーブ油に溶解) を投与し、  
 13 ラットを用いた試験では、妊娠 10 日に BBP (0、1.8、3.6、5.4 mmol/kg : 0、560、  
 14 1,120、1,690 mg/kg、オリーブ油に溶解) を投与した。また、マウス及びラット  
 15 は、それぞれ妊娠 18 及び 21 日に剖検が行われた。

16 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。

17 OF1 マウスを用いた試験において、1,120 mg/kg 体重/日投与群で 19 匹中 1 匹

1 が投与後 24 時間以内に死亡し、また、SD ラットを用いた試験において、1,690  
 2 mg/kg 体重/日投与群で 9 匹中 1 匹が死亡したが、本専門調査会としては、死亡の  
 3 原因の記載はないことから、毒性所見とするか判断不能であった。

4 著者らは、器官形成初期における母動物への BBP 単回経口投与では、ラットの  
 5 の胚よりもマウスの胚の方がより低用量で影響を受けたと報告している  
 6 (Saillenfait et al. 2003)。

7 本専門調査会としては、OF1 マウスを用いた試験において、母動物について、  
 8 死亡数の増加及び体重増加量の減少に基づき、LOAEL を 1,120 mg/kg 体重/日、  
 9 NOAEL を 560 mg/kg 体重/日と判断した。児動物について、一腹当たりの着床後  
 10 胚損失率の増加、奇形胎児発生率の増加等に基づき、LOAEL を 560 mg/kg 体重/  
 11 日、NOAEL を 280 mg/kg 体重/日と判断した。

12 また、SD ラットを用いた試験において、母動物について、1,690 mg/kg 体重/  
 13 日投与群でみられた死亡例を毒性所見とするか判断不能であることから、LOAEL  
 14 及び NOAEL を設定することは適切ではない死亡数の増加に基づき、LOAEL を  
 15 1,690 mg/kg 体重/日、NOAEL を 1,120 mg/kg 体重/日と判断した。児動物につい  
 16 て、奇形胎児数及び奇形胎児発生率の増加に基づき、LOAEL を 1,120 mg/kg 体  
 17 重/日、NOAEL を 560 mg/kg 体重/日と判断した。

18  
 19 表 12 OF1 マウス及び SD ラットにおける胚毒性の比較（出生前発生毒性試験）  
 20 （マウス：GD8、ラット：GD10、単回経口）(Saillenfait et al. 2003)

	投与群 (mg/kg)	母動物 (15~20 匹/群)	胎児 (GD18)
マウス	1,690 (5.4 mmol/kg)	↑死亡数 <sup>1)2)</sup> (3/15 匹) ↓体重増加量 (GD9~GD18)	↓一腹当たりの生存胎児数 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↑一腹当たりの胚吸収率 ↑奇形胎児数 <sup>2)3)</sup> 及び奇形胎児 発生率 <sup>2)3)</sup> (15 匹/7 腹 及び 対 照群 0 に対して 42.9%) ↑神経管閉鎖不全 (exencephaly) <sup>2)</sup> (5 匹/3 腹) ↑肛門閉鎖 <sup>2)</sup> 及び尾部欠損又は 尾部退化 <sup>2)</sup> (10 匹/5 腹) ↓一腹当たりの平均胎児体重
	1,120 (3.6 mmol/kg)	↑死亡数 <sup>1)2)</sup> (1/19 匹) ↓体重増加量 (GD9~GD18)	↓一腹当たりの生存胎児数 ↑一腹当たりの着床後胚損失率

			↑一腹当たりの胚吸収率 ↑奇形胎児数 <sup>2)3)</sup> 及び奇形胎児発生率 <sup>2)3)</sup> (10 匹/7 腹 及び対照群 0 に対して 9.1 %)
	560 (1.8 mmol/kg)	毒性所見なし	↑一腹当たりの着床後胚損失率 ↑一腹当たりの胚吸収率 ↑奇形胎児数 <sup>2)3)</sup> 及び奇形胎児発生率 <sup>2)3)</sup> (3 匹/3 腹 及び対照群 0 に対して 2.1 %)
	280 (0.9 mmol/kg)	毒性所見なし	毒性所見なし

1

	投与群 (mg/kg)	母動物 (7~9 匹/群)	胎児 (GD21)
ラット	1,690 (5.4 mmol/kg)	<del>↑死亡数<sup>2)</sup> (1/9 匹)</del>	↑奇形胎児数 <sup>2)</sup> 及び奇形胎児発生率 <sup>2)</sup> (5 匹/2 腹 及び対照群 0 に対して 5.0 %) (奇形は、神経管閉鎖不全)
	1,120 (3.6 mmol/kg)	<del>毒性所見なし</del>	↑奇形胎児数 <sup>2)</sup> 及び奇形胎児発生率 <sup>2)</sup> (1 匹/1 腹 及び対照群 0 に対して 0.9 %) (奇形は、神経管閉鎖不全)
	560 (1.8 mmol/kg)	毒性所見なし	毒性所見なし

2 1) 投与後 24 時間以内の死亡

3 2) 有意差の記載なし

4 3) 観察された奇形は、主に神経管閉鎖不全 (exencephaly) 及び欠損又は退化した尾を伴う肛門  
5 閉鎖。髄膜瘤、二分脊椎、臍帯ヘルニア及び無頭有口症 (acephalostomia) も少ないが観察され  
6 た。

1  
2  
3 <参考<sup>8</sup>>

4 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  
5 日、強制経口）◎

6 Piersma ら（2000 ◎）は、Harlan Cpb-WU ラット（交配した雌、各群 10 匹）  
7 に、10 用量の BBP（0、270、350、450、580、750、970、1,250、1,600、又は  
8 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  
9 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  
10 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<sup>9</sup>）を算出した。各  
11 エンドポイントの臨界影響サイズ（CES<sup>10</sup>）は著者らによって 1～20%に設定され  
12 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 13 に示す（著  
13 者らの判断）。

14 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、  
15 AST) の増加、脾臓における骨髄外造血の増加が観察された。胚・胎児毒性とし  
16 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  
17 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・  
18 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、  
19 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  
20 ース（臨界影響用量の 90%信頼区間の下限值）を精巣位置異常の 1%増加に基づ  
21 く 95 mg/kg 体重/日と評価した（Piersma et al. 2000 ◎）。

22 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  
23 （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  
24 量）に関する CED について、専門家パネルが他の試験より決定した NOAEL と  
25 同程度か、もしくはそれよりも高い用量であったとしている。

26 EU RAR（2007）では、母動物の NOAEL を 450 mg/kg 体重/日（妊娠 6～20  
27 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  
28 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～  
29 15 日の投与）としている。EU RAR（2007）の記載に基づく所見を表 14 に示す<sup>11</sup>。

<sup>8</sup> EU RAR（2007）及び Piersma ら（1999）（RIVM Report no. 650040 001）に、本試験の  
ベンチマークドースの妥当性を評価するために必要な詳細な試験データの記載がないため、  
参考とする。

<sup>9</sup> 臨界影響用量（critical effect dose：CED）はベンチマークドース（benchmark dose：BMD）  
と同意。

<sup>10</sup> 臨界影響サイズ（critical effect size：CES）はベンチマークレスポンス（benchmark  
response：BMR）と同意。

<sup>11</sup> EU RAR（2007）及び Piersma ら（RIVM Report no. 650040 001）に各投与群における毒

表 13 ラット発生毒性試験の臨界影響用量（ベンチマークドース）

(Piersma et al. 2000)

指標	CES <sub>1</sub>	CED <sup>2)</sup> (mg/kg 体重/日)		CED <sup>2)</sup> (mg/kg 体重/日)	
		短期暴露 (妊娠 6~15 日)		長期暴露 (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） <sup>3)</sup>	5%	1500	1143-1967	1036	725-1333
肝相対重量	5%	601	493-740	318	284-359
肝 PCoA <sup>*</sup> 活性	20%	1440	981-2348	90	77-99
血清中 ALT 活性	20%	(4229) <sup>**</sup>		457	248-699
血清中 AST 活性	20%	749	562-NA	749	562-NA
腎相対重量	5%	630	420-844	360	244-478
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) <sup>**</sup>		172	126-271

\* PCoA=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) 臨界影響サイズ (critical effect size : CES) はベンチマークレスポンス (benchmark response : BMR) と同意。
- 2) 臨界影響用量 (critical effect dose : CED) はベンチマークドース (benchmark dose : BMD) と同意。
- 3) 胎児体重を差し引いた体重

性所見の実測データは記載されていない。

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9

表17 出生前発生毒性試験 (Cpb-WU ラット GD6~15、GD6~20、強制経口)  
 (Piersma et al. 1999)

○短期暴露 (GD6~15) 小野専門委員修正

投与群 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児 (GD21)
	25 匹/群 : 0、350、750、1,600 mg/kg 体重/日投与群 10 匹/群 : 270、450、580、 970、1,250、2,100 mg/kg 体重/日投与群	
1,600 以上	↑死亡数 <sup>4)</sup>	↑早期胚吸収
1,250 以上	↓摂餌量 (BBP 投与開始から 5 日間) <sup>4)</sup> ↑ペルオキシゾーム増殖 <sup>4)</sup> ↑脾臓相対重量 <sup>4)</sup> ・甲状腺絶対重量への影響 <sup>4)</sup> ↓血中プロゲステロン量*	なし
970 以上	・胸腺絶対重量への影響 なし	なし
750 以上	↓体重増加量 <sup>2)3)</sup> * ↑肝相対重量 <sup>3)</sup> * ↑腎絶対重量* ↑血中ヘマトクリット値 <sup>4)</sup> ・脾臓絶対重量への影響 ↑甲状腺相対重量	↑後期胚吸収 ↑骨格異常 <sup>4)</sup>
580 以上	毒性所見なし	↑精巣下降遅延 (retarded- testicular caudal migration)- <sup>2)3)</sup> ↑卵巣奇形 <sup>3)</sup>
450 以上	毒性所見なし	↓胎児体重*
350 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

本表は EU RAR (2007) の本文 (170~172 ページ) 及び Piersma ら (1999) (RIVM Report no. 650040 001) をもとに作成。

\* : 対照群と比較して有意差ありとの記載あり

1) Piersma ら (1999) (RIVM Report no. 650040 001) の Table1 によると、死亡数は 2,100

- 1 mg/kg 体重/日投与群で1匹、1,600 mg/kg 体重/日投与群で2匹
- 2) ~~長期暴露の方が短期暴露より影響が顕著~~
- 3) ~~用量相関あり~~
- 4) ~~暴露期間の記載なし (短期暴露か長期暴露か不明)~~
- 5) ~~EU RAR(2007)は、卵巣は伸長形であり、形態学的発達の遅延を示唆しているとしている。~~

○長期暴露 (GD6~20) 小野専門委員修正

<del>投与群 (mg/kg 体重/日)</del>	母動物 25匹/群: 0、350、750、1,600 mg/kg 体重/日投与群 10匹/群: 270、450、580、970、1,250、 2,100 mg/kg 体重/日投与 群	胎児 (GD21)
1,600 以上	↑死亡数 <sup>3)</sup>	↑早期胚吸収
1,250 以上	↓摂餌量 (BBP 投与開始から5日 間) <sup>8)</sup> ↑ペルオキシゾーム増殖 <sup>8)</sup> ・甲状腺絶対重量への影響 <sup>8)</sup> ↑脾臓 相対重量 <sup>8)</sup>	なし
970 以上	↑AST 値 <sup>2)</sup> ・胸腺絶対重量への影響 <sup>8)</sup>	なし
750 以上	↓体重増加量 <sup>3) 5) *</sup> ↑ALT 値 <sup>4)</sup> ↑腎絶対重量* ↑血中ヘマトクリット値 <sup>8)</sup> ・脾臓絶対重量への影響 <sup>8)</sup> ↑甲状腺 相対重量	↑後期胚吸収 ↑骨格異常 <sup>8)</sup>
580 以上	↑肝相対重量 <sup>5) *</sup>	↑精巣下降遅延 (retarded- testicular-caudal- migration) <sup>3) 5)</sup>
350 以上	なし	↓胎児体重*
270 以上	↑PCoA ↓血中プロゲステロン量 <sup>7) *</sup>	↓精巣相対重量 <sup>5) 6) *</sup>

8 本表は、EU RAR (2007) の本文 (170~172 ページ) 及び Piersma ら(1999) (RIVM Report no.  
9 650040-001) をもとに作成。

1 \*：対照群と比較し有意差ありとの記載あり

2 1) Piersma ら(1999) (RIVM Report no. 650040-001) の Table1 によると、死亡数は 2,100 mg/kg  
3 体重/日投与群で 3 匹、1,600 mg/kg 体重/日投与群で 1 匹

4 2) AST：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

5 3) 長期暴露の方が短期暴露より影響が顕著

6 4) ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ

7 5) 用量相関あり

8 6) 270 及び 580 mg/kg 体重/日以上投与群のみで有意差あり

9 7) EU RAR(2007)は、短期暴露群（剖検の 6 日前まで暴露）では 1,250mg/kg 体重/日以上の投  
10 与群でのみプロゲステロン量の減少がみられたことから、長期暴露群の低用量投与群における  
11 プロゲステロン量の減少は可逆的である可能性があるとしている。

12 8) 暴露期間の記載なし（短期暴露か長期暴露か不明）

13  
14 ~~【事務局より】~~

15 本専門調査会として、本試験のベンチマークドーズをどのように評価したらよ  
16 ろしいでしょうか。

17 ⇒ ~~【小野専門委員コメント】~~

18 実験データが公開されておらず、NOAEL とベンチマークドーズを比較できな  
19 いため、ベンチマークドーズによる計算値は参考とし、本試験の評価については、  
20 EU の NOAEL/LOAEL 評価を受け入れるのが良い。

21 ⇒ ~~【曾根専門委員コメント】~~

22 小野先生の意見に賛成です。CED 値は参照データとすべきです。

23  
24 ~~【事務局より】~~

25 ~~(案)~~

26 本専門調査会としては、本試験でみられた毒性所見の実測値の記載がないため、  
27 本試験のベンチマークドーズと NOAEL を比較することはできないと判断した。

28  
29  
30 ⑮ 出生前発生毒性試験（ウサギ、妊娠 6～18 日、経口）△

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

35 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  
36 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

められなかった。

本専門調査会としては、NOAEL を設定するために必要な詳細な試験データの記載がなく、NOAEL の判定に関する記載もないことから、本試験の NOAEL を設定することは適切ではないと判断した。

~~【事務局より】~~

~~本試験において、NOAEL を設定するために必要な試験データの詳細が不明であることから、本試験の NOAEL は判断できないと考えますが、いかがでしょうか。~~

~~【小野専門委員コメント】~~

~~NOAEL の判断はできない (しない) というところで結構です。~~

~~【田中専門委員コメント】~~

~~事務局の案で良いと思います。~~

⑯出生前発生毒性試験 (ラット、妊娠 14 日～分娩、強制経口)

Ahmad ら (2014) は、アルビノラット (妊娠雌、各群 6 匹以上) に妊娠 14 日から分娩まで BBP (0、4、20、100 mg/kg 体重/日、コーン油に溶解、対照群はコーン油投与または非投与) を強制経口投与し、雄児動物を生後 75 日にと殺して剖検した。

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。

BBP 投与群において、同腹児数、一腹当たりの生存児数、胎児死亡率、性比、出生率 (生後 1 日)、生後 4 日の生存率、生後 21 日の離乳率、雄児動物の AGD (生後 5 日及び 25 日) に有意な変化はなかった。また、児動物の身体発育について、耳介展開、毛生、開眼及び精巣下降の日齢に有意な変化はなかった。

生後 75 日の雄児動物の臓器重量について、100 mg/kg 体重/日投与群で精巣上体、前立腺及び腎臓の絶対重量が有意に減少したが、本専門調査会としては、相対重量の記載がないこと及び、生後 75 日の体重低値の影響である可能性が高いと考えられることから、毒性所見としないと判断した。

表 14 アルビノラット出生前発生毒性試験 (GD14～分娩、強制経口) (Ahmad et al. 2014)

<u>投与群 (mg/kg 体重/日)</u>	<u>母動物 (≧6 匹/群)</u>	<u>児動物</u>
<u>100</u>		<u>↓精子数</u> <u>↓精子運動率</u> <u>↑精子頭部形態異常率</u>

		<u>↓血清中テストステロン濃度 (雄の成体)</u>
<u>20 以上</u>	<u>↓GD21 の体重増加量 (%)</u>	<u>↓PND75 の体重 (雄)</u>
<u>4 以上</u>	<u>↑妊娠期間</u>	<u>↓PND1 及び 21 の体重 (雄)</u>

1 注) 非投与の対照群と比べて有意差あり

2  
3 【事務局より】

4 生後 75 日の雄児動物の臓器重量について、100 mg/kg 体重/日投与群で、精巢  
5 上体、前立腺及び腎臓の絶対重量が有意に減少しておりますが、相対重量の記載  
6 がありません。また、病理組織検査は実施されておられません。毒性所見としない  
7 と判断してよろしいでしょうか？

8  
9 【小野専門委員コメント】

10 この判断で良いと思います。

11 【曾根専門委員コメント】

12 毒性所見としない よりも、データが不十分なので評価できない、評価しない。  
13 という方が良いと思います。

14 【田中専門委員コメント】

15 曾根先生の意見と同じでデータが不十分なので評価できないという表記が適切  
16 であると思います。100 mg/kg 体重/日投与群では、精子形成とテストステロン産  
17 生に明らかな影響が認められるため、雄の副生殖腺重量に影響する可能性は高い。

18 【那須専門委員コメント】

19 この研究は考察の冒頭にも書いてあります様に、妊娠期の BBP 曝露が F1 児動  
20 物の体重を減少させて、その影響が精巢上体や前立腺の重量や精子数等に表れて  
21 いるということであると思います。従って、体重減少が毒性影響と考えてよいの  
22 ではないでしょうか。表の 100mg/kg の児動物のセルに PND75 の体重減少を入  
23 れた方が良くと思います。調査会の方針として体重変化を毒性影響と見做してい  
24 たでしょうか。次世代影響の場合は「体重減少」は通常「毒性影響」としている  
25 と思います。

26 但し、この論文の欠点は使用した動物の数の記載がないこと、群間で出産後児  
27 数を揃えていないことです。100mg/kg 投与群の児数は有意差は観察されていま  
28 せんが多い傾向です。これが PN75 の体重にどのような影響があるか疑問です。

29  
30 【事務局より】

31 4 mg/kg 体重/日投与群でみられた妊娠期間の延長、雄児動物の生後 1 日及び 21

1 日の体重低値は、毒性所見かどうかご検討をお願いいたします。

2 なお、妊娠期間について、Nagao ら (2000) の試験 (投与量: 20、100、500 mg/kg  
3 体重/日) 及び Tyl ら (2004) の試験 (投与量: 50、250、750 mg/kg 体重/日)  
4 では、妊娠期間に対する影響は認められておりません。また、児動物の体重につ  
5 いて、Nagao ら (2000) は 100 mg/kg 体重/日以上で雌雄の出生時体重低値、及  
6 び 500 mg/kg 体重/日で PND21 の雌雄の体重低値を報告しており、Tyl ら (2004)  
7 は、750 mg/kg 体重/日で雌雄の一腹当たりの出生時体重低値、生後 0~21 日の一  
8 腹当たりの体重低値、離乳時の雌雄の体重低値を報告しています。

9  
10 【小野専門委員コメント】

11 陽性対照の DES と同程度以上の影響がありますので毒性所見とすべきと思  
12 います。

13 【曾根専門委員コメント】

14 大人になると 4 mg/kg 体重は回復しています。また、母親の影響に関する情報  
15 がないので、一次的な影響かどうか判断できかねます。

16 【田中専門委員コメント】

17 毒性所見とすべきと判断します。

18 【那須専門委員コメント】

19 児動物の体重減少は量-反応的現象が見られます。4mg/kg では母動物の体重増  
20 加量には変化が見られなかったでしょうか。

21 妊娠期間の延長について、毒性影響と考えられます。

22  
23  
24  
25 **⑩⑪フタル酸エステル類の発生毒性の比較試験**

26 **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**

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

28 Ema ら (1995b ◎) は、妊娠した Wistar ラット (妊娠雌、各群 11~13 匹)  
29 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、  
30 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  
31 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  
32 した。

33 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 1815 に示す。

34 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  
35 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  
36 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

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 7～9 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 の妊娠 13～15 日の投与後に観察された。

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 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 ©)。

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等に基づき、LOAEL を 750 mg/kg 体重/日 とし、NOAEL は設定できないと判断した。

表 1815 Wistar ラット 器官形成期の BBP 又は DBP 投与による発生毒性の比較試験 (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 <sup>1)</sup> ↑奇形発生率 (頸椎 <sup>3)</sup> 、胸椎及び肋骨 <sup>3)</sup> 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 <sup>2)</sup> ↑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 ↑奇形発生率 (頸椎、胸椎、腰椎 <sup>4)</sup> 、及び肋骨の癒合	↓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)

		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<sup>12)</sup>>

### b. ⑱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)<sup>13)</sup> (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 1916 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、膣嚢 (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。

著者らは、BBP、DEHP、及び DINP は雄の性分化を変化させたが、DEHT、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

<sup>12)</sup> ± 用量の試験であるため、参考とする。

<sup>13)</sup> 原著では DOTP と記載されている。

1 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.  
2 2000 ©)。

3

表 1916 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 <sup>1)</sup> (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> ↑ 一頭体当たりの乳頭数 (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 <sup>2)</sup> (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 <sup>4)</sup> )、 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 <sup>3)</sup> ↓ 精巣上体尾部の精子数 <sup>3)</sup>

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、精巣上体形成不全、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 | **<参考<sup>14</sup>>**

4 | **⑭⑲**モノエステル代謝物による発生毒性試験

5 | 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  
6 | 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  
7 | 断した所見を表 2017 (MBzP) 及び表 2118 (MBP) に示す。

8 |  
9 | **【事務局より】**

10 | これらの試験は、代謝物を投与した試験であること、代謝物については毒性試  
11 | 験において親化合物総体として評価されること、及び代謝物 (MBzP 及び MBP)  
12 | を投与した試験においてみられた毒性所見は BBP の毒性所見と同様であること  
13 | から、代謝物に関する個別の定量評価は不要、としてよろしいでしょうか。

14 BBP の代謝物を投与した試験であるため、参考とする。

表 2017 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>
<p><u>MBzP</u> (0、230、460、920、1,380 mg/kg 体重)</p>	<p><u>OF1 マウス</u> (15～19 匹/群)</p>	<p><u>単回</u> <u>経口</u></p>	<p><u>GD 8</u></p> <p><u>GD18 に剖</u> <u>検</u></p>	<p><u>1,380</u>：母動物の体重増加量の減少（GD8～GD9）、一腹当たりの着床後胚損失率増加、一腹当たりの胚吸収率増加、<u>肛門閉鎖及び尾部欠損又は尾部退化がみられた胎児数の増加（有意差の記載なし）</u></p> <p><u>920 以上</u>：母動物の死亡（有意差の記載なし）、<u>奇形胎児数及び奇形胎児発生率増加（有意差の記載なし）、神経管閉鎖不全がみられた胎児数の増加（有意差の記載なし）</u></p>	<p><u>Saillenfait</u> <u>et al. 2003</u></p>
<p><u>MBzP</u></p>	<p><u>SD ラット</u></p>	<p><u>単回</u></p>	<p><u>GD 10</u></p>	<p><u>1,380</u>：母動物の体重増加量の減少（GD10～GD11）</p>	

<u>(0、230、460、 920、1,380 mg/kg 体重)</u>	<u>(9~13 匹/群)</u>	<u>経口</u>	<u>GD21 に剖 検</u>	<u>920 以上：母動物の死亡（有意差の記載なし）</u>	
--	-------------------	-----------	----------------------	--------------------------------	--

表 2418 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 et al. 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、200、400、)	<u>OF1 マウス</u> (20~23 匹/群)	<u>単回</u> <u>経口</u>	<u>GD 8</u>	<u>1,200</u> ：一腹当たりの平均胎児体重減少 <u>800 以上</u> ：肛門閉鎖及び尾部欠損又は尾部退化がみられた	<u>Saillenfait et al. 2003</u>

<u>800 又は 1,200 mg/kg 体重)</u>			<u>GD18 に剖検</u>	<u>胎児数の増加 (有意差の記載なし)</u> <u>800 : 母動物の死亡 (有意差の記載なし)、</u> <u>400 以上 : 母動物の体重増加量の減少 (GD9~GD18)、一腹当たりの生存胎児数減少、一腹当たりの着床後胚損失率増加、一腹当たりの胚吸収率増加</u> <u>200 以上 : 奇形胎児数及び奇形胎児発生率増加 (有意差の記載なし)、神経管閉鎖不全がみられた胎児数の増加 (有意差の記載なし)</u>	
<u>MBP (0、400、800 又は 1,200 mg/kg 体重)</u>	<u>SD ラット (11~13 匹/群)</u>	<u>単回経口</u>	<u>GD 10</u> <u>GD21 に剖検</u>	<u>毒性所見なし</u>	
<u>MBP (0、飼料中濃度 1% : 766.2 mg/kg 体重/日)</u>	<u>SD ラット (10 匹/群)</u>	<u>混餌</u>	<u>GD15~18</u>	<u>766.2 : 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、PND60 における精巣下降不全、</u>	<u>Shono et al. 2005 事務局</u>
<u>MBP (0、500 mg/kg 体重/日)</u>	<u>SD ラット (4 匹/群)</u>	<u>強制経口</u>	<u>GD15~18</u>	<u>(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> <u>500 : 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</u>	<u>Kai et al. 2005</u>

	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) ----- 生後 4 日の 雄児動物に 対する 14 日間投与	<u>500</u> : 精巣の発達及び機能に影響を与えず	McKinnell et al. 2009

1 <参考<sup>15)</sup>>

2 ⑭⑳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、ペアフェッドフイー  
6 ド群を設定した試験を行い、胚及び胎児への影響が母動物の摂餌量減少によ  
7 る間接的な作用か、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。ペアフェッドフイーード群は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 2219 に示す。

12 ペアフェッドフイーード群及び2.0%BBP投与群は、補正した体重増加量に  
13 ついて同程度の減少を示した。ペアフェッドフイーード群では、着床後胚損失  
14 率及び総胚損失率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  
15 り低かったが、着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 2219 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 <sup>1)</sup> ↓ 補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓ 摂餌量 ↑ 一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> （ペア <u>フェッ</u> <u>ド</u> フイーード群16.5%に対して100%） ↑ 一腹当たりの総胚損失率 <sup>1)</sup> （ペア <u>フェッ</u> <u>ド</u> フイーード群21.0%に対して100%） ↓ 一腹当たりの生存胎児数 <sup>1)</sup> （ペア <u>フェッ</u> <u>ド</u> フイーード群12.1匹に対して0匹）
ペア <u>フェッ</u> <u>ド</u> フイーード群	GD0～20	↓ 体重増加量 ↓ 補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓ 摂餌量 ↑ 一腹当たりの着床後胚損失率（対照群 7.6%

<sup>15)</sup> a～e は、一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) ペアフェッド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。ペアフェッドフィ  
6 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 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 2320 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 2320 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 <sup>3)</sup>	GD0~20	↓体重増加量 <sup>1)</sup> ↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓摂餌量 (GD0~20) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッ ドフィード群 16.7%に対して 100%) ↑完全に胚吸収された腹数 <sup>1)</sup> (ペアフェッ ドフィード群 0/11 に対して 11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 <sup>1)</sup> (ペアフェッ ドフィード群 12.0 匹に対して 0 匹)

	GD0~11	↓体重増加量 <sup>1)</sup> ↓補正した体重増加量 <sup>1)2)</sup> ↓摂餌量 (GD0~11、GD0~20 <sup>1)</sup> ) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッドフィード群 16.7%に対して 100%) ↑完全に胚吸収された腹数 <sup>1)</sup> (ペアフェッドフィード群 0/11 に対して 11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 <sup>1)</sup> (ペアフェッドフィード群 12.0 匹に対して 0 匹)
	GD11~20	↓体重増加量 (GD11~20 <sup>1)</sup> 、GD0~20) ↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↑摂餌量 <sup>1)</sup> (GD11~20、GD0~20) ↓胎児体重 (雌雄) ↑口蓋裂 <sup>1)</sup> ↑胸骨分節の癒合等 <sup>1)</sup>
ペアフェッドフィード群	GD0~20	↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓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) ペアフェッド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  
3 ~7 日、妊娠 7~16 日又は妊娠 16~20 日、混餌) ◎

4 Ema ら (1992c ◎) は、Wistar ラット (妊娠雌、各群 11~12 匹) にお  
5 いて、BBP (2.0 %) を妊娠 0~20 日、妊娠 0~7 日、妊娠 7~16 日又は妊  
6 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  
7 毒性の投与時期特異性を調べた。ペアフェッドフィード群は妊娠 0~20 日  
8 の BBP 投与群と同量の飼料が与えられた。

9 本専門調査会において毒性と判断した所見を表 2421 に示す。

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  
11 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  
12 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  
13 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

1 合が観察された (Ema et al. 1992c ©)。

2

表 2421 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 <sup>3)</sup>	GD0~20	↓体重増加量 <sup>1)</sup> ↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓摂餌量 ↑一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群16.7%に対して100%) ↑一腹当たりの総胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群22.0%に対して100%) ↑完全に胚吸収された腹数 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群0/11に対して11/11) ↓一腹当たりの生存胎児数 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群12.0匹に対して0匹)
	GD0~7	↓体重増加量 (GD0~7、GD0~20 <sup>1)</sup> ) ↓摂餌量 (GD0~7、GD0~20 <sup>1)</sup> ) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェ <u>ッド</u> フィード群 16.7%に対して 24.8%) ↑一腹当たりの総胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群 22.0%に対して 29.6%) ↓胎児体重 (雌雄)
	GD7~16	↓体重増加量 <sup>1)</sup> (GD7~16、GD0~20) ↓補正した体重増加量 <sup>1)2)</sup> ↓摂餌量 <sup>1)</sup> (GD7~16、GD0~20) ↑一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェ <u>ッド</u> フィード群 16.7%に対して 55.8%) ↑一腹当たりの総胚損失率 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群 22.0%に対して 59.1%) ↓一腹当たりの生存胎児数 <sup>1)</sup> (ペアフェッド <u>フィード</u> 群 12.0 匹に対して 6.1 匹) ↓胎児体重 (雌雄) ↑口蓋裂 <sup>1)</sup> ↑胸骨分節の癒合 <sup>1)</sup>

	GD16~20	↓体重増加量 <sup>1)</sup> (GD16~20、GD0~20) ↓補正した体重増加量 <sup>1)2)</sup> ↓摂餌量 <sup>1)</sup> (GD16~20、GD0~20) ↓胎児体重 (雌雄) <sup>1)</sup>
ペアフェッドフィード群	GD0~20	↓体重増加量 ↓補正した体重増加量 <sup>2)</sup> ↓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) ペアフェッド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。ペアフェッドフィード群は妊娠 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 2522 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、対照群及びペアフェッド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 2522 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 <sup>1)</sup>

			↓ 卵巣重量 ↓ 血漿中プロゲステロン濃度 <sup>1)</sup>
	740 mg/kg 体重/日	GD0~9	↓ 体重増加量 ↓ 摂餌量 ↓ 子宮 <sup>1)</sup> 及び卵巣重量 <sup>1)</sup> ↓ 血漿中プロゲステロン濃度 <sup>1)</sup>
	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 <sup>1)</sup> ↓ 一腹当たりの胚生存数 <sup>1)</sup> ↑ 一腹当たりの着床後胚損失率 <sup>1)</sup> ↓ 子宮 <sup>1)</sup> 及び卵巣重量 <sup>1)</sup> ↓ 血漿中プロゲステロン濃度 <sup>1)</sup>
ペアフェッドフィード群		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) ペアフェッド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ァイルは、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 → **【田中専門委員コメント】**

33 参考資料でよいと考えます。

34 → **【曾根専門委員コメント】**

35 参考資料でよいと考えます。

1 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）△

2 Moral ら（2011 △）は、CD (SD) ラット（妊娠雌、各群 10 匹）に、  
3 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  
4 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  
5 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  
6 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  
7 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  
8 伝子発現解析が行われた。

9 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  
10 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  
11 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  
12 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  
13 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  
14 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、  
15 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  
16 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  
17 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  
18 とが示された（Moral et al 2011 △）。

19  
20 【事務局より】

21 本試験は複数の用量で行われていますが、評価対象が乳腺への影響のみで  
22 あることから、参考資料としてよろしいでしょうか。

23 【曾根専門委員コメント】

24 異なる母親から 1 匹ずつ取って、10 匹で 1 群としています。他のデータ  
25 よりも 1 群の匹数が少ないこと、BrdU の取り込み実験にのみ有意な差があ  
26 り、この cell proliferation の増加は、qRT-PCR の増加でのみ説明されて  
27 いるので、毒性所見の判断には不十分と判断します。研究としては非常に新  
28 しい発見です。

29 【田中専門委員コメント】

30 生殖発生毒性の評価に用いるには指標が特化しすぎているため、参考資料  
31 で良い。

32  
33 h. 抗アンドロゲン様作用

34 細胞を用いた *in vitro* 試験において、BBP はアンドロゲン様作用を示さ  
35 ないが、抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆されている。

36 アンドロゲン受容体 (AR) に対する競合的受容体結合試験において、BBP

1 はヒトの AR に対して弱い結合性を示し、テストステロンのヒト AR への結  
2 合を 50%阻害する BBP 濃度 (IC<sub>50</sub>) は 9.3×10<sup>-5</sup> M (佐藤ら 2004)、BBP  
3 のヒト AR に対する結合性は 5.0×10<sup>-10</sup> M のジヒドロテストステロン (DHT)  
4 の約 1/11,000 (相対結合強度 0.00905%) (独立行政法人 製品評価技術基  
5 盤機構 化学物質総合情報提供システム (CHRIP) ) であった。

6 組換え酵母を用いたレポーター遺伝子試験では、BBP はヒト AR を介し  
7 た転写活性を示さないが、DHT によるヒト AR を介した転写活性を抑制し  
8 た (Sohoni and Sumpter 1998)。

9 チャイニーズハムスターの組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子試  
10 験では、BBP は 1.0×10<sup>-4</sup> M で AR を介した転写活性を示さないが、高用量  
11 で DHT による AR を介した転写活性を抑制し、5×10<sup>-10</sup> M の DHT による  
12 転写活性を 50%抑制する BBP 濃度 (IC<sub>50</sub>) は 1.0×10<sup>-4</sup> M 超であった (佐  
13 藤ら 2004)。ヒトの組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子試験では、  
14 BBP はヒト AR を介した顕著な転写活性を示さないが、高用量で DHT によ  
15 るヒト AR を介した転写活性を抑制し、5.0×10<sup>-10</sup> M の DHT による転写活  
16 性を 50%抑制する BBP 濃度 (IC<sub>50</sub>) は 1.01×10<sup>-4</sup> M であった (Christen et  
17 al. 2010)。

18 また、Rider ら (2009 ©) のレビューでは、in vitro 及び ex vivo メカニ  
19 ズム試験において、BBP は、胎児精巣のテストステロン産生低下や insl-3  
20 (インスリン様ホルモン 3) の mRNA 発現レベルの低下を引き起こすと報  
21 告している (BBP 濃度の記載なし<sup>16</sup>)。横井専門委員修正

23 精巣摘出ラットを用いたハーシュバーガー試験において、抗アンドロゲ  
24 ン様作用を示唆する報告 (CHRIP、CERI・NITE 2007a) と抗アンドロゲ  
25 ン様作用は認められなかったとする報告 (Lee and Koo 2007) がある。

27 in vivo において、生殖・発生毒性試験において、BBP はラットのアンド  
28 ロゲン依存的な器官の発達や性分化に影響を与えることが示されている。妊  
29 娠ラットに BBP を投与した生殖・発生毒性試験において、胎児期に母体を  
30 介して BBP 暴露した雄の児動物に、精巣形成不全 (Tyl et al. 2004 ©、Gray  
31 2000 ©)、精巣下降不全 (Gray 2000 ©、Tyl et al. 2004 ©)、精巣上体形  
32 成不全 (Tyl et al. 2004 ©、経済産業省 2003 ©、Aso et al. 2005、Gray

<sup>16</sup> Howdeshell、Rider ら (2008b) は、BBP (0、100、300、600、900 mg/kg  
体重/日) を SD ラットに妊娠 8~18 日に強制経口投与した試験において、300  
mg/kg 体重/日以上の投与群で雄胎児精巣のテストステロン産生量が減少した  
と報告している (Howdeshell et al.2008b)。

2000 ©)、精巣導帯形成不全 (Gray 2000 ©)、外部生殖器官の奇形 (Tyl et al. 2004 ©、Gray 2000 ©)、AGD 短縮 (経済産業省 2003 ©、Aso et al. 2005、Nagao et al. 2000 ©、Tyl et al. 2004 ©、Gray 2000 ©、Parks et al. 1999)、乳頭乳輪の遺残 (Tyl et al. 2004 ©、Gray 2000 ©、Parks et al. 1999 △)、包皮分離遅延、精子数減少 (Tyl et al. 2004 ©)、血中テストステロン濃度の低下 (Nagao et al. 2000 ©)、精巣でのテストステロン産生の低下 (Howdeshell et al. 2008b ©) 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留精巣が認められている (Imajima et al. 1997 ©)。このような BBP の抗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。

Howdeshell ら (2008a ©) のレビューでは、出生前にフタル酸エステルに暴露された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。なお、フタル酸エステルは、コレステロール輸送に関与する StAR 等、ステロイド生合成に関与する P450<sub>scc</sub>、CYP17 等の遺伝子発現を変化させることが知られているとしている (Howdeshell et al. 2008a ©)。

~~*in vitro* では、Christen ら (2010) が、*in vitro* レポーター試験において BBP が強い抗アンドロゲン活性を示したと報告している。また、Rider ら (2009 ©) は、*in vitro* 及び *ex vivo* メカニズム試験において、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。~~

#### i. エストロゲン様作用

細胞を用いた *in vitro* 試験において、BBP は弱いエストロゲン様作用を示すことが報告されている。

エストロゲン受容体 (ER) に対する競合的受容体結合試験において、BBP はヒト、マウス、ラット等の ER に対して弱い結合性を示し、その結合性はエストラジオール (E2) の約 1/10,000 以下であった (Blair et al.2000、Hashimoto et al.2000、Matthews et al.2000、Zacharewski et al.1998、CHRIP)。

ヒトの組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子試験 (Zacharewski et al. 1998、Itoh et al. 2000、Jobling et al. 1995)、組換え酵母を用いたツナーハイブリット試験 (Hashimoto et al. 2000、Nishihara et al. 2000) 及びレポーター遺伝子試験 (Coldham et al. 1997、Harris et al. 1997) にお

1 いて、BBPはERを介した転写活性を示した。

2 エストロゲン応答性ヒト乳癌細胞を用いた細胞増殖試験において、BBP  
3 は細胞増殖活性を示した (Harris et al. 1997、Jobling et al. 1995、Jones et  
4 al. 1998、Korner et al. 1998、Soto et al. 1995、1997) 。

5  
6 Zacharewski ら (1998 ×) は、卵巣を摘出した SD ラット (各群 10 匹)  
7 に BBP (0、20、200、2,000 mg/kg 体重/日) を 4 日間強制経口投与した子  
8 宮肥大試験において、子宮湿重量及び膈上皮細胞の角化に対する影響は認め  
9 られなかったと報告している。著者らは、BBP は、*in vitro* 試験において弱  
10 いエストロゲン活性を示すが、*in vivo* ではエストロゲン反応を誘発しな  
11 かったとしている。

12 Moore (2000 ×) のレビューでは、フタル酸ジエステルは *in vivo* の数  
13 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  
14 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  
15 トロゲン活性は、ヒト又は環境に対する影響と関連性がないと報告している。

#### 17 j. その他の内分泌系への作用

18 Zhao ら (2010 ×) は、*in vitro* での糖質コルチコイドへの影響について、  
19 ラットの 11β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素 2 活性を BBP は阻害しな  
20 かったが、MBzP は阻害したと報告している。また、Ghisari ら (2009 ×)  
21 は、BBP の *in vitro* での甲状腺ホルモン様活性について、甲状腺ホルモン  
22 に応答して増殖するラット下垂体由来の GH3 細胞を用いた試験 (T-screen)  
23 において、BBP は細胞増殖を誘導したと報告している。

#### 25 k. 複合影響

26 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  
27 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。

28 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  
29 タル酸エステル (BBP、DBP、DiBP、フタル酸ジペンチル (DPP) 及び  
30 DEHP) 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  
31 量相加的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  
32 率の増加がみられたとの報告 (Howdeshell et al. 2008b) がある。また、  
33 SD ラットの妊娠 14~18 日に BBP と DBP の混合物の経口投与を行うと雄  
34 児動物の生殖器官の奇形が 50%以上の発生頻度でみられたとの報告 (Rider  
35 et al. 2009、Howdeshell et al. 2008b) がある。

36 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

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

3 Sharpe (2008) のレビューでは、Howdeshell ら (2008b) の試験は、各  
4 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  
5 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  
6 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  
7 (male programming window) 内にテストステロン濃度が低下すると、雄  
8 性生殖障害 (disorder) が誘導されると考えられるとしている。

9 また、Rider ら (2010) は、ラットを用いた試験において、雄性生殖器  
10 官の発生に作用する毒性発現機序の異なる化学物質の混合物を子宮内暴露  
11 することにより反応相加的な予測を上回る累積作用が認められたことから、  
12 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相加的影  
13 響が生じることを指摘している。

14  
15  
16