

フタル酸ブチルベンジル (CAS no. 85-68-7)

文献信頼性評価結果

示唆された作用							
エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン	その他*
○	○	○	○	○	○	—	○

○：既存知見から示唆された作用

—：既存知見から示唆されなかった作用

*その他：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用等

フタル酸ブチルベンジルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、テストステロン合成抑制作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成系への作用、黄体形成ホルモンパルスへの影響、抗甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、ステロイドホルモン合成系への作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害、脂質合成促進作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆された。

(1) 生態影響

- Kamel ら(2022)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98.8%) 3.5、11.5、34.1、105 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度 3.6、10.9、33、100 $\mu\text{g/L}$ に相当する測定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 51 (孵化後 14～17 日目)から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、3.5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で到達 NF stage (中央値、分布範囲)、後脚長(HLL: hind limb length)、体長(SVL: snout-vent length)、HLL/SVL の高値、34.1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重、到達発達ステージ、甲状腺濾胞細胞肥大発生率の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用

- Sohn ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard) 20、100、500、2,500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に約 4 ヶ月齢から 14 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、2,500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中 17 β -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値が認められた。なお、血漿中 17 β -エストラジオール濃度、肝臓中 *vig* mRNA 相対発現量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *3 β hsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *17 β hsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成系への作用

- Sugiyama ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 1,250 $\mu\text{g/L}$ (= 4 μM 、設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 51～52 から 5 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、全身中 *TR β* mRNA 相対発現量(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

(2) 生殖影響

- Ashby ら(1997)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 182.6±99.2µg/kg/day (飲水中濃度 1,000µg/L)を妊娠0日目から出産後22日目まで飲水投与したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、雄仔動物において、体重(2日齢)、肛門生殖突起間距離(2日齢)、肝臓絶対重量(90日齢)の高値が認められた。なお、体重(20、56、90、137日齢)、包皮分離日、腎臓絶対重量(90、137日齢)、左右精巣絶対重量(90、137日齢)、精巣上部絶対重量(90、137日齢)、精嚢絶対重量(90、137日齢)、前立腺絶対重量(90、137日齢)、左右精巣中精子数及び濃度(90、137日齢)、右精巣上部尾中精子数(90、137日齢)、卵巣刺激ホルモン産生下垂体細胞率には影響は認められなかった。

また、雌仔動物において、膣開口日の早期化が認められた。なお、体重(2、21、56、90日齢)、肛門生殖突起間距離(2日齢)、子宮絶対重量(21、90日齢)、肝臓絶対重量(90日齢)、腎臓絶対重量(90日齢)、卵巣絶対重量(90日齢)、卵巣刺激ホルモン産生下垂体細胞率には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ヒトの推定摂取量に基づき µg/kg/day 単位の低い投与量を設定している点に注意を要すると判断された。

- Sharpe ら(1995)によって、フタル酸ブチルベンジル(Chem Service) 1,000µg/L (飲水中濃度。投与1及び2日目にて 88µg/kg/day、投与10及び11日目にて 274µg/kg/day、投与20及び21日目にて 366µg/kg/day に相当)を母動物に対し交配前2週間、交配期間、妊娠期間3週間、更に出産1日目から22日目まで飲水投与したWistarラットへの影響(哺育22日雄仔動物)が検討されている。その結果として、体重の高値が認められた。なお、同腹仔数(出生時)、雄性比(出生時)には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Chem Service) 1,000µg/L (飲水中濃度。投与1及び2日目にて 88µg/kg/day、投与10及び11日目にて 274µg/kg/day、投与20及び21日目にて 366µg/kg/day に相当)を母動物に対し交配前2週間、交配期間、妊娠期間3週間、更に出産1日目から22日目まで飲水投与したWistarラットへの影響(90~95日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、精巣絶対及び相対重量、精巣/腎臓絶対重量比、日毎精子産生数の低値が認められた。なお、体重、腎臓絶対及び相対重量、腹側前立腺絶対及び相対重量、精巣中精細管画像面積、精巣中精細管上皮面積には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：生殖発達毒性、エストロゲン様作用又は抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ヒトの推定摂取量に基づき µg/kg/day 単位の低い投与量を設定している点に注意を要すると判断された。

- Lv ら(2019)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 10、100、1,000mg/kg/day を35日齢から55日齢まで経口投与した雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 pAMPKα 蛋白質相対発現量の低値、精巣中 CYP11A1 蛋白質発現ライディッシュ細胞数、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、精巣中 *sox9* mRNA 相対発現量、精巣中 FSHR 蛋白質相対発現量、精巣中 AMH 蛋白質相対発現量の高値、10、100mg/kg/day のばく露群で精巣中 *lhcg* mRNA 相対発現量、精巣中 CYP11A1 蛋白質相対発現量の高値、10mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巣中 pAKT1 蛋白質相対発現量の高値(1,000mg/kg/day 群では低値)、精巣中 LHCGR 蛋白質相対発現量、精巣中 HSD3B1 蛋白質相対発現量の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 *fshr* mRNA 相対発現量、精

巢中 *amh* mRNA 相対発現量、精巢中 SOX9 蛋白質相対発現量の高値、100mg/kg/day のばく露群で精巢中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で精巢中 *scarb1* mRNA 相対発現量、精巢中 SCARB1 蛋白質相対発現量、精巢中 STAR 蛋白質相対発現量の低値、体重、精巢中 HSD11B1 蛋白質相対発現量、精巢中 pERK1/2 蛋白質相対発現量、精巢中 AMPK α 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、両精巢絶対重量、両精巢上体絶対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、精巢中 HSD11B1 蛋白質発現ライディッチ細胞数、精巢中 SOX9 蛋白質発現セルトリ細胞数、精巢中 *star* mRNA 相対発現量、精巢中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量、精巢中 *hsd17b3* mRNA 相対発現量、精巢中 *nr5a1* mRNA 相対発現量、精巢中 *hsd11b1* mRNA 相対発現量、精巢中 CYP17A1 蛋白質相対発現量、精巢中 HSD17B3 蛋白質相対発現量、精巢中 ACTB 蛋白質相対発現量、精巢中 AKT1 蛋白質相対発現量、精巢中 pAKT2 蛋白質相対発現量、精巢中 AKT2 蛋白質相対発現量、精巢中 ERK1/2 蛋白質相対発現量、ライディッチ細胞数当テストステロン産生量、ライディッチ細胞数当 5 α -アンドロステジオール産生量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- Nagao ら(2000)によって、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を 6 週齢から 23 週齢まで(交配期間前 12 週間、交配期間 2 週間を含む)経口投与した雄 SD ラット F₀ への影響(23 週齢)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、500mg/kg/day のばく露群で体重、血清中テストステロン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓絶対及び相対重量、脳相対重量、肺相対重量、腎臓絶対重量の高値が認められた。なお、脳絶対重量、肺絶対重量、腎臓相対重量、心臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、精巢絶対及び相対重量、精巢上体絶対及び相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精嚢絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、病理組織学的検査における異常所見発生件数、運動精子率、直進運動精子率、精巢上体尾中精子濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を 13 週齢から出産後 22 日目まで(交配期間前 2 週間、交配期間 2 週間、妊娠期間 3 週間、出産及び哺育期間 3 週間を含む 23 週齢までと思われる)経口投与した雌 SD ラット F₀ への影響(出産後 22 日目)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で腎臓絶対及び相対重量の高値、500mg/kg/day のばく露群で卵巣絶対及び相対重量、血清中サイロキシン濃度の低値、血清中プロラクチン濃度の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、心臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中エストラジオール濃度、病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、雌雄 F₀ 交配試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄新生仔(F₁)体重(0 日齢)の低値、500mg/kg/day のばく露群で F₁ 生存率(0～4 日齢)、雌雄 F₁ 体重(14、21 日齢)、雌雄 F₁ 肛門生殖突起間距離(0 日齢)の低値が認められた。なお、交配率、妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F₁ 性比、F₁ 生存率(0、4～21 日齢)には影響は認められなかつた。

った。

また、離乳期雄 F₁において、20mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、生殖器の病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣において)の高値が認められた。なお、精巣上体相対重量、前立腺絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、離乳期雌 F₁において、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で体重、卵巣絶対重量の低値、子宮相対重量の高値が認められた。なお、卵巣相対重量、子宮絶対重量、血清中プロラクチン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度、血清中エストラジオール濃度、生殖器の病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を離乳から 21 週齢まで(13 週齢からの交配期間 2 週間を含む)経口投与した雄 SD ラット F₁への影響(21 週齢と思われる)が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重、心臓絶対重量の低値、腎臓相対重量の高値、500mg/kg/day のばく露群で脾臓絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度の低値、脳相対重量、肺相対重量、肝臓相対重量、甲状腺相対重量、下垂体相対重量、病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣、精巣上体において)の高値が認められた。なお、脳絶対重量、心臓相対重量、肺絶対重量、肝臓絶対重量、脾臓相対重量、腎臓絶対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、前立腺腹葉相対重量、精囊絶対及び相対重量、甲状腺絶対重量、下垂体絶対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、運動精子率、直進運動精子率、精巣上体中精子濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を離乳から出産後 22 日目まで(13 週齢からの交配期間 2 週間を含む、妊娠期間 3 週間、出産及び哺育期間 3 週間を含む 21 週齢までと思われる)経口投与した雌 SD ラット F₁への影響(出産後 22 日目)が検討されているが、体重、脳絶対及び相対重量、心臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、血清中プロラクチン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中サイロキシン濃度、血清中エストラジオール濃度、病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄 F₁において、500mg/kg/day のばく露群で雄包皮分離日の遅延が認められた。なお、雌雄増加体重(21~91 日齢)、雌膈開口日、雌発情周期には影響は認められなかった。

また、雌雄 F₁ 交配試験において、妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、雌雄新生仔(F₂)生存率(0、0~4、4~21 日齢)、F₂ 性比、F₂ 体重(0、4、7、14、21 日齢)には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状

腺軸への作用、生殖組織への毒性作用

- Kawaguchi ら(2002)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) $25.9 \pm 1.5 \text{ mg/kg/day}$ (10 mg/animal/day に相当)を 15~16 週齢(7~8 週齢で卵巣摘出处置後)に単回(時刻 12:00)に皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響(投与 24 時間後にインスリン 1.0U を静脈内投与し 3 時間観察)が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモンパルス数の低値が認められた。なお、黄体形成ホルモンパルス強度、血清中黄体形成ホルモン平均濃度、血清中プロラクチン平均濃度、子宮絶対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) $25.9 \pm 1.5 \text{ mg/kg/day}$ (10 mg/animal/day に相当)を 15~16 週齢(7~8 週齢で卵巣摘出处置後)に単回(時刻 12:00)に皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響(投与 24 時間後に生理食塩水を静脈内投与し 3 時間観察)が検討されているが、黄体形成ホルモンパルス数、黄体形成ホルモンパルス強度、血清中黄体形成ホルモン平均濃度には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：黄体形成ホルモンパルスへの影響

- Aso ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から出産終了まで(交配期間前 10 週間、交配から出産までの期間を含む)経口投与した雄 SD ラット F₀ への影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で左腎臓絶対重量の高値、400mg/kg/day のばく露群で肝臓相対重量、左腎臓相対重量、左精巣上体絶対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、右腎臓絶対及び相対重量、左右精巣絶対及び相対重量、右精巣上体絶対及び相対重量、左精巣上体相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、左右副腎絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、精巣中精子濃度、精巣上体中精子濃度、精巣上体中運動精子率、精巣上体中精子形態異常率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から哺育終了まで(交配期間前 10 週間、交配から離乳までの期間を含む)経口投与した雌 SD ラット F₀ への影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量、左右腎臓絶対重量の高値、200mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量の低値、400mg/kg/day のばく露群で左右腎臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、左右卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対重量、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、左右副腎絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、正常性周期個体率には影響は認められなかった。

また、15 週齢雄 SD ラット F₀ と 13 週齢雌 SD ラット F₀ の交配試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔(F₁)雌肛門生殖突起間距離(4 日齢、体重補正值)の高値、100mg/kg/day のばく露群で、F₁ 雌肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値)の高値が認められた。なお、交配率、交配に至るまでの所要日数、妊孕率又は妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F₁ 雄肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。

また、離乳期雄 SD ラット F₁ において、400mg/kg/day のばく露群で脾臓絶対及び相対重量の低値が認められた。なお、脳絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を5週齢から出産終了まで(交配期間前10週間、交配から出産までの期間を含む)経口投与した雄SDラットF₁への影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day以上のばく露群で左精巣上体絶対重量の低値、肝臓相対重量の高値、400mg/kg/dayのばく露群で右精巣上体絶対重量、精嚢絶対重量、包皮分離率の低値、甲状腺相対重量、生殖器の剖検検査及び病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣において)の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、左右腎臓絶対及び相対重量、左右精巣絶対及び相対重量、左右精巣上体相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精嚢相対重量、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対重量、左右副腎絶対及び相対重量、精巣中精子濃度、精巣上体中精子濃度、精巣上体中運動精子率、精巣上体中精子形態異常率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を5週齢から哺育終了まで(交配期間前10週間、交配から離乳までの期間を含む)経口投与した雌SDラットF₁への影響が検討されている。その結果として、400mg/kg/dayのばく露群で肝臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓相対重量、左右腎臓絶対及び相対重量、左右卵巢絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、左右副腎絶対及び相対重量、膣開口率には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄SDラットF₁において、耳介展開日、切歯萌出日、眼瞼開裂日には影響は認められなかった。

また、15週齢雄SDラットF₁と13週齢雌SDラットF₁の交配試験において、100mg/kg/day以上のばく露群で新生仔(F₂)雄肛門生殖突起間距離(4日齢、体重補正值)の低値、100、400mg/kg/dayのばく露群でF₂雄肛門生殖突起間距離(4日齢、絶対値)の低値が認められた。なお、交配率、交配に至るまでの所要日数、妊孕率又は妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F₂雌肛門生殖突起間距離(4日齢、絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄SDラットF₂において、耳介展開日、切歯萌出日、眼瞼開裂日には影響は認められなかった。

また、離乳期雌雄SDラットF₂において、400mg/kg/dayのばく露群で脾臓絶対及び相対重量の低値が認められた。なお、脳絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

- Ema と Miyawaki (2002)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 250、500、1,000mg/kg/day を、妊娠15日目から17日目まで経口投与したWistarラットへの影響(妊娠21日目)が検討されている。その結果として、500mg/kg/day以上のばく露群で雄胎仔肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)の低値、精巣下降不全同腹雄胎仔数、雄胎仔精巣下降不全度(degree of transabdominal testicular ascent)の高値、1,000mg/kg/dayのばく露群で同腹生存胎仔数、雌雄生存胎仔体重の低値が認められた。なお、母動物増加体重(補正值)、同腹黄体数、同腹着床数、同腹死亡胎仔数、胎仔性比、雌胎仔肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- Spade ら(2018)によって、フタル酸ブチルベンジル(National Toxicology Program、100%) 750mg/kg/day を妊娠17日目から妊娠21日目まで経口投与したSDラットへの影響(終投与1

時間後の雄胎仔)が検討されている。その結果として、精巣組織によるテストステロン産生能の低値、多核生殖細胞数(精巣画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管当)、多核生殖細胞を有する精細管率の高値が認められた。なお、母動物体重、母動物増加体重、同腹胎仔数、精巣中精細管占有率(画像面積比)には影響は認められなかった。想定される作用メカニズム：テストステロン合成抑制作用、精巣毒性

- Gray ら(2000)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 750mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 3 日後まで経口投与した SD ラットへの影響(発達期雄仔動物)が検討されている。その結果として、新生仔体重(雌雄混合)、肛門生殖突起間距離(体重補正值、2 日齢)、精巣絶対重量(2 日齢)の低値、乳輪保持率(13 日齢)、包皮分離不全率の高値が認められた。なお、離乳時体重、包皮分離日には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 750mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 3 日後まで経口投与した SD ラットへの影響(成熟雄仔動物)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、肛門挙筋+球海綿体筋(LABC)絶対重量、精囊+凝固腺絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、陰茎絶対重量、両精巣上体絶対重量、精巣上体尾部絶対重量、精巣上体頭部及び胴部絶対重量の低値、乳輪数の高値が認められた。なお、体重、両腎臓絶対重量、肝臓絶対重量、下垂体絶対重量、副腎絶対重量、血清中テストステロン濃度には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、剖検日等の記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

(3) エストロゲン作用

- Ho ら(2013)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 0.001、0.1 μ M(=0.312、31.2 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=31.2 μ g/L)の濃度区でエストロゲン応答性可溶性カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ(COMT)蛋白質相対発現量の低値が認められた。
- Qin ら(2011)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) 0.001~10 μ M(=0.312~31,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG1Luc4E2 (ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 0.245 μ M(=76.5 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、作用メカニズムとしてエストロゲンシグナル伝達経路におけるアрил炭化水素受容体核トランスロケーター 2 (ARNT2: Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator 2) の発現抑制が示唆されている点に注意を要すると判断された。

- Hong ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 1、10、100 μ M(=312、3,120、31,200 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、1 μ M(=312 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。
- なお、本試験結果の解釈にあたっては、ラット試験においては影響が認められていないが、試験管内試験において影響が認められている点に注意を要すると判断された。

- Picard ら(2001)によって、フタル酸ブチルベンジル(Monsanto Laboratory、97%) 0.1、1、2.5、5、7.5、10 μ M(=31.2、312、780、1,560、2,340、3,120 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、1 μ M(=312 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(Monsanto Laboratory、97%) 0.0001、0.01、1、5、10 μ M(=0.0312、3.12、312、1,560、3,120 μ g/L)の濃度に 72 間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、5 μ M(=1,560 μ g/L)以上の濃度区でサイトゾル中プロゲステロン受容体発現量の高値が認められた。

(4) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Rider ら(2009)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 100 μ M(=31,200 μ g/L)までの濃度でファットヘッドミノールエストロゲン受容体 α による標識 17 β -エストラジオール 0.5nM に対する結合阻害(競合結合)試験(アフリカミドリザル腎線維芽細胞 COS を用いたホールセル及びセルフリーアッセイ)が検討されている。その結果として、ホールセルアッセイ IC50 値 8.51 μ M(=2,660 μ g/L)及びセルフリーアッセイ IC50 値 79.4 μ M(=24,800 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 100 μ M(=31,200 μ g/L)までの濃度でヒトエストロゲン受容体 α による標識 17 β -エストラジオール 0.5nM に対する結合阻害(競合結合)試験(アフリカミドリザル腎線維芽細胞 COS を用いたホールセル及びセルフリーアッセイ)が検討されている。その結果として、ホールセルアッセイ IC50 値 24.5 μ M(=7,640 μ g/L)及びセルフリーアッセイ IC50 値 219 μ M(=68,400 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、IC50 値が対数表記されている点に注意を要すると判断された。

(5) 甲状腺ホルモン作用

- Li ら(2022)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 0.01、0.1、1、5、10 μ M(=3.12、31.2、312、624、3,120 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したラット下垂体がん細胞による細胞増殖試験(T-Screen)が検討されている。その結果として、5 μ M(=624 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 5、10 μ M(=624、3,120 μ g/L)の濃度にばく露(48 時間と思われる)したラット下垂体がん細胞への影響(蛋白質相対発現量)が検討されている。その結果として、ERK (extra cellular signal-regulated kinase)蛋白質発現量の高値が認められた。なお、p-ERK (phosphorylated ERK)蛋白質発現量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 5、10 μ M(=624、3,120 μ g/L)の濃度にばく露(48 時間と思われる)したラット下垂体がん細胞への影響(mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、5 μ M(=15,600 μ g/L)以上の濃度区で *c-fos* の高値、5 μ M(=15,600 μ g/L)の濃度区で *MAPK3* の高値、10 μ M(=3,120 μ g/L)の濃度区で *mTR*、*integrin β 3*、*MAPK1* の高値が認められた。なお、*integrin α v*、*k-ras*、*raf-1*、*MEK-1* には影響は認められなかった。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、*c-fos* (前がん遺伝子)、*mTR* (膜甲状腺ホルモン受容体遺伝子)、*integrin* (膜受容体)以外は ERK1/2 シグナル伝達経路関連である点に注意を要すると判断された。

(6) 抗甲状腺ホルモン作用

- Sugiyama ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 0.8、4、20、50 μ M(=250、1,250、6,250、15,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)したアフリカツメガエル細胞 XL58 によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモン応

答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、20 μ M(=6,250 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 4、50 μ M(=1,250、15,600 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)したアフリカツメガエル細胞 XL58 (甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞)への影響が検討されている。その結果として、4 μ M(=15,600 μ g/L)以上の濃度区で *TR β* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

(7) 甲状腺ホルモン作用又は抗甲状腺ホルモン作用

- Li ら(2020)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma、98%) 0.001、0.01、0.1、1、10、100、1,000 μ M(=0.00312、0.0312、0.312、312、3,120、31,200、312,000 μ g/L)の濃度で甲状腺ホルモン膜受容体インテグリン $\alpha\beta 3$ (ラット下垂体がん細胞 GH3 由来)による標識 3PRGD2 (three polyethylene glycol spacers arginine-glycine-aspartic acid)に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、1,000 μ M(=312,000 μ g/L)の濃度区で結合阻害が認められた。

(8) ヒト黄体細胞への影響

- Romani ら(2014)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1 μ M(=0.312、3.12、31.2、312 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト黄体細胞(25~28歳の健常女性由来)への影響が検討されている。その結果として、0.001 μ M(=0.312 μ g/L)以上の濃度区で血管内皮細胞増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor) 産生量の低値、0.01 μ M(=3.12 μ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量の低値、0.1 μ M(=31.2 μ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 100ng/mL にて1時間前処理)の低値、1 μ M(=312 μ g/L)の濃度区でプロスタグランジン E₂ 産生量の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害

(9) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

- Sohn ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard) 1、10、100 μ M(=312、3,120、31,200 μ g/L)の濃度に48時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=312 μ g/L)以上の濃度区で *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、10 μ M(=3,120 μ g/L)以上の濃度区でテストステロン濃度の低値、17 β -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値、100 μ M(=31,200 μ g/L)の濃度区で *star* mRNA 相対発現量の低値、17 β -エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、血漿中 17 β -エストラジオール/テストステロン濃度比、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *3 β hsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *17 β hsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成系への作用

(10) マウス線維芽細胞への影響

- Yin ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma) 10、100 μ M(=3,120、31,200 μ g/L)の濃度に8日間ばく露したマウス繊維芽細胞(脂肪前駆細胞) 3T3-L1 への影響(蛋白質及び mRNA は脂質産生関連)が検討されている。その結果として、10 μ M(=3,120 μ g/L)以上の濃度区でペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ)蛋白質相対発現量、転写因子 C/EBP (CCAAT/ enhancer binding protein)蛋白質相対発現量、脂肪酸合成酵素

(FAS: fatty acid synthase)蛋白質相対発現量、アディポネクチン蛋白質相対発現量、*PPAR γ* mRNA 相対発現量、*C/EBP* mRNA 相対発現量、*FABP4* mRNA 相対発現量、*Adipo Q* mRNA 相対発現量、*Adipsin* mRNA 相対発現量、*LPL* mRNA 相対発現量、*FSAN* mRNA 相対発現量の高値、100 μ M(=31,200 μ g/L)の濃度区でトリグリセリド含有量、アセチル CoA カルボキシラーゼ蛋白質相対発現量、ペリリピン蛋白質相対発現量の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：脂質合成促進作用

(11)ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用

- Zhao ら(2010)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 1,000 μ M(=312,000 μ g/L)の濃度でヒト腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 1,000 μ M(=312,000 μ g/L)の濃度でラット腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。

参考文献

- Ahmad R, Gautam AK, Verma Y, Sedha S and Kumar S (2014) Effects of in utero di-butyl phthalate and butyl benzyl phthalate exposure on offspring development and male reproduction of rat. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21 (4), 3156-3165.
- Ahmad R, Verma Y, Gautam AK and Kumar S (2015) Assessment of estrogenic potential of di-*n*-butyl phthalate and butyl benzyl phthalate *in vivo*. *Toxicology and Industrial Health*, 31 (12), 1296-1303.
- Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Odum J, Paton D, Millward SW, Tittensor S and Brooks AN (1997) Normal sexual development of rats exposed to butyl benzyl phthalate from conception to weaning. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26 (1 Pt 1), 102-118.
- Aso S, Ehara H, Miyata K, Hosyuyama S, Shiraishi K, Umamo T and Minobe Y (2005) A two-generation reproductive toxicity study of butyl benzyl phthalate in rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 30 Spec No., 39-58.
- Betz A, Jayatilaka S, Joshi J, Ramanan S, Debartolo D, Pylypiw H and Franke E (2013) Chronic exposure to benzyl butyl phthalate (BBP) alters social interaction and fear conditioning in male adult rats: alterations in amygdalar MeCP2, ERK1/2 and ER α . *Neuro Endocrinology Letters*, 34 (5), 347-358.
- Deegan AM, Steinhauer RB, Feinn RS, Moeller MC, Pylypiw HM, Jr., Nabel M, Kovelowski CJ and Kaplan LAE (2019) Modulation of brain serotonin by benzyl butyl phthalate in *Fundulus heteroclitus* (mummichog). *Ecotoxicology*, 28 (9), 1038-1045.
- Ema M and Miyawaki E (2002) Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy. *Reproductive Toxicology*, 16 (1), 71-76.
- Ema M, Kurosaka R, Amano H and Ogawa Y (1995) Comparative developmental toxicity of *n*-butyl benzyl phthalate and di-*n*-butyl phthalate in rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28 (2), 223-228.
- Ema M, Miyawaki E and Kawashima K (1998) Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 12 (2), 127-132.
- Gray LE, Jr., Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN 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. *Toxicological Sciences*, 58 (2), 350-365.
- Ho PW, Tse ZH, Liu HF, Lu S, Ho JW, Kung MH, Ramsden DB and Ho SL (2013) Assessment of cellular estrogenic activity based on estrogen receptor-mediated reduction of soluble-form catechol-*O*-methyltransferase (COMT) expression in an ELISA-based system. *PloS One*, 8 (9), e74065.
- Hong EJ, Ji YK, Choi KC, Manabe N and Jeung EB (2005) Conflict of estrogenic activity by various phthalates between *in vitro* and *in vivo* models related to the expression of Calbindin-D9k. *Journal of Reproduction and Development*, 51 (2), 253-263.
- Kamel A, Matten SR, Lynn SG, Wolf JC and Fort DJ (2022) Amphibian Metamorphosis Assay: Investigation of the potential effects of five chemicals on the hypothalamic-pituitary thyroid axis of *Xenopus laevis*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 134, 105241.
- Kawaguchi M, Funabashi T, Aiba S and Kimura F (2002) Butyl benzyl phthalate, an endocrine disrupter, inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion under an insulin-induced hypoglycaemic state in ovariectomized rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 14 (6), 486-491.
- Leng Y, Sun Y, Huang W, Lv C, Cui J, Li T and Wang Y (2021) Identification of dicyclohexyl phthalate as a glucocorticoid receptor antagonist by molecular docking and multiple *in vitro* methods. *Molecular Biology Reports*, 48 (4), 3145-3154.
- Li J, Li H, Lin D, Li M, Wang Q, Xie S, Zhang Y and Liu F (2021) Effects of butyl benzyl phthalate exposure on *Daphnia magna* growth, reproduction, embryonic development and transcriptomic responses. *Journal of Hazardous Materials*, 404 (Pt B), 124030.
- Li J, Liu H, Zuo R, Yang J and Li N (2020) Competitive binding assays for measuring the binding affinity of thyroid-disrupting chemicals for integrin $\alpha(v)\beta(3)$. *Chemosphere*, 249, 126034.

- Li J, Xu Y, Jiang Y, Li N, Li Z, Kong D, Guo X, Zhang J and Zuo R (2022) Nongenomic effects and mechanistic study of butyl benzyl phthalate-induced thyroid disruption: Based on integrated *in vitro*, *in silico* assays and proteome analysis. *Science of the Total Environment*, 836, 155715.
- Lv Y, Dong Y, Wang Y, Zhu Q, Li L, Li X, Lin Z, Fan L and Ge RS (2019) Benzyl butyl phthalate non-linearly affects rat Leydig cell development during puberty. *Toxicology Letters*, 314, 53-62.
- 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. *Reproductive Toxicology*, 14 (6), 513-532.
- Nakagomi M, Suzuki E, Usumi K, Saitoh Y, Yoshimura S, Nagao T and Ono H (2001) Effects of endocrine disrupting chemicals on the microtubule network in Chinese hamster V79 cells in culture and in Sertoli cells in rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21 (6), 453-462.
- Nomura Y, Mitsui N, Bhawal UK, Sawajiri M, Tooi O, Takahashi T and Okazaki M (2006) Estrogenic activity of phthalate esters by *in vitro* VTG assay using primary-cultured *Xenopus* hepatocytes. *Dental Materials Journal*, 25 (3), 533-537.
- Picard K, Lhuguenot JC, Lavier-Canivenc MC and Chagnon MC (2001) Estrogenic activity and metabolism of *n*-butyl benzyl phthalate *in vitro*: identification of the active molecule(s). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 172 (2), 108-118.
- Qin XY, Zaha H, Nagano R, Yoshinaga J, Yonemoto J and Sone H (2011) Xenoestrogens down-regulate aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator 2 mRNA expression in human breast cancer cells via an estrogen receptor alpha-dependent mechanism. *Toxicology Letters*, 206 (2), 152-157.
- Rider CV, Hartig PC, Cardon MC, and Wilson VS (2009) Comparison of chemical binding to recombinant fathead minnow and human estrogen receptors alpha in whole cell and cell-free binding assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (10), 2175-2181.
- Romani F, Tropea A, Scarinci E, Federico A, Dello Russo C, Lisi L, Catino S, Lanzone A and Apa R (2014) Endocrine disruptors and human reproductive failure: the *in vitro* effect of phthalates on human luteal cells. *Fertility and Sterility*, 102 (3), 831-837.
- Sharpe RM, Fisher JS, Millar MM, Jobling S and Sumpter JP (1995) Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environmental Health Perspectives*, 103 (12), 1136-1143.
- Sohn J, Kim S, Koschorreck J, Kho Y and Choi K (2016) Alteration of sex hormone levels and steroidogenic pathway by several low molecular weight phthalates and their metabolites in male zebrafish (*Danio rerio*) and/or human adrenal cell (H295R) line. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 45-54.
- Spade DJ, Bai CY, Lambright C, Conley JM, Boekelheide K and Gray LE (2018) Validation of an automated counting procedure for phthalate-induced testicular multinucleated germ cells. *Toxicology Letters*, 290, 55-61.
- Sugiyama S, Shimada N, Miyoshi H and Yamauchi K (2005) Detection of thyroid system-disrupting chemicals using *in vitro* and *in vivo* screening assays in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 88 (2), 367-374.
- Yin L, Yu KS, Lu K and Yu X (2016) Benzyl butyl phthalate promotes adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes: A High Content Cellomics and metabolomic analysis. *Toxicology in vitro*, 32, 297-309.
- Zhao B, Chu Y, Huang Y, Hardy DO, Lin S and Ge RS (2010) Structure-dependent inhibition of human and rat 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by phthalates. *Chemico-Biological Interactions*, 183 (1), 79-84.