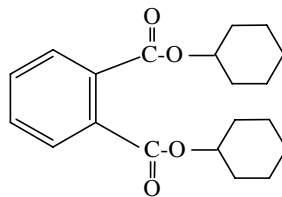


## フタル酸ジシクロヘキシルの有害性評価 [Dicyclohexyl phthalate, CAS No. 84-61-7]

名称： フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)  
別名： ジシクロヘキシルフタレート、1,2-ベンゼンジカルボン酸ジシクロヘキシルエステル、DCHP  
分子式：  $C_{20}H_{26}O_4$   
分子量： 330.42  
構造式：



外觀： 白色粉末<sup>1)</sup>  
融点： 66<sup>1)</sup>  
沸点： 222-228<sup>1)</sup>  
比重：  $d^{20}=1.383$ <sup>1)</sup>  
蒸気圧： 0.093 Pa (115 )<sup>1)</sup>  
分配係数： Log Pow = 6.2 (計算値)<sup>1)</sup>  
分解性： 加水分解性： 報告なし  
生分解性： 易分解 (BOD=68.5%, 28日間)<sup>2)</sup>  
溶解性： 水 4 mg/L (24 )<sup>1)</sup>  
有機溶媒 多くの有機溶媒に可溶<sup>1)</sup>  
製造量等： 平成13年度 約100 t<sup>3)</sup>  
用途： ニトロセルロース、エチルセルロース、酢酸ビニル、塩化ビニル樹脂等の可塑剤<sup>1)</sup>  
適用法令： 該当法令なし

<sup>1)</sup> HSDB, 2001; <sup>2)</sup> 通商産業公報, 1977; <sup>3)</sup> 化学工業日報社, 2003

## 1. 有害性調査結果

### 1) ヒトの健康に関する情報

フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)は加熱型貼付剤 (Hot melt adhesives containing DCHP) の主要成分 (>60%) であり、貼付剤熱処理時に発生する蒸気中には無水フタル酸や 2,5-ジ-*tert*-アミルキノンとともに DCHP が存在することが報告されている (Vandervort & Brooks, 1977; Levy et al., 1978)。

加熱貼付作業時に DCHP を含む蒸気の暴露を受けた作業者に、DCHP を含む同様な蒸気を暴露した結果、喘鳴が認められたと報告されている (Andrasch et al., 1976; Levy et al., 1978)。一方、加熱貼付作業時に DCHP を含む蒸気に暴露されたと思われる喘息患者に対して実施した誘発試験 (provocation test) において、DCHP を 11.4 mg/m<sup>3</sup> (40 mg DCHP/3.5 m<sup>3</sup> チャンバー内) 20 分間暴露した場合、気管支痙攣は誘発されていない。作業時の暴露量は 0.1-1 mg/m<sup>3</sup> と推定されている (Pauli et al., 1979)。

### 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)

Sf9/バキュロウイルスで発現させたヒトエストロゲン受容体を用いた結合試験において、DCHP は高親和性と低親和性の 2 種類の結合部位を有することが示唆され、IC50 はそれぞれ約 1.0 μM と 2,000 μM であった(結合性は 17 エストラジオール(E2)のそれぞれ 1/480、1/960,000) (Nakai et al., 1999)。DCHP は、蛍光標識エストラジオールを用いた競合結合試験において、ヒトエストロゲン受容体 に対してジエチルスチルベステロール (DES)の 1/3,600 程度の結合性を示す (Satoh et al., 2001)。また、組換えヒトエストロゲン受容体に対しても E2 の 1/92,000 程度の結合性がみられている (CERI, 2001a)。

DCHP はヒトエストロゲン受容体応答性酵母増殖アッセイにおいて、エストロゲン様作用が認められている (中間ら, 1999)。しかし、酵母ツーハイブリッドアッセイにおいて、遺伝子の転写活性化は認められていない (Nishihara et al., 2000)。またヒトあるいはラット受容体発現遺伝子及びエストロゲン受容体応答配列を組み込んだ HeLa 細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでも遺伝子の転写活性化は認められていない (CERI, 2001a; Yamasaki et al., 2001)。

DCHP は、ヒトアンドロゲン受容体競合結合試験で合成テストステロンであるミボレロン (mibolerone)の 1/11,000 未満の結合性を示す (Satoh et al., 2001)。また、ヒトアンドロゲン受容体に対する結合試験で結合性を示し、ジヒドロテストステロンの 1/22,000 程度の結合性がみられている (CERI, 2003)。しかし、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、並びに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を示さない (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)

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 SD ラット (20 日齢) に DCHP 0、2、20、200 mg/kg/day を 3 日間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 (Yamasaki et al., 2001)。

同様に、8 週齢の雌の卵巣摘出 SD ラットに DCHP 0、10、100、1,000 mg/kg/day を 7 日間経口投与した実験で、いずれの群でも子宮重量に影響は認められていない (CERI, 2001b)。さらに抗エストロゲン作用を検出するため、8 週齢の雌の卵巣摘出 SD ラットに DCHP 0、10、100、1,000 mg/kg/day を 7 日間強制経口投与し、同時に 17 $\beta$ -エチニルエストラジオールを 30  $\mu$ g/kg/day の用量で 7 日間強制経口投与した実験で、いずれの群でも子宮重量に影響は認められていない (CERI, 2001b)。

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ーガーアッセイ (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、雄の去勢 SD ラット (7 週齢) に DCHP 0、10、100、1,000 mg/kg/day を 10 日間強制経口投与した実験で、いずれの群でも副生殖器官の重量に影響がみられていない (CERI, 2001b)。さらに抗アンドロゲン作用を検出するため、去勢ラット (7 週齢) に DCHP 0、10、100、1,000 mg/kg/day を 10 日間強制経口投与し、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、いずれの群でも副生殖器官の重量に影響がみられていない (CERI, 2001b)。

雄の SD ラット (週齢記載なし) に DCHP 0、500、1,000、1,500、2,000、2,500 mg/kg/day を 7 日間経口投与した実験で、2,500 mg/kg/day 群で両側の精巣に 30-40% の生殖細胞の消失を伴う精細管萎縮がみられている (5 匹中 1 匹) (Lake et al., 1982)。

また雄のラット (系統、週齢記載なし) に DCHP 4,170 mg/kg を 21 日間経口投与した実験で、精細管の萎縮、精子形成の減少がみられている (BIBRA, 1994)。

雌雄の Wistar ラット (週齢記載なし) に DCHP 100 ppm (5 mg/kg 相当) を 18 カ月間混餌投与した実験では影響がみられていない (BIBRA, 1994)。しかし、本試験の投与量は極めて低く、また、試験条件、結果の詳細も明らかではない。

雌のラット (系統、週齢記載なし) に 25%DCHP (オリーブ油) 2 ml/kg/day (600 mg/kg/day 相当) を 6 週間強制経口投与した後に無処置の雄と交配した実験で、生殖及び胎児に対する影響はみられていない (BIBRA, 1994)。本試験も試験条件、結果の詳細が明らかではない。

雌雄の SD ラットに DCHP 0、240、1,200、6,000 ppm (F0 雄 ; 0、15.88、79.57、401.8 mg/kg/day 相当、F0 雌 ; 0、20.80、104.19、510.7 mg/kg/day 相当、F1 雄 ; 0、17.84、89.89、457.4 mg/kg/day 相当、F1 雌 ; 0、20.95、107.15、534.2 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 F0 及び F1 の雌雄 1,200 ppm 以上で体重増

加抑制、摂餌抑制、肝臓のびまん性肝細胞肥大、甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大、6,000 ppm で肝臓及び甲状腺重量の増加、雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強、F0 の雌の 6,000 ppm で発情期間隔のわずかな延長、F1 の雄の 1,200 ppm 以上の群で精巢の精子数（精子細胞数）の減少、6,000 ppm で前立腺重量の減少並びに精巢のびまん性又は限局性精細管萎縮がみられた。仔動物への影響として、F1 及び F2 雌雄仔動物の 6,000 ppm で体重増加抑制、6,000 ppm の F1 仔動物の雄及び 1,200 ppm 以上の F2 仔動物の雄で肛門生殖突起間距離（AGD）の短縮、並びに乳輪の発現がみられている（経済産業省, 2003）。

雌雄の Wistar ラット（週齢記載なし）に DCHP 100 ppm (5 mg/kg/day 相当)を混餌投与した 4 世代生殖毒性試験で、影響はみられていない（Lefaux, R., 1968; BIBRA, 1994）。しかし、本試験の投与量は低用量の 1 用量のみであり、また、試験条件、結果の詳細も明らかではない。

### 3) 一般毒性に関する情報

(1) 急性毒性（表-1）(Shibako & Blumenthal, 1973; BIBRA, 1994)

表-1 急性毒性試験結果

	マウス	ラット	ウサギ
経口 LD <sub>50</sub>	>3,200 mg/kg	>3,200 mg/kg	-
吸入 LC <sub>50</sub>	-	>3.2 mg/L (1h)	-
経皮 LD <sub>50</sub>	-	-	>300 mg/kg (24h)
腹腔内 LD <sub>50</sub>	1,600 mg/kg	>3,200 mg/kg	-

(2) 反復投与毒性（付表-3）

雄の SD ラット（30 日齢）に DCHP 0、500、1,000、1,500、2,000、2,500 mg/kg/day を 7 日間強制経口投与した実験で、500 mg/kg/day 以上の投与群で肝臓の 7-エトキシクマリン *o*-ジエチラーゼ及びミクロソーム系チトクローム p450 の増加がみられ、1,500、2,000、2,500 mg/kg/day 群について病理組織学的検査を行った結果、1,500 mg/kg/day 以上の群で肝臓の小葉中心性肝細胞腫大が、2,500 mg/kg/day 群で肝小葉の滑面小胞体の著しい増殖がみられている。（Lake et al., 1982）。また DCHP1,500 mg/kg/day、DCHP の主要代謝物であるフタル酸モノシクロヘキシル 1,130 mg/kg/day、あるいはシクロヘキサノール 455 mg/kg/day を 7 日間経口投与した実験で、投与群に肝臓の相対重量の増加とピフェニール 4-ヒドロキシラーゼ、7-エトキシクマリン *o*-ジエチラーゼ、アニリン 4-ヒドロキシラーゼ及びミクロソーム系チトクローム p450 等の酵素誘導がみられている（Lake et al., 1982）。

ラット（系統、週齢、性別記載なし）に DCHP 4,170 mg/kg/day を 21 日間強制経口投与した実験で、投与群に肝腫大、前胃扁平上皮細胞の増生及び脱毛がみられている（BIBRA, 1994）。

Albino ラット（週齢、性別記載なし）に DCHP 25-200 mg/kg/day を 90 日間強制経口投与した実験で、25 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の増加がみられているが、病理組織学的な変化は認められていない（BIBRA, 1994）。

雌雄ラット（系統及び週齢記載なし）に 8.8%DCHP 含有プラスチックを 10%の割合で添加した飼料（DCHP として 800 mg/kg/day）を 90 日間混餌投与した実験で、体重増加抑制、副腎及び脾臓重量の減少、精巣や肝臓を除く種々の臓器で軽微な組織学的な異常が認められている。しかし、DCHP 投与との関連性は記載されていない（BIBRA, 1994）。

雌雄のラット（系統、週齢記載なし）に 25%DCHP 1、2 mL（100、200 mg/kg/day 相当）を週 2 回、6 週間又は 1 年間強制経口投与した実験で、体重、血液学的検査及び組織学的検査において、異常はみられていない（BIBRA, 1994）。

#### 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* では、ネズミチフス菌 TA98 株、TA100 株、TA1535 株、TA1537 株を用いた復帰突然変異試験で、ラットまたはハムスターの肝ミクロソーム S9mix 添加の有無にかかわらず、陰性と報告されている。この報告以外に DCHP の変異原・遺伝毒性に関する *in vitro* 及び *in vivo* 実験データはない。

表-2 変異原性・遺伝毒性試験結果

試験方法		試験条件	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 10,000 µg/plate ハムスター S9(+/-)、または ラット S9(+/-)	-	Zeiger, et al., 1985

\* - : 陰性

##### (2) 発がん性（表-3）

ヒト及び実験動物での発がん性については報告がない。

表-3 国際機関等での発がん性評価

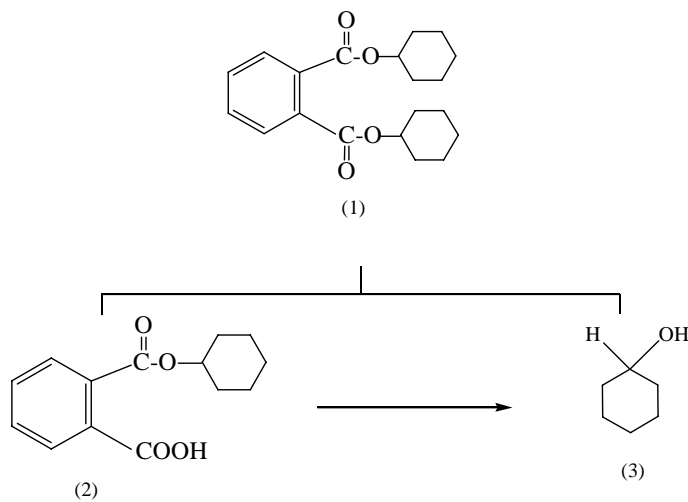
機関	分類	分類基準	出典
U.S.EPA	-	発がん性について評価されていない。	IRIS, 2002
EU	-	発がん性について評価されていない。	ECB, 2000
U.S.NTP	-	発がん性について評価されていない。	U.S.NTP, 2000
IARC	-	発がん性について評価されていない。	IARC, 2001
ACGIH	-	発がん性について評価されていない。	ACGIH, 2001
日本産業衛生学会	-	発がん性について評価されていない。	日本産業衛生学会, 2001

## 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

DCHP はラット、フェレット及びヒヒの肝臓及び小腸ホモジネート、並びにヒト小腸ホモジネート中でゆっくりと加水分解され、主代謝物として、フタル酸モノシクロヘキシルとシクロヘキサノールを生じる (Lake et al., 1977; 1982)( 図 1 )。また、ラットの胃、小腸及び盲腸ホモジネート並びにヒト糞便中でも同様な加水分解活性が認められている (Rowland et al., 1977)。



- (1) フタル酸ジシクロヘキシル  
 (2) フタル酸モノシクロヘキシル  
 (3) シクロヘキサノール

図 1 フタル酸ジシクロヘキシルの代謝経路

## 2. 現時点での有害性評価

ヒトの内分泌系、生殖器系への影響に関する報告はない。

本物質の内分泌系への影響を調べるための *in vitro* 試験系において、ヒト ER を用いた結合試験及びヒト ER 応答性酵母増殖アッセイにおいて、弱い受容体結合性(E2 の 1/480 - 1/960,000、DES の 1/3,600)及びエストロゲン様作用が認められているが、酵母ツーハイブリッドアッセイ及びレポーター遺伝子アッセイではエストロゲン様作用は認められてい

ない。ヒト AR を用いた結合性試験では弱い受容体結合性 (ジヒドロテストステロンの 1/22,000、ミボレロンの <1/11,000) が認められているが、ヒト AR レポーター遺伝子アッセイではアンドロゲン様作用は認められていない。また、子宮増殖アッセイ及びハーシュバーガーアッセイでもエストロゲン作用、アンドロゲン作用は検出されておらず、これらの性ホルモン受容体を介する内分泌かく乱作用を有する可能性は低いと考えられる。

動物実験における内分泌系及び生殖系に対する影響として、反復投与毒性試験では高用量(2,500 または 4,170 mg/kg/day)でラットの精細管の萎縮、精子形成の減少がみられている。その他の臓器への影響として、肝臓において重量増加と酵素誘導がみられている。

また、生殖・発生毒性試験に関して、2 世代生殖毒性試験、4 世代試験が実施されており、2 世代試験では親動物に 1,200ppm (雄で 80 から 90 mg/kg/day 相当、雌で 104 から 108 mg/kg/day 相当)以上で影響がみられ、体重増加抑制、摂餌抑制、肝細胞肥大、甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大、雄で前立腺重量減少、精細管萎縮、精巣の精子数減少、雌で発情期間隔のわずかな延長がみられたが生殖能に影響はみられていない。また、仔動物では 1,200 ppm 以上の雄で AGD の短縮、並びに乳輪の発現、6,000 ppm で体重増加抑制がみられている。このように、親動物、仔動物ともに 100mg/kg/day 前後の用量で、本物質の内分泌系への影響を示唆する変化が認められた。

本物質については、*in vitro* 試験系及び *in vivo* 試験系の ER あるいは AR いずれの受容体介在性の作用もみられていないことから 2 世代試験で雄仔動物にみられた AGD の短縮、乳輪の発現は、DEHP (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)、DBP (フタル酸ジ-n-ブチル) 等でみられる雄仔動物の AGD の短縮、乳頭遺残、尿道下裂等の種々の奇形と類似していることから、テストステロン生合成系の阻害によるアンドロゲン受容体を介さない抗アンドロゲン作用による可能性が考えられる。

一方、低用量 (5 mg/kg/day) で実施した 4 世代試験では影響がみられないとの報告がある。

なお、本物質の有害性に関連する情報として、変異原性・遺伝毒性では復帰突然変異試験で陰性の結果が示されているが、*in vivo* 試験の報告はない。ヒト及び実験動物での発がん性については報告がない。

### 3. リスク評価等今後必要な対応

本物質については、性ホルモン受容体を介する内分泌かく乱作用を有する可能性は低いものと考えられが、多世代にわたる試験において特に雄性生殖器に毒性がみられており、観察された影響は DEHP、DBP 等のフタル酸エステル類で報告されている作用と類似している。2 世代生殖毒性試験で、DCHP は 100mg/kg/day 前後の用量から親動物、仔動物のいずれにおいても、テストステロン生合成系の阻害による、アンドロゲン受容体を介さない抗アンドロゲン作用によると考えられる所見が主に雄性生殖器等に認められ、生殖・発生毒性として次世代への影響が認められた。その他、高用量の親動物に甲

甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大がみられることから甲状腺ホルモンに何らかの影響を及ぼす可能性が示唆された。なお、ろ胞上皮細胞肥大の機序としてフタル酸エステルでみられる肝臓における酵素誘導との関連も考えられたが明らかではない。今後は暴露実態を調査してリスク評価を実施していくのが望ましいと考えられる。なお、環境省では現時点での有害性評価として既報告で影響が報告されている高用量 (500 mg/kg/day) では影響が認められたが、低用量 (50  $\mu$ g/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いとの見解を示している。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<sup>1)</sup>)

- ACGIH (2001) American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. Seventh Edition, Cincinnati, Ohio, 200.
- Andrasch, R.H., Bardana, E.J. Jr., Koster, F., and Pirofsky, B. (1976) **clinical and bronchial provocation studies in patients with meatwrappers' asthma.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, **58**, 291-298.
- BIBRA working group (1994) Dicyclohexyl phthalate. Toxicity Profile, BIBRA Toxicology International.
- 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/>).
- 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
- IRIS (2002) Integrated Risk Information System, National Library of Medicine, (<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?IRIS>).
- Lake, B.G., Phillips, J.C., Linnell, J.C., and Gangolli, S.D. (1977) The in vitro hydrolysis of some phthalate diesters by hepatic and intestinal preparations from various species. *Toxic. Appl. Pharmacol.*, **39**, 239 - 248.
- Lake, B.G., Foster, J.R., Collins, M.A., Stubberfield, C.R., Gangolli, S.D., and Srivastava, S.P. (1982) Studies on the effects of orally administered dicyclohexyl phthalate in the rat. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, **51**, 217 - 226.
- Lefaux, R. (1968) *Practical Toxicology of Plastics.* CRC Press Inc., Boca Raton, FL, 349-350.
- Levy, S.A., Storey, J., and Phashko, B.E. (1978) Meat worker's asthma. *J. Occup. Med.*, **20**, 116 - 117.
- Nakai, M., Tabira, Y., Asai, D., Yakabe, Y., Shimoyozu, T., Noguchi, M., Takatsuki, M., and Shimohigashi, Y. (1999) Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **254**, 311 - 314.
- 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.
- Pauli, G., Bessot, J.C., Lenz, D., Henni, A., Lingot, B., Wendling, R., Ducos, P., Limasset, J.C., and

---

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。

- Maire, C. (1979) L'asthme des emballeurs de viande: Recherche de l'agent causal. Cah. Notes Doc., 96, 373-382 (in French).
- Rowland, I.R., Cottrell, R.C., and Phillips, J.C. (1977) Hydrolysis of phthalate esters by the gastro-intestinal contents of the rat. Food Cosmet. Toxicol., 15, 17 - 21.
- Satoh, K., Nagai, F. and Aoki, N. (2001) Several environmental pollutants have binding affinities for both androgen receptor and estrogen receptor . J. Health Sci., 47, 495-501.
- Shibko, S.I. and Blumenthal, H. (1973) Toxicology of phthalic acid esters used in food-packaging material. Environ. Health Perspect, 3, 131 - 137.
- U.S.NTP (2000) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, 9th Report on Carcinogens.
- Vandervort, R. and Brooks, S.M. (1977) Polyvinyl chloride film thermal decomposition products as an occupational illness. J. Occup. Med., 19, 188-191.**
- Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Yakabe, Y., Sawaki, M., Imatanaka, M., and Takatsuki, M. (2001) Comparison of reporter gene assay and immature rat uterotrophic assay of twenty-three chemicals. Toxicology, 170, 21-30.
- Zeiger E, Haworth S, Mortelmans K, and Speck, W. (1985) Mutagenicity testing di(2-ethylhexyl)phthalate and related chemicals in Salmonella. Environ. Mutagen., 7, 213-232.
- 化学工業日報社 (2003) 14303 の化学物質, 1151.
- CERI (化学物質評価研究機構) (2001a) 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) (2001b) 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) (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 (1977).
- 中間昭彦、船坂邦弘、北野雅昭、川越保徳、芳倉太郎、福永勲 (1999) YES 試験法を用いた生活環境中の estrogen 活性をもつ化学物質のスクリーニング。大阪市立環科研報告, 61, 64 - 71.
- 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： $^3\text{H}$ -E2をリガンドとした競合結合試験、受容体：Sf9/バキュロウイルスで発現させたヒトER、温度：25、pH：7.4	IC50： $10^{-6}$ M(高親和性) $2 \times 10^{-3}$ M(低親和性) (E2： $2.09 \times 10^{-9}$ M)	ER結合性を示す (高親和性と低親和性の2種類の結合部位を有することが示唆されている。ER結合性はE2の1/480(高親和性)、1/960,000(低親和性))	Nakai et al., 1999
	方法：蛍光標識E2リガンドを用いた競合結合試験 受容体：ヒトER	IC50： $5.8 \times 10^{-5}$ M (DES： $1.6 \times 10^{-8}$ M) RBA：0.028%	ER結合性を示す (ER結合性はDESの1/3,600)	Satoh et al., 2001
	方法：ヒトERに対する結合試験(組換えER リガンドドメイン)	IC50： $1.2 \times 10^{-4}$ M (E2： $1.3 \times 10^{-9}$ M) RBA：0.0011%	ER結合性を示す (ER結合性はE2の1/92,000)	CERI, 2001a
AR に対する結合試験	方法：テストステロンリガンドを用いた競合結合試験 受容体：ヒトAR	IC50： $>1.9 \times 10^{-4}$ M (Mibolerone： $1.7 \times 10^{-8}$ M) RBA： $<0.009\%$	AR結合性を示す (結合性はmiboleroneの $<1/11,000$ )	Satoh et al., 2001
	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：0.00454%	AR結合性を示す (結合性はDHTの1/22,000)	CERI, 2003
ヒトER応答性酵母増殖アッセイ	細胞：ヒトERを導入した <i>S.cerevisiae</i> 、 暴露濃度： $10^{-5}$ M(DCHP) $10^{-9}$ M (E2) 暴露期間：2, 5日間	5日目(S9+)で弱い増殖を検出。2日目(S9+/-)および5日目(S9-)では有意な活性は検出されなかった。 EC50： $7.1 \times 10^{-5}$ M (S9+) (E2： $6.9 \times 10^{-11}$ M (S9-))	5日目(S9+)のみERを介する細胞増殖活性を示す	中間ら, 1999
酵母ツーハイブリッドアッセイ	細胞：Gal <sub>4</sub> DNA結合ドメイン/ヒトERリガンド結合ドメイン遺伝子、Gal <sub>4</sub> 活性化ドメイン/コアクチベーターTIF2遺伝子及び-ガラクトシダーゼレポーター遺伝子を導入した酵母	REC10： $>3 \times 10^{-4}$ M (E2： $3 \times 10^{-10}$ M)	ERを介する転写活性化を示さない	Nishihara et al., 2000
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：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	$10^{-11}$ - $10^{-5}$ Mの範囲でアゴニスト活性陰性 (E2：PC50： $<10^{-11}$ M)	ERを介する転写活性化を示さない	CERI, 2001a
	細胞：ラット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	$10^{-11}$ - $10^{-5}$ Mの範囲でアゴニスト活性陰性 (E2：PC50： $<10^{-9}$ M)	ERを介する転写活性化を示さない	Yamasaki et al., 2001
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	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

項目	試験方法及び条件	結果	結論	文献
	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 <sup>-11</sup> - 10 <sup>-6</sup> M (BBP) 5 × 10 <sup>-10</sup> M (DHT)	アゴニスト作用： 10 <sup>-11</sup> - 10 <sup>-6</sup> Mの範囲で陰性 アンタゴニスト作用： 10 <sup>-11</sup> - 10 <sup>-6</sup> Mの範囲で5 × 10 <sup>-10</sup> 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

ER: エストロゲン受容体; E2: 17 $\beta$ -エストラジオール; REC10: 10<sup>-7</sup> 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; RBA: 相対結合強度(%)

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

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ラット (SD、雌)	皮下 (子宮増殖 アッセイ)	出生 20 日か ら 3 日間	0、2、20、200 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	Yamasaki et al., 2001
ラット (SD、雌、 6匹/群) (卵巣摘出 ラット)	強制経口 (子宮増殖 アッセイ)	6 週齢で卵巣 摘出し、8 週 齢から 7 日間 投与後、24 時 間後に子宮 を摘出し、重 量を測定	0、10、100、1,000 mg/kg/day ----- 10、100、1,000 mg/kg/day +17 -エチニル エストラジオ ール 30 μg/kg/day 強制 経口投与	子宮重量に影響なし ----- 子宮重量に影響なし	CERI, 2001b
ラット (SD、雄) 6 週齢で去 勢	強制経口 (ハーシュ バーガー アッセイ)	7 週齢から 10 日間投与後、 約 24 時間後 に解剖	0、10、100、1,000 mg/kg/day ----- 0、10、100、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 ----- 副生殖器官の重量に影響なし	CERI, 2001b
ラット (SD、雄) (週齢記 載なし)	強制経口	7 日間	0、500、1,000、 1,500、2,000、 2,500 mg/kg/day	2,500 mg/kg/day で精巣(精細 管)の萎縮(1/5)	Lake et al., 1982
ラット (雄) (週齢、系 統記載な し)	強制経口	21 日間	4,170 mg/kg/day	精巣(精細管)の萎縮、精子 形成の減少	BIBRA, 1994
ラット (Wistar、 雌雄) (週齢記載 なし)	経口 (混餌)	18 カ月間	100 ppm (5 mg/kg/day 相 当)	影響なし	BIBRA, 1994; Lefaux, 1968
ラット(雌) (系統、週 齢記載な し)	強制経口	雌に 6 週間投 与後、無処理 雄と交配	25% (2 mL/kg/day, 600 mg/kg/day 相当)	同腹仔数に影響なし。仔の成 長、発達及び受胎能に影響な し。	BIBRA, 1994

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ラット (SD、雌雄)	経口 (混餌)	2世代生殖試験 F <sub>0</sub> は雌雄とも5週齢、F <sub>1</sub> は雌雄とも3週齢から投与開始 雄は交配10週以上前から交配期間を経て剖検日まで、雌では交配10週以上前から交配期間、離乳を経て剖検日まで	0、240、1,200、6,000 ppm (F <sub>0</sub> 雄;0、15.88、79.57、401.8 mg/kg/day 相当、F <sub>0</sub> 雌;0、20.80、104.19、510.7 mg/kg/day 相当、F <sub>1</sub> 雄;0、17.84、89.89、457.4 mg/kg/day 相当、F <sub>1</sub> 雌;0、20.95、107.15、534.2 mg/kg/day 相当)	親動物への影響： F <sub>0</sub> 親動物 1,200 ppm 以上で体重増加抑制、摂餌抑制、肝臓のびまん性肝細胞肥大、甲状腺る胞上皮細胞の肥大 6,000 ppm で肝臓及び甲状腺重量の増加、雌で発情期間隔のわずかな延長、雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強  F <sub>1</sub> 親動物 1,200 ppm 以上で体重増加抑制、摂餌抑制、肝臓のびまん性肝細胞肥大、甲状腺る胞上皮細胞の肥大、雄で精巢の精子数(精子細胞数)の減少 6,000 ppm で肝臓及び甲状腺重量の増加、雄で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現増強、前立腺重量の減少並びに精巢のびまん性又は限局性精細管萎縮  仔動物への影響： F <sub>1</sub> 仔動物 6,000 ppm で体重増加抑制、雄で肛門生殖突起間距離(AGD)の短縮、並びに乳輪の発現  F <sub>2</sub> 仔動物 1,200 ppm 以上の雄で肛門生殖突起間距離(AGD)の短縮、並びに乳輪の発現 6,000 ppm で体重増加抑制	経済産業省 2003
ラット (Wistar、雌雄) (週齢記載なし)	経口 (混餌)	4世代	100 ppm (5 mg/kg/day 相当)	影響なし	BIBRA, 1994; Lefaux, 1968

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
ラット (SD、雄) (30日齢)	強制経口	7日間	DCHP 0、500、1,000、1,500、 2,000、2,500 mg/kg/day	1,500mg/kg 投与群：小葉中 心性肝細胞の腫大、肝酵素 誘導 2,500mg/kg 投与群：小葉中 心性肝細胞の腫大及び滑 面小胞体の著しい増殖	Lake et al., 1982
			DCHP の主要代謝物 フタル酸モノシクロヘキシ ル; 1,130mg/kg/day シクロヘキサノール; 455 mg/kg/day ( DCHP1,500mg/kg/day と同 じモル投与量 )	MCHP：肝相対重量の高値 及び肝酵素誘導。  CH：肝相対重量の高値及び 肝酵素誘導	
ラット (系統、週 齢、性別 記載なし)	強制経口	21日間	4,170 mg/kg/day	肝腫大、前胃扁平上皮細胞 の増生及び脱毛	BIBRA, 1994
ラット (Albino) (週齢、 性別記載 なし)	強制経口	90日間	25-200 mg/kg/day	25mg/kg/day 以上で肝臓重 量の増加、組織学的な変化 なし	BIBRA, 1994
ラット (雌雄) (系統、 週齢記載 なし)	経口 (混餌)	90日間	8.8%DCHP 含有プラスチック フィルムを 10%の割合で 添加した飼料 (DCHP として 800 mg/kg/day 相当)	体重増加抑制、副腎及び脾 臓重量の低値、精巣や肝臓 を除く種々の臓器で軽微 な組織学的な異常が認め られているが、DCHP との 関連性は記載なし	BIBRA, 1994
ラット (雌雄) (系統、 週齢記載 なし)	強制経口	6週間、 1年間 (週2回)	25% DCHP 1、2 mL/匹 (100、200 mg/kg/day 相当)	影響なし (体重、血液学的検査及び 組織学的検査)	BIBRA, 1994