

文献調査・信頼性評価の結果

1. 文献調査結果

文献調査の実施状況を表—1 にまとめて示した。

表—1 文献調査・信頼性評価の実施状況

物質名	ペンタクロロフェノール	アミトロール	ビスフェノールA	2,4-ジクロロフェノール
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINE および TOXLINE を利用して、各検討物質毎に内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。			
検索性数	59	32	119	16
実施状況	作用に関する 12 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 6 件についてまとめた。なお、試験管内試験に関する 2 文献、甲状腺への影響に関する 7 文献、生殖への影響に関する 5 文献が新たに得られており、今後、信頼性評価を実施する。	作用に関する 9 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 7 件についてまとめた。なお、甲状腺腫瘍に関する 2 文献が新たに得られており、今後、信頼性評価を実施する。	作用に関する 44 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 38 件についてまとめた。なお、試験管内試験に関する 12 文献、生殖への影響に関する 12 文献、神経毒性に関する 1 文献、生態影響に関する 1 文献が新たに得られており、今後、信頼性評価を実施する。	作用に関する 10 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 8 件についてまとめた。

物質名	4-ニトロトルエン	フタル酸ジペンチル	フタル酸ジヘキシル	フタル酸ジプロピル
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINE および TOXLINE を利用して、各検討物質毎に検索を行い、専門家により文献要旨の作成および信頼性評価を行った。			
検索性数	9	13	11	5
実施状況	作用に関する 6 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 4 件についてまとめた。	作用に関する 9 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 8 件についてまとめた。	作用に関する 9 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 9 件についてまとめた。	作用に関する 4 文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた 4 件についてまとめた。

2. ペンタクロロフェノールの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ペンタクロロフェノールの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無、生殖毒性に関連した作用の有無、甲状腺等への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Tran らによって、ペンタクロロフェノール(純度 99%)について、ヒトプロゲステロン受容体遺伝子を組み込んだ酵母での β ガラクトシダーゼレポーター遺伝子の発現についての検討¹⁾が行われている。ペンタクロロフェノールは、 $1\mu\text{M}$ の濃度においてヒトプロゲステロン受容体との結合性は認められなかったが、 $0.1\sim 3\mu\text{M}$ の濃度において 10nM のプロゲステロンと同時投与した場合、プロゲステロンとヒトプロゲステロン受容体との結合を抑制し、その IC_{50} 値は $1\mu\text{M}$ であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖毒性

Beard らによって、ペンタクロロフェノール 1mg/kg/day を出産3週間前から出産8週間後まで連続混餌投与された雌ミンクへの影響²⁾が検討されている。その結果として、対照群と比較して二回目の交尾率・出産率の低値、子宮粘膜の胞状子宮腺の増加が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺等への影響

Jekat らによって、ペンタクロロフェノール(Pure grade) 3 、 30mg/kg/day を28日間連続経口投与された雌Wistarラットへの影響³⁾が検討されている。その結果として、 3mg/kg/day 以上の投与群において対照群と比較して血清中甲状腺ホルモン(T_3 と T_4)値・ T_4/T_3 値及び甲状腺刺激ホルモン値の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

McConnell らによって、ペンタクロロフェノール(Reagent grade) 15mg/kg/day を22週間連続混餌投与された当歳雌ホルスタイン牛への影響⁴⁾が検討されている。その結果として、対照群と比較して血清中甲状腺ホルモン(T_3 と T_4)値の低値が認められ、肝において混合機能オキシダーゼの誘導が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 生態影響

Nagler らによって、ペンタクロロフェノール(純度 99%) 0.04 、 11.5 、 21.8 、

48.7 µg/L に 18 日間曝露された雌ニジマス類への影響⁵⁾が検討されている。その結果として、21.8 µg/L 以上の曝露群において対照群と比較して第 2 期卵細胞に縮退卵胞が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Blaise らによって、ペンタクロロフェノール 0.1、0.6、1.4nmole/g を後閉殻筋に注射された雌オオノガイ類（二枚貝）への影響⁶⁾が検討されている。その結果として、0.6nmole/g 以上の投与群において対照群と比較して血リンパ液中ビテロジェニン様蛋白質値の上昇が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・ペンタクロロフェノールのエストロジェン様作用については、試験管内試験においてヒトプロゲステロン受容体とプロゲステロンとの結合を抑制したとする信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において交尾率・出産率の低値、子宮粘膜の胞状子宮腺の増加、血清中甲状腺ホルモン(T3 と T4)値・T4/T3 値及び甲状腺刺激ホルモン値の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・生態影響において第 2 期卵細胞に縮退卵胞または、血リンパ液中ビテロジェニン様蛋白質値の上昇が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である甲状腺への影響、生殖への影響及び生態影響が認められていることからペンタクロロフェノールをリスク評価の対象物質とする。

参考文献

- 1) 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. Biochemical and Biophysical Research Communications,229,518-523.
- 2)Beard,A.P.,McRae,A.C. and Rawlings,N.C.(1997)Reproductive efficiency in mink (*Mustela vison*) treated with the pesticides lindane, carbofuran and pentachlorophenol. Journal of Reproduction and Fertility, 111,21-28.
- 3)Jekat,F.W.,Meisel,M.L.,Eckard,R. and Winterhoff,H.(1994)Effects of pentachlorophenol(PCP) on the pituitary and thyroidal hormone regulation in the rat. Toxicology Letters,71,9-25.
- 4)McConnell,E.E.,Moore,J.A.,Gupta,B.N.,Rakes,A.H.,Luster,M.I.,Goldstein,J.A. Haseman,J.K. and Parker,C.E.(1980)The chronic toxicity of technical and

analytical pentachlorophenol in cattle. .Clinicopathology. Toxicology and Applied Pharmacology ,52,468-490.

- 5)Nagler,J.J.,Aysola,P. and Ruby,S.M.(1986)Effects of sublethal pentachlorophenol on early oogenesis in maturing female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Arch.Environ. Contam.Toxicol.,15,549-555.
- 6)Blaise,C.,Gagne,F.,Pellerin,J. and Hansen,P.D.(1999)Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph(Saguenay Fjord, Canada): A potential biomarker for endocrine disruption. Environmental Toxicology,14,5,455-465.

3. アミトロールの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

アミトロールの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、生殖毒性に関連した作用の有無及び甲状腺等への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 生殖毒性

Tjalve によって、アミトロール(アミノトリアゾール)500、1,000、2,500、5,000ppm を含む飲水を妊娠 6 から 18 日まで連続投与された雌 NMRI マウスへの影響¹⁾が検討されている。その結果として、1,000ppm 以上の投与群において、対照群と比較して体重増加の抑制、胎児体重の低値、胎児の骨格形成の未熟が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 甲状腺等への影響

Gaines らによって、アミトロール 25、100、500、1,000ppm を含む餌を 2 世代に渡って混餌投与された Sherman ラットへの影響²⁾が検討されている。その結果として、25ppm 以上の投与群の F_0 及び F_1 世代において甲状腺腫、濾胞細胞の小型化、上皮細胞の変形、肝・腎・脾臓重量の低値、500ppm 以上の投与群の F_1 世代において離乳後の生残率、体重の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Strum と Karnovsky によって、アミトロール(アミノトリアゾール)0.04%を含む飲水を 9 週間投与された雄 SD ラットへの影響³⁾が検討されている。その結果として、甲状腺腫、甲状腺組織重量・甲状腺血管質の増加が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Tsuda らによって、アミトロール 2,500ppm を含む飲水を 70 週間投与された雌 Wistar ラットへの影響⁴⁾が検討されている。その結果として、甲状腺の病変(組織へ浸潤または非定型性乳頭腺腫小結節)が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Wayford-Thomas らによって、アミトロール(アミノトリアゾール)0.1%を含む飲水を 153 日間投与された雄 Wistar ラットへの影響^{5,6)}が検討されている。その結果として、血清中甲状腺刺激ホルモン量、甲状腺重量、甲状腺上皮細胞・血管の総体積の増加、甲状腺細胞組織の体積比率の変化(上皮細胞と血管の体積比率の増加、濾胞細胞コロイドと血管外間質の体積比率の減少)が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Steinhoff らによって、アミトロール 1、10、100ppm を含む餌を全生涯

に渡って混餌投与された 6 週齢 Wistar ラット、NMRI マウス及びゴールデンハムスターへの影響⁷⁾が検討されている。その結果として、100ppm 投与群のゴールデンハムスターの雌雄において体重及び生存期間の減少、ラットの雌雄において甲状腺重量及び甲状腺へのヨウ素蓄積量の高値、雌において甲状腺及び下垂体腫瘍の増加、マウスの雄において甲状腺重量の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・動物実験において体重増加の抑制、生存期間の短縮、胎児体重の低値、胎児の骨格形成の未熟、離乳後の生残率・体重の低値、下垂体腫瘍、甲状腺腫、甲状腺の病変、甲状腺組織の変性、血清中甲状腺刺激ホルモン量・甲状腺重量・甲状腺上皮細胞及び血管質の総体積・甲状腺へのヨウ素蓄積量の高値、甲状腺細胞組織の体積比率の変化が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である甲状腺等への影響及び生殖への影響が認められていることからアミトロールをリスク評価の対象物質とする。

なお、エストロゲン様作用等については、今後、試験管内試験を行い、作用の有無について確認を行うことが必要である。

参考文献

- 1) Tjalve, H. (1974) Fetal uptake and embryogenetic effects of aminotriazole in mice. Arch. Toxicol., 33, 41-48.
- 2) Gaines, T.B., Kimbrough, R.D. and Linder, R.E. (1973) The toxicity of amitrole in the rat. Toxicology and Applied Pharmacology, 26, 118-129.
- 3) Strum, J.M. and Karnovsky, M.J. (1971) Aminotriazole goiter. Fine structure and localization of thyroid peroxidase activity. Laboratory Investigation, 24, 1, 1-12.
- 4) Tsuda, H., Hananouchi, M., Tatematsu, M., Hirose, M., Hirao, K., Takahashi, M. and Ito, N. (1976) Tumorigenic effect of 3-amino-1*H*-1,2,4-triazole on rat thyroid. J. Natl. Cancer Inst., 57, 4, 861-864.
- 5) Wynford-Thomas, D., Stringer, B.M.J. and Williams, E.D. (1982) Goitrogen-induced thyroid growth in the rat: A quantitative morphometric study. J. Endoc. 94, 131-140.
- 6) Wynford-Thomas, D., Stringer, B.M.J. Morales, M.G. and Williams, E.D. (1982) Vascular changes in early TSH-induced thyroid tumours in the rat. Br. J. Cancer, 47, 6, 861-865.

7)Steinhoff,D.,Weber,H.,Mohr,U. and Boehme,K.(1983)Evaluation of amitrole (Aminotriazole) for potential carcinogenicity in orally dosed rats, mice, and golden hamsters. *Toxicology and Applied Pharmacology*,69,161-169.

4．ビスフェノールAの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ビスフェノールAの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無、アンドロゲン様作用の有無、生殖毒性に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Blair らによって、ビスフェノールAについて、ラット子宮由来エストロゲン受容体と 17β -エストラジオールとの結合阻害について検討¹⁾されている。ビスフェノールAの結合阻害の IC_{50} 値は $1.17 \times 10^{-5}M$ であった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Lutz と Kloas によって、ビスフェノールAについて、アフリカツメガエル肝エストロゲン受容体との結合阻害についての検討²⁾が行われている。ビスフェノールAは、 $10^{-3}M$ の濃度において 17β -エストラジオールとアフリカツメガエル肝エストロゲン受容体との結合と完全に競合した。その IC_{50} 値は、 $3.0198 \times 10^{-5}M$ であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Legler らによって、ビスフェノールAについて、ヒト乳がん細胞 T47D を用いたエストロゲン受容体結合活性の検討³⁾が行われている。その結果として、結合活性が認められ、その EC_{50} 値は 770nM で、 17β -エストラジオールの活性の 1/130,000 であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Nagel らによって、ビスフェノールAについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いたエストロゲン受容体結合活性の検討^{4,5)}が行われている。その結果として、結合活性が認められ、その EC_{50} 値は $8.57 \times 10^{-6}M$ であった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Jorgensen らによって、ビスフェノールAについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた内因性エストロゲン制御遺伝子である pS2、 $\alpha 1$ -ACT、MAO-A、TGF- $\beta 3$ 遺伝子の発現について検討⁶⁾されている。その結果として、pS2 は $10^{-7} \sim 10^{-6}M$ の濃度で、 $\alpha 1$ -ACT は $10^{-7} \sim 10^{-5}M$ の濃度で mRNA 発現の増大が認められ、MAO-A および TGF- $\beta 3$ は $10^{-7} \sim 10^{-6}M$ の濃度で mRNA 発現の減少が認められた。これは 17β -エストラジオールの活性の 1/100,000 ~ 1/1,000,000 であった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Hiroi らによって、ビスフェノールAについて、ヒトエストロゲン受容体(hER) α 及び β 受容体の cDNA を組み込んだ HeLa 細胞を用いた転写活性

の検討⁷⁾が行われている。その結果として、ビスフェノールAの転写活性は、hER α 及びhER β 共に 10^{-9} ~ 10^{-6} Mの濃度で認められ、17 β -エストラジオール¹⁾の活性の0.001であった。また、17 β -エストラジオールとの結合阻害試験では、ビスフェノールAがhER α のアゴニストであること及びhER β のアゴニストではないことが示された。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Takaiらによって、ビスフェノールAについて、5~7週齢のB6C3F1マウスの2細胞期胚への影響について検討⁸⁾されている。その結果として、1nM及び3nMの濃度では、24時間後に8細胞期まで発達した細胞数及び48時間後に胚盤胞期まで発達した細胞数が高値であった。100 μ Mでは24時間後に8細胞期まで発達した細胞数には差が認められなかったが、48時間後に胚盤胞後期まで発達した細胞数は低値であった。このことから低容量でもエストロゲン受容体を介して初期胚発生に影響することが示唆されている。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Steinmetzらによって、ビスフェノールAについて、ラット脳下垂体細胞GH3を用いたプロラクチン放出に関する検討⁹⁾が行われている。その結果として、1nMの濃度でプロラクチン遺伝子発現量が高値であった。また、10~1,000nMの濃度で脳下垂体細胞からのプロラクチン放出が認められた。さらに、ビスフェノールA 40~45 μ g/dayを3日間皮下投与された卵巣除去Fischer344ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清プロラクチン濃度が高値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gaidoらによって、ビスフェノールAについて、組み替え酵母を用いたエストロゲン受容体結合活性の検討¹⁰⁾が行われている。その結果として、結合活性が認められ、そのEC₅₀値は 3.40×10^{-6} Mであり、17 β -エストラジオール¹⁾の活性の1/15,000であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Coldhamらによって、ビスフェノールAについて、組み替え酵母を用いたエストロゲン受容体結合活性の検討¹¹⁾が行われている。その結果として、結合活性が認められ、その活性は17 β -エストラジオール¹⁾の活性の1/20,000であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Sheelerらによって、ビスフェノールAについて、組換え酵母試験による転写活性の検討¹²⁾が行われている。その結果として、 3×10^{-8} ~ 3×10^{-6} Mの濃度で転写活性を示し、ヒトエストロゲン受容体のアゴニストであることが示されたが、その反応は弱く17 β -エストラジオール¹⁾の活性の

1/10,000 ~ 1/1,000 であった。また、1nM の 17 β -エストラジオールに対する結合阻害試験では 3×10^{-8} ~ 3×10^{-5} M の濃度で阻害反応を示し、ビスフェノールAの作用がエストロゲン受容体を介していることが示された。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Islinger らによって、ビスフェノールAについて、ニジマス培養肝細胞のエストロゲン感受性遺伝子の発現について検討¹³⁾されている。ビスフェノールAは、96 時間曝露区では濃度 1 μ M で、48 時間曝露区では濃度 10 μ M で、ビテロジェニン mRNA 発現を誘導した。この誘導活性は、17 β -エストラジオールの 1/2,000 ~ 1/3,000 に相当した。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Hansen らによって、ビスフェノールAについて、雄のニジマス肝細胞におけるビテロジェニン誘導に関して検討¹⁴⁾されている。その結果として、ビスフェノールAの最低作用濃度 LOEC は 25 μ g/L であった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Smeets らによって、ビスフェノールAについて、コイ肝培養細胞を用いたビテロジェニン誘導活性に関して検討¹⁵⁾されている。その結果として、50 ~ 100 μ M で誘導活性が認められ、17 β -エストラジオールの活性の 1/10,000 であった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Goloubkova らによって、ビスフェノールA 11、78、128、250mg/kg/day を 7 日間連続皮下投与された卵巣摘出 74-81 日齢雌 Wister ラットへの影響が検討¹⁶⁾されている。その結果として、11mg/kg/day 以上の投与群において子宮重量の高値、128mg/kg/day 以上の投与群において下垂体重量・血清中プロラクチン値の高値、250mg/kg/day 投与群において体重及び体重増加率の低値、脳下垂体前葉プロラクチン免疫陽性細胞数の高値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Diel らによって、ビスフェノールA 5、50、200mg/kg/day を 3 日間経口投与された卵巣摘出雌 DA/Ham ラットへの影響¹⁷⁾が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 投与群において、子宮重量・C3 補体発現量の高値、アンドロゲン受容体・エストロゲン受容体及びプロゲステロン受容体の発現量の低値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Milligan らによって、ビスフェノールA について、 10^{-7} ~ 10^{-3} M を皮下投与された卵巣摘除 SA マウスへの影響¹⁸⁾が検討されている。その結果として、 10^{-5} M 以上の投与群において、標識血清アルブミンを指標とした子宮の血管透過性の亢進が認められた。この試験結果については、文献上か

らみて信頼性が認められた。

(2) アンドロジェン様作用

Gupta によって、ビスフェノール A 5.0、50.0pg/mL を添加した妊娠 17 日目の CD-1 マウス胎児由来の培養前立腺への影響及びビスフェノール A 50.0pg/mL を添加した妊娠 17 日目の CD-1 マウス胎児由来の培養前立腺細胞への影響¹⁹⁾が検討されている。その結果として、50.0pg/mL 添加群において、テストステロンの共存の有無に係わらず、培養前立腺が対照群と比較して大きくなり、また、培養前立腺細胞のアンドロジェンレセプターとミボレロン（合成アナボリックステロイド）との結合活性の上昇が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 生殖毒性

Nagel ら⁴⁾及び vom Saal ら²⁰⁾によって、ビスフェノール A 2、20 µg/kg/day を妊娠 11-17 日に連続経口投与された CF-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、2 µg/kg/day 以上の投与群において雄児動物の前立腺重量の高値、1 日当たりの精子生産量、精巣重量当たりの 1 日精子生産量、精囊・精巣上体・下垂体の重量と体重の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ashby らによって、ビスフェノール A 2、20 µg/kg/day を交尾後 11~17 日に経口投与された CF-1 マウスへの影響が検討²¹⁾されている。その結果として、2 µg/kg/day 以上の投与群において雄児動物の体重が高値であった。20 µg/kg/day 投与群において雄児動物の精巣上体重量が高値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Howdeshell らによって、ビスフェノール A 2.4 µg/kg/day を妊娠 11-17 日の 7 日間に連続経口投与されたマウスへの影響が検討^{22,23)}されている。その結果として、出生児の離乳までの生存率は低値であった。また児動物の離乳時体重の低値、膣開口日から最初の発情日までの期間の延長が認められたが、子宮内の配置で両隣が雄であった雌児動物については有意な差は認められなかった。離乳期（生後 22 日目）の OM（胎内で雌マウスのみと隣り合っている）及び 1M（胎内で 1 匹の雄と隣り合っている）の雌児動物の体重が高値であった。また、膣開口日から最初の発情期までの時間が明らかに短縮され、特に OM で顕著であった。これらの試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Cagen らによって、ビスフェノール A 0.2、2、20、200 µg/kg/day を妊娠 11~17 日に経口投与された CF-1 マウスへの影響が検討²⁴⁾されている。その結果として、20 µg/kg/day 以上の投与群において生後 90 日までの雄児動物の体重が高値であったが、生殖器への影響は認められなかった。こ

の試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gupta によって、ビスフェノール A 50mg/kg/day を妊娠 16～18 日目に混餌投与された雌 CD-1 マウスに対する影響¹⁹⁾が検討されている。その結果として、雄児動物の肛門生殖器間距離と前立腺重量の高値、精巢上体重量の低値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、ビスフェノール A 50、100、200、400mg/kg を 3 日間経口投与された 21 日齢 Long-Evans ラットへの影響が検討²⁵⁾されている。その結果として、200mg/kg 以上の投与群において子宮重量の高値が認められた。200mg/kg を 3 日間皮下投与した場合も子宮重量は高値であった。また、ビスフェノール A 100mg/kg を 25 日間皮下投与された 60 日齢 Long-Evans ラットへの影響も検討されており、投与期間中の性周期サイクル数が低値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Mehmood らによって、ビスフェノール A 0.01、0.1、1、10、100、1,000mg/kg を 3 日間経口投与された 21 日齢雌 CD-1 マウスへの影響が検討²⁶⁾されている。その結果として、1,000mg/kg 投与群において子宮ペルオキシダーゼ活性（過酸化水素還元酵素活性）が高値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ashby と Lefevre によって、ビスフェノール A 100、150、200mg/kg/day を 14 日間連続経口投与された 22～23 日齢雄 APfSD ラット及び 14 または 20 日間連続経口投与された 35～36 日齢去勢雄 APfSD ラットへの影響が検討²⁷⁾されている。その結果として、精巢・精巢上体・精囊・前立腺・肝・腎の重量及び体重について対照群との差は認められなかった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Takao らによって、ビスフェノール A を 0.5、50 µg/mL を含む飲水を 4 週間または 8 週間連続経口投与された 5 週齢雄 C57BL/6 マウスへの影響が検討²⁸⁾されている。その結果として、8 週間投与された 50 µg/mL 投与群において血漿遊離テストステロン濃度の低値と輸精管に 3 核以上の多核巨大細胞の出現が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Morrissey らによって、ビスフェノール A 0.25、0.50、1.00 %を含む餌を交配 7 日前から 126 日間混餌投与された雌雄 CD-1 マウスへの影響が検討²⁹⁾されている。投与量はそれぞれ 470、900、1,880mg/kg/day であった。その結果として、0.50 %以上の投与群において、対照群と比較して出産数、生存児数の低値、生存児体重の高値が認められた。1.00%投与群の雌雄と

対照群の雌雄を交配させ、さらに3週間 1.00%投与を継続したところ、投与された雄と未投与の雌を交配させた群の生存児数の低値、投与された雌と未投与の雄を交配させた群の生存児数の低値、生存児体重の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Cagen らによって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1.0、10ppm を交配前（2週間）、妊娠中（21～22日間）、授乳中（22日間）に飲水投与された Han-Wistar albino ラットへの影響が検討³⁰⁾されている。その結果として、妊娠、出産、胎児生存率及び雄児動物の生殖器への影響は認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Papaconstantinou らによって、ビスフェノールA 0.02、0.2、0.8、2、8 mg/day を4日間皮下投与された雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討³¹⁾されている。その結果として、0.8mg/kg 以上の投与群において子宮重量が高値であり、EC₅₀ 値は0.72mg/day であった。2 mg/day 以上の投与群において子宮腔上皮細胞厚、子宮基底層厚及び子宮筋層厚が高値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Fisher らによって、ビスフェノールA 37mg/kg/day を2～12日齢に連続皮下投与された雄 Wistar ラットへの影響が検討³²⁾されている。その結果として、投与後18、25日目において輸精管上皮細胞厚の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Steinmetz らによって、ビスフェノールA 18.75、37.5、75、150、200mg/kg を腹腔内投与された雌 F344 ラット（エストロジェン感受性）及び約0.3mg/kg/day を3日間皮下投与された雌 F344 ラット（エストロジェン感受性）及び雌SDラット（いずれも卵巣除去）への影響が検討³³⁾されている。その結果として、腹腔内投与された雌 F344 ラットでは、生殖器における細胞分裂の促進が認められ、37.5mg/kg 以上の投与群で子宮細胞と腔上皮細胞の増殖が高値であった。50mg/kg 以上の投与群で子宮及び腔での *c-fos* mRNA 発現量が高値であった。また、皮下投与された F344 雌ラットで子宮上皮細胞厚と重量が高値であった。さらに、腔細胞の顕微鏡観察から、上皮細胞厚の増加、上皮の角質化、表面細胞の脱落の促進が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

（4）生態影響

Lidholm らによって、ビスフェノールA 10、40、70、100、500 µg/L に12日間曝露されたニジマス未成魚への影響が検討³⁴⁾されている。その結果として、500 µg/L 曝露群において血中ビテロジェニン量が増加した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Yokota らによって、ビスフェノールA 3.2、16、80、400、2,000 µg/L

に孵化から 60 日間曝露されたメダカ稚魚への影響が検討³⁵⁾されている。その結果として、2,000 µg/L 曝露群において精巢卵が形成された。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Christiansen らは、ビスフェノール A 50mg/kg を投与開始 0、6、12 日目に腹腔投与された幼若ニジマスへの影響が検討³⁶⁾されている。その結果として、投与開始 18 日目の血漿中ビテロジェニン値が高値であった。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Christiansen らによって、ビスフェノール A 50mg/kg を腹腔内投与された幼若ニジマスへの影響が検討³⁷⁾されている。その結果として、体重に対する相対肝重量比と血漿中ビテロジェニン値が高値であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Casper によって、ビスフェノール A 316、3,160 µg/L に 21 日間曝露されたオオミジンコへの影響が検討³⁸⁾されている。その結果として、生殖、脱皮に影響は認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・ビスフェノール A のエストロジェン様作用については、試験管内試験においてラット子宮エストロジェン受容体及びアフリカツメガエル肝エストロジェン受容体と 17β-エストラジオールとの結合阻害、ヒト乳ガン細胞 T47D 並びに MCF-7 及び組み替え酵母を用いたエストロジェン受容体との結合、MCF-7 及び雄ニジマス肝細胞を用いた内因性エストロジェン制御遺伝子の発現、組み替え酵母及びヒトエストロジェン受容体遺伝子を組み込んだ HeLa 細胞を用いた転写活性、ラット脳下垂体細胞 GH3 を用いたプロラクチン遺伝子発現量の増加とプロラクチンの放出、コイ肝細胞を用いたビテロジェニン誘導活性等を示したとする信頼性のある報告が得られた。また、卵巣摘出ラットまたはマウスへの影響については、子宮及び下垂体重量・血清中プロラクチン値・C3 補体発現量・脳下垂体前葉プロラクチン免疫陽性細胞数の高値、体重及び体重増加率・アンドロジェン受容体・エストロジェン受容体及びプロゲステロン受容体の発現量の低値、子宮の血管透過性の亢進が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・アンドロジェン様作用については、試験管内試験において培養前立腺の成長促進及び培養前立腺細胞のアンドロジェンレセプターとミボレロン(合成アナボリックステロイド)との結合活性の上昇が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において雌で子宮重量・子宮腔上皮細胞厚・子宮基底層厚・子宮筋層

厚・子宮ペルオキシダーゼ活性・子宮及び膣での *c-fos* mRNA 発現量の高値、性周期サイクル数・出産数の低値、子宮細胞と膣上皮細胞の増殖、膣上皮の角質化、膣表面細胞の脱落の促進、雄で血漿遊離テストステロン濃度・輸精管上皮細胞厚の低値と輸精管に3核以上の多核巨大細胞の出現、児動物で前立腺・離乳期（生後22日目）の0M（胎内で雌マウスのみと隣り合っているもの）及び1M（胎内で1匹の雄と隣り合っているもの）の雌児動物の体重の高値、生存児数・1日当たりの精子生産量・精巣重量当たりの1日精子生産量・精嚢重量・下垂体重量、出生児の離乳までの生存率、離乳時体重の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。児動物の体重、精巣上体重量及び膣開口日から最初の発情日までの期間については、高値または低値となった信頼性のある報告が得られた。しかし、妊娠、出産、胎児生存率及び雄児動物生殖器への影響は認められなかったとする信頼性のある報告も得られている。

- ・生態影響において血中ビテロジェニン量の増加、精巣卵の形成が認められたとする信頼性のある報告が得られた一方、生殖に影響は認められなかったとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、生殖への影響及び生態影響に関し、相反する報告が得られていることからビスフェノールAをリスク評価の対象物質とする。

参考文献

- 1)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. *Toxicological Sciences*, 54, 138-153.
- 2)Lutz,I. and Kloas,W.(1999)Amphibians as a model to study endocrine disruptors: .Environmental pollution and estrogen receptor binding. *The Science of the Total Environment*,225,49-57.
- 3) Legler, J., van den Brink, C.E., Brouwer,A.,Murk,A.J., van der Saag,P.T.,Vethaak, A.D. and van der Burg, B. (1999) Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicological Sciences*, 48, 55-66.
- 4)Nagel, S. C., vom Saal, F. S., Thayer, K. A., Dhar, M. G., Boechler, M. and Welshons, W. V. (1997) Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative *in vivo* bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environmental Health Perspectives*, 105,1,70-76.
- 5)Nagel S. C., vom Saal, F. S., and Welshons, W. V. (1999) Developmental effects of

- estrogenic chemicals are predicted by an *in vitro* assay incorporating modification of cell uptake by serum. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 69, 343-357.
- 6)Jorgensen,M., Vendelbo,B., Skakkebaek,N.E. and Leffers H. (2000) Assaying estrogenicity by quantitating the expression levels of endogenous estrogen-regulated genes. Environmental Health Perspective,108,5,403-412.
 - 7)Hiroi,H., Tsutsumi,O., Momoeda,M., Takai,Y., Osuga,Y., and Taketani,Y. (1999) Differential interactions of bisphenol A and 17 β -estradiol with estrogen receptor α (ER α) and ER β . Endocrine Journal, 46,6, 773-778.
 - 8)Takai,Y., Tsutsumi,O., Ikezuki,Y., Hiroi,H., Osuga,Y., Momoeda,M., Yano,T. and Taketani,Y. (2000) Estrogen receptor-mediated effects of a xenoestrogen, bisphenol A, on preimplantation mouse embryos. Biochemical and Biophysical Research Communications. 270, 918-921.
 - 9)Steinmetz,R.,Brown,N.G.,Allen,D.L.,Bigsby,R.M. and Ben-Jonathan,N.(1997) The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *in vivo*.Endocrinology,138,5,1780-1786.
 - 10)Gaido, K. W., Lenard, L. S., Lovell, S., Gould, J. C., Babai, D., Portier, C. J. and McDonnell, D. P. (1997) Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. Toxicology and Applied Pharmacology, 143, 205-212.
 - 11)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. Environmental Health Perspectives, 105, 7,734-742.
 - 12)Sheeler,C.Q., Dudley,M.W. and Khan, S.A. (2000) Environmental estrogens induce transcriptionally active estrogen receptor dimers in yeast: Activity potentiated by the coactivator RIP 140. Environmental Health Perspective, 108, 2,97-103.
 - 13)Islinger, M., Pawlowski, S., Hollert, H., Volkl. A. and Braubeck, T. (1999) Measurement of vitellogenin-mRNA expression in primary cultures of rainbow trout hepatocytes in a non-radioactive dot blot/RNase protection-assay. The Science of the Total Environment, 233, 109-122.
 - 14)Hansen,P.-D.,Dizer,H., Hock,B., Marx,A., Sherry,J., McMaster,M. and Blaise,C. (1998) Vitellogenin-A biomarker for endocrine disruptors. Trends in Analytical Chemistry, 17, 7,448-451.
 - 15)Smeets,J.M.W., van Holsteijn,I., Giesy,J.P., Seinen,W. and van den Berg,M.(1999) Estrogenic potencies of several environmental pollutants, as determined by vitellogenin induction in a carp hepatocyte assay.

Toxicological. Sciences. 50.206-213

- 16) Goloubkova, T., Ribeiro, M.F.M., Rodrigues, L.P., Cecconello, A.L. and Spritzer, P.M. (2000) Effects of xenoestrogen bisphenol A on uterine and pituitary weight, serum prolactin levels and immunoreactive prolactin cell in ovariectomized Wistar rats. Arch. Toxicol. 74, 92-98.
- 17) Diel, P., Schulz, T., Smolnikar, K., Strunc, E., Vollmer, G. and Michna, H. (2000) Ability of xeno- and phytoestrogens to modulate expression of estrogen-sensitive genes in rat uterus: Estrogenicity profiles and uterotrophic activity. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 73, 1-10.
- 18) Milligan, S. R., Balasubramanian, A. V. and Kalita, J. C. (1998) Relative potency of xenobiotic estrogens in an acute *in vivo* mammalian assay. Environmental Health Perspective, 106, 1, 23-26.
- 19) Gupta, C. (2000) Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. Proceeding Society Experimental Biological Medicine, 224, 61-68.
- 20) Vom Saal, F. S., Cooke, P. S., Buchanan, D. L., Palanza, P., Thayer, K. A., Nagel, S. C., Parmigiani, S. and Welshons, W. V. (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. Toxicology and Industrial Health, 14, 1/2, 239-260.
- 21) Ashby, J., Tinwell, H. and Haseman, J. (1999) Lack of effects for low dose levels of bisphenol A and diethylstilbestrol on the prostate gland of CF1 mice exposed *in utero*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 30, 156-166.
- 22) Howdeshell, K. L. and vom Saal, F. S. (2000) Developmental exposure to bisphenol A: Interaction with endogenous estradiol during pregnancy in mice. Amer. Zool. 40, 429-437
- 23) Howdeshell, K. L., Hotchkiss, A. K., Thayer, K. A., Vandenbergh, J. G. and vom Saal, F. S. (1999) Exposure to bisphenol A advances puberty. Nature, 401, 763-764.
- 24) Cagen, S. Z., Waechter, Jr., J. M., Dimond, S. S., Breslin, W. J., Butala, J. H., Jekat, F. W., Joiner, R. L., Shiotsuka, R. N., Veenstra, G. E. and Harris, L. R. (1999) Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. Toxicological Sciences, 50, 36-44.
- 25) Laws, S. C., Carey, S. A., Ferrel, J. M., Bodman, G. J. and Cooper, R. L. (2000) Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. Toxicological Sciences, 54, 154-167.
- 26) Mehmood, Z., Smith, A. G., Tucker, M. J., Chuzel, F. and Carmichael, N. G. (2000)

- The development of methods for assessing the *in vivo* oestrogen-like effects of xenobiotics in CD-1 mice. Food and Chemical Toxicology,38,493-501.
- 27)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, oestrogen and metabolic modulators. Journal of Applied Toxicology, 20, 35-47.
 - 28)Takao,T., Nanamiya,W.,Nagano,I.,Asaba,K.,Kawabata,K. and Hashimoto,K.(1999) Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. Life Sciences, 65, 22,2351-2357.
 - 29)Morrissey,R.E.,Lamb ,J.C.,Morris,R.W.,Chapin,R.E.,Gulati,D.K. and Heindel,J.J.(1989)Results and evaluations of 48 continuous breeding reproduction studies conducted in mice. Fundamental and Applied Toxicology, 13,747-777.
 - 30)Cagen,S.Z.,Waechter,Jr,J.M.,Dimond,S.S.,Breslin,W.J.,Butala,J.H.,Jekat,F.W., Joiner,R.L.,Shiotsuka,R.N.,Veenstra,G.E. and Harris,L.R.(1999) Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. Regulatory Toxicology and Pharmacology,30,130-139.
 - 31)Papaconstantinou,A.D.,Umbreit,T.H.,Fisher,B.R.,Goering,P.L.,Lappas,N.T. and Brown,K.M.(2000)Bisphenol A-Induced increase in uterine weight and alterations in uterine morphology in ovariectomized B6C3F1 mice: Role of the estrogen receptor. Toxicological Sciences,56,332-339.
 - 32)Fisher, J. S., Turner, K. J., Brown, D. and Sharpe, R. M. (1999) Effect of neonatal exposure to estrogenic compounds on development of the excurrent ducts of the rat testis through puberty to adulthood. Environmental Health Perspectives, 107, 5,397-405.
 - 33)Steinmetz,R.,Mitchner,N.A.,Grant,A.,Allen,D.L.,Bigsby,R.M. and Ben-Jonathan,N.(1998)The xenoestrogen bisphenol A induces growth, differentiation, and *c-fos* gene expression in the female reproductive tract. Endocrinology,139,6,2741-2747.
 - 34)Lindholst,C.,Pedersen,K.L. and Pedersen,S.N.(2000)Estrogenic response of bisphenol A in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 48,87-94.
 - 35)Yokota,H.,Tsuruda,Y.,Maeda,M.,Oshima,Y.,Tadokoro,H.,Nakazono,A.,Honjo,T. and Kobayashi,K.(2000)Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka(*Oryzias latipes*). Environmental Toxicology and Chemistry,19,7, 1925-1930.
 - 36)Christiansen, L. B., Pederson, K. L., Pederson, S. N., Korsgaard, B. and

- Bjerregaard, P., (2000) *In vivo* comparison of xenoestrogens using rainbow trout vitellogenin induction as a screening system. Environmental Toxicology and Chemistry, 19, 7,1867-1874.
- 37)Christiansen,L.B.,Pedersen,K.L.,Korsgaard,B. and Bjerregaard,P.(1998)
Estrogenicity of xenobiotics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using
in vivo synthesis of vitellogenin as a biomarker. Marine Environmental
Research,46,1-5,137-140.
- 38)Casper,N.(1998)No estrogenic effects of bisphenol A in *Daphnia magna*
STRAUS. Bull.Environ.Contam.Toxicol,61,143-148.

5. 2,4-ジクロロフェノールの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

2,4-ジクロロフェノールの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無、生殖毒性に関連した作用の有無、免疫毒性に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Jobling らによって、2,4-ジクロロフェノールについて、ニジマス肝臓エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合阻害およびヒト乳がん細胞 ZR-75 の増殖についての検討¹⁾が行われている。2,4-ジクロロフェノールは、 $10^{-5} \sim 10^{-3}$ M の濃度でエストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合を阻害したが、 10^{-5} M の濃度で ZR-75 細胞の分裂・増殖を促進せず、エストロゲン作用を有するとは判定されていない。この試験結果については文献上からみて概ね信頼性が認められた。

Tran らによって、2,4-ジクロロフェノールについて、ヒトプロゲステロン受容体遺伝子を組み込んだ酵母での β ガラクトシダーゼレポーター遺伝子の発現についての検討²⁾が行われている。2,4-ジクロロフェノールは、 $1 \mu\text{M}$ の濃度においてヒトプロゲステロン受容体との結合性は認められず、また、 10nM のプロゲステロンと同時投与した場合、結合活性の抑制は全く認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Jones らによって、2,4-ジクロロフェノールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖についての検討³⁾が行われている。2,4-ジクロロフェノールは、 10^{-4}M の濃度において MCF-7 細胞の分裂・増殖を促進した。MCF-7 細胞は溶媒であるエタノールのようなエストロゲン受容体を介さずに作用する物質によっても増殖することから、この結果を持って直ちに 2,4-ジクロロフェノールがエストロゲン様作用を示すとは言えず、動物試験による確認が必要であるとしている。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Korner らによって、2,4-ジクロロフェノールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖についての検討⁴⁾が行われている。2,4-ジクロロフェノールは、 10^{-4}M までの濃度において MCF-7 細胞の分裂・増殖を促進しなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖毒性

Exon と Koller によって、2,4-ジクロロフェノール 3、30、300ppm を含む飲水を 3 週齢から出産まで連続投与された雌 SD ラットへの影響⁵⁾が検

討されている。その結果として、300ppm 投与群において対照群と比較して出産児数の低値、新生児の肝・脾臓重量の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Rodwell らによって、2,4-ジクロロフェノール 200、375、750mg/kg/day を妊娠 6 ~ 15 日の 10 日間経口投与された雌 Fischer 344 ラットへの影響⁶⁾が検討されている。その結果として、750mg/kg/day 投与群において対照群と比較して体重増加の抑制、34 匹中 4 匹の死亡が認められたが、妊娠及び出産にはいずれの投与量においても影響が認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 免疫毒性

Exon と Koller によって、2,4-ジクロロフェノール 3、30、300ppm を含む飲水を 3 週齢から出産まで連続投与された雌 SD ラットから得られた児動物に離乳後から 15 週間飲水投与された影響⁵⁾が検討されている。その結果として、30ppm 以上の投与群において対照群と比較して遅延型過敏反応の減退、300ppm 投与群において抗体産生能の増加、肝・脾臓重量の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Borzelleca らによって、2,4-ジクロロフェノール 0.2、0.6、2.0mg/L を含む飲水を 90 日間連続投与された CD-1 マウスへの影響⁵⁾が検討されている。投与量は、雄では 40、114、383mg/kg/day、雌では 50、143、491mg/kg/day であった。その結果として、2.0mg/L 投与群の雄で対照群と比較して白血球数の増加が認められた。雄のみの白血球増加に毒性学的な意義は考えにくく、明らかな免疫毒性は認められなかったとしている。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 生態影響

Gersich と Milazzo によって、2,4-ジクロロフェノール 400、780、1,550、3,100、6,010 $\mu\text{g/L}$ に 14 日間曝露されたオオミジンコへの影響⁸⁾が検討されている。その結果として、1,550 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において対照群と比較して産仔数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・ 2,4-ジクロロフェノールのエストロゲン様作用については、試験管内試験においてニジマス肝臓エストロゲン受容体と結合したが、続いて行った細胞増殖試験においては細胞増殖は認めなかったとする概ね信頼性のある報告が得られた。ヒトプロゲステロン受容体との結合については否定的な報告しかない。

ヒト乳ガン細胞 MCF-7 の増殖に関しては否定的な報告がある一方、Jones らがヒト乳ガン細胞 MCF-7 の増加を認めたとする報告をしている。MCF-7 細胞はエストロジェン受容体を介さずに作用する物質によっても増殖することから、この結果を持って直ちに 2,4-ジクロロフェノールがエストロジェン様作用を示すとは言えず、動物試験による確認が必要であるとしている。

- ・動物実験において出産児数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた一方、妊娠及び出産には影響が認められなかったとする信頼性のある報告が得られた。また、遅延型過敏反応の減退、抗体産生能の増加等の免疫毒性に関連した作用が認められたとする信頼性のある報告が得られた一方、明らかな免疫毒性は認められなかったとする信頼性のある報告が得られた。
- ・生態影響において産仔数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、生殖への影響及び免疫毒性に関し、相反する報告が得られていること及び生態影響は認められていることから 2,4-ジクロロフェノールをリスク評価の対象物質とする。

なお、エストロジェン様作用等については、今後、試験管内試験を行い、作用の有無について再確認を行うことが必要である。

参考文献

- 1) 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. *Environmental Health Perspective*, 103, 6, 582-587.
- 2) 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. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 229, 518-523.
- 3) 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. *Toxicology in vitro*, 12, 373-382.
- 4) Korner, W., Hanf, V., Schuller, W., Bartsch, H., Zwirner, M. and Hagenmaier, H. (1998) Validation and application of rapid *in vitro* assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37, 9-12, 2395-2407.
- 5) Exon, J.H. and Koller, L.D. (1985) Toxicity of 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, and 2,4,6-trichlorophenol. in Jolly, R.L., Bull, R.J., Davis, W.P., Katz, S., Roberts, Jr., M.H. and Jacobs, V.A., *Water Chlorination, Chemistry, Environmental impact and Health effects*, Volume 5. Lewis Publishers, Inc..

- 6) Rodwell, D.E., Wilson, R.D., Nemec, M.D. and Mercieca, M.D. (1989) Teratogenic assessment of 2,4-dichlorophenol in Fischer 344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13, 635-640.
- 7) Borzelleca, J.F., Hayes, J.R., Condie, L.W. and Egle, Jr., J.L. (1985) Acute and subchronic toxicity of 2,4-dichlorophenol in CD-1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5, 478-486.
- 8) Gersich, F.M. and Milazzo, D.P. (1990) Evaluation of a 14-day static renewal toxicity test with *Daphnia magna* Straus. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 72-76.

6. 4-ニトロトルエンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

4-ニトロトルエンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無、生殖毒性に関連した作用の有無及び免疫毒性に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Jobling らによって、4-ニトロトルエンについて、ニジマス肝臓エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合阻害およびヒト乳がん細胞 ZR-75 の増殖についての検討¹⁾が行われている。4-ニトロトルエンは、 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ M の濃度でエストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合を阻害したが、 10^{-5} M の濃度で ZR-75 細胞の分裂・増殖を促進せず、エストロゲン作用を有するとは判定されていない。この試験結果については文献上からみて概ね信頼性が認められた。

(2) 生殖毒性

Dunnick ら^{2,3)}によって、4-ニトロトルエン 625、1,250、2,500、5,000、10,000ppm を含む餌を 13 週間混餌投与された Fischer 344/N ラット及び B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。投与量は、雄ラットで 42、82、165、342、723mg/kg/day、雌ラットで 44、82、164、335、680mg/kg/day、雄マウスで 131、211、439、813、1,491mg/kg/day、雌マウスで 164、320、625、1,075、1,634mg/kg/day であった。その結果として、ラットでは、625ppm 以上の投与群の雌雄で腎の硝子体変性、細胞核の巨大化、色素沈着、5,000ppm 以上の投与群の雌雄で体重増加率の減少、貧血、雄で、肝・腎重量の高値、10,000ppm 投与群の雄で精巣・精巣上体重量、精巣中の精細胞数、精巣上体中の精子数の低値、精巣の萎縮、軽度の精細管障害、雌で、肝・腎重量の高値、発情間期の頻度の増加が認められた。マウスでは、625ppm 以上の投与群の雌雄で肝重量の高値、5,000ppm 以上の投与群の雌で腎重量の高値が認められた。いずれの試験結果についても文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 免疫毒性

Burns らによって、4-ニトロトルエン 200、400、600mg/kg/day を 14 日間経口投与された 6 ~ 8 週齢の雌 B6C3F1 マウスへの影響⁴⁾が検討されている。その結果として、600mg/kg/day 投与群において脾臓の表面抗原 CD4+細胞の割合、ヒツジ赤血球に対する抗体応答性及び微生物感染防御能の低下、遅延型過敏反応の抑制が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・4-ニトロトルエンのエストロジェン様作用については、試験管内試験においてニジマス肝臓エストロジェン受容体と結合したが、続いて行った細胞増殖試験においては細胞増殖は認めなかったとする概ね信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において体重増加率減少、精巣と精巣上体重量・精巣中の精細胞数・精巣上体中の精子数の低値、精巣の萎縮、軽度の精細管障害、貧血、肝・腎重量の高値、腎の組織学的変化、免疫機能の低下が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である精巣への影響及び生殖への影響が認められていることから4-ニトロトルエンをリスク評価の対象物質とする。

なお、エストロジェン様作用等については、今後、試験管内試験を行い、作用の有無について再確認を行うことが必要である。

参考文献

- 1) 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. *Environmental Health Perspective*, 103, 6, 582-587.
- 2) Dunnick, J.K. (1992) National Toxicology Program technical report on toxicity studies of *o*-, *m*-, and *p*-nitrotoluenes (Cas Nos.: 88-72-2, 99-08-1, 99-99-0) administered in dosed feed to F344/N rats and B6C3F₁ mice. PB-93150092.
- 3) Dunnick, J.K., Elwell, M.R. and Bucher, J.R. (1994) Comparative toxicities of *o*-, *m*-, and *p*-nitrotoluene in 13-week feed studies in F344 rats and B6C3F₁ mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22, 411-421.
- 4) Burns, L.A., Bradley, S.G., White, K.L., McCay, J.A., Fuchs, B.A., Stern, M., Brown, R.D., Musgrove, D.L., Holsapple, M.P., Luster, M.I. and Munson, A.E. (1994) Immunotoxicity of mono-nitrotoluenes in female B6C3F₁ mice: *para*-nitrotoluene. *Drug and Chemical Toxicology*, 17, 3, 317-358.

7. フタル酸ジベンチルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

フタル酸ジベンチルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、生殖毒性に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

○ 生殖毒性

Heindel ら¹⁾及び Morrissey ら²⁾によって、フタル酸ジ-n-ペンチル 0.50、1.25、2.50 %を含む餌を交配 7 日前から 126 日間混餌投与された雌雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。投与量はそれぞれ 760、2,160、4,650 mg/kg/day であった。その結果として、0.5 %以上の投与群において、対照群と比較して妊娠率、出産数、生存児数の低値が認められた。2.50% 投与群の雌雄と対照群の雌雄を交配させ、さらに 3 週間 2.50%投与を継続したところ、投与された雄と未投与の雌を交配させた群の交尾率、妊娠率の低値、投与された雌と未投与の雄を交配させた群の妊娠率の低値が認められた。通算 147 日間 2.50 %投与された雌雄において体重及び腎重量の低値、肝重量の高値、雄において副腎・精巣・精巣上体・精囊の各重量及び精子濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Foster らによって、フタル酸ジ-n-ペンチル 2,100 mg/kg/day を 4 日間経口投与された雄 S D ラットへの影響^{3,4)}が検討されている。その結果として、対照群と比較して精巣重量、精巣ミクロソーム中 P450 含量・ステロイド合成酵素 (17 α hydroxylase、17-20lyase) 活性の低値、精巣の萎縮が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Foster らによって、フタル酸ジ-n-ペンチル 2,200 mg/kg を単回経口投与された雄 S D ラットへの影響⁵⁾が検討されている。その結果として、対照群と比較して精巣重量の低値、セルトリ細胞の液胞化、精細管構造の破壊、精子細胞ゴルジ部位の亜鉛の損失が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gray と Gangolli によって、フタル酸ジ-n-ペンチル 220、440、2,200 mg/kg を単回経口投与された 4 週齢雄 S D ラットへの影響及び 2,200 mg/kg/day を 3 日間経口投与された 10 週齢雄 S D ラットへの影響⁶⁾が検討されている。その結果として、単回投与の場合、440 mg/kg 以上の投与群において、対照群と比較して精細管からの分泌液量、アンドロジェン結合蛋白生産量の低値、3 日間経口投与の場合、対照群と比較して精巣重量、精細管からの分泌液量、アンドロジェン結合蛋白生産量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Creasy らによって、フタル酸ジ-n-ペンチル 2,200 mg/kg を単回経口投与された 15 週齢雄 SD ラットへの影響⁷⁾が検討されている。その結果として、対照群と比較してセルトリ細胞の原形質の減少、セルトリ細胞の空洞化、精細管の萎縮が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Lindstrom らによって、フタル酸ジ-n-ペンチル 250、1,000、2,000 mg/kg を単回経口投与された 6 週齢雄 Fischer344 ラットへの影響⁸⁾が検討されている。その結果として、250mg/kg 以上の投与群において、対照群と比較して精巣上体中の精子濃度の低値、1,000mg/kg 以上の投与群において、精細管の萎縮、2,000mg/kg 投与群において、精巣上体・精巣重量の低値、異常精子数の増加が認められた。この雄を未投与の雌と交配させたところ妊娠率、生存児数の低値、着床前胚喪失率の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において親動物の体重並びに腎・副腎・精巣・精巣上体・精囊の各重量及び交尾率・妊娠率・出産数・精子濃度・精細管からの分泌液量・アンドロジェン結合蛋白生産量・精巣ミクロソーム中 P450 含量・ステロイド合成酵素 (17 α hydroxylase、17-20lyase) 活性の低値、セルトリ細胞の原形質の減少、セルトリ細胞の液胞化、精細管構造の破壊、精子細胞ゴルジ部位の亜鉛の損失、精巣・精細管の萎縮、異常精子数の増加、肝重量の高値、児動物の着床前胚喪失率の高値、生存産児数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である精巣への影響及び生殖への影響が認められていることからフタル酸ジペンチルをリスク評価の対象物質とする。

なお、エストロゲン様作用等については、今後、試験管内試験を行い、作用の有無について確認を行うことが必要である。

参考文献

- 1)Heindel,J.J.,Gulati,D.K., Mounce,R.C.,Russell,S.R. and Lamb ,J.C.(1989)
Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. Fundamental and Applied Toxicology,12,508-518.
- 2)Morrissey,R.E.,Lamb ,J.C.,Morris,R.W.,Chapin,R.E.,Gulati,D.K. and Heindel,J.J.(1989)Results and evaluations of 48 continuous breeding reproduction studies conducted in mice. Fundamental and Applied Toxicology,

13,747-777.

- 3) Foster, P.M.D., Thomas, L.V., Cook, M.W. and Gangolli, S.D. (1980) Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some *n*-alkyl phthalates in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 54, 392-398.
- 4) Foster, P.M.D., Thomas, L.V., Cook, M.W. and Walters, D.G. (1983) Effects of di-*n*-pentyl phthalate treatment on testicular steroidogenic enzymes and cytochrome p-450 in the rat. *Toxicology Letters*, 15, 265-271.
- 5) Foster, P.M.D., Foster, J.R., Cook, M.W., Thomas, L.V. and Gangolli, S.D. (1982) Changes in ultrastructure and cytochemical localization of zinc in rat testis following the administration of di-*n*-pentyl phthalate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 63, 120-132.
- 6) Gray, T.J.B. and Gangolli, S.D. (1986) Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters. *Environmental Health Perspectives*, 65, 229-235.
- 7) Creasy, D.M., Beech, L.M., Gray, T.J.B. and Butler, W.H. (1987) The ultrastructural effects of di-*n*-pentyl phthalate on the testis of the mature rat. *Experimental and Molecular Pathology*, 46, 357-371.
- 8) Lindstrom, P., Harris, M., Ross, M., Lamb, J.C. and Chapin, R.E. (1988) Comparison of changes in serum androgen binding protein with germinal epithelial damage and infertility induced by di-*n*-pentyl phthalate. *Fundamental and Applied Toxicology*, 11, 528-539.

8．フタル酸ジヘキシルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

フタル酸ジヘキシルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無、生殖毒性に関連した作用の有無及び甲状腺等への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。なお、平成 12 年 7 月 18 日、U.S.A. National Toxicology Program(NTP:米国国家毒性プログラム)に設置された Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction(CERHR)は、Expert Panel Review of Phthalates としてフタル酸エステル類について文献からみた人の生殖への悪影響に関する評価結果を公表した。この中で、フタル酸ジ-n-ヘキシルについては報告が少なく評価に至らなかったとしている¹⁾。

(1) エストロゲン様作用

Nakai らによって、フタル酸ジ-n-ヘキシルについて、ヒトエストロゲン受容体 α と 17β -エストラジオールとの置換能力(結合阻害)²⁾についての検討が行われている。フタル酸ジ-n-ヘキシルのヒトエストロゲン受容体 α との結合は認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Zacharewski らによって、フタル酸ジヘキシルについて、ラット子宮エストロゲン受容体との結合、ヒト乳がん細胞 MCF-7・ヒト子宮頸部がん細胞 HeLa 及び組み替え酵母でのエストロゲン様作用に依存した遺伝子発現についての検討並びにフタル酸ジヘキシル 20、200、2,000 mg/kg/day を 4 日間経口投与された卵巣摘出 SD ラットによる子宮重量増加試験³⁾が行われている。フタル酸ジヘキシルは、 10^{-6} ~ 10^{-3} M の濃度でラット子宮エストロゲン受容体と結合したが、置換率が 50%未満であったため IC_{50} 値は算出できなかった。 10^{-5} M の濃度において MCF-7 でエストロゲン様作用に依存した遺伝子発現が認められたが、HeLa 細胞及び組み替え酵母では遺伝子発現が認められなかった。また、子宮重量増加試験では子宮重量の増加は認められなかった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖毒性

NTP⁴⁾、Lamb⁵⁾ら、Morrissey ら⁶⁾及び Heindel ら⁷⁾によって、フタル酸ジ-n-ヘキシル 0.30、0.60、1.20 %を含む餌を交配 7 日前から 126 日間混餌投与された雌雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。投与量はそれぞれ 430、880、1,870 mg/kg/day であった。その結果として、0.30 %以上の投与群において、対照群と比較して妊娠率、出産数、生存児数の低値が認められた。1.20%投与群の雌雄と対照群の雌雄を交配させ、さらに 3 週

間 1.20%投与を継続したところ、投与された雄と未投与の雌を交配させた群の交尾率、妊娠率の低値、投与された雌と未投与の雄を交配させた群の妊娠率の低値が認められた。通算 147 日間 1.20 %投与された雌雄において体重及び腎重量の低値、肝重量の高値、雄において副腎・精巢・精巢上体・精囊腺の各重量及び精子濃度・活動精子数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Foster らによって、フタル酸ジ-n-ヘキシル 2,400 mg/kg/day を 4 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響⁸⁾が検討されている。その結果として、対照群と比較して精巢重量の低値、精巢の萎縮が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hardin らによって、フタル酸ジ-n-ヘキシル 9,900 mg/kg/day を妊娠 6 ~ 13 日に経口投与された CD マウスへの影響⁹⁾が検討されている。その結果として、誕生した児動物はすべて死亡していた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺等への影響

Hinton らによって、フタル酸ジ-n-ヘキシル 2 %を含む餌を 21 日間混餌投与された Wistar ラットへの影響¹⁰⁾が検討されている。その結果として、血清中のサイロキシン量の低下、肝の中心小葉域の脂肪の蓄積を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・フタル酸ジヘキシルのエストロジェン様作用については、試験管内試験においてラット子宮エストロジェン受容体との結合試験及び一部の細胞転写活性化試験で極く弱いエストロジェン様作用を示したとする信頼性のある報告が得られたが、ヒトエストロジェン受容体 α との結合は認められず、ラットによる子宮重量増加試験では、重量増加は認められなかったとする信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において雌雄で体重・腎重量の低値、肝重量の高値、雄で副腎・精巢・精巢上体・精囊腺の各重量並びに精子濃度・活動精子数・交尾率の低値、精巢の萎縮、雌で妊娠率・出産数・生存児数の低値、死産が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である精巢への影響及び甲状腺等への影響並びに生殖への影響が認められていることからフタル酸ジヘキシルをリスク評価の対象物質とする。

なお、エストロジェン様作用等については、今後、試験管内試験を行い、作

用の有無について再確認を行うことが必要である。

参考文献

- 1)National Toxicology Program, Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, Expert Panel Review of Phthalates(2000)Phthalate Panel Evaluation 7/18/00.
- 2)Nakai,M.,Tabira,Y.,Asai,D.,Yakabe,Y.,Shimoyozu,T.,Noguchi,M.,Takatsuki,M. and Simohigashi,Y.(1999)Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. Biochemical and Biophysical Research Communications,254,311-314.
- 3)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. Toxicological Science,46,282-293.
- 4)National Toxicology Program(1985)Di-*n*-hexyl phthalate: Reproduction and fertility assessment in CD-1 mice when administered in the feed. Research Triangle Ins.,PB85-249332.
- 5) Lamb ,J.C.,Chapin,R.E.,Teague,J.,Lawton,A.D. and Reel,J.R.(1987) Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. Toxicology and Applied Pharmacology,88,255-269.
- 6)Morrissey,R.E.,Lamb ,J.C.,Morris,R.W.,Chapin,R.E.,Gulati,D.K. and Heindel,J.J.(1989)Results and evaluations of 48 continuous breeding reproduction studies conducted in mice. Fundamental and Applied Toxicology, 13,747-777.
- 7)Heindel,J.J.,Gulati,D.K., Mounce,R.C.,Russell,S.R. and Lamb ,J.C.(1989) Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. Fundamental and Applied Toxicology,12,508-518.
- 8)Foster,P.M.D.,Thomas,L.V.,Cook,M.W. and Gangolli,S.D.(1980)Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some *n*-alkyl phthalates in the rat. Toxicology and Applied Pharmacology,54,392-398.
- 9)Hardin,B.D.,Schuler,R.L.,Burg,J.R.,Booth,G.M.,Hazelden,K.P.,MacKenzie,K.M., Piccirillo,V.J. and Smith,K.N.(1987)Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis,7, 29-48.
- 10)Hinton,R.H.,Mitchell,F.E.,Mann,A.,Chescoe,D.,Price,S.C.,Nunn,A.,Grasso,P. and Bridges,J.W.(1986)Effects of phthalic acid esters on the liver and thyroid. Environmental Health Perspective,70,195-210.

9. フタル酸ジプロピルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

フタル酸ジプロピルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用の有無及び生殖毒性に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Nakai らによって、フタル酸ジ-n-プロピルについて、ヒトエストロゲン受容体 α と 17β -エストラジオールとの置換能力（結合阻害）¹⁾ についての検討が行われている。フタル酸ジ-n-プロピルのヒトエストロゲン受容体 α との結合が認められ、その IC_{50} 値は $215\ \mu M$ であった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖毒性

Heindel ら²⁾及び Morrissey ら³⁾によって、フタル酸ジ-n-プロピル 1.25、2.5、5.0 %を含む餌を交配 7 日前から 126 日間混餌投与された雌雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。投与量はそれぞれ 1,910、4,070、8,630 mg/kg/day であった。その結果として、2.5 %以上の投与群において、対照群と比較して生存産児数及び新生児体重の低値が認められた。5.0 %投与群において、対照群と比較して妊娠率の低値が認められた。5.0 %投与群の雌雄と対照群の雌雄を交配させ、さらに 3 週間 5.0 %投与を継続したところ、投与された雄と未投与の雌を交配させた群の生存産児数の低値、投与された雌と未投与の雄を交配させた群の妊娠率の低値が認められた。通算 147 日間 5.0 %投与された雌雄において体重及び腎重量の低値、肝重量の高値、雄において副腎・精巣・精巣上体・精囊の各重量及び精子濃度・活動精子数の低値、輸精管の萎縮が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Foster らによって、フタル酸ジプロピル 1,800 mg/kg/day を 4 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響⁴⁾が検討されている。その結果として、精巣への影響は認められなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・フタル酸ジプロピルのエストロゲン様作用については、試験管内試験においてヒトエストロゲン受容体 α との結合が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・比較的高用量並びに長期間投与の動物実験において親動物の体重、腎・副腎・精巣・精巣上体・精囊の各重量、精子濃度・活動精子数・妊娠率の低値、輸精

管の萎縮、肝重量の高値、児動物の生存産児数、新生児体重の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

動物実験において、内分泌器官である精巣への影響及び生殖への影響が認められていることからフタル酸ジブピルをリスク評価の対象物質とする。

参考文献

- 1) Nakai, M., Tabira, Y., Asai, D., Yakabe, Y., Shimyozu, T., Noguchi, M., Takatsuki, M. and Simohigashi, Y. (1999) Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254, 311-314.
- 2) Heindel, J. J., Gulati, D. K., Mounce, R. C., Russell, S. R. and Lamb, J. C. (1989) Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12, 508-518.
- 3) Morrissey, R. E., Lamb, J. C., Morris, R. W., Chapin, R. E., Gulati, D. K. and Heindel, J. J. (1989) Results and evaluations of 48 continuous breeding reproduction studies conducted in mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13, 747-777.
- 4) Foster, P. M. D., Thomas, L. V., Cook, M. W. and Gangolli, S. D. (1980) Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some *n*-alkyl phthalates in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 54, 392-398.