

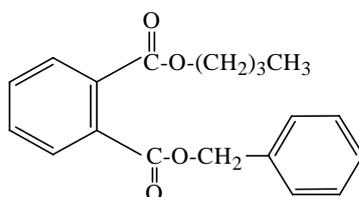
フタル酸ブチルベンジルの有害性評価
[Butyl benzyl phthalate, CAS No. 85-68-7]

名 称：フタル酸ブチルベンジル
 別 名：ブチルベンジルフタレート、フタル酸ブチルベンジルエステル、
 1,2-ベンゼンジカルボン酸ブチルベンジルエステル、BBP

分 子 式：C₁₉H₂₀O₄

分 子 量：312.4

構 造 式：



外 観：透明の油状液体¹⁾

融 点：-35¹⁾

沸 点：370¹⁾

比 重： $d_{25}^{25} = 1.113 - 1.121$ ¹⁾

蒸 気 圧： 1.15×10^{-3} Pa (20^o)¹⁾

分 配 係 数：Log Pow = 4.91 (実測値)¹⁾

分 解 性：加水分解性：報告なし

生分解性：易分解 (BOD=81%, 14日間)²⁾

溶 解 性：水 0.71 mg/L¹⁾

有機溶媒 報告なし

製 造 量 等：平成 13 年度 100~1,000 t³⁾

用 途：塩化ビニル及びニトロセルロース樹脂の可塑剤

耐油性、耐磨耗性に優れるため、電線被覆として使用¹⁾

適 用 法 令：化学物質排出把握管理促進法、海洋汚染防止法

¹⁾ HSDB, 2001; ²⁾ 通商産業公報, 1975; ³⁾ 経済産業省, 2003

1. 有害性調査結果

1) ヒトの健康に関する情報

15～30 人のボランティアの皮膚にフタル酸ブチルベンジル (BBP) 10%溶液 (溶媒不明) を貼付した実験で、刺激性 (陰性反応 88%、軽度陽性反応 12%)がみられたが、その2週間後のパッチテストでは感作性はみられていないとの報告がある (Mallette & von Haam, 1952)。

ボランティア 200 人の皮膚に週3回の頻度で BBP 原液の24時間貼付を5週間行い、2週間後に再度 BBP の貼付によって誘発した実験で BBP の刺激性や感作性は認められていない (Hammond et al., 1987)。

BBP 単独暴露によるヒトにおける慢性影響の報告事例はない、複合暴露による症例対照研究がある。

米国マサチューセッツ州ケーブコッドにおける女性に対する外因性エストロゲン化合物の職業暴露と乳がん発生率との関連について集団を対象とした症例対照研究が行われている。1983年～1986年に乳がんと診断された261人と対照例753人について外因性エストロゲン物質と考えられている化学物質の職業暴露を調べた結果、乳がん発症群の29.5%、対照群の32.5%が1種類以上の外因性エストロゲン物質の暴露を受けていた。なお、閉経前後の比率は症例群 (閉経前 11.9%、閉経後 88.1%)、対照群 (閉経前 8.4%、閉経後 91.6%)であった。BBP については乳がん発症群で 10.0%、対照群では 13.2%が暴露を受けたもののオッズ比 0.7 (0.4-1.2)で、乳がん発症と BBP の職業暴露の間には関連がないことが報告されている (Aschengrau et al., 1998)。

2) 内分泌系及び生殖系への影響

(1)レセプター結合に関する *in vitro* 試験結果 (付表-1)

グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)とエストロゲン受容体のリガンド結合領域との融合タンパクを用いる受容体結合試験において、ヒト、マウス及びニワトリのエストロゲン受容体に対する結合性は弱い (Matthews et al., 2000)。ヒトエストロゲン受容体及び未成熟 SD ラットの子宮ホモジネートに対する結合試験でも各々 10^{-7} - エストラジオール(E2)の $1/31,000$ 、 $1/28,000$ ～ $1/80,000$ 程度の弱い結合性を示している (Zacharewski et al., 1998; Blair et al., 2000; Hashimoto et al., 2000; CER1, 2001b)。

酵母ツーハイブリッドアッセイでは、遺伝子の活性化が認められている (活性化は Nishihara らの実験では E2 の $1/1,700,000$) (Nishihara et al., 2000; Hashimoto et al., 2000)。

また、ヒトエストロゲン受容体への結合に応答して増殖するヒトエストロゲン受容体遺伝子導入酵母 *S. cerevisiae* PL3 株では、BBP $10\mu\text{M}$ で弱い増殖が検出されている (Zacharewski et al., 1998)。

組換え酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、E2 の $1/250,000$ ～ $1/1,000,000$ のエストロゲン活性を示し (Coldham et al., 1997; Harris et al., 1997)。組換え細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、MCF-7 細胞及び HeLa 細胞を用いたアッセイで、 10 nM の E2 が示す活性を 100 とすると、 $10\mu\text{M}$ の BBP はそれぞれ 46%、34%の活性を示している (Zacharewski et al., 1998)。同様に HeLa 細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、弱いエストロゲン

応答配列 (ERE)依存性の転写活性化(E2 の 1/410,000)が認められている (CERI, 2001b)。

エストロゲン依存性であるヒト乳ガン細胞 (MCF-7、ZR-75-1) の増殖性試験では、増殖が検出され、Soto らの実験や Korner らの実験では E2 の 1/250,000 ~ 1/100,000 の活性を示すとされている (Jobring et al., 1995; Soto et al., 1995, 1997; Harris et al., 1997; Jones et al., 1998; Korner et al., 1998)。

ヒトアンドロゲン受容体に対する結合試験ではジヒドロテストステロンの 1/6,000 程度の結合性を示している (CERI, 2003)。

ヒトアンドロゲン受容体遺伝子を導入した酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、BBP はジヒドロテストステロンによるアンドロゲン様作用に対して、抑制作用 (抗アンドロゲン様作用) を示すとの報告がある (Sohoni & Sumpter, 1998)。

ヒトプロゲステロン受容体遺伝子を導入した酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、BBP は遺伝子の転写活性化を示していない (Tran et al., 1996)。

ヒトアンドロゲン受容体のレポーター遺伝子アッセイの一過性発現系では遺伝子の転写活性を示していない。また、ヒトアンドロゲン受容体のレポーター遺伝子アッセイの安定形質転換株でのアゴニスト検出系及びアンタゴニスト検出系のいずれにおいても遺伝子の転写活性化は示していない (CERI, 2003)。

(2) ほ乳動物の内分泌系及び生殖系に及ぼす影響 (付表-2 (1)、(2)、(3))

(2-1) ホルモン作用を検討するための実験

エストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用を検出するスクリーニング手法である子宮増殖アッセイ (OECD ガイドライン案に準拠) において、エストロゲン作用を検出するため、雌の幼若 C57BL/6 マウス (18 日齢) に 4 日間 BBP 0、0.05、0.5、5 mg/匹を皮下投与した実験で、いずれの群でも子宮重量に影響は認められていない (Coldham et al., 1997)。

同じく、エストロゲン作用を検出するため、雌幼若 SD ラット (20 日齢) に 3 日間 BBP 0、500、1,000、2,000 mg/kg/day を皮下投与した実験で、いずれの群でも子宮重量に影響は認められていない。さらに抗エストロゲン作用を検出するため、雌の幼若 SD ラット (20 日齢) に BBP 0、500、1,000、2,000 mg/kg/day を皮下投与し、同時に 17 β -エチニルエストラジオールを 0.6 μ g/kg/day の用量で皮下投与した実験で、いずれの投与群でも 17 β -エチニルエストラジオールの有する子宮重量増加作用に影響は認められていない (CERI, 2001a)。この他、雌幼若ラットを用いた実験 (Brady et al., 2000)、雌卵巢摘出ラットを用いた実験 (Zacharewski et al., 1998) でも、本物質投与により子宮重量の変化は認められず、本物質はエストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用を有さないと考えられる。

アンドロゲン作用あるいは抗アンドロゲン作用を検出するスクリーニング手法であるハーシュバガーアッセイ (OECD ガイドライン案に準拠) において、アンドロゲン作用を検出するため、去勢 SD ラット (7 週齢) に 10 日間 BBP 0、40、200、1,000 mg/kg/day を経口投与した実験で、雄性副生殖器官重量に変化は認められていない。さらに抗アンドロゲン作用を検出するため、去勢 SD ラット (7 週齢) に 10 日間 BBP 0、40、200、1,000 mg/kg/day を経口投与し、同時にプロピオン酸テストステロンを 0.4 mg/kg/day の用量で皮下投与した

実験で、200 mg/kg 以上の群で前立腺腹葉の絶対及び相対重量、精嚢の相対重量、尿道球腺の絶対及び相対重量、球海綿体筋+肛門挙筋重量の減少がみられ、明らかな用量相関性は得られていないが、抗アンドロゲン作用を持つ可能性がある (CERI, 2001a)。

また、妊娠雌に投与した実験で、抗アンドロゲン作用によるとみられる F₁ 雄仔に対する生殖系への影響が報告されている。雌の SD ラットに BBP 0、750 mg/kg/day を妊娠 14 日から生後 3 日まで強制経口投与した実験で、F₁ 雄で精巣重量の減少、肛門 - 生殖器突起間距離 (AGD) の減少、乳頭遺残の発生率の増加 (生後 13 日) がみられている (Parks et al., 1999)。

同様に、雌の SD ラットに BBP 0、750 mg/kg/day を妊娠 14 日から生後 3 日まで強制経口投与した実験でも、F₁ 雌雄で出生時体重の減少、雄で AGD 減少、精巣及び副生殖器重量減少、精巣及び副生殖器の発育不全、乳輪、乳頭遺残の発生率の増加、生殖器系の奇形発生の増加がみられている (Gray et al., 2000)。

反復投与毒性試験及び生殖・発生毒性試験による BBP の内分泌系や生殖系への影響を以下に示す。

(2-2) 反復投与毒性試験

雄の F344 ラット (12-15 週齢) に BBP 0、0.625、1.25、2.5、5.0% (0、312.5、625、1,250、2,500 mg/kg/day 相当: CERI 換算) を 14 日間混餌投与した実験で、0.625% 以上の群 (1.25% を除く) で黄体ホルモン量の増加、2.5% 以上の群で精巣、精巣上体、前立腺及び精嚢重量の減少、精巣、前立腺及び精嚢の萎縮、精巣上体において未成熟精子細胞の生成、精細管上皮細胞の壊死、卵巣刺激ホルモン量の増加がみられ、5% 群では精巣上体の萎縮、血漿中テストステロン量の減少がみられている (Agarwal et al., 1985)。

雄の離乳直後の SD ラットに BBP 0、500 mg/kg/day を投与開始日齢あるいは投与期間を変えて (22~23 日齢から 14 日間、35~36 日齢から 14 日間、35~36 日齢から 20 日間) 強制経口投与を行い雄性生殖器に対する影響を調べた実験で、いずれの条件においても精巣及び副生殖器に影響はみられていない (Ashby & Lefevre, 2000)。

雌雄の SD ラット (4~7 週齢) に BBP を 0、500、1,000、1,500、2,000、3,000、4,000 mg/kg/day で 4 週間混餌投与した試験で、1,500 mg/kg/day 以上で精巣萎縮がみられ、混餌投与期間終了後の 4 週間の回復試験で精巣萎縮が少数例にみられた (Hammond et al., 1987)。

雄の F344/N ラット (4~5 週齢) に BBP 0、1,600、3,100、6,300、12,500、25,000 ppm (0、80、155、315、625、1,250 mg/kg/day 相当: CERI 換算) の濃度で 13 週間混餌投与した試験で、25,000 ppm の雄で精巣の変性がみられている (U.S.NTP, 1982)。

雄の F344/N ラット (6 週齢) に BBP 0、300、900、2,800、8,300、25,000 ppm (0、30、60、180、550、1,650 mg/kg/day 相当) を 26 週間混餌投与した実験で、25,000 ppm 群で精巣、精嚢及び精巣上体重量の減少、精巣及び精巣上体の変性、精細管の萎縮、精子数の減少がみられている (U.S.NTP, 1997a)。

雄 F344/N ラット (6 週齢) に BBP 0、3,000、6,000、12,000 ppm (0、120、240、500 mg/kg/day 相当) を 106 週間混餌投与した実験で、6,000 ppm 以上の群で精巣上体重量の増加がみられている (U.S.NTP, 1997a)。

Mikuriya らは BBP の有するラットの精巣毒性の機序を明らかにする目的で雄の Wistar - Imamichi ラット(8 週齢)に BBP を経口投与し尿中の主要な代謝物を調べた。その結果、フタル酸モノブチルとフタル酸モノベンジルが約 5 : 3 の比で検出された。次に雄の Wistar - Imamichi ラットにフタル酸モノブチル (ラットでの主要代謝物)、フタル酸モノベンジル (ヒトでの主要代謝物) を各々 800 mg/kg/day、920 mg/kg/day の用量で 7 日間強制経口投与して精巣に対する影響を調べた結果、フタル酸モノブチル投与群では精巣の絶対重量減少及び重度の組織障害 (精細管管腔径の減少、管腔内の成熟生殖細胞消失)がみられたが、フタル酸モノベンジル投与群では精巣に影響はみられていないことから、BBP でラットにみられる精巣毒性はその代謝物であるフタル酸モノブチルに起因したと推測している (Mikuriya et al., 1988)。

(2-3) 生殖毒性試験

雄 F344/N ラット(6 週齢)に BBP 0、300、2,800、25,000 ppm(0、20、200、2,200 mg/kg/day 相当)を 10 週間混餌投与した後に無処置の 2 匹の雌と交配した 1 世代改良交配試験で、雄の 25,000 ppm 群で精巣上体精子濃度の減少、前立腺絶対・相対重量及び精巣絶対・相対重量の減少、精巣上体絶対重量の減少、精巣と精巣上体の変性がみられている。また 25,000 ppm 投与群の雄と交配した雌で不妊率が増加し(10/30 例)、不妊率の増加は雄の生殖器系への影響によるとみられている (U.S.NTP, 1997a)。

雌雄の Wistar ラット(週齢記載なし)に BBP 0、0.2、0.4、0.8%を、雄には交配前 10 週間混餌投与(0、108、206、418 mg/kg/day 相当)、雌には交配前 2 週間混餌投与(0、106、217、446 mg/kg/day 相当)した後に交配し、さらに雌には妊娠期、授乳期を通して投与(妊娠期 0、116、235、458 mg/kg/day、授乳期 0、252、580、1,078 mg/kg/day 相当)した 1 世代生殖毒性試験で、親動物に対する影響として、雄の 0.4%以上で肝臓の絶対・相対重量増加、雌の 0.4%以上で肝臓の相対重量増加、雌の 0.8%で肝臓の絶対重量増加がみられているが統計学的に有意であった変化は雌の 0.8%群での肝臓相対重量の増加であった。また、母動物には 0.8%群で妊娠期及び授乳期の体重増加抑制、妊娠期の摂餌量減少がみられるが、胎仔への影響はみられていない (TNO, 1993)。

雌雄の Wistar Unilever (WU)ラット(10-11 週齢)に BBP 0、250、500、1,000 mg/kg/day を 2 週間強制経口投与した後に同群内の雌雄を交配し、雌は分娩後 6 日まで、雄は総投与期間 29 日間投与した 1 世代生殖毒性スクリーニング試験で、F₀ 親動物に対する影響として、雄 1,000 mg/kg/day 群で体重増加抑制、精巣及び精巣上体重量の減少、ライディッヒ細胞の過形成と精巣変性がみられ、雌 1,000 mg/kg/day 群で受胎率の減少、妊娠時体重増加抑制、出生時生存仔数の減少がみられている。また F₁ 世代に対する影響として、500 mg/kg/day 以上の群で出生時体重減少、1,000 mg/kg/day 群で生後 6 日目の体重減少がみられている (Piersma, 1995)。

雌雄の SD ラット(雄 : 6 週齢、雌 : 13 週齢)に BBP 0、20、100、500 mg/kg/day を F₀ 雄には交配前 12 週間、F₀ 雌には交配前 2 週間強制経口投与した後に交配し、雄では剖検 (23 週齢) まで、雌では剖検 (交配期間、妊娠期間、分娩、F₁ 仔動物の哺乳期間) まで、F₁ 動物

は離乳後～剖検まで強制経口投与し、F₂動物は出生後21日に剖検した2世代生殖毒性試験で、F₀親動物に対する影響として、雄の100 mg/kg/day以上で卵胞刺激ホルモン (FSH)の増加、500 mg/kg/dayで体重増加抑制、腎臓重量増加、肝臓重量増加、テストステロン減少、雌の100 mg/kg/day以上の群で腎臓重量増加、卵巣重量減少がみられている。しかし、雌雄とも生殖器系の病理組織学的異常はみられず、また、F₀世代の生殖能力に対する影響はみられていない。次世代に対する影響として、F₁世代では、100 mg/kg/day以上のF₁雌雄で出生時体重の低値がみられ、500 mg/kg/dayの雌雄では更に、試験期間を通して低値であった。出生時の肛門 - 生殖器突起間距離 (AGD) は500 mg/kg/dayの雄で減少、雌で増加を示した。また、100 mg/kg/day以上の雄でTSHの減少、500 mg/kg/dayの雄で精巣重量減少、精巣上体重量減少、FSHの減少、雌で卵巣重量減少、子宮重量増加がみられた。F₁親動物では500 mg/kg/dayの雄で、離乳後の包皮分離遅延、性成熟後の血清中テストステロン量減少、精巣の萎縮、精細管の生殖細胞減少、精巣上体中の精子数減少がみられた。しかし、F₁世代の生殖能力に対する影響はみられず、また、F₂仔動物の哺育期間までの発達及び生育に影響はみられていない。(Nagao et al., 2000)。

雌雄のSDラットにBBP 0、750、3,750、11,250 ppm (0、50、250、750 mg/kg/day相当)を混餌投与した2世代生殖毒性試験で、親動物への影響として11,250 ppm (750 mg/kg/day相当)でF₀及びF₁親動物の雌雄で体重の低値及び増加抑制、肝臓の重量増加、肝細胞の肥大、腎臓重量増加がみられ、F₀親動物に比べて母動物からの経胎盤、経乳汁による間接的な暴露を受けた可能性があるF₁世代では、さらに、雄で尿道下裂、精巣、精巣上体、精囊、前立腺重量の減少、精巣上体精子数の減少、精子運動性の低下、無精液症、精巣の精細管の変性と萎縮、精巣網の拡張、雌で交配、受精能指標の減少、着床痕の減少、総胎仔数の減少、生存胎仔数の減少、子宮内腔内の液体貯留の増加、卵巣重量の減少がみられている。仔動物への影響としては、3,750 ppm以上のF₁及びF₂雄仔動物でAGDの減少、11,250 ppmの雌雄で性成熟の遅延、雄で哺育期間中の体重低値、乳頭及び乳輪の遺残、尿道下裂、精巣下降不全、胸腺重量及び脾臓重量の減少がみられた。(Tyl et al., 2004)。

雌雄のSDラットにBBP 0、100、200、400 mg/kg/dayを強制経口投与した2世代生殖毒性試験で、親動物への影響として100 mg/kg/day以上で雄親動物に精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣 (F₁では100 mg/kg/day以上、F₀では400 mg/kg/day)、200 mg/kg/day以上で雌雄親動物に肝臓重量増加 (F₁雄親動物では200 mg/kg/day以上、F₀雄親動物、F₁雌親動物では400 mg/kg/day)、400 mg/kg/dayでF₀及びF₁雄親動物で精巣のライディヒ細胞過形成、F₁親動物で精巣上体形成不全、矮小、無形成がみられた。生殖能に関する影響として400 mg/kg/dayで受胎率の低下、雄の包皮分離の遅延がみられた。仔動物への影響として、100 mg/kg/day以上でF₁雄に体重の低値及びF₂雄でAGDの減少、400 mg/kg/dayのF₁雄及びF₂雄で脾臓重量の減少がみられた (経済産業省, 2003)。

(2-4) 発生毒性試験

雌のICRマウスにBBP 0、0.1、0.5、1.25、2.0% (0、182、910、2,330、4,121 mg/kg/day

相当)を妊娠6日から15日まで混餌投与した試験で、母動物について0.5%以上の群で投与期間中の体重増加抑制、1.25%群で妊娠期間中の体重減少、摂水量の増加、肝臓及び腎臓の相対重量増加、18/27例で受胎産物すべての吸収、2.0%で全ての母動物で全胚吸収がみられている。また、胎仔については0.5%以上の群で胚仔死亡率の増加(対照:8%、0.5%群:15%、1.25%群:93%)、外脳症、短尾、心血管系の奇形及び肋骨、胸骨、脊椎などの骨格奇形発生率の増加(対照:31%、0.5%群:60%、1.25%群:100%)、1.25%群で体重増加抑制がみられている(U.S.NTP, 1990)。

雌のSDラットにBBP 0、0.5、1.25、2.0% (0、420、1,100、1,640 mg/kg/day相当)を妊娠6日から15日まで混餌投与した試験で、母動物については1.25%以上の群で体重増加抑制、摂餌量及び摂水量の増加、肝臓相対重量の増加、2.0%群で体重減少、立毛、脱毛、被毛の変色、頻尿、嗜眠、運動失調、歩行異常、腎臓相対重量の増加がみられ、胚/胎仔では1.25%群で変異あるいは奇形発生率の増加(対照:2%、12,000 ppm群:5.9%)、2.0%群で吸収胚の増加、生存胎仔数の減少、胎仔体重の減少、尿路、眼、脊柱等の奇形発生率の増加(対照:2%、2.0%群:53%)がみられている(U.S.NTP, 1989)。

雌のWistarラットにBBP 0、0.25、0.5、1.0、2.0% (0、185、375、654、974 mg/kg/day相当)を妊娠0日から20日まで混餌投与した試験で、母動物については1.0%以上の群で体重増加抑制、摂餌量の減少、2.0%群で体重減少がみられ、胎仔については0.5%以上の群で生存仔数の減少、1.0%群で体重減少、2.0%群で全胚吸収(着床後胚死亡率の増加)がみられているが、奇形はみられていない(Ema et al., 1990)。

また、雌のWistarラットにBBP 0、500、750、1,000 mg/kg/dayを妊娠7日から15日まで強制経口投与した試験で、母動物では500 mg/kg/day以上の群で摂餌量減少、750 mg/kg/day以上の群で体重増加抑制、1,000 mg/kg/day群で死亡(4/10例)がみられ、胎仔では750 mg/kg/day群で、死亡胎仔数の増加、着床後吸収胚の増加、全胚吸収(3/10例)、生存胎仔体重減少、外表奇形(口蓋裂)、骨格奇形(胸骨癒合)、内臓奇形(腎盂拡張)をもつ胎仔数の増加(対照群:1例、750 mg/kg/day群:20例)、1,000 mg/kg/day群で死亡胎仔数の増加、着床後吸収胚の増加、全胚吸収(6/6例)がみられている(Ema et al., 1992a)。

(2-5) 発生毒性の機序に関する研究

発生毒性の機序に関する検討が行われている(付表-2(4)参照、Ema et al., 1991; 1992b; 1992c; 1994; 1998)。

またBBPは代謝により2種類のモノエステル、フタル酸モノブチルとフタル酸モノベンジルを生成するが、これらの代謝物についても発生毒性に関するデータが報告されている(付表-2(5)参照、Ema et al., 1995; 1996a; 1996b; 1996c; Imajima et al., 1997)。

a. 直接作用/間接作用

BBPの投与により母動物に体重増加抑制や摂餌量の減少がみられる用量で、吸収胚の増加や奇形の発現がみられている。これらの発生毒性が母動物の栄養状態の不良に基づく間接的な影響かBBPの直接的な影響であるのかが検討されている。

母動物に体重増加抑制や摂餌量の減少がみられる用量である 2% (974 mg/kg/day 相当)の BBP を雌の Wistar ラットに妊娠 0 から 20 日の 20 日間混餌投与し、対照群には通常の対照群と、制限給餌により投与群と同様の体重増加抑制を生じさせた対照群 (制限給餌対照群) を設定した試験では、2%群で全胚吸収がみられたが、制限給餌対照群では奇形や胚吸収はみられていない (Ema et al., 1991)。

また、雌の wistar ラットに BBP 0、2% (0、974 mg/kg/day 相当) を妊娠 0 から 11 日あるいは妊娠 11 から 20 日の 10 日間投与し、対照群として通常の対照群及び制限給餌対照群を設定した実験では、被験物質投与群では妊娠 0 から 11 日の投与では全ての母動物で全胚吸収、妊娠 11 から 20 日の投与では着床後の吸収胚の増加はみられていないが、胎仔に口蓋裂及び胸骨癒合がみられた。制限給餌では奇形や胚吸収はみられていない (Ema et al., 1992b)。これらのことから、BBP 投与でみられる胚吸収、奇形は母動物の摂餌量の減少、体重減少などの母体毒性に起因した変化ではなく BBP 自体の影響と考えられている (Ema et al., 1991; 1992b)。

雌の Wistar ラットに BBP0、250、500、750、1,000 mg/kg/day を妊娠 0 から 8 日まで強制経口投与した実験では、750 mg/kg/day 以上で着床後吸収胚の増加、1,000 mg/kg/day で着床前吸収胚の増加がみられ、偽妊娠動物を用いた実験では、人為的に、脱落膜反応 (着床により子宮内膜が肥厚したのと同じような状態) を惹起した動物において 750 mg/kg/day 以上で卵巣重量の減少、脱落膜反応の抑制の指標である子宮重量の減少がみられたことから、妊娠動物でみられた吸収胚の増加は妊娠維持機能の低下に起因したものと考えられている (Ema et al., 1998)

b. 暴露時期

BBP は妊娠期間中の投与時期の違いによって、吸収胚の増加や胎仔の奇形発現を引き起こすため、それぞれの影響が妊娠期間のどの時期の暴露によるのかが検討されている。

雌の Wistar ラットに BBP 0、2% (0、974 mg/kg/day 相当) を妊娠 0 から 7 日、妊娠 7 から 16 日あるいは妊娠 16 から 20 日の間混餌投与した実験では、妊娠 0 から 7 日、妊娠 7 から 16 日の投与で着床後吸収胚の増加、妊娠 16 から 20 日の投与で奇形胎仔 (口蓋裂、胸骨癒合) がみられた (Ema et al., 1992c)。

雌の Wistar ラットに BBP 0、2% (0、974 mg/kg/day 相当) を妊娠 0 から 7 日、妊娠 0 から 9 日あるいは妊娠 0 から 11 日の間混餌投与した実験では、いずれの妊娠期間の投与においても子宮重量及び卵巣重量の減少、血漿プロゲステロンの減少がみられ、妊娠 0 から 11 日の投与で着床後吸収胚の増加がみられた。この結果から、妊娠早期の胚死亡の原因は、血漿プロゲステロンの減少、子宮機能の減弱が関与していることが示唆されている (Ema et al., 1994)。

c. 代謝物の発生毒性

雌の Wistar ラットにフタル酸モノブチルの 0、250、500、625 mg/kg/day を妊娠 7 日から 15 日まで強制経口投与した実験で、母動物について 500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、摂

餌量の減少、胎子について 500 mg/kg/day 以上で体重減少、着床後胚死亡率の増加、生存仔数の減少、骨格奇形（脊柱変形、胸骨癒合）の増加、口蓋裂、腎盂拡張の増加がみられている（Ema et al., 1995）。

また、暴露時期についての検討が実施されており、フタル酸モノブチルの 0、250、375、500、625 mg/kg/day あるいは 0、500、625、700 mg/kg/day を妊娠の 7 から 9 日、10 から 12 日、13 から 15 日に投与した場合、いずれの時期においても母動物の体重増加抑制がみられ、仔動物に対しては妊娠 7 から 9 日及び妊娠 13 から 15 日では奇形がみられたが妊娠 10 から 12 日の投与では奇形はみられていない（Ema et al., 1996a、1996b）。

雌の Wistar King A ラットにフタル酸モノブチルの約 1,000 mg/kg/day を妊娠 15 日から 18 日まで強制経口投与した実験で、生後 30-40 日の雄胎子の 87% に停留精巣がみられている（Imajima et al., 1997）。

また、雌の Wistar ラットにフタル酸モノベンジルの 0、250、313、375、438、500 mg/kg/day を妊娠 7 日から 15 日まで強制経口投与した実験で、母動物について 250 mg/kg/day 以上で摂餌量の減少、313 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、胎子について 313 mg/kg/day 以上で骨格奇形の増加、375 mg/kg/day 以上で内臓奇形の増加、438 mg/kg/day 以上で着床後胚死亡率の増加、外表奇形の増加がみられている（Ema et al., 1996c）。

これらの結果から、2 種類モノエステル代謝物は母動物及び胎子に対して BBP と類似しておりこれら代謝物が BBP の発生毒性の原因であることが示唆される。

(2-6) 低用量作用の検討

妊娠雌ラットへの低用量 BBP 投与による雄仔の生殖器官への影響や周産期死亡率への影響が報告されている。（付表-2（6）参照、Sharpe et al., 1995、Ashby et al., 1997、TNO, 1998、Bayer, 1998）。

雌の Wistar ラットに BBP 1 mg/L（生後 1-2 日、10-12 日、20-21 日；0.126、0.274、0.336 mg/kg/day 相当）を含む飲水を 2 週間与えた後、交配し、さらに妊娠期間から哺育期間投与した実験で、F₀ 雌には影響がみられないが、F₁ 雌雄に体重増加（生後 22 日）、F₁ 雄に精巣の絶対及び相対重量の減少がみられている。F_{1a} 仔離乳後、F₀ と再交配された同母動物による再試験でも、F₁ 雄で精巣の絶対及び相対重量の減少、一日あたりの精子産生量の減少がみられている（Sharpe et al., 1995）。

各群の動物数を増やし、適切な対照化合物を用い、投与物質の純度分析を行った上で実施された雌の Wistar AP ラットに BBP 0、1 mg/L（0、0.183 mg/kg/day 相当）を含む飲水を妊娠期間から哺育期間まで与えた実験では、F₁ 雄で精子数や精巣重量、副生殖器重量、F₁ 雌の子宮、F₁ 雌雄の下垂体への影響はみられていない。また、F₁ 雄での生後 2 日の体重増加、AGD 増加、肝臓相対重量の増加、F₁ 雌では腔開口日齢の早期化がみられるが、これらは、BBP の内分泌かく乱作用によるものではなく、体重の高値に起因したものと考えられている（Ashby et al., 1997）。

また、雌の非近交系WistarラットにBBP 0、0.1、1、3 mg/L(0、0.012、0.14、0.385 mg/kg/day 相当)を含む飲水を2週間与えた後、交配し、さらに妊娠期間、哺育期間投与した実験では、1 mg/L以上の群で生後4日以内の死亡仔数に有意な増加がみられた。また、F₁仔動物の離乳後にF₀動物を再交配した結果でも同様に、1 mg/L以上の群で生後4日以内の死亡仔数に有意な増加がみられた。なお、生後89～101日目のF₁仔動物の検査ではいずれの群でも精子の形態、数、運動性及び性周期、性的成熟度に差がみられない(TNO, 1998)。

さらに雌のWistarラットにBBP 0、1ppm (混餌：0.06 ～ 0.16 mg/kg/日相当、飲水：0.10 ～ 0.24 mg/kg/日相当)、3 ppm (混餌：0.19 ～ 0.49、飲水：0.34 ～ 0.80 mg/kg/日 相当)を混餌または飲水で2週間与えた後、無処置の雄ラットと交配し、妊娠期、哺育期投与した実験では、母動物及び胎仔に影響がみられていない(Bayer, 1998)。

U.S.NTP (National Toxicology Program) のヒトの生殖機能に対するリスク評価センター (CERHR(Center for Evaluation of Risk to Human Reproduction) エキスパート・パネルは、SharpeらによるF₁雄の生殖器官への影響に関する結果は1) 用量-反応データがない、2) 飲水中のBBP量の分析結果がない、3) 同一の研究室で再現性が得られていない、4) 他の研究室で再現できていない等の理由から、BBPの生殖毒性を示すデータとして評価出来ないとしている(CERHR, 2000)。

さらに、同エキスパート・パネルではこれらの追試験の中で、TNOの雌の非近交系Wistarラットを用いた実験でみられた、生後4日以内の死亡仔数増加、低体温仔数の増加(生後1日)、大きい仔数の増加(生後4日)、脱毛の増加(Hair loss)についても他の研究室で再現できていない等の理由から信頼性は低いとしている(CERHR, 2000)。

3) 一般毒性に関する情報

(1) 急性毒性(表-1)

BBPの急性毒性は比較的弱い。ラットにBBPを腹腔内投与した場合、1,800 mg/kg以上で死亡がみられている。動物の死亡は投与後4～8日でみられ、体重増加抑制、自発運動の低下、白血球数の増加がみられている。また組織病理学的には脾臓の炎症、うっ血性脳症、ミエリン変性、グリア細胞の増生を伴う中枢神経の変性がみられている(Mallette & von Haam, 1952)。

表-1 急性毒性試験結果

	マウス	ラット	ウサギ
経口 LD ₅₀	-	2,000-20,000 mg/kg*	-
吸入 LC ₅₀	-	-	-
経皮 LD ₅₀	6,700 mg/kg	6,700 mg/kg	-
腹腔内 LD ₅₀	-	-	-

*：報告により幅がある。

(2) 反復投与毒性(付表-3)

雌雄の B6C3F₁ マウス (4-5 週齢) に BBP 0、6,000、12,000 ppm (0、900、1,800 mg/kg/day 相当; CER1 換算) を 103 週間混餌投与した実験で、雌雄共に投与量に依存した体重の減少がみられている (U.S.NTP 1982)。

雄の F344 ラット (12-15 週齢) に BBP 0、0.625、1.25、2.5、5.0% (0、312.5、625、1,250、2,500 mg/kg/day 相当 CER1 換算) を 14 日間混餌投与した実験で、0.625% 以上の群に肝臓及び腎臓重量の増加、2.5% 以上の群に衰弱、嗜眠、体重の減少、骨髓造血細胞の減少、5% 群に多病巣性及び慢性肝炎、胸腺の皮質性リンパ球増加症、萎縮がみられている (Agarwal et al., 1985)。

雌雄の SD ラットに BBP を 0、500、1,000、1,500、2,000、3,000 mg/kg/day で 4 週間混餌投与した試験で、1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、3,000 mg/kg/day で歩行異常 (歩行時の後肢の硬直)、鼻出血がみられた (Hammond et al., 1987)。

雌雄の SD ラットに BBP を 0、500、1,000、1,500、2,000、3,000、4,000 mg/kg/day で 4 週間混餌投与した試験で、1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、雄で死亡、死亡例で脱水、四肢の青色化、炎症、体組織の広範な出血、2,000 mg/kg/day 以上で歩行異常 (歩行時の後肢の硬直)、鼻出血がみられた。混餌投与期間終了後の 4 週間の回復試験で回復性がみられた (Hammond et al., 1987)。

雌雄の SD ラットに BBP を 0、500、1,500、3,000 mg/kg/day で 6 週間混餌投与した試験で、1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、3,000 mg/kg/day で歩行異常 (歩行時の後肢の硬直) がみられた (Hammond et al., 1987)。

雌雄の Wistar ラット (4-6 週齢) に BBP 0、2,500-12,000 ppm (各用量の濃度の記載ないが、雄 0、151、381、960 mg/kg/day、雌 0、171、422、1,069 mg/kg/day 相当) を 3 カ月間混餌投与した実験で、雌の 171 mg/kg/day 以上の群で肝臓相対重量の増加、盲腸相対重量の増加、雄の 381 mg/kg/day 以上の群で腎臓相対重量の増加、肝臓の赤色点、膵臓組織変化 (内分泌部: 膵島細胞空胞化を伴う腫大、膵島辺縁部のうっ血、軽度の線維化と褐色色素沈着を伴う炎症細胞浸潤; 外分泌部: 核濃縮、腺房萎縮、腺房辺縁部の炎症細胞浸潤) 尿の pH の低下、422 mg/kg/day 以上の雌で腎臓相対重量増加、雄の 960 mg/kg/day 群群で体重増加抑制、肝臓相対重量の増加、肝臓壊死、軽度貧血、雌の 1,069 mg/kg/day で体重増加抑制がみられている (Hammond et al., 1987)。

一方、雌雄の SD ラット (4-6 週齢) に BBP 0、2,500-20,000 ppm (各用量の濃度の記載ないが、0、188、375、750、1,125、1,500 mg/kg/day 相当) を 3 カ月間混餌投与した実験で、雄の 750 mg/kg/day 以上の群で腎臓相対重量の増加、雌の 750 mg/kg/day 以上の群で肝臓相対重量の増加、雄の 1,125 mg/kg/day 以上の群で肝臓相対重量の増加がみられているが、上述の Wistar ラットでみられた膵臓の組織変化はみられていない (Hammond et al., 1987)。

雄の F344/N ラットに BBP 0、1,600、3,100、6,300、12,500、25,000 ppm (0、80、155、315、625、1,250 mg/kg/day 相当; CER1 換算) の濃度で 13 週間混餌投与した試験で、25,000 ppm の雄で体重増加抑制がみられている (U.S.NTP, 1982)。

雄の F344/N ラット (6 週齢) に BBP 0、300、900、2,800、8,300、25,000 ppm (0、30、60、180、550、1,650 mg/kg/day 相当) を 26 週間混餌投与した実験で、8,300 ppm 以上の群で肝

臓重量の増加、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) 増加、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) 増加、25,000 ppm 群で体重増加抑制、大赤血球貧血 (ヘマトクリット値減少、赤血球数減少、平均赤血球容積増加)がみられている (U.S.NTP 1997a)。

雌雄の F344 ラット(6週齢)に BBP 雄 0、3,000、6,000、12,000 ppm、雌 0、6,000、12,000、24,000 ppm (雄 0、120、240、500 mg/kg/day、雌 0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当) を 106 週間混餌投与した実験で、雄の 3,000 ppm 以上の群で腎臓重量の増加、雌の 6,000 ppm 以上の群で腎症、雄の 12,000 ppm 群で体重増加抑制、赤血球数及び平均赤血球ヘモグロビン量の減少 (投与開始後 6 ヶ月目検査時)、肝臓重量の増加、尿細管色素沈着、肝肉芽腫、膵臓腺房細胞限局性過形成、雌の 12,000 ppm 群で腎臓重量増加、雌の 24,000 ppm 群で体重増加抑制、ヘマトクリット値減少 (投与開始後 15 ヶ月目検査時)、トリヨードチロニン (T3) 減少 (投与開始後 6、15 ヶ月目及び 106 週目検査時)、尿細管色素沈着、肝肉芽腫、膵臓の腺房細胞限局性過形成、膀胱移行上皮細胞過形成がみられている (U.S.NTP 1997a)。

その他、雌雄のイヌ (ビーグル、成犬) に BBP 0、10,000-50,000 ppm (各用量の濃度の記載ないが、雄 0、400、1,000、1,852 mg/kg/day、雌 0、700、1,270、1,973 mg/kg/day 相当) を 3 カ月間混餌投与した実験で、雄の 400、1,852 mg/kg/day 群及び雌の 1,270 mg/kg/day 以上の群で体重減少がみられている (Hammond et al., 1987)。

また、雌雄の SD ラットに BBP のペーパー/エアロゾル 0、360、1,000、2,100 mg/m³ (0、66.9、185.7、390 mg/kg/day 相当 : CERI 換算) を 6 時間/日、5 日/週、4 週間吸入暴露した実験では、2,100 mg/m³ で体重増加抑制、紅涙、鼻出血、脾臓の萎縮、死亡 (雄 : 3/20、雌 : 4/20) がみられている (Hammond et al., 1987)。

雌雄の SD ラット(6-8 週齢)に BBP ペーパー/エアロゾル 0、51、218、789 mg/m³ (0、9.5、40.5、146.5 mg/kg/day 相当 : CERI 換算) を 6 時間/日、13 週間吸入暴露した実験では、789 mg/m³ 群で雌雄共に肝臓及び腎臓重量の増加、雄のみで血糖値の減少がみられている (Hammond et al., 1987)。

4) 変異原性・遺伝毒性及び発がん性に関する情報

(1) 変異原性・遺伝毒性 (表-2)

in vitro 試験では、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験で陰性である (Zeiger et al., 1982; 1985; Kozumbo et al., 1982)。

マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験について陰性である (Barber et al., 2000; Myhr & Caspary, 1991)。

BALB/3T3 細胞を用いる形質転換試験でも陰性を示している (Barber et al., 2000)。

チャイニーズハムスター培養細胞 (CHO 細胞) の染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験では陰性である (Galloway et al., 1987)。

大腸菌、枯草菌を用いた DNA 修復試験で陰性である (Omori, 1976)。

in vivo 試験では、BBP 1,250 - 5,000 mg/kg を単回腹腔内投与したマウスから摘出した骨髄細胞の染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験で弱い陽性が認められている (U.S.NTP, 1997a)。

ショウジョウバエの伴性劣性致死試験では陰性を示している (Valencica et al., 1985)。雌ラットに 1 mg/L(0.183 mg/kg/日相当) を妊娠 1 日～哺育 20 日まで飲水投与して小核の誘発を調べた試験で、小核の誘発はみられていない (Ashby et al., 1997)。

表-2 変異原性・遺伝毒性試験結果

試験方法		使用細胞種・動物種	結果*	文献
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537 333 - 11,550 μ g/plate S9(+/-)	-	Zeiger et al., 1985
		ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA15 100 - 10,000 μ g/plate S9(+/-)	-	Zeiger et al., 1985
		ネズミチフス菌 TA98, TA100 1,000 μ g/plate まで S9(+/-)	-	Kozumbo et al., 1982
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫 L5178Y 細胞、S9(+/-)	-	Barber et al., 2000
		マウスリンパ腫 L5178Y 細胞、S9(+/-)	-	Myhr & Caspary, 1991
	形質転換試験	BALB/3T3 細胞、	-	Barber et al., 2000
	染色体異常試験	CHO 細胞 S9(+/-)	-	Galloway et al., 1987
	姉妹染色分体交換試験	CHO 細胞 S9(+/-)	-	Galloway et al., 1987
DNA 修復試験	大腸菌、枯草菌 30 mg/plate	-	Omori, 1976	
<i>in vivo</i>	染色体異常試験	マウス骨髄細胞、1,250-5,000 mg/kg の単回腹腔内投与	+ w	U.S.NTP, 1997a
	姉妹染色分体交換試験	マウス骨髄細胞、1,250-5,000 mg/kg の単回腹腔内投与	+ w	U.S.NTP, 1997a
	伴性劣性致死試験	ショウジョウバエ	-	Valencica et al., 1985
	小核試験	ラット 1 mg/L(0.183 mg/kg/日相当)妊娠1日 - 哺育20日 飲水投与	-	Ashby et al., 1997

* - : 陰性 + : 陽性 + w : 弱い陽性

(2) 発がん性 (表-3, 付表-4, 付表-5)

げっ歯類での発がん性に関しては、U.S.NTP が行った発がん性試験の結果がある (付表-4)。

雌雄の B6C3F₁ マウス (5-6 週齢) に BBP 0、6,000、12,000 ppm (0、900、1,800 mg/kg/day 相当) を 103 週間混餌投与した実験で、いずれの投与群にも腫瘍発生率及び種類に対照群との有意差はみられていない (U.S.NTP, 1982)。

雌雄の F344 ラット (5 週齢) に BBP 0、6,000、12,000 ppm (0、300、600 mg/kg/day 相当 CERI 換算) を雄では 28 週間 (29-30 週に屠殺)、103 週間 (105-106 週に屠殺) 混餌投与した実験で、12,000 ppm 投与群の雌で単 (核) 球性白血病 (MNCL) の発生率の増加

がみられている (U.S.NTP, 1982)。この試験については、雄で BBP の投与と関連しない死亡が試験の初期にみられ、雄については発がん性を調べることができなかつたため、次に記載した追加試験が実施された。

雌雄の F344 ラット (6 週齢) に BBP 0、3,000 (雄のみ)、6,000、12,000、24,000 (雌のみ) ppm (雄 0、120、240、500 mg/kg/day 相当; 雌 0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当) を 106 週間混餌投与した追加試験で、雌のいずれの群でも単(核) 球形白血病 (MNCL) の発生率に差はみられていない。雄では 12,000 ppm で膵臓腺房細胞の腫瘍 (腺腫/がん腫) 発生率の増加がみられている。また、雌では 24,000 ppm で膵臓腺房細胞腺腫及び膀胱移行上皮細胞乳頭腫のわずかな増加がみられた。著者らは、F344 ラットの雄でみられた膵臓腫瘍については、膵臓腺房細胞腺腫の増加、膵臓腺房細胞腺腫及びがん腫の増加に基づき「発がん性を示す証拠がある」とし、雌でみられた膵臓腺房細胞腺腫及び膀胱移行上皮細胞乳頭腫については発生率が低いことから「疑わしい証拠がある」としている (U.S.NTP, 1997a)。

餌の摂取量が腫瘍の発生率に影響を与えることがあるため、2 年間あるいは生涯にわたって対照群、被験物質投与群ともに給餌量を制限した発がん性試験が実施され、先の自由摂取による 2 年間発がん試験の結果、あるいは、体重一致対照群 (対照群の体重を被験物質投与群の体重と合わせるために対照群の給餌量を制限した群) との比較が行われている。F344 ラットにフタル酸 n-ブチルベンジルを雄では 12,000 ppm、雌では 24,000 ppm で 2 年間 (105 週間) 及び生涯 (雄 128 週間、雌 140 週間) 給餌量を制限して混餌投与した試験では、先の餌を自由摂取させた 2 年間 (106 週間) の試験において雄で明らかな影響としてみられた膵臓腺房細胞の腫瘍 (腺腫/がん腫) 発生率の増加は、雌雄共に制限給餌試験では 2 年間、生涯いずれにおいてもみられていない。雌で生涯制限給餌試験において膀胱移行上皮細胞の腫瘍 (乳頭腫/がん腫) のわずかな増加がみられた。この増加は 2 年間の制限給餌試験ではみられないことから、餌の自由摂取によるものではなく投与期間の延長が主要な要因であり、フタル酸 n-ブチルベンジルの作用に基づくものとしている (U.S.NTP, 1997b)。

げっ歯類の肝臓において、ペルオキシソームの増生により肝臓がんが誘発されるという報告 (Ashby et al., 1994) があり、BBP についても以下のような肝臓のペルオキシソーム増生作用に関する報告がある。BBP のペルオキシソームの増生に関する試験結果を付表 5 に示す。

雌雄の F344 ラットに BBP を 0、0.6、1.2、2.5% (0、300、600、1,250 mg/kg/day 相当 CER1 換算) の濃度で 21 日間混餌投与した実験で、用量相関性のある肝臓相対重量増加、肝ペルオキシソーム増生の指標である肝臓中のパルミトイル CoA 酸化酵素、ラウリン酸 11-加水分解酵素及びラウリン酸 12-加水分解酵素の増加がみられ、高用量群の電子顕微鏡検査で肝ペルオキシソームの増生がみられたが、げっ歯類の弱い肝がん物質であるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) の肝ペルオキシソーム増生と比較して弱い増生であった (Barber et al., 1987)。

雌の F344 ラットに BBP を 0、6,000、12,000、24,000 ppm (0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当) の濃度で 1 ヶ月または 1 年間給餌投与した実験で、肝ペルオキシソーム増生の指標である肝臓中の酵素の増加 (6,000 ppm 以上でカルニチンアセチル転移酵素の増加、12,000 ppm 以上でパルミトイル CoA 酸化酵素の増加)のわずかな増生がみられた (U.S.NTP, 1997a)。しかし、BBP のペルオキシソーム増生能はラット、マウスにおいてペルオキシソームの増生と肝臓の腫瘍発生が確認されている DEHP の 13%程度と低いことが報告されている (U.S.NTP, 1997a)。

これらの結果から、BBP のペルオキシソーム増生はげっ歯類の弱い肝発がん物質である DEHP の肝ペルオキシソーム増生と比較してその 13%程度と弱いこと、NTP の試験でマウス、ラットいずれの発がん性試験においても、肝臓腫瘍の発生が認められなかった理由は本物質のペルオキシソーム作用が弱いことに関連していると考えられている。

なお、DEHP ではペルオキシソーム増生はげっ歯類に特異的な現象であり、マーモセットでは生じないことが知られている。また、げっ歯類のペルオキシソーム増生作用は PPAR を介する反応であり、PPAR ノックアウトマウスでは起こらないことも知られている。ヒトや霊長類では PPAR はペルオキシソーム増生には関与していないと考えられている。これらの知見は BBP でも同様であると思われ、今後、BBP の発がん性評価に影響を与えるものと思われる。

BBP の国際機関等での発がん性評価を表 3 に示す。

国際がん研究機関 (IARC : International Agency for Research on Cancer) では、ヒトでの発がん性の証拠は不十分であり、動物に対しては発がん性の証拠が限られていることから「ヒトに対する発がん性について分類できない物質 (グループ 3)」と 1999 年に評価している (IARC, 1999)。

なお、米国環境保護庁 (U.S.EPA : U.S.Environmental Protection Agency) では、ラットの発がん性試験での雌ラットの単核細胞性白血病 (MNCL) の発生率の有意な増加 (U.S.EPA, 1982)を元に「ヒトに対して発がん性を示す可能性がある物質 (グループ C)」と 1993 年に評価しているが 2003 年現在再評価は実施されていない (U.S.EPA, 2003)。

ヒトでの発がん性に関する報告はない。

表-3 国際機関等での発がん性評価

機関	分類	分類基準	出典
U.S.EPA	グループ C	ヒト発がん性があるかもしれない物質。	IRIS, 2002
EU	-	発がん性について評価されていない。	ECB, 2000
U.S.NTP	-	発がん性について評価されていない。	U.S.NTP, 2000
IARC(1999)	グループ 3	ヒトに対する発がん性については分類できない物質。	IARC, 2001
ACGIH	-	発がん性について評価されていない。	ACGIH, 2001
日本産業衛生学会	-	発がん性について評価されていない。	日本産業衛生学会, 2001

5) 免疫系への影響

現時点で免疫系への影響に関する報告はない。

6) 生体内運命

一般にフタル酸エステル及びその代謝物は消化管、腹腔内、肺から容易に吸収され、皮膚からも吸収される。経口的に摂取したフタル酸ジエステルは消化管内でモノエステルに加水分解され、モノエステルとして吸収されると考えられている。また、媒体がエステルの吸収、分布、排泄に重要な役割を果たしていると言われている (U.S.EPA, 1980)。

8人のボランティアからなる3グループに0、253 µg、506 µgのd₄-BBPを朝食時にマーガリンに添加して1回摂食させて、投与1日前、投与1、2、6日後に24時間蓄尿を分析した実験では、最初の24時間で投与されたd₄-BBPの67% (低用量)あるいは78% (高用量)がフタル酸モノベンジル-グルクロン酸抱合体として尿中排泄され、6% (高用量のみ) がフタル酸モノブチル-グルクロン酸抱合体として尿中排泄された。この結果からヒトでは主な代謝物はフタル酸モノベンジルであり、24時間以内に大部分がグルクロン酸抱合体として尿中排泄されることが示された (Anderson et al., 2001)。

雄のF344ラットにベンゼン環を¹⁴Cで標識したBBPを2、20、200、2,000 mg/kgで経口投与し、尿中排泄、糞中排泄、総排泄量、尿中代謝物の同定が行われている。

経口投与では24時間後に総排泄量として投与した放射活性の75~86%が排泄され、96時間後には92%以上が排泄されている。排泄経路の内訳では、200 mg/kgまでは投与量の71~80%が尿中、18~23%が糞中で、2,000 mg/kgでは72%が糞中、22%が尿中であつた。24時間後の尿中代謝物として、フタル酸モノエステル、フタル酸モノエステル-グルクロン酸抱合体及び未同定代謝物が検出されている。フタル酸モノエステル、フタル酸モノエステル-グルクロン酸抱合体の投与量に対する割合は200 mg/kgで最も高い割合を示した。また、200 mg/kgでフタル酸モノエステルの割合が増加し、フタル酸モノエステル-グルクロン酸抱合体の割合が低下したが、その原因として、急速な代謝の結果グルクロン酸抱合経路の飽和が生じたことによると考えられている (Eigenberg et al., 1986)。

雄のF344ラットにベンゼン環を¹⁴Cで標識したBBP 20 mg/kgを静脈内投与して投与後24時間までの体内分布を調べた実験、胆汁中排泄について調べた実験が行われている。体内分布では、検査した血液、脳、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、小腸、筋肉、皮膚、脂肪において投与30分以内に各組織の最高濃度を示し以後減衰し、糞及び腸管内容物では遅れて投与2時間後に最高濃度を示し、尿では経時的に濃度の上昇がみられている。血中半減期はBBPで10分、代謝物であるモノフタレートは5.9時間、総¹⁴Cは6.3時間である。24時間後までの総排泄量は93.65%、尿中排泄量は74.19%、糞中排泄量は19.46%で、尿中代謝物はフタル酸モノエステルが41.56%、フタル酸モノエステル-グルクロン酸抱合体が10.75%であつた。胆汁中排泄に関する実験では、投与後

4時間で放射活性の55%が胆汁中に、34%が尿中に排泄されている。胆汁中では26%がフタル酸モノブチル-グルクロン酸抱合体、13%がフタル酸モノベンジル-グルクロン酸抱合体、1.1%がフタル酸モノブチル、0.9%がフタル酸モノベンジルであり、未変化体はみられていない。尿中では15%がフタル酸モノブチル-グルクロン酸抱合体、2%がフタル酸モノベンジル-グルクロン酸抱合体、1.8%がフタル酸モノブチル、0.3%がフタル酸モノベンジルとして検出された (Eigenberg et al., 1986)。

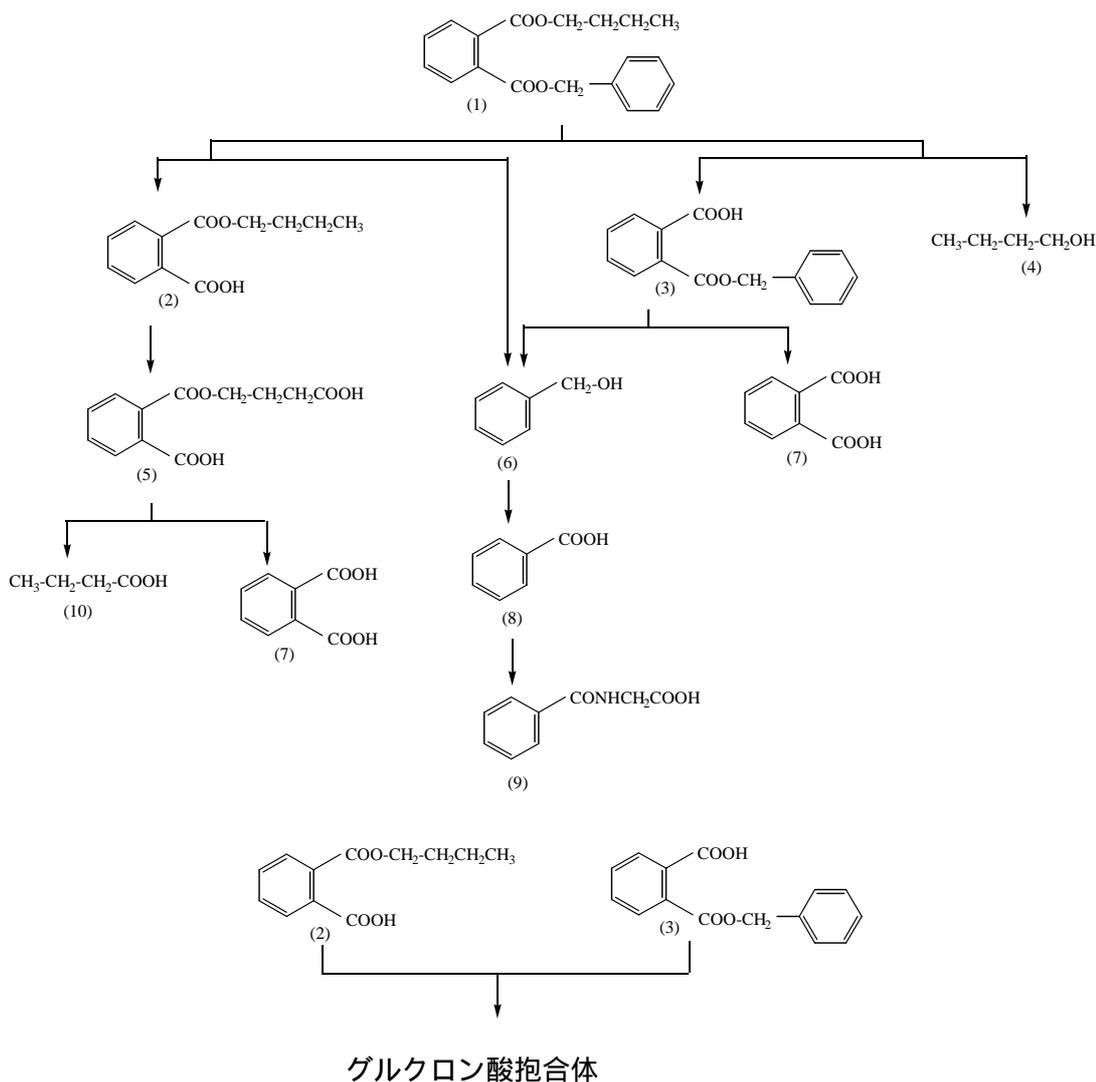
これら静脈内投与の分布の結果及び胆汁中排泄の結果からは静脈内投与された BBP は急速に各組織に分布し、フタル酸モノエステル (フタル酸モノブチル>フタル酸モノベンジル) に代謝され消失し、フタル酸モノエステルはグルクロン酸抱合され胆汁中に排泄後、脱抱合され腸管から再吸収され、最終的に尿中に排泄される。また、BBP は脂溶性物質であるが、脂肪組織への蓄積がみられない原因としては、急速に代謝され極性が高い物質となるためと考えられている (Eigenberg et al., 1986)。

雌の Wistar ラットに BBP 150、475、780、1,500 mg/kg/day を3日間強制経口投与し尿中の代謝物を各投与日の24時間後に測定した実験では、6種類の代謝物が検出され、投与量に対する総回収率は、フタル酸モノブチル、フタル酸モノベンジルが各々29~34%及び7~12%、馬尿酸が51~56%であり、その他、フタル酸、安息香酸、フタル酸モノブチルの一酸化代謝物であるフタル酸カルボキシプロピルが少量検出されている。未変化体及びグルクロン酸抱合体は検出されていない。Eigenberg 等が雄ラットにおいて尿中に検出されると報告しているフタル酸モノエステルのグルクロン酸抱合体が検出されないのは、抱合過程の様々な段階で性差が生じるのであろうと考えられている (Nativelle et al., 1999)。

雄の Wistar Imamichi ラットに BBP 3.6 mmol/kg/day (1,100 mg/kg/day 相当) を3日間経口投与し尿中の代謝物を測定した実験で、主要な代謝物はフタル酸モノブチルとフタル酸モノベンジルでその比は約5:3であった (Mikuriya et al., 1988)。

雄の F344 ラットの剪毛した背部皮膚にベンゼン環を¹⁴Cで標識した BBP 49 mg/kg を無水エタノールに溶かして半閉塞適用した実験で、7日後までに投与量の27%が吸収されている。残りの大部分は投与部位から検出されている (Elsisi et al., 1989)。

以上のように、BBP を経口的に摂取した場合、急速にフタル酸モノエステルに加水分解された後、ヒト及び雄ラットではグルクロン酸抱合され主に尿中に排泄される。主要な代謝物はヒトではフタル酸モノベンジルであるが、雄ラットではフタル酸モノブチル、雌ラットではフタル酸モノブチル及び馬尿酸であり種差がみられる。また、ヒトでは性差は不明であるが、ラットでは、雄でグルクロン酸抱合体が形成されるが、雌ラットでは形成されず性差がみられている。ヒトでは性差は不明である。



- | | |
|------------------|--------------|
| (1)フタル酸ブチルベンジル | (6)ベンジルアルコール |
| (2)フタル酸モノブチル | (7)フタル酸 |
| (3)フタル酸モノベンジル | (8)安息香酸 |
| (4)ブチルアルコール | (9)馬尿酸 |
| (5)フタル酸カルボキシプロピル | (10)酪酸 |

図1 フタル酸ブチルベンジルの代謝経路

2. 現時点での有害性評価

ヒトの内分泌系、生殖系への影響に関して、本物質暴露との関連が明確にされている報告はない。

本物質の内分泌系への影響を調べるための *in vitro* 実験において、本物質はエストロゲン受容体に対して弱い結合性(E2 の 1/28,000-1/80,000) 及びエストロゲン受容体を介

する弱い遺伝子転写活性、ヒト乳ガン細胞に対して細胞増殖応答を示すなどエストロゲン作用を示すものの、*in vivo* 試験の子宮増殖アッセイでエストロゲン作用は検出されていない。一方、*in vitro* 実験において、本物質はアンドロゲン受容体に対して弱い結合性(ジヒドロテストステロンの 1/6,000 程度)を示すもののレポーター遺伝子アッセイではアンドロゲン受容体を介する遺伝子の転写活性化はみられていない。しかしながら、*in vivo* 試験のハーシュバーガーアッセイの抗アンドロゲン作用検出系で、副生殖器官の重量の減少(用量相関性が不明瞭)がみられ、また妊娠雌ラットに高用量(750mg/kg/day)を経口投与した試験で、F₁ 雄の生殖系に対する影響がみられることから、BBP は抗アンドロゲン作用を有する可能性が示唆される。

この他、本物質の生殖系への主な影響として、反復投与毒性試験では、1,000 mg/kg/day 相当以上の高用量で雄ラットの精巣及び副生殖器官重量の減少と変性がみられている。生殖・発生毒性試験では、100 mg/kg/day 以上で仔動物の体重減少、375 mg/kg/day 相当以上で仔動物の生存仔数の減少がみられたとの報告があるが、受胎率の低下、吸収胚の増加、生存仔数及び仔生存率の減少や胎仔の外表、骨格及び内臓奇形等がみられたとの報告の多くは、概ね高用量(654~1,640 mg/kg/day)でみられている。また、1 世代生殖毒性試験の結果、2,200 mg/kg/day 相当の高用量で雄親動物の生殖系への影響に関連したと考えられる不妊率の増加がみられている。

また、2 世代生殖毒性試験の結果、雄親動物、雄仔動物に主に影響がみられ、雄親動物では 100 から 750 mg/kg/day の用量で精巣の萎縮や精子数の減少がみられ、生殖能力に対する影響は 500 mg/kg/day で影響がみられないとの報告があるが、400 mg/kg/day や 750 mg/kg/day 相当で不妊率の増加がみられるとの報告があり、概ね高用量(400~750 mg/kg/day)で生殖能力に対する影響があるものと考えられる。また、仔動物に対する影響は 100 mg/kg/day の用量から出生仔体重の低値がみられるものと考えられ、100 から 500 mg/kg/day の用量で雄仔動物に AGD の減少、750 mg/kg/day で尿道下裂がみられている。

なお、本物質の有害性に関連する情報として、ヒトにおいて皮膚刺激性を有するという報告、皮膚刺激性及び感作性を有さないという報告がある。動物実験では反復投与では経口、経皮の経路により主に肝臓、脾臓、腎臓に影響がみられている。遺伝毒性は *in vitro* 試験では、全て陰性である。また、*in vivo* 試験においても、染色体異常試験では弱い陽性を示す結果もみられるが、明らかな変化とは言いがたく総じて陰性と判断される。

発がん性試験では、ラットの雄で膵臓腺房細胞の腺腫あるいはがん腫の発生率の増加、雌で膀胱移行上皮細胞乳頭腫あるいはがん腫の増加がみられており、ラットに対しては何らかの要因が関与した催腫瘍性が示唆された。なお、フタル酸 n-ブチルベンジルでは、他のフタル酸エステル(フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)と異なり肝臓腫瘍の発生は認められていない。

3. リスク評価等今後必要な対応

本物質については、BBP は *in vitro* でアンドロゲン受容体と弱い結合性を示し（遺伝子転写活性化試験では陰性）、*in vivo* のハーシュバーガー試験、妊娠期暴露試験で抗アンドロゲン作用を有する可能性が示唆された。生殖発生毒性試験は、従来の報告に加えて、経済産業省が独自に行った 2 世代試験においても、雄の親動物及び仔動物の雄性生殖器を中心に影響が観察されており、一部は抗アンドロゲン作用によると考えられる変化が認められた。すなわち、BBP は抗アンドロゲン作用を有し、主に雄動物に対してそれによると考えられる有害性影響を発現する（ほぼ 100mg/gkg/day 以上で影響が発現し、400～750mg/kg/day 以上では生殖能力に悪影響あるいは奇形の誘発を及ぼす可能性がある）と考えられる。従って、BBP は高用量暴露では、抗アンドロゲン作用によると考えられる雄性生殖器への影響が認められ、生殖・発生毒性として次世代への影響が認められた。今後は暴露実態を調査して、リスク評価を実施することが望ましい。なお、環境省では平成 14 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会において、「げっ歯類を用いた 1 世代試験」および「試験管内 (In vitro) 試験結果等を取りまとめて、哺乳類を用いた人健康への内分泌攪乱作用に関する試験結果としては既報告で影響が報告されている最高用量 (500 mg/kg/day) においてのみ一般毒性が認められたが、低用量 (300 μg/kg/day 以下；文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかったとしている。ただし、現時点では内分泌かく乱作用との関連は明らかではないものの低用量で有意差の有る変化が認められており今後の知見集積の中で注視する必要があるとしている。

参考文献 (文献検索時期 : 2003 年 2 月¹⁾)

- ACGIH (2001) American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. Seventh Edition, Cincinnati, Ohio, 200.
- Agarwal, D.K., Maronpot, R.R., Lamb, J.I.V., and Kluwe, W.M. (1985) Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats. *Toxicology* 35, 189-206.
- Anderson, W. A., Castle. L.; Scotter, M. J., Massey, R. C. and Springall, C. (2001) A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food Addit. Contam.* 18,1068-1074.
- Aschengrau, A., Coogan, P.F., Quinn, M., and Cashins, L.J. (1998) Occupational exposure to estrogen chemical and the occurrence of breast cancer: an exploratory analysis. *Am. J. Ind. Med.*, 34, 6-14.
- Ashby, J., Tinwell, H., Lefevre, P.A., Odum, J., Paton, D., Millward, S.W., Tittensor, S., and Brooks, A.N. (1997) Normal sexual development of rats exposed to butylbenzyl phthalate from conception to weaning. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 56, 102-118.
- Ashby, J. and Lefevre, P. A. (2000) The peripubertal male rat assay as an alternative to the Hershberger castrated male rat assay for the detection of anti-androgens, oestrogens and metabolic modulators. *J. Appl. Toxicol.*, 20, 35-47.
- Barber, E.D., Astill, B.D., Moran, E.J., Schneider, B.F., Gray, T.J.B., Lake, B.G., and Evans, J.G. (1987) Peroxisome induction studies on seven phthalate esters. *Toxicol. Ind. Health*, 3, 7-24.
- Barber, E., Clifone, M., Rundell, J., Przygoda, R., Astill, B., Moran, E., Mulholland, A., Robinson, E., and Schneider, B. (2000) Results of the L5178Y mouse lymphoma assay and the Balb/3T3 cell *in vitro* transformation assay for eight phthalate esters. *J. Appl. Toxicol.*, 20, 69-80.
- Bayer AG. (1998) Butyl benzyl phthalate (BBP) – Developmental reproduction study in Wistar rats with application in the diet or drinking water 28215: Bayer AG, Institute of Toxicology, Carcinogenicity and Genotoxicity. (CERHR, 2000から引用)
- Blair, R.M., Fang, H., Branham, W.S., Hass, B.S., Dial, S.L., Moland, C.L., Tong, W., Shi, L., Perkins, R., and Sheehan, D.M. (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicol. Sci.*, 54, 138-153.
- Brady, A. M., Moffat, G. J., Hall, M. G., Martens, F. K., Martens, M. A. and Nair, R. (2000) An assessment of *in vivo* estrogenic activity of butyl benzyl phthalate and its principal mammalian metabolites. *Toxic Substance Mechanisms*. 19: 1-24.
- CERHR (2000) NTP-CERHR Expert Panel Report on butyl benzyl phthalate. Center for Evaluation of Risk to Human Reproduction, USA.

1) データベースの検索を 2003 年 2 月に実施した。新たなデータを入手した際には文献を更新した。

- Coldham, N.G., Dave, M., Sivapathasundaram, S., McDonnell, D.P., Connor, C., and Sauer, M.J. (1997) Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. *Environ. Health Perspect.*, 105, 734-742.
- ECB (2000) Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labeling of dangerous substances : ANNEX I (<http://ecb.jrc.it>).
- Eigenberg, D.A., Bozigian, H.P., Carter, D.E., and Sipes, E.G., (1986) Distribution, excretion, and metabolism of butylbenzyl phthalate in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health*, 17, 445-456.
- Elsisi, A.E., Carter, D.E., and Sipes, I.G. (1989) Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 12, 70-77.
- Ema, M., Murai, T., Itami, R., and Kawasaki, H. (1990) Evaluation of the teratogenic potential of the plasticizer butyl benzyl phthalate in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 10, 339-343.
- Ema, M., Itami, T., and Kawasaki, H. (1991) Evaluation of the embryoletality of butyl benzyl phthalate by conventional and pair-feeding studies in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 11, 39-42.
- Ema, M., Itami, T., and Kawasaki, H. (1992a) Teratogenic evaluation of butyl benzyl phthalate in rats by gastric intubation. *Toxicol. Lett.*, 61, 1-7.
- Ema, M., Itami, T., and Kawasaki, H. (1992b) Embryoletality and teratogenicity of butyl benzyl phthalate in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 12, 179-183.
- Ema, M., Itami, T., and Kawasaki, H. (1992c) Effect of period of exposure on the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 12, 57-61.
- Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H., and Ogawa, Y. (1994) Embryoletality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats. *Reprod. Toxicol.*, 8, 231-236.
- Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H., and Ogawa, Y. (1995) Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl in rats. *Toxicol. Lett.*, 78, 101-106.
- Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E., and Ogawa, Y. (1996a) Characterization of developmental toxicity of mono-n-butyl phthalate in rats. *Reprod. Toxicol.*, 10, 365 - 372.
- Ema, M., Kurosaka, R., Harazono, A., Amano, H., and Ogawa, Y. (1996b) Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 170 - 176.
- Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E., and Ogawa, Y. (1996c) Developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate, in rats. *Toxicol. Lett.*, 86, 19-25.
- Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. (1998) Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.*, 12, 127-132.
- Galloway, S.M., Armstrong, M.J., Reuben, C., Colman, S., Brown, B., Cannon, C., Bloom, A.D., Nakamura, F., Ahmed, M., Duk, S., Rimpou, J., Margolin, B.H., Resnick, M.A., Anderson, B., and Zeiger, E. (1987) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluations of 108 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.*, 10, 1-175.

- Gray L.E. Jr., Ostby J., Furr J., Price M., Rao Veeramachaneni D.N., and Parks L.(2000) Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol. Sci.*, 58, 350 - 365 .
- Harris, C.A., Henttu, P., Parker, M.G., and Sumpter, J.P. (1997) The estrogenic activity of phthalate esters *in vitro*. *Environ. Health Perspect.*, 105, 802-811.
- Hammond, B.G., Levinskas, G.J., Robinson, E.C., and Johannsen, F.R. (1987) A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. *Toxicol. Ind. Health*, 3, 79-97.
- Hashimoto, Y., Moriguchi, Y., Oshima, H., Nishikawa, J., Nishihara, T., and Nakamura, M. (2000) Estrogenic activity of chemicals for dental and similar use *in vitro*. *J. Materials Sci.*, 11, 465-468.
- HSDB (2001) Hazardous Substance Data Bank, National Library of Medicine
(<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>)
- IARC (2001) IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. ホームページ上 (<http://www.iarc.fr>) の最新リスト
- Imajima, T., Shono, T., Zakaria, O., and Suita, S. (1997) Prenatal phthalate causes cryptorchidism postnatally by inducing transabdominal ascent of the testis in fetal rats. *J. Pediatr. Surg.*, 32, 18-21.
- IPCS (1999) Concise international chemical assessment document 17: Butyl benzyl phthalate. Geneva, Switzerland:WHO.
- IRIS (2002) Integrated Risk Information System, National Library of Medicine, (<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?IRIS>).
- Itoh, S., Umeda, H., Naasaka, T., Nakanishi, G., and Sumitomo, H. (2000) Evaluating variation of estrogenic effect by drinking water chlorination with the MVLN assay. *Water Sci. Technol.*, 42, 61-69.
- Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M.G., and Sumpter, J.P. (1995) A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Perspect.*, 103, 582-587.
- Jones, P.A., Baker, V.A., Irwin, A.J.E., and Earl, L.K. (1998) Interpretation of the *in vitro* proliferation response of MCF-7 cells to potential oestrogens and non-oestrogenic substances. *Toxicol. in Vitro*, 12, 373-382.
- Korner, W., Hanf, V., Schuller W., Bartsch, H., Zwirner, M., and Hagenmaier, H. (1998) Validation and application of a rapid *in vitro* assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37, 2395-2407.
- Kozumbo, W.J., Kroll, R., and Rubin, R.J. (1982) Assesment of the mutagenicity of phthalate esters. *Environ. Health Perspect.*, 45, 103-109.
- Mallette, F.S. and von Haam, E. (1952) Studies on the toxicity and skin effects of compounds used in the rubber and plastics industries. II. Plasticizers. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 6, 231-236.
- Matthews, J., Celius, T., Halgren R., and Zachrewski, T. (2000) Differential estrogen receptor

- binding of estrogenic substances: a species comparison. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 74, 223-234.
- Mikuriya, H., Ikemoto, I., and Tanaka, A. (1988) Urinary metabolites contributing to the testicular damage induced by butylbenzyl phthalate. *Jikeikai Med. J.*, 35, 403.
- Myhr, B.C. and Caspary, W.J. (1991) Chemical mutagenesis at the thymidine kinase locus in L1578Y mouse lymphoma cells: results for 31 coded compounds in the National Toxicology Program. *Environ. Mol. Mutagen.*, 18, 51-83.
- Nagao, T., Ohta, R., Marumo, H., Shindo, T., Yoshimura, S., and Ono, H. (2000) Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study. *Reprod. Toxicol.*, 14, 513-532.
- Nativelle, C., Picard, K., Valentin, I., Lhuguenot, J.C., and Chagnon, M.C. (1999) Metabolism of n-butyl benzyl phthalate in the female Wistar rat. Identification of new metabolites. *Food Chem. Toxicol.*, 37, 905-917.
- Nishihara, T., Nishikawa, J., Kanayama, T., Dakeyama, F., Saito, K., Imagawa, M., Takatori, S., Kitagawa, Y., Hori, S., and Utsumi, H. (2000) Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *J. Health Sci.*, 46, 282-298.
- Omori, Y. (1976) Recent progress in safety evaluation studies on plasticizers and plastics and their controlled use in Japan. *Environ. Health Perspect.*, 17, 203-209.
- Parks, L.G., Ostby, J.S., Lambright, C.R., Abbott, B.D., and Gray, L.E., Jr. (1999) Perinatal butyl benzyl phthalate (BBP) and bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) exposures induce antiandrogenic effects in Sprague-Dawley (SD) rats. *Biol. Reprod.*, 60, 153.
- Piersma, A.H., Verhoef, A., and Dortant, P.M. (1995) Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using butyl benzyl phthalate. *Toxicology*, 99, 191-197.
- Sharpe, R.M., Fisher, J.S., Millar, M.M., Jobling, S., and Sumpter, J.P. (1995) Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ. Health Perspect.*, 103, 1136-1143.
- Sohoni, P. and Sumpter, J.P. (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *J. Endocrinol.*, 158, 327-339.
- Soto, A.M., Sonnenschein, C., Chung, K.L., Fernandez, M.F., Olea, N., and Serrano, F.O. (1995) The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.*, 103 (Suppl. 7), 113-122.
- Soto, A.M., Fernandez, M.F., Luizzi, M.F., Karasko, A.S.O., and Sonnenschein, C. (1997) Developing a marker of exposure to xenoestrogen mixtures in human serum. *Environ. Health Perspect.* 105 (Suppl. 3), 647-654.
- TNO NaFRI. (1993) Dietary one-generation reproduction study with butyl benzyl phthalate in rats: Monsanto. NTIS Doc No.86-930000189., Fiche No.OTS0538169.
- TNO NaFRI. (1998) Oral developmental reproduction study with butyl benzyl phthalate in Wistar rats. Volume 1 of 3: European Council for Plasticizers and Intermediates. (CERHR, 2000)

ら引用)

- Tran, D.Q., Klotz, D.M., Ladlie, B.L., Ide, C.F., McLachlan, J.A., and Arnold, S.F. (1996) Inhibition of progesterone receptor activity in yeast by synthetic chemicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 229, 518-523.
- Tyl, R.W., Myers, C.B., Marr, M.C., Fail, P.A., Seely, J.C., Brine, D.R., Barter, R.A. and Butala, J.H., (2004) Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reprod. Toxicol.* 18, 241-264.
- U.S.EPA, Environmental Protection Agency (1980) Ambient water quality criteria for phthalate esters. EPA 440/5-80-067. PB 81-117780.
- U.S.NTP (1982) Carcinogenesis bioassay of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed study). Research Triangle Park, NC, National Institutes of Health, National Toxicology Program (NTP Technical Report No. 213; National Technical Information Service Publication No. PB83-118398).
- U.S.NTP (1990) Final report on the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) in CD-1-Swiss mice. NTP-90-114. Research Triangle Park: National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences.
- U.S.NTP (1989) Developmental toxicity evaluation of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) administered in feed to CD rats on gestational days 6 to 15 NTP-89-246. Research Triangle Park: National Toxicology Program.
- U.S.NTP (1997a) Toxicology and carcinogenesis studies of butyl benzyl phthalate (CAS no. 85-68-7). in F344/N rats (feed studies). Rep nr. NTP TR 458, NIH Publication No. 97-3374: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health.
- U.S.NTP (1997b) Effect of dietary restriction on toxicology and carcinogenesis studies in F344/N rats and B6C3F1 mice. Research Triangle Park, NC27709, NTP TR 460, NIH Publication No. 97-3376: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health.
- U.S.NTP (2000) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, 9th Report on Carcinogens.
- Valencia, R., Mason, J. M. Woodruff, R.C., and Zimmering, S. (1985) Chemical mutagenesis testing in *Drosophia*. III. Results of 48 coded compounds tested for the National Toxicology. Program. *Environ. Mutagen.*, 7, 325-348.
- Zacharewski, T. R., Meek, M. D., Clemons, J. H., Wu, Z. F., Fielden, M. R. and Matthews, J. B. (1998) Examination of the in vitro and in vivo estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. *Toxicol. Sci.* 46: 282-293.
- Zeiger, E., Haworth, S., Speck, W., and Mortelmas, K. (1982) Phthalate ester testing in the national toxicology program's environmental mutagenesis test development program. *Environ. Health Perspect.*, 45, 99-101.
- Zeiger, E., Haworth, S., Mortelmas, K., and Speck, W. (1985) Mutagenicity testing of

di(2-ethylhexyl) phthalate and related chemicals in *Salmonella*. Environ. Mutagen., 7, 213-232.

CERI (化学物質評価研究機構)(2001a)平成11年度新エネルギー・産業技術総合開発機構
委託業務化学物質の内分泌攪乱効果に関する評価及び試験法の開発報告書。

CERI (化学物質評価研究機構)(2001b)平成12年度経済産業省環境対応技術開発等委託調
査研究、環境ホルモン効果に関する評価・試験法開発報告書。

CERI (化学物質評価研究機構)(2003)平成14年度経済産業省環境対応技術開発等委託調
査研究、環境ホルモン効果に関する評価・試験法開発報告書

経済産業省(2003)「二世世代繁殖毒性試験報告書」。

通商産業公報(1975)。

経済産業省(2003)平成13年度既存化学物質の製造・輸入量に関する実態調査。

日本産業衛生学会(2001)許容濃度等の勧告, 産業衛生学雑誌, 43, 95-119.

付表-1 レセプター結合に関する *in vitro* 試験結果

項目	試験方法及び条件	結果	結論	文献
ER に対する結合試験	方法: [³ H]-E2をリガンドとした競争結合試験 受容体: 未成熟SDラットの子宮ホモジネート 温度: 30 pH: 7.6 暴露濃度: 10 ⁻⁶ - 10 ⁻³ M	IC50値: 3.6 × 10 ⁻⁵ M (E2: 1.3 × 10 ⁻⁹ M) RBA (E2 = 1): 3.6 × 10 ⁻⁵	ER結合性を示す (結合性は E2 の 1/28,000)	Zacharewski et al., 1998
	方法: [³ H]-E2をリガンドとした競争結合試験 受容体: 未成熟SDラットの子宮ホモジネート pH: 7.4 温度: 4	IC50値: 7.2 × 10 ⁻⁵ M (E2: 8.99 × 10 ⁻¹⁰ M) RBA (E2=1): 1.2 × 10 ⁻⁵	ER結合性を示す (結合性は E2 の 1/80,000)	Blair et al., 2000
	方法: [³ H]-E2をリガンドとした競争結合試験 受容体: GST-ERdef融合タンパク(ヒト、マウス及びニワトリ) 温度: 4	10 ⁻⁹ - 10 ⁻⁴ Mの範囲で非常に弱い結合を示す IC50値: 結合性が弱く算出できない Weak binder (wb) Wb: 最高用量(100 μ M)において [³ H]-E2の結合性を 10 - 50% 阻害 RBA: -	ER結合性を示す	Matthews et al., 2000
	方法: エストロゲン受容体 - 蛍光リガンドES1 (ER - ES1複合体) からの蛍光リガンドES1置換 (結合阻害) を指標とした競争結合試験 受容体: ヒトER 温度: 25	IC50値: N.D. 5 × 10 ⁻⁵ M以上で蛍光リガンドES1の結合阻害率が増加 RBA: -	ER結合性を示す	Hashimoto et al., 2000
	方法: ヒト ERに対する結合試験 (組換えヒトER リガンドドメイン)	IC50: N.D. RBA: 3.2 × 10 ⁻⁵	ER結合性を示す (結合性は E2 の 1/31,000)	CERI, 2001b
AR に対する結合試験	方法: ヒト ARに対する結合試験 (組換えヒトARリガンドドメイン)	RBA: 1.68 × 10 ⁻⁴	AR結合性を示す (結合性は DHT の 1/6,000)	CERI, 2003
酵母ツーハイブリッドアッセイ	細胞: Gal4 DNA結合ドメイン/ヒトERリガンド結合ドメイン遺伝子、Gal4活性化ドメイン/コアクチベータTIF2遺伝子及び -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母	REC10: 5 × 10 ⁻⁴ M (E2: 3 × 10 ⁻¹⁰ M)	ERを介する転写活性化を示す (活性化は E2 の 1/1,700,000)	Nishihara et al., 2000
	細胞: Gal4 DNA結合ドメイン/ヒトERリガンド結合ドメイン遺伝子、Gal4活性化ドメイン/コアクチベータTIF2遺伝子及び -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母 暴露濃度: 5 × 10 ⁻⁷ - 5 × 10 ⁻³ M (BBP)	5 × 10 ⁻⁵ 、5 × 10 ⁻⁴ Mで弱い活性を検出 (5 × 10 ⁻⁴ M BBPにおける 10 ⁻⁷ M E2に対する相対的な最大反応 (E2 =100%) は10%)	ERを介する転写活性化を示す	Hashimoto et al., 2000
ヒトER応答性酵母増殖試験	細胞: ヒトERを導入した <i>S.cerevisiae</i> PL3株 暴露濃度: 10 ⁻⁵ M (BBP)、10 ⁻⁹ M (E2)、 暴露期間: 5日間	3日目から弱い増殖を検出 (E2も3日目から明らかな増殖を検出)	細胞増殖活性を示す	Zacharewski et al., 1998

項目	試験方法及び条件	結果	結論	文献
組換え酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイ	細胞：ヒトER遺伝子と β -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母 暴露濃度： 10^{-11} - 10^{-5} M (BBP)、 10^{-13} - 10^{-7} M (E2) 暴露時間：18時間	10^{-8} M - 10^{-5} Mの範囲で暴露量に依存して活性を検出 (10^{-5} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%)は5.3%) (E2に対する相対強度 (E2=1)は 4.0×10^{-6})	ERを介する転写活性化を示す (転写活性はE2の1/250,000)	Coldham et al., 1997
	細胞：ヒトER遺伝子と β -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を安定的に導入した酵母 暴露濃度： 5×10^{-7} - 10^{-3} M (BBP)、 4.8×10^{-12} - 10^{-8} M (E2) 暴露期間：4-6日間	10^{-6} M - 10^{-3} Mの範囲で暴露量に依存して活性を検出 (10^{-3} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%)は50%) (E2に対する相対強度 (E2=1)は 1.0×10^{-6})	ERを介する転写活性化を示す (転写活性はE2の1/1,000,000)	Harris et al., 1997
	細胞：ヒトアンドロゲン受容体(AR)遺伝子と β -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を安定的に導入した酵母 暴露濃度： 2×10^{-8} - 5×10^{-5} M (BBP)、 1.25×10^{-9} M (DHT) 暴露期間：4-6日間	アゴニスト作用： 2×10^{-8} - 5×10^{-5} Mの範囲で陰性 アンタゴニスト作用： 2×10^{-8} - 2×10^{-5} Mの範囲で 1.25×10^{-9} M DHTのアゴニスト作用を抑制	ARを介する転写活性化を示さない (DHTに対するアンタゴニスト作用あり。アゴニスト作用なし)	Sohoni & Sumpter, 1998
細胞：ヒトプロゲステロン受容体遺伝子と β -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母 暴露濃度： 10^{-6} M (BBP)、 10^{-8} Mプロゲステロン)、 10^{-6} M (BBP) + 10^{-8} M(プロゲステロン) 暴露時間：12時間	10^{-6} M BBPの暴露で有意な活性は検出されない 10^{-8} M プロゲステロンと 10^{-6} M BBPの同時暴露ではプロゲステロンの活性に影響しない	プロゲステロン受容体を介する転写活性化を示さない	Tran et al., 1996	
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	細胞：Gal4-ヒトER遺伝子とGal4調節シフェラーゼレポーター遺伝子を一過的に導入したMCF-7及びこれらの遺伝子を安定的に導入したHeLa細胞、 暴露濃度： 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} M (BBP)、 10^{-12} - 10^{-8} M (E2) 暴露時間：24時間	MCF-7細胞アッセイ： 10^{-5} Mで活性を検出 (10^{-8} M E2の活性に対して46%) HeLa細胞アッセイ： 10^{-5} Mの暴露で活性を検出 (10^{-8} M E2の活性に対して34%) (E2に対しては、 10^{-12} - 10^{-8} Mの範囲で暴露量に依存して転写活性率は増加、E2 = 10^{-8} MでのMCF-7細胞とHeLa細胞アッセイの活性化倍率はそれぞれ23倍と11倍)	ERを介する転写活性化を示す	Zacharewski et al., 1998
	細胞：ヒトER発現遺伝子及びER応答配列を導入したHeLa細胞 暴露濃度： 10^{-11} - 10^{-5} M	PC50: 4.1×10^{-6} M (E2: $<10^{-11}$ M)	ERを介する転写活性化を示す (転写活性はE2の1/410,000)	CERI, 2001b

項目	試験方法及び条件	結果	結論	文献
	細胞：ヒトER遺伝子とルシフェラーゼレポーター遺伝子を安定的に導入したヒト乳ガンMCF-7細胞(MVLN細胞) 暴露濃度： 10^{-10} - 10^{-5} M (BBP) 10^{-9} M (E2) 暴露時間：24時間	BBPの暴露で有意な活性を検出 (10^{-3} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%)は65%) (E2に対する相対強度 (E2=1)は 4.8×10^{-4})	ERを介する転写活性化を示す (転写活性はE2の1/2,100)	Itoh et al., 2000
	一過性発現系 (アゴニスト活性) 細胞：ヒトAR発現遺伝子及びAR応答配列を導入したCV-1細胞 暴露濃度： 10^{-11} - 10^{-5} M	10^{-11} - 10^{-5} Mの範囲で陰性	ARを介する転写活性化を示さない	CERI, 2003
	安定形質転換株 (アゴニスト活性、アンタゴニスト活性) 細胞：ヒトAR発現遺伝子及びAR応答配列を導入したCHO-K1細胞 暴露濃度： 10^{-11} - 10^{-6} M (BBP) 5×10^{-10} M (DHT)	アゴニスト作用： 10^{-11} - 10^{-6} Mの範囲で陰性 アンタゴニスト作用： 10^{-11} - 10^{-6} Mの範囲で 5×10^{-10} M のDHTのアゴニスト作用を抑制しない	ARを介する転写活性化を示さない	CERI, 2003
ヒト乳ガン細胞増殖アッセイ	細胞：ヒト乳ガン細胞 (ZR-75細胞) 暴露濃度： 10^{-5} M (BBP) 10^{-10} M (E2) 暴露期間：10日間	培養8日目から細胞増殖活性を示す	細胞増殖活性を示す	Jobling et al., 1995
	細胞：ヒト乳ガン細胞 (MCF-7細胞及びE-SCREEN アッセイ) 暴露濃度： 10^{-5} M (BBP) 10^{-10} M (E2) 暴露期間：5日間	10^{-5} Mで活性を検出 (10^{-5} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%)は90%) (E2に対する相対強度 (E2=1)は 1.0×10^{-5})	細胞増殖活性を示す (転写活性はE2の1/100,000)	Soto et al., 1995, 1997
	細胞：ヒト乳ガン細胞 (MCF-7及びZR-75細胞) MCF-7: 暴露濃度： 10^{-5} M (BBP)、 10^{-8} M (E2) 暴露期間：11日間 ZR-75-1: 暴露濃度： 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M (BBP) 10^{-8} M、 10^{-10} M、 10^{-12} M (E2) 暴露期間：10日間	MCF-7細胞アッセイ： 10^{-5} Mで活性を検出 ZR-75細胞アッセイ： 10^{-5} Mで活性を検出 (10^{-8} - 10^{-12} Mの範囲でE2の暴露に依存して活性)	細胞増殖活性を示す	Harris et al., 1997
	細胞：ヒト乳ガン細胞 (MCF-7) 暴露濃度： 10^{-10} - 10^{-5} M (BBP) 10^{-14} - 10^{-8} M (E2) 暴露期間：6日間	10^{-10} - 10^{-6} Mの範囲で暴露量に依存して活性を検出 (10^{-3} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%) は80%) (10^{-14} Mから 10^{-11} Mの範囲でE2の暴露に依存して活性を検出)	細胞増殖活性を示す	Jones et al., 1998
	細胞：ヒト乳ガン細胞 (MCF-7) 暴露濃度： 10^{-4} M (BBP) 10^{-12} - 10^{-8} M (E2) 暴露期間：5日間	3×10^{-5} Mで活性を検出 (3×10^{-5} M BBPにおけるE2に対する相対的な最大反応 (E2=100%)は80%) (E2に対する相対強度は (E2=1)は 4.0×10^{-6})	細胞増殖活性を示す (細胞増殖活性はE2の1/250,000)	Korner et al., 1998

ER: エストロゲン受容体; E2: 17 β -エストラジオール; REC10: 10^{-7} M E2 による活性値の10%に相当する濃度; PC50: E2による最大活性値の50%に相当する濃度; IC50: E2による50%阻害に相当する濃度

付表-2 ほ乳動物の内分泌系及び生殖系に関する試験結果

(1) ホルモン作用を検討するための実験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
マウス (CFLP、雌) 7匹/群	皮下 (子宮増殖 アッセイ)	18日齢から3 日間投与後、4 日目に子宮を 摘出し、重量を 測定	0、0.05、0.5、5 mg/匹	子宮重量に影響なし	Coldham et al., 1997
ラット (SD、雌) 6匹/群	皮下 (子宮増殖 アッセイ)	20日齢から3 日間投与、24 時間後に子宮 を摘出し重量 を測定	0、500、1,000、2,000 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	CERI, 2001a
			0、500、1000、2,000 mg/kg/day + 17-エチニルエス トラジオール 0.6 µg/kg/day 皮下 投与	子宮重量に影響なし	
ラット (APfSD、 雌) 6匹/群	皮下 (子宮増殖 アッセイ)	幼若動物に3 日間投与、24 時間後に子宮 を摘出し重量 を測定	0、0.5、5、50、500、 5,000 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	Brady et al., 2000
	強制経口 (子宮増殖 アッセイ)	幼若動物に3 日間投与、24 時間後に子宮 を摘出し重量 を測定	0、56、280、560、 1,120、2,240 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	
ラット (SD、雌) 10匹/群	強制経口 (子宮増殖 アッセイ) (19日齢で 卵巣摘出)	31日齢から 4日間投与後、 5日目に子宮を 摘出し、重量を 測定	0、20、200、2,000 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	Zacharewski et al., 1998
ラット (SD、雄) 6匹/群	強制経口 (ハーシュ バーガー アッセイ) (6週齢で去 勢)	去勢8日後投与 開始10日間 最終投与終了 約24時間後に 解剖	0、40、200、1,000 mg/kg/day + 0、40、200、1,000 mg/kg/day + プロピオン酸テス トステロン 0.4 mg/kg/day皮下投 与	副生殖器官の重量に影響なし 200 mg/kg以上の群で前立腺腹葉の絶対及び相対重量、精囊の相対重量、尿道球腺の絶対及び相対重量、球海綿体筋+肛門挙筋重量の減少(用量相関乏しい)	CERI, 2001a
ラット (SD、雌)	強制経口	妊娠14日-生後 3日 生後2日にAGD と精巣重量の 確認	0、750 mg/kg/day	F ₁ 雄： 精巣重量の減少、AGD減少、乳頭遺 残の発生率の増加(生後13日)	Parks et al., 1999
ラット (SD、雌)	強制経口	妊娠14日-生後 3日	0、750 mg/kg/day	F ₁ 雄： 出生時体重の減少、AGD減少、精巣 及び副生殖器重量減少、精巣及び副生 殖器の発育不全、乳輪、乳頭遺残の発 生率の増加、生殖器系の奇形発生の増 加 F ₁ 雌： 出生時体重の減少	Gray et al., 2000

(2) 反復投与毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット (F344、雄) (12-15 週齢) 10 匹/群	経口 (混餌)	14 日間	0、0.625、1.25、2.5、 5.0% (0、312.5、625、1,250、 2,500 mg/kg/day 相当)	0.625%以上 (1.25%を除く)で黄体ホル モン量の増加、2.5%以上で精巢、 精巢上体、前立腺、精嚢重量の減少、 精巢、前立腺、精嚢の萎縮、精巢上体 における未成熟精子細胞の生成、精細 管上皮細胞の壊死、卵胞刺激ホルモ ン量の増加 5%で精巢上体の萎縮、血漿中テスト ステロン量の減少	Agarwal et al., 1985
ラット (Alpk:Apf SD、雄)	強制経口	22-23 日齢 14 日間	0、500 mg/kg/day	精巢及び副生殖器官 (精巢上体、精 嚢、前立腺)に影響なし	Ashby & Lefevre, 2000
		35-36 日齢 14 日間	0、500 mg/kg/day	精巢及び副生殖器官(精巢上体、精嚢、 前立腺)に影響なし	
		35-36 日齢 20 日間	0、500 mg/kg/day	精巢及び副生殖器官(精巢上体、精嚢、 前立腺)に影響なし	
ラット (SD、雌雄) 4-7 週齢 5-10 匹/群	経口 (混餌)	4 週間	0、500、1,000、1,500、 2,000、3,000、4,000 mg/kg/day	1,500 mg/kg/day 以上で精巢萎縮 4 週間の回復試験では少数例で精巢 萎縮残存	Hammond et al., 1987
ラット (F344/N、雌 雄) 4-5 週齢 10 匹/群	経口 (混餌)	13 週間	0、1,600、3,100、6,300、 12,500、25,000 ppm (0、80、155、315、625、 1,250 mg/kg/day 相当、 CERI 換算 ¹⁾)	25,000 ppm の雄で精巢変性	U.S.NTP, 1982
ラット (F344/N、 雄) (6 週齢) 11-15 匹/群	経口 (混餌)	26 週間	0、300、900、2,800、 8,300、25,000 ppm (0、30、60、180、550、 1,650 mg/kg/day 相当)	25,000 ppm で精巢、精嚢及び精巢上体 重量の減少、精巢及び精巢上体の変 性、精細管の萎縮、精子数の減少	U.S.NTP, 1997a
ラット (F344/N、 雄) (6 週齢)	経口 (混餌)	106 週間	0、3,000、6,000、12,000 ppm (0、120、240、500 mg/kg/day 相当)	6,000 ppm 以上で精巢上体重量の増加	U.S.NTP, 1997a
ラット (Wistar-Im amichi、雄) (8 週齢) 5 匹/群	強制 経口	7 日間	0、MBuP 800 mg/kg/ 日、MBeP 920 mg/kg/ 日	MBuP: 精巢絶対重量の減少、精巢の 重度の障害(精細管管腔径の減少、管 腔内の成熟生殖細胞消失) MBeP: 異常なし MBuP:フタル酸モノブチル MBeP:フタル酸モノベンジル	Mikuriya et al., 1988

(3) 生殖毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
ラット (F344/N、雄) (6週齢) 15匹/群	経口 (混餌)	1世代改良交配試験 交 配 前 10 週 間、無処置の雌2匹と7日間交配 雌は妊娠13日で剖検雄は交配後、剖検	0、300、2,800、25,000 ppm (0、20、200、2,200 mg/kg/day相当)	親動物 雄： 25,000 ppmで精巣上体精子濃度の減少、前立腺絶対・相対重量及び精巣絶対・相対重量の減少、精巣上体絶対重量の減少、精巣と精巣上体の変性 雌：25,000 ppmの雄と交配した雌で不妊率の増加(10/30例) NOAEL：200 mg/kg/day LOAEL：2,200 mg/kg/day	U.S.NTP, 1997a
ラット (Wistar、雌雄) (週齢記載なし) 雌24匹/群 雄12匹/群	経口 (混餌)	1世代生殖毒性試験 雄：交配前10週間 雌：交配前2週間、妊娠期、授乳期 F _{1a} 仔離乳後、F ₀ を再交配	0、0.2、0.4、0.8% (雄： 交配前0、108、206、418 mg/kg/day相当 雌： 交配前0、106、217、446、 妊娠期0、116、235、458、 授乳期0、252、580、 1,078 mg/kg/day相当)	F ₀ 雄： 0.4%以上で肝臓絶対・相対重量増加(統計学的有意差なし) F ₀ 雌： 0.4%で肝臓相対重量増加(統計学的有意差なし) 0.8%で妊娠期及び授乳期の体重増加抑制、妊娠期の摂餌量減少、肝臓絶対重量増加(統計学的有意差なし)、肝臓相対重量増加(統計学的に有意) F _{1a} ：影響なし F ₀ 雌雄： 影響なし F _{1b} ： 影響なし(生後21日目に体重減少がみられたが、仔動物が直接摂餌することで被験物質を摂取したことに起因するもので影響でないとは判断している) NOAEL： 親動物に対する毒性 206 mg/kg/day (雄) 217 mg/kg/day (雌) 生殖能及び発達毒性 418 mg/kg/day (雄) 446 mg/kg/day (雌)	TNO, 1993
ラット (WU、雌雄) (10-11週齢) 15匹/性/群	強制経口	1世代生殖毒性スクリーニング試験 雄： 交配前2週 - 29日間 雌： 交配前2週間 - 交配、妊娠、分娩後6日目まで 交配は最大2週間	0、250、500、1,000 mg/kg/day	親動物 F ₀ 雄： 1,000 mg/kg/dayで体重増加抑制、精巣及び精巣上体重量の減少、ライディッヒ細胞の過形成と精巣変性 F ₀ 雌： 1,000 mg/kg/dayで受胎率の減少、妊娠時体重増加抑制 仔動物 F ₁ 雌雄： 500 mg/kg/dayで出生時体重の減少 1,000 mg/kg/dayで母動物あたりの生存仔数(出生時及び生後6日)、出生時及び生後6日の体重の減少 (妊娠率が対照群を含む全ての群で8割以下で、さらに中用量、高用量群では被験物質の影響も加わり低い妊娠率、生存仔出産率となっている)	Piersma et al., 1995

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
				NOAEL : 500 mg/kg/day LOAEL : 1,000 mg/kg/day	
ラット (SD、雌雄) (雄:6週齢、 雌:13週齢) 25匹/性/群	強制経口	2世代生殖毒性試験 F ₀ 雄:交配前12週間 - 剖検まで F ₀ 雌:交配前2週間 - 剖検(妊娠、出産、哺乳期) F ₁ は離乳後投与、同じ投与群内で交配	0、20、100、500 mg/kg/day	親動物 F ₀ 雄: 100 mg/kg/day以上でFSHの増加 500 mg/kg/dayで体重増加抑制、腎臓重量増加、肝臓重量増加、テストステロン減少 F ₀ 雌: 100 mg/kg/day以上で腎臓重量増加、卵巣重量減少 生殖能力に対する影響なし F ₁ 雄: 100 mg/kg/day以上で解剖時体重低値 500 mg/kg/dayで包皮分離遅延、血清中テストステロン量減少、精巣の萎縮、精細管の生殖細胞減少、精巣上体中の精子数減少 F ₁ 雌: 影響なし 生殖能力に対する影響なし 仔動物 F ₁ 雄: 100 mg/kg/day以上で出生時体重低値、TSH減少 500 mg/kg/dayで出生時AGD減少、哺育期間中体重増加抑制、精巣重量減少、精巣上体重量減少、FSH減少 F ₁ 雌: 100 mg/kg/day以上で出生時体重低値 500 mg/kg/dayで出生時AGD増加、哺育期間中体重増加抑制、卵巣重量減少、子宮重量増加 F ₂ 離乳時までの発達、生育に影響なし NOAEL : 20 mg/kg/day	Nagao et al., 2000
ラット (SD、雌雄) (週齢不明) 30匹/性/群	経口 (混餌)	2世代生殖毒性試験 F ₀ 雌雄は交配前10週間、交配期間(交配は最大2週間)、F ₀ 雌は妊娠、出産、哺乳期を通じて投与、F ₁ の離乳後剖検、F ₀ 雄はF ₁ の出産後剖検、 F ₁ はF ₀ 世代と同様の暴露であるが、それに加えて母動物の経胎盤、経乳汁からの	0、750、3,750、11,250 ppm (0、50、250、750 mg/kg/day相当)	親動物 F ₀ 雄: 11,250 ppmで体重低値、体重増加抑制、肝臓重量増加、ペルオキシソーム増生に関連した肝細胞肥大、腎臓重量増加 F ₀ 雌: 11,250 ppmで体重低値、体重増加抑制、肝臓重量増加、ペルオキシソーム増生に関連した肝細胞肥大、腎臓重量増加 F ₁ 雄: 11,250 ppmで体重低値、体重増加抑制、肝臓重量増加、ペルオキシソーム増生に関連した肝細胞肥大、腎臓重量増加、尿道下裂、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺重量減少、精巣上体精子数減少、精子運動性の低下、無精液症、精巣の精細管の変性と萎縮、精巣網の	Tyl et al., 2004

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
		間接暴露及び授乳期間中の乳仔の摂餌による直接暴露の可能性がある		<p>拡張</p> <p>F₁雌： 11,250 ppmで交配、受精能指標の減少、子宮内着床痕の減少、PND0での総胎仔数の減少、生存胎仔数の減少、子宮内液体貯留の増加、卵巣重量減少</p> <p>仔動物</p> <p>F₁雄： 3,750ppm以上でAGD減少 11,250ppm性成熟の遅延、哺育期間中の体重低値、乳頭及び乳輪遺残、尿道下裂、精巣下降不全、胸腺重量、脾臓重量減少</p> <p>F₁雌： 11,250ppmで性成熟の遅延</p> <p>F₂雄： 3,750ppm以上でAGD減少 11,250ppmで性成熟の遅延、哺育期間中の体重低値、乳頭及び乳輪遺残、雄性生殖器の奇形、精巣下降不全、胸腺重量、脾臓重量減少</p> <p>F₂雌： 11,250ppmで性成熟の遅延</p> <p>F₁親動物の全身影響及び生殖影響でのNOAELは3,750 ppm</p> <p>仔動物毒性のNOAELは3,750 ppm 仔動物毒性NOELは750 ppm</p>	
ラット (SD、雌雄) (F ₀ :雌雄とも5週齢、F ₁ は雌雄とも3週齢) 24匹/性/群	強制経口	2世代生殖毒性試験 F ₀ 雌雄は交配前10週間、交配期間(交配は最大2週間)、F ₀ 雌は妊娠、出産、哺乳期を通じて投与、F ₁ の離乳後剖検、F ₀ 雄はF ₁ の出産後剖検、F ₁ はF ₀ 世代と同様の暴露であるが、それに加えて母動物の経胎盤、経乳汁からの間接暴露の可能性ある	0、100、200、400 mg/kg/day	<p>親動物</p> <p>F₀雄： 200 mg/kg以上で腎臓重量増加 400 mg/kgで肝臓重量増加、精巣上体重量の減少、精巣のライディッチ細胞過形成、精巣上体の管腔内精細胞残渣</p> <p>F₀雌： 400 mg/kgで腎臓重量増加</p> <p>F₁雄： 100 mg/kg以上で精巣の軟化、精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少及び管腔内精細胞残渣、200 mg/kg以上で精巣上体重量減少、肝臓重量増加 400 mg/kgで精囊重量の減少、精巣の矮小、精巣上体の無形成、形成不全及び矮小、精巣のライディッチ細胞過形成、精巣上体の両側性の部分的無形成、片側性の無形成及び片側性の部分的無形成、包皮分離遅延</p> <p>F₁雌： 400 mg/kgで肝臓の重量増加、受胎率の低下</p> <p>仔動物</p> <p>F₁雄：</p>	経済産業省、2003

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
				100 mg/kg以上で体重の低値 400 mg/kgで脾臓重量の減少 F ₁ 雌： 100 mg/kg以上でAGD増加 F ₂ 雄： 100 mg/kg以上でAGD減少 400 mg/kgで脾臓重量の減少 F ₂ 雌： 異常なし 親動物の全身影響でのNOAELは100 mg/kg/day未満 親動物の生殖能に関するNOAELは概 ね200 mg/kg/day 仔動物毒性のNOAELは100 mg/kg/day 未満	

1: ラット 餌中濃度 1 ppm = 投与量0.050 mg/kg/日で換算、出典：Lehman, A.J. (1954) Association of Food and Drug Officials Quarterly Bulletin, 18: 66. { IPCS; Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food", EHC 104, WHO (1990). }
 AGD: 肛門-生殖突起間距離

(4) 発生毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
マウス (ICR、雌) 30匹/群	経口 (混餌)	妊娠6-15日 (帝王切開17日) F ₀ の検査(体重、肝臓、腎臓及び子宮の重量、黄体の数、着床数) 全胎仔の検査(体重、肉眼による外表、内臓、骨格奇形)	0、0.1、0.5、1.25、2.0% (0、182、910、2,330、4,121 mg/kg/day相当)	F ₀ 雌： 0.5%以上で投与期間中の体重増加抑制、1.25%で妊娠期間中の体重減少、肝臓及び腎臓の相対重量増加、摂水量の増加、18/27例で受胎産物すべての吸収 2.0%で全ての母動物で全胚吸収 F ₁ ： 0.5%以上で胚仔死亡率増加(対照群：8%、0.5%群：15%、1.25%群：93%)、奇形(外脳症、短尾、心血管系奇形、肋骨、胸骨、脊椎等の骨格奇形)発生率の増加(対照群：31%、0.5%群：60%、1.25%群：100%) 1.25%で胎仔体重の低値 NOAEL：182 mg/kg/day(母動物) 182 mg/kg/day(胎仔) LOAEL：910 mg/kg/day(母動物) 910 mg/kg/day(胎仔)	U.S.NTP, 1990
ラット (SD、雌) 30匹/群	経口 (混餌)	妊娠6-15日 (帝王切開20日) F ₀ の検査(体重、肝臓、腎臓及び子宮の重量、黄体の数、着床数) 全胎仔の検査(体重、肉眼による外表、内臓、骨格奇形)	0、0.5、1.25、2.0% (0、420、1,100、1,640 mg/kg/day相当)	F ₀ 雌： 1.25%以上で体重増加抑制、摂餌量及び摂水量増加、肝臓相対重量の増加 2.0%で体重減少、立毛、脱毛、被毛の変色、頻尿、嗜眠、運動失調、歩行異常、腎臓相対重量の増加 F ₁ ： 1.25%以上で変異あるいは奇形(尿路、眼、脊柱)発生率の増加(対照群：2%、1.25%群：5.9%、2.0%群：53%) 2.0%で胎仔体重減少、吸収胚の増加、生存胎仔数の減少 NOAEL：420 mg/kg/day(母動物) 420 mg/kg/day(胎仔) LOAEL：1,100 mg/kg/day(母動物) 1,100 mg/kg/day(胎仔)	U.S.NTP, 1989
ラット (Wistar、雌) 15-18匹/群	経口 (混餌)	妊娠0-20日 (帝王切開20日) F ₀ の体重及び摂餌量、剖検(着床数) 胎仔の雌雄、体重、骨格奇形、内臓奇形を観察	0、0.25、0.5、1.0、2.0% (0、185、375、654、974 mg/kg/day相当)	F ₀ 雌： 1.0%以上で体重増加抑制、摂餌量減少 2.0%で体重減少 F ₁ ： 0.5%以上で生存仔数の減少 1.0%で体重減少 2.0%で全胚吸収(着床後胚死亡率増加) NOEL：375 mg/kg/day(母動物) 654 mg/kg/day(胎仔)	Ema et al., 1990
ラット (Wistar、雌) 10匹/群	強制経口	妊娠7-15日 (帝王切開20日) F ₀ の体重及び摂餌量、剖検(着床数)	0、500、750、1,000 mg/kg/day	F ₀ 雌： 500 mg/kg/day以上で摂餌量減少 750 mg/kg/dayで体重増加抑制 1,000 mg/kg/dayで死亡(4/10例) F ₁ ：	Ema et al., 1992a

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
		胎子の雌雄、 体重、骨格奇 形、内臓奇形 を観察		750 mg/kg/dayで全胚吸収の増加(3/10 例)、死亡胎仔数の増加、着床後吸収 胚の増加、奇形(口蓋裂、胸骨癒合、 腎盂拡張)胎仔数の増加(対照群:1 匹、750 mg/kg/day群:20匹)、体重減 少 1,000 mg/kg/dayで全胚吸収の増加 (6/6例) NOAEL: 500 mg/kg/day(母動物) 500 mg/kg/day(胎仔) LOAEL: 750 mg/kg/day(母動物) 750 mg/kg/day(胎仔)	
ラット (Wistar、雌)	経口 (混餌)	妊娠0-20日	0、2.0% (0、974 mg/kg/day相当) 0%群は通常の対照群 と給餌制限対照群	全ての母動物で吸収胚	Ema et al., 1991
ラット (Wistar、雌)	経口 (混餌)	妊娠0-11日 妊娠11-20日	0、2.0% (0、974 mg/kg/day相当) 0%群は通常の対照群 と給餌制限対照群	全ての母動物で吸収胚 奇形胎仔(口蓋裂、胸骨癒合)の増加	Ema et al., 1992b
ラット (Wistar、雌)	強制経口	妊娠動物 妊娠0-8日目 偽妊娠動物 偽妊娠0-8日 目	0、250、500、750、1,000 mg/kg/day	妊娠動物: 750 mg/kg/day以上:着床後吸収胚の増 加 1000 mg/kg/day:着床前吸収胚の増加 偽妊娠動物 750 mg/kg/day以上:脱落膜反応の抑制 (子宮重量の低下)、卵巢重量の低下	Ema et al., 1998
ラット (Wistar、雌)	経口 (混餌)	妊娠0-7日 妊娠7-16日 妊娠16-20日	0、2.0% (0、974 mg/kg/day相当)	吸収胚増加 吸収胚増加、奇形胎仔(口蓋裂、胸骨 癒合)の増加 影響なし	Ema et al., 1992c
ラット (Wistar、雌)	経口 (混餌)	妊娠0-7日 妊娠0-9日 妊娠0-11日	0、2.0% (0、954 mg/kg/day相当) 0%群は通常の対照群 と給餌制限対照群	子宮及び卵巢重量、血漿プロゲステロ ン量の減少 子宮及び卵巢重量、血漿プロゲステロ ン量の減少 子宮及び卵巢重量、血漿プロゲステロ ン量の減少 着床後胚死亡率増加	Ema et al., 1994

(5)-1 代謝物についての発生毒性試験結果 (フタル酸モノブチル)

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット (Wistar、雌)	強制経口	妊娠7-15日	0、250、500、625 mg/kg/day	F ₀ : 500 mg/kg/day以上で体重増加抑制、摂 餌量の減少 F ₁ : 500 mg/kg/day以上で着床後胚死亡率 の増加、生存仔数の減少、体重の減少、 骨格奇形(脊椎変形、胸骨癒合)、口蓋 裂、腎盂拡張の増加 NOAEL : 250 mg/kg/day (母動物) 250 mg/kg/day (胎仔) LOAEL : 500 mg/kg/day (母動物) 500 mg/kg/day (胎仔)	Ema et al., 1995
ラット (Wistar、雌)	強制経口	妊娠7-9日	0、250、375、500、625 mg/kg/day	F ₀ : 375 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 375 mg/kg/day以上で骨格奇形、腎盂拡 張	Ema et al, 1996a
		妊娠10-12日	0、250、375、500、625 mg/kg/day	F ₀ : 500 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 奇形なし	
		妊娠13-15日	0、250、375、500、625 mg/kg/day	F ₀ : 250 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 375 mg/kg/day以上で口蓋裂、胸骨癒合	
ラット (Wistar、雌)	強制経口	妊娠7-9日	0、500、625、750 mg/kg/day	F ₀ : 625 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 500 mg/kg/day以上で骨格奇形 625 mg/kg/day以上で吸収胚増加、外表 奇形	Ema et al, 1996b
		妊娠10-12日	0、500、625、750 mg/kg/day	F ₀ : 625 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 625 mg/kg/day以上で吸収胚増加、 奇形なし	
		妊娠13-15日	0、500、625、750 mg/kg/day	F ₀ : 500 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 500 mg/kg/day以上で吸収胚増加 625 mg/kg/day以上で口蓋裂、胸骨癒合	
ラット (Wistar- King A、雌)	強制経口	妊娠15-18日 妊娠20日と生 後30-40日に F ₁ 雄は精巢の 位置の確認	約1,000 mg/kg/day	F ₁ 雄：停留精巢(生後30-40日に87%)	Imajima et al., 1997

(5)-2 代謝物についての発生毒性試験結果 (フタル酸モノベンジル)

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット (Wistar、雌)	強制経口	妊娠7-15日	0、250、313、375、438、 500 mg/kg/day	F ₀ : 250 mg/kg/day以上で摂餌量の減少 313 mg/kg/day以上で体重増加抑制 F ₁ : 313 mg/kg/day以上で骨格奇形増加 375 mg/kg/day以上で内臓奇形増加 438 mg/kg/day以上で着床後胚死亡率 増加、外表奇形増加 NOAEL : 250 mg/kg/day (胎仔) LOAEL : 250 mg/kg/day (母動物) 313 mg/kg/day (胎仔)	Ema et al., 1996c

< 低用量 BBP 投与での試験結果 >

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
ラット (Wistar、雌) 5-6匹/群	経口 (飲水)	交配前2週間、 妊娠中、哺育 期 (交配中は 非投与) F ₁ 雄を生後 90-95 日 で剖 検 F _{1a} 仔離乳後、 F ₀ を再交配	0、1 mg/L (生後1-2日 : 0.126 生後10-12日 : 0.274 生後20-21日 : 0.336 mg/kg/day相当)	F ₀ : 影響なし F _{1a} : 体重増加 (生後22日)、精巢絶対・相 対重量減少	Sharpe et al., 1995
			陽性対照 : DES 0.0011 mg/kg/day	F _{1a} : 体重減少 (生後22日)、精巢絶対・相 対重量減少	
			0、1 mg/L (生後1-2日 : 0.126 生後10-12日 : 0.274 生後20-21日 : 0.336 mg/kg/day相当)	F ₀ : 影響なし F _{1b} : 体重増加 (生後22日)、精巢絶対・相 対重量減少、1日あたりの精子生成量 の減少	
			陽性対照 : DES 0.0011 mg/kg/day	F _{1b} : 体重増加 (生後22日)、精巢絶対・相 対重量減少、1日あたりの精子生成量 の減少	
ラット (Wistar AP、 雌) 18-19匹/群	経口 (飲水)	妊娠1日-生後 20日 F ₀ を離乳後剖 検 (肝臓酵素 活性、血液、 微小有核赤血 球) F ₁ は性別、体 重、性的成熟 度を剖検	0、1 mg/L (0、0.183 mg/kg/day相 当)	F ₀ : 影響なし F ₁ 雄 : 体重増加 (生後2日)、AGD増加、肝 臓相対重量の増加 F ₁ 雌 : 腔開口日齢の早期化 雄のAGD増加と雌の腔開口日齢の早 期化は体重の高値と関連したもので 内分泌かく乱作用ではないと考えら れている。また、雄児動物の精巢重量、 精子数、副生殖器重量、雌の子宮、雌 雄の下垂体に影響はみられていない。	Ashby et al., 1997
			陽性対照 : DES 0.0086 mg/kg/day	F ₀ : 体重減少、 F ₁ 雄 : 体重減少、AGD減少、包皮分離の日 齢遅延、精巢、精巢上体、精囊、前立 腺重量の減少、精子数の減少 F ₁ 雌 : 子宮重量及び子宮増殖応答性 (uterotrophic response) の増加、卵巢 の絶対重量の増加、腔開口日齢の早期 化	

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット (Wistar非近 交系、雌) 22-25匹/群	経口 (飲水)	交配前2週間、 妊娠、哺育期 (交配中投与 され、同居中1 週間は非投 与) F ₀ を離乳後剖 検 F ₁ は生後 89-101日で剖 検(体重、異 常、性的成熟 度、機能) F _{1a} 仔離乳後、 F ₀ を再交配	0、0.1、1、3 mg/L (0、0.012、0.14、0.385 mg/kg/day相当)	F ₀ : 影響なし F _{1a} : いずれの群でも精子の形態、数、運動 性及び性周期、性的成熟度に差なし 1 mg/Lで生後4日以内の死亡仔数の増 加、大きい仔数の増加(生後4日) 3 mg/Lで生後4日以内の死亡仔数の増 加、低体温仔数の増加、大きい仔数の 増加(生後4日)、脱毛増加	TNO, 1998
			0、1、3 mg/L (0、0.14、0.385 mg/kg/day相当)	F ₀ : 影響なし F _{1b} : 1 mg/Lで生後4日以内の死亡仔数の増 加 3 mg/Lで生後4日以内の死亡仔数の 増加、死産仔数の増加 NOAEL : 0.385 mg/kg/day (母動物) 0.14 mg/kg/day (胎仔) LOAEL : 0.385 mg/kg/day (胎仔)	
			陽性対照 : DES 0.0011-0.0055 mg/kg/day	(陽性対照) F ₀ : 体重増加抑制、妊娠期間延長 F ₁ : 生後4日以内の死亡仔数の増加、生存 仔数の減少、体重増加抑制、包皮分離 日齢の遅延、精子数減少、精巣重量減 少	
ラット (Wistar、雌) 21-25匹/群	経口 (飲水 または 混餌)	交配前2週間、 交配、妊娠、 哺育期に投与 (交配期間 最長3週間) F ₀ を離乳後剖 検 F ₁ は生後、仔 数、体重、奇 形を検査、生 後21日目まで 生存仔数、体 重増加を確認	0、1、3 ppm 1 ppm 混餌 (mg/kg/day相当) 0.08-0.09 (妊娠前) 0.06-0.07 (妊娠) 0.11-0.16 (授乳) 飲水 (mg/kg/day相当) 0.10-0.12 (妊娠前) 0.11-0.11 (妊娠) 0.17-0.24 (授乳) 3 ppm 混餌 (mg/kg/day相当) 0.27-0.28 (妊娠前) 0.19-0.25 (妊娠) 0.34-0.39 (授乳) 飲水 (mg/kg/day相当) 0.34-0.35 (妊娠前) 0.35-0.35 (妊娠) 0.54-0.80 (授乳)	F ₀ : いずれの群でも体重増加、受胎能力、 摂餌量に差なし。 F ₁ : いずれの群でも胚吸収率、4日目生存 率、体重、大きさに差なし、 NOAEL : 0.34 - 0.49 mg/kg/day (母動物、混餌) 0.54 - 0.80 mg/kg/day (母動物、飲水) 0.34 - 0.49 mg/kg/day (胎仔、混餌) 0.54 - 0.80 mg/kg/day (胎仔、飲水)	Bayer, 1998

付表-3 反復投与毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
マウス (B6C3F ₁ 、 雌雄) 4-5 週齢 50 匹/群	経口 (混餌)	103 週間	0、6,000、12,000 ppm (0、900、1,800 mg/kg/ 日相当; CER1 換算 ¹⁾)	6,000 ppm 以上で体重増加抑制 LOAEL=900 mg/kg/day	U.S.NTP, 1982
ラット (F344、雄) 12-15 週齢 10 匹/群	経口 (混餌)	14 日間	0、0.625、1.25、2.5、 5.0% (0、312.5、625、1,250、 2,500 mg/kg/day 相当)	0.625% 以上で肝臓及び腎臓重量の 増加 2.5% 以上で衰弱、嗜眠、体重減少、 骨髄造血細胞の減少 5% で多病巣性及び慢性肝炎、胸腺 の皮質性リンパ球増加症、萎縮 LOAEL= 312.5 mg/kg/day	Agarwal et al., 1985
ラット (SD、雌雄) 4-7 週齢 5-10 匹/群	経口 (混餌)	4 週間	0、500、1,000、1,500、 2,000、3,000 mg/kg/day	1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制 3,000 mg/kg/day で鼻出血、投与 1-2 週 目に歩行異常(歩行時の後肢の硬直)	Hammond et al., 1987
ラット (SD、雌雄) 4-7 週齢 5-10 匹/群	経口 (混餌)	4 週間	0、500、1,000、1,500、 2,000、3,000、4,000 mg/kg/day	1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制、 雄で死亡、死亡例で更に脱水、四肢の 青色化、炎症、体組織の広範な出血 2,000 mg/kg/day 以上で鼻出血、投与 1-2 週目に歩行異常(歩行時の後肢の 硬直) 4 週間の回復試験で回復	Hammond et al., 1987
ラット (SD、雌雄) 4-7 週齢 5-10 匹/群	経口 (混餌)	6 週間	0、500、1,500、3,000 mg/kg/day	1,500 mg/kg/day 以上で体重増加抑制 3,000 mg/kg/day で歩行異常(歩行時の 後肢の硬直)	Hammond et al., 1987
ラット (Wistar、 雌雄) 4-6 週齢 27-45 匹/ 群	経口 (混餌)	3 カ月間	0、2,500 - 12,000 ppm (各用量の濃度の記載 なし; 雄 0、151、381、 960 mg/kg/day ; 雌 0、171、422、1,069 mg/kg/day 相当)	171 mg/kg/day 以上の雌で肝臓相対 重量の増加、盲腸相対重量増加 381 mg/kg/day 以上の雄、422 mg/kg/day 以上の雌で腎臓相対重量 の増加 381 mg/kg/day 以上の雄で肝臓の赤 色点、脾臓組織変化(内分泌部: 脾 島細胞の空胞化を伴う腫大、脾島辺 縁部のうっ血、軽度線維化と褐色色 素沈着を伴う炎症細胞浸潤、外分泌 部: 核濃縮、腺房萎縮、腺房辺縁部 の炎症細胞浸潤) 尿の pH の低下 960 mg/kg/day の雄で体重増加抑制、 肝臓の相対重量増加、軽度貧血、肝 細胞壊死 1,069 mg/kg/day の雌で体重増加抑 制 LOAEL (雄) =151 mg/kg/day (雌) = 171 mg/kg/day	Hammond et al., 1987
ラット (SD、 雌雄) 4-6 週齢 10 匹/群	経口 (混餌)	3 カ月間	0、2,500-20,000 ppm (各用量の濃度の記載 なし; 0、188、375、 750、1,125、1,500 mg/kg/day 相当)	750 mg/kg/日以上以上の雌で肝臓相対重 量の増加、雄で腎臓相対重量の増加 1,125 mg/kg/日以上以上の雄で肝臓相対 重量の増加 LOAEL (雄) =750 mg/kg/day (雌) = 750 mg/kg/day	Hammond et al., 1987
ラット	経口	13 週間	0、1,600、3,100、6,300、	25,000 ppm :	U.S.NTP, 1982

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
F344/N 雌雄 5-6 週齢 10 匹/群	(混餌)		12,500、25,000 ppm (0、80、155、315、625、 1,250 mg/kg/日相当、 CERI 換算 ¹⁾)	雄：体重増加抑制	
ラット (F344/N、 雄) 6 週齢 11-15 匹/群	経口 (混餌)	26 週間	0、300、900、2,800、 8,300、25,000 ppm (0、30、60、180、550、 1,650 mg/kg/day 相当)	8,300 ppm 以上で MCH、MCHC の増 加、肝臓重量の増加 25,000 ppm で体重増加抑制、大赤血 球貧血の増加(RBC 減少、Ht 減少、 MCV 増加) LOAEL=550 mg/kg/day	U.S.NTP, 1997a
ラット (F344/N、 雌雄) 6 週齢 60 匹/群	経口 (混餌)	106 週間	雄 0、3,000、6,000、 12,000 ppm 雌 0、6,000、12,000、 24,000 ppm (雄 0、120、240、500 mg/kg/day ; 雌 0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当)	3,000 ppm 以上の雄で腎臓重量の増 加 6,000 ppm 以上の雌で腎症、 12,000 ppm の雄で体重増加抑制、 RBC 及び MCH 減少 (6 ヶ月目検査 時)、肝臓重量の増加、尿細管色素沈 着、肝肉芽腫、膵臓腺房細胞限局性 過形成、雌で腎臓重量の増加 24,000 ppm の雌で体重増加抑制、Ht 減少 (15 ヶ月目検査時)、T3 減少 (6、 15 ヶ月目及び 106 週目検査時)、尿 細管色素沈着、膵臓腺房細胞限局性 過形成、膀胱移行上皮細胞過形成 LOAEL (雄) =120 mg/kg/day (雌) =300 mg/kg/day	U.S.NTP, 1997a
イヌ (ビーグ ル、雌雄) 成犬 3 匹/群	経口 (混餌)	3 カ月間	0、10,000-50,000 ppm (各用量の濃度の記載 なし；雄 0、400、 1,000、1,852 mg/kg/day ; 雌 0、700、1,270、1,973 mg/kg/day 相当)	雄の 400、1,852 mg/kg/day 及び雌の 1,270 mg/kg/day 以上で体重減少	Hammond et al., 1987
ラット (SD、雌雄) 6-8 週齢 20 匹/群	吸入	4 週間 6 時間/日 5 日/週	0、360、1,000、2,100 mg/m ³ (0、66.9、185.7、390 mg/kg/day 相当；CERI 換算 ²⁾)	2,100 mg/m ³ : 体重増加抑制、紅涙、鼻出血、脾臓 の萎縮、死亡 (雄：3/20、雌：4/20)	Hammond et al., 1987
ラット (SD、雌雄) 6-8 週齢 25 匹/群	吸入	13 週間 6 時間/日 5 日/週	0、51、218、789 mg/m ³ (0、9.5、40.5、146.5 mg/kg/day 相当；CERI 換算 ²⁾)	789 mg/m ³ で雌雄共に肝臓及び腎臓 重量の増加、血糖値の減少(雄のみ)	Hammond et al., 1987

1: マウス 餌中濃度 1 ppm = 投与量 0.150 mg/kg/日、ラット 餌中濃度 1 ppm = 投与量 0.050 mg/kg/日で換算、
出典：Lehman, A.J. (1954) Association of Food and Drug Officials Quarterly Bulletin, 18: 66. { IPCS; Principles for the
Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food", EHC 104, WHO (1990). }

2: 経口暴露量 (mg/kg/日) = 吸入暴露濃度 (mg/m³) × 1 日当たりの暴露時間/24 × 呼吸量 (=0.26 m³/日) × 吸収率
(1)/体重 (=0.35 kg)で換算

付表-4 発がん試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献			
マウス (B6C3F ₁ 、 雌雄) 5-6 週齢 50 匹/群	経口 (混餌)	103 週間	0、6,000、12,000 ppm (0、900、1,800 mg/kg/ 日相当; CERI 換算 ¹⁾)	病理組織学的に変化なし	U.S.NTP, 1982			
ラット (F344/N、 雌雄) 5 週齢 50 匹/群	経口 (混餌)	103 週間 雄は 14 週目 に被験物質 との関連性 が不明な死 亡が多くみ られたため 29-30 週に 屠殺	0、6,000、12,000 ppm (0、300、600 mg/kg/ 日相当、CERI 換算 ¹⁾)	雄：早期の死亡のため発がん性を調 べることができない 雌：12,000 ppm で単(核)球形白血 病(MNCL)の発生率の増加(7/49、 7/49、18/50)	U.S.NTP, 1982			
ラット (F344/N、 雌雄) 6 週齢 60 匹/群	経口 (混餌)	106 週間	雄 0、3,000、6,000、 12,000 ppm 雌 0、6,000、12,000、 24,000 ppm (雄 0、120、240、500 mg/kg/day ; 雌 0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当)	雄：12,000 ppm で膵臓腺房細胞腺腫 の発生頻度増加(3/50、2/49、3/50、 10/50)、膵臓腺房細胞の腫瘍とがん 腫を合わせた発生頻度の増加(3/50、 2/49、3/50、11/50) 雌：24,000 ppm で膵臓腺房細胞腺腫 の発生頻度増加(0/50、0/50、0/50、 2/50)、膀胱移行上皮乳頭腫の発生頻 度増加(1/50、0/50、0/50、2/50)	U.S.NTP, 1997a			
ラット F344/N 雌雄 6 週齢 60 匹/群 (内 10 匹/ 群は 15 か月時に 病理組織 検査と器 官重量測 定)	経口 (混餌)	制限給餌 (2 年間) 雄 105 週間 雌 105 週間 (生涯) 雄 128 週間 雌 140 週間	雄 0、12,000 ppm 雌 0、24,000 ppm (雄 0、500 mg/kg/日 ; 雌 0、1,200 mg/kg/日 相当)	(2 年間) 雄：腫瘍発生頻度の増加はみられな い 雌：腫瘍発生頻度の増加はみられな い (生涯) 雄：腫瘍発生頻度の増加はみられな い 雌：24,000 ppm で膀胱移行上皮細胞 乳頭腫とがん腫を合わせた発 生頻度増加(1/49、6/50)	U.S.NTP, 1997b			
結果のまとめ								
	自由摂取	体重一致対照 a		制限給餌(2 年間)	制限給餌(生涯)			
雄								
用量 (ppm)	0	12,000	0	12,000	0	12,000	0	12,000
体重 (g)	417	379	377	379	355	336	363	340
非腫瘍性病変 膵臓 腺房細胞過形成	4/50	12/50	2/50	12/50	0/50	0/50	0/50	0/50
腫瘍性病変 膵臓 腺房細胞腺腫	3/50	10/50	0/50	10/50	0/50	0/50	0/50	0/50
雌								
用量	0	24,000	0	24,000	0	24,000	0	24,000
体重	225	199	203	199	187	175	189	175
非腫瘍性病変 膀胱 移行上皮過形成	4/50	10/50	0/50	10/50	0/50	14/50	0/49	16/50

腫瘍性病変 膀胱 乳頭腫あるいは がん腫	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/49	6/50	
a: 体重一致対照の被験物質投与群のデータは自由摂取群の被験物質投与群と同一 (U.S..NTP の 1997a の試験結果)									

1: マウス 餌中濃度 1 ppm = 投与量 0.150 mg/kg/日、ラット 餌中濃度 1 ppm = 投与量 0.050 mg/kg/日で換算、
出典：Lehman, A.J. (1954) Association of Food and Drug Officials Quarterly Bulletin, 18: 66. { IPCS; Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food", EHC 104, WHO (1990). }

付表-5 BBP のペルオキシソーム増生に関する試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット (F344、 雌雄) 週齢記載 なし 5 匹/群	経口 (混餌)	21 日間	0、0.6、1.2、2.5% (0、300、600、1,250 mg/kg/day 相当 CERI 換 算)	用量相関性のある肝臓相対重量増加 肝臓のペルオキシソームの増生 用量相関性のある肝臓酵素の増加 (パルミトイル CoA 酸化酵素、ラウリン酸 11-加水分解酵素及びラウリン酸 12-加水分解酵素の増加) 用量相関性のある血清トリグリセライドの変動 (雄で減少、雌で増加)	Barber et al., 1987
ラット (F344、雌) 週齢記載 なし 5 匹/群	経口 (混餌)	1 カ月間	0、6,000、12,000、24,000 ppm (0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当)	ペルオキシソームの増生の指標である酵素の増加 (6,000 ppm 以上でカルニチンアセチル転移酵素の増加、12,000 ppm 以上でパルミトイル CoA 酸化酵素の増加)	U.S.NTP, 1997a
ラット (F344、雌) 6 週齢 5 匹/群	経口 (混餌)	52 週間	0、6,000、12,000、24,000 ppm (0、300、600、1,200 mg/kg/day 相当)	ペルオキシソームの増生の指標である酵素の増加 (6,000 ppm 以上でカルニチンアセチル転移酵素の増加、12,000 ppm 以上でパルミトイル CoA 酸化酵素の増加)	U.S.NTP, 1997a