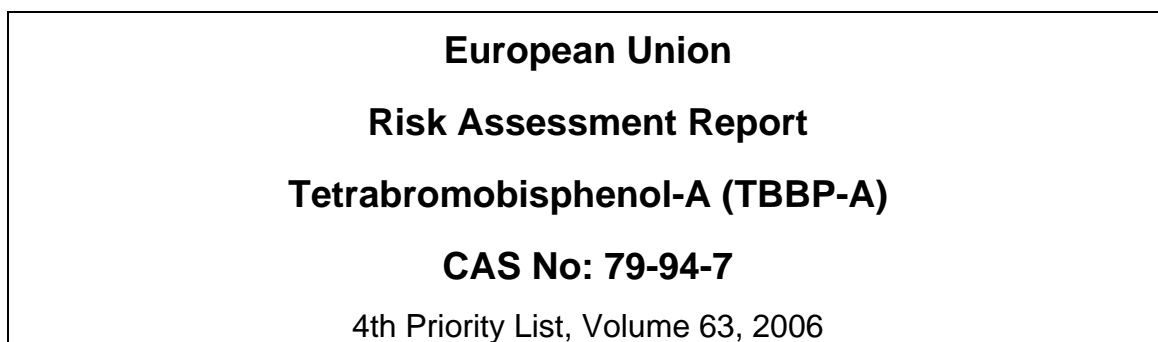
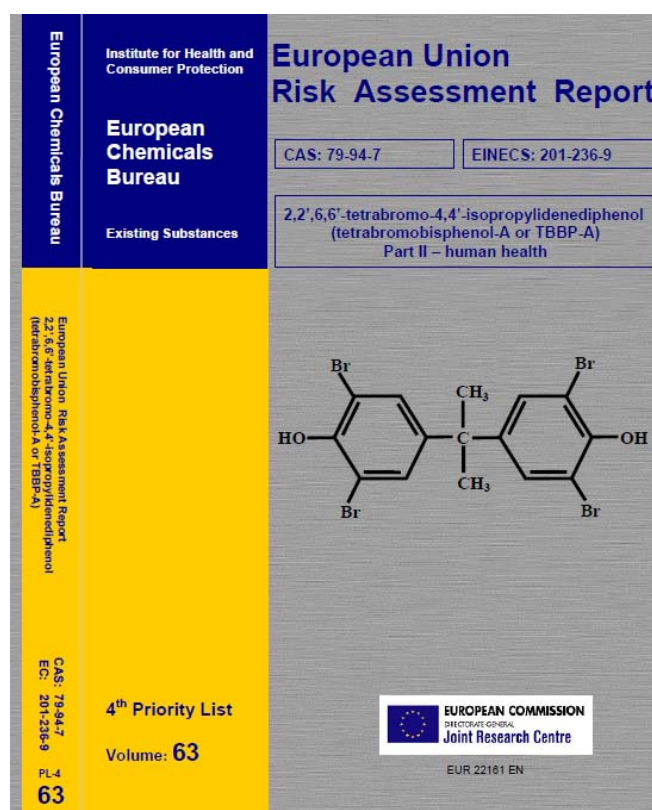


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 63, 2006)
テトラブロモビスフェノール A



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2010年3月

本部分訳文書は、tetrabromobisphenol-A (TBBP-A, CAS No: 79-94-7, テトラブロモビスフェノール A)に関する EU Risk Assessment Report (Vol. 63, 2006)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量(濃度)- 反応(影響)評価」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、
http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/tbbpaHHreport402.pdfを参照のこと。

4.1.2 有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)評価

本書で用量が mg/kg で表わされている場合は、特に断らない限り mg/kg 体重の意味である。

4.1.2.1 トキシコキネティクス

動物における試験

吸入

有効なデータは得られていない。ただし、テトラブロモビスフェノール A (TBBP-A) の吸入曝露後の運命は、その物理化学的特性から予測できる。TBBP-A は白色結晶性粉末で、粒子の大きさ（空気力学的質量中位径、MMAD）は2つの異なる試験で 31.8 および 52.3 μm と測定されている（それぞれ Inveresk 2001 および Inveresk 2002）。2002年の試験では、空気力学的粒径が 15 μm 未満の粒子は4%に過ぎないことも報告されている。呼吸域の粒子は 10 μm 未満（CEN 1993）と考えられ、またラットの肺の肺胞領域への粒子の沈着に最適な大きさは 1~2 μm である（Morrow et al., 1964）。このため、吸入された TBBP-A 粒子のうち、ラットの肺への沈着に最適な粒子径の範囲に含まれるのは極めてわずかな割合に過ぎないと考えられ、ラットとヒトの双方での4%という数値は、TBBP-A が肺から吸収される割合の推定値としてワースト・ケースを想定したものと考えられる。

肺胞領域に到達しない粒子のうち一部は呼出されるが、残りは気道の鼻咽頭領域に沈着し、そこで嚥下されて消化管から吸収される。気道への沈着は実際には70%前後と推定される。

結論として、TBBP-A 粒子を吸入した場合、約70%が消化管から吸収され、ごく一部（4%未満）のみが肺から吸収される。

経口

TBBP-A の代謝、排泄、および分布を通常のラットと胆管カニューレを装着したラットを用いて詳細に評価し、かつ報告した試験がある (Hakk et al., 2000)。試験では ^{14}C 環標識 TBBP-A (2.0 mg/kg 体重) を雄 Sprague-Dawley ラット 10 例 (以下、「通常ラット」) にピーナッツ油 (0.5 mL) を溶媒として単回強制経口投与した。また、同量を胆管カニューレ装着ラット 8 例にも投与した。

投与 0~24、24~48、48~72 時間の尿、胆汁 (胆管カニューレ装着ラットのみ)、糞を採取し、72 時間後に動物を安楽死させて一部の組織 (精巣上体周囲の脂肪、血液、腸、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、精巣、胸腺) とその残部(形骸)を分布試験用に採取した。各試料中の放射能レベルを液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。また、胆管カニューレ装着ラットの 0~24 時間の胆汁試料と 24~48 時間の糞試料中の代謝物を適切な分析方法により同定した。さらに、胆管カニューレ装着ラットの 0~48 時間のプール尿試料と 0~24、24~48、48~72 時間の胆汁試料について、放射能標識親化合物/代謝物と担体タンパクの結合を検討した。

通常ラットの糞中と尿中には 72 時間にそれぞれ投与放射能の 91.7%および 0.3% (0~24、24~48、48~72 時間でそれぞれ 0.1%、0.2%、0.02%) が排泄された。これらの動物では糞中への放射能の排泄が明らかに遅く、24~48 時間で投与放射能の 66%、48~72 時間で同じく 20%が排泄されたのに対し、0~24 時間の排泄はわずか 6.6%であった。胆管カニューレ装着ラットでは、72 時間に投与放射能の 26.3%が糞中に排泄され、0.7% (0~24、24~48、48~72 時間でそれぞれ 0.4%、0.3%、0.03%) が尿中に排泄された。糞中への総排泄量 (26.3%) のうち、0~24 時間の排泄は投与放射能の 6% (通常ラットでの観察結果と同程度)、24~48 時間は 15.3%、48~72 時間は 5%であった。胆汁中へは投与放射能の 71.3%が排泄された。このうち、0~24 時間の排泄は投与放射能の 48.4%、24~48 時間は 21%、48~72 時間は 1.9%であった。72 時間に胆管カニューレ装着ラットの糞中に排泄され得る総放射能は、投与放射能の 97.6% (26.3% + 71.3%) であり、通常ラットで認められたものと同程度であった。

投与放射能の約 50%を含む 0~24 時間の胆汁試料の分析では 3 種の代謝物が認められた。これらはジグルクロニドエーテル抱合体 (0~24 時間の胆汁中放射能の 24%)、グルクロン酸/硫酸エステル二重抱合体 (0~24 時間の胆汁中放射能の 14%)、モノグルクロン酸抱合体 (0~24 時間の胆汁中放射能の 24%) であり、合計では胆汁中に排泄された放射能の 62%、投与放射能の約 31%に相当した。残りの放射能の成分 (0~24 時間の胆汁中放射能の約 38%) については記載がなかった。

24～48 時間の糞試料には投与放射能の約 15%が含まれていた。抽出後に得られた放射能の最大量は（投与放射能の）8%であり、その大部分（95%超）が親化合物と同定された。残りの放射能については詳細な分析がなされなかった。

この試験で得られた糞および胆汁中の排泄データから、TBBP-A のトキシコキネティクスについて以下のように結論できる。

- 投与放射能の約 71%は消化管から吸収された後、72 時間以内に胆汁／糞を介して排泄される。約 26%の排泄は胆汁を介さないが、72 時間以内に糞中に現われる。ただし、そのうち投与後 24 時間以内に糞中に現われるのは 6%のみである。ラットの消化管の平均通過時間は 12 時間であることから、吸収されなかった放射能は投与後 24 時間以内に糞中に排泄されると推察される。これは、消化管から吸収されて胆汁以外の経路で糞中に排泄されるものがあることを示唆しており、その割合は約 20% (26.3% - 6%) と推定される。全体としては、投与放射能の少なくとも 92%（胆汁中に検出された 72% + 胆汁以外の経路により糞中に現われた 20% + 尿中に検出された 1%）が消化管から吸収されるようである。したがって、経口投与した場合、TBBP-A はほぼ 100%消化管から吸収されるとみなすことができる。
- 放射能標識の排泄にみられる「糞への排泄の遅れ」は TBBP-A の腸肝再循環が起きていることを示唆している可能性があるが、この仮説を支持する具体的な科学的根拠はない。また、この観察所見は単に吸収／排泄過程の一つの結果に過ぎない可能性もある。
- 投与された放射能標識の 50%は 24 時間後に胆汁中に排泄される。これはいくつかの異なる経路を介した結果と考えられる。まず、初回通過代謝が起きて代謝物が胆汁／糞中に直接排泄された可能性がある。同様に、吸収された TBBP-A が代謝されないまま肝臓を通過して全身循環に入り、その後未変化のまま、または代謝物として胆汁から排泄された可能性もある。さらに、TBBP-A の $\log P_{ow}$ （オクタノール／水分配係数の対数）を考えると、まず消化管からリンパ系に吸収されて肝臓を通らずに全身循環に入り、その後未変化のまま、または代謝物として胆汁から排泄された可能性もある。なお、24 時間に代謝物として胆汁中に排泄されるのは投与量の 31%に過ぎないことから、TBBP-A は高度な初回通過代謝を受けないと考えられる。もし高度な初回通過代謝が起きるのであれば、投与量のうちはるかに多くが代謝物として認められるであろう。ただし、その時期は 24 時間（この試験の最も早い評価時点）よりかなり早かったはずである。24 時間という期間は長すぎるため、胆汁に到達するまでの TBBP-A の運命に関し、何ら明確な結論を出すことができない。

48 時間に尿中に排泄される TBBP-A またはその代謝物（投与放射能の 0.7%）の約 18%は担体タンパクと結合していた（投与放射能の 0.12%に相当）。ただし、タンパクと結合した ^{14}C 量は不十分で、用いられた方法ではタンパクを解析できなかった。0~24 時間の胆汁試料中には測定可能な量の TBBP-A またはその代謝物のタンパク結合は認められなかった。しかし、24~48 時間の胆汁試料（投与放射能の 21%）では TBBP-A 由来の ^{14}C の 2%がタンパクと結合しており（投与放射能の 0.42%に相当）、48~72 時間の胆汁試料（投与放射能の 1.9%）ではこの値が 6.6%となって、投与放射能の 0.125%に相当していた。タンパクは 79 kDa のタンパクであることが明らかになった。これらのデータは、TBBP-A やその代謝物の排泄物中での結合率が非常に低かったことを示している。

投与された放射能標識の大部分が 72 時間以内に胆汁／糞中に排泄されたことから、TBBP-A の組織残留率は小さいと推測される。通常ラットでは放射能の約 2%が組織内に残留し、胆管カニューレ装着ラットでは組織残留率は 1%未満であった。両群とも小腸と大腸の組織残留率が最も高かった。ただし、これは分析前に腸の内容物を空にしなかったことによる可能性がある。評価した全組織に残留があったかは不明である（多くの組織で定量限界値の 0.0005%未満と記載されていた）。

結論として、これらの結果は、TBBP-A がラットの消化管から完全に吸収されるらしいこと、またグルクロン酸抱合や硫酸抱合によって代謝されることを示している。投与 72 時間後には顕著な組織残留はなく、大部分の放射能はこの時間までに主に胆汁を介して糞中に排泄される。尿中への排泄はほとんどない。

TBBP-A の吸収、分布、および排泄の評価は 1978 年に実施された試験でも行なわれている（Velsicol Chemical Corporation）。試験では雌 Sprague-Dawley ラット 10 例に ^{14}C 標識 TBBP-A（平均用量 7 mg/kg）をコーン油を溶媒として単回経口投与した（標識位置については記載なし）。

尿と糞を 2 例（I 群）から 4 および 8 時間後に、別の 2 例（II 群）から 4、8、16、24 時間後に、さらに別の 2 例（III 群）から 4、8、16、24、48、72 時間後に採取した。加えて 4 例（IV 群）から採血したが、このうち 2 例は投与 4、8、24、48、72 時間後に、残りの 2 例は投与 16 時間後に採血した。I、II、III 群の動物はそれぞれ投与 8、24、72 時間後に安楽死させ、肝臓、腎臓、脳、筋肉、脂肪、脾臓、皮膚、生殖腺を摘出して放射能を測定した。放射能の定量測定には液体シンチレーションカウンターを用いた。

I 群の動物における尿および糞中への放射能の排泄は、0~4 時間、4~8 時間ともごくわずかであった（0~4 時間は投与放射能のそれぞれ 0.03%と 0.0015%、4~8 時間は同 0.02%と

0.0015%)。投与 8 時間後に安楽死させて組織を分析した結果、新たに検出されたのは投与放射能の 0.725%のみであり、肝臓 (0.4%)、筋肉 (0.12%)、皮膚 (0.12%)、脂肪 (0.07%) で高値であった。すなわち、8 時間後に一部の組織と排泄物の分析で検出されたのは投与放射能の 1%未満であった。

II 群の動物における尿および糞中への放射能の排泄は、0~4 時間、4~8 時間とも I 群で報告されたものと同程度であった (0~4 時間は投与放射能のそれぞれ 0.04%と 0.002%、4~8 時間は同 0.04%と 0.003%)。一方、投与後 8~16 時間には投与放射能の 0.12%と 26%が、16~24 時間には投与放射能の 0.15%と 7.4%がそれぞれ尿中と糞中に排泄された。投与 24 時間後に安楽死させて組織を分析した結果、新たに検出されたのは投与放射能の 0.85%のみであり、肝臓 (0.33%)、皮膚 (0.18%)、筋肉 (0.16%)、脂肪 (0.16%) で高値であった。すなわち、24 時間後に一部の組織と排泄物の分析で検出されたのは投与放射能の約 35%であった。

III 群の動物でも I 群と II 群での報告と同様の尿中排泄プロファイルが観察されたが、その値は時間とともに次第に増加した (0~4、4~8、8~16、16~24、24~48、48~72 時間でそれぞれ投与放射能の 0.05、0.09、0.12、0.15、0.3、0.32%)。これに対し、これらの動物で認められた糞中排泄プロファイルはやや異なり、投与放射能の大部分は 16~48 時間に排泄された (0~4、4~8、8~16、16~24、24~48、48~72 時間でそれぞれ投与放射能の 0.0015、0.15、7.5、49.6、36.3、1.5%)。投与 72 時間後に安楽死させて組織を分析した結果、新たに検出されたのは投与放射能の 0.2%であった (1 例の皮膚が汚染されていたため、皮膚の値を除いた数値。報告された個体値は投与放射能の 4.7%と 0.13%であった)。すなわち、72 時間後に一部の組織 (皮膚を除く) と排泄物の分析で検出されたのは投与放射能の約 96%であった。

血液中には、各群の動物とも様々な時点で比較的少量の放射能がほぼ同程度に認められた (4、8、16、24、48 時間後にそれぞれ投与放射能の 0.03、0.03、0.02、0.01、0.01%)。試験の著者の計算による血中半減期は約 20 時間であった。また、組織中の放射能の半減期は最大 71 時間 (脂肪) と推定された。

この試験結果は、経口投与した場合、放射能標識 TBBP-A またはその代謝物の大部分が 72 時間以内に糞中に排泄されることを示している。血液 (4 時間後以降) と分析対象組織 (8 時間後以降) への全身分布は限定的であった。認められた糞中排泄プロファイル、ラットの消化管通過時間は 12 時間であるという事実、および前述の試験 (Hakk et al., 2000) で得られた胆汁排泄データを考慮すると、この試験で投与された TBBP-A はいったん吸収されてから胆汁や糞中に排泄されたと推察される。

8 時間後と 24 時間後に安楽死させた動物における「消えた」放射能（8 時間後には投与量の 99%超、24 時間後には投与量の約 65%）に関する情報はない。可能性としては消化管内にあることが考えられる。もう一つの可能性としては腸肝循環が考えられるが、それが事実である場合、肝臓の放射能レベルがもっと高くなることが予想される。また、この試験で分析されなかった他の組織に TBBP-A が存在している可能性もある。

分布データが得られている最も早い時期は血中の 4 時間後であり、これより前の TBBP-A の分布については情報がない。また、糞中には 8~16 時間後まで顕著な放射能は認められていない。このため、糞中に現われる前の TBBP-A の運命については不明な点がある。

TBBP-A の妊娠ラットにおける甲状腺のホメオスタシスに対する影響とともにその分布と排泄を検討した試験が存在する（甲状腺に関する検討の詳細は 4.1.2.10 項参照）(Meerts et al., 1999)。試験では妊娠 Wistar ラットに対し、¹⁴C 環標識 TBBP-A を 0 または 5 mg/kg の用量でコーン油を溶媒として妊娠 10~16 日に毎日経口投与した（各群の動物数の記載なし）。妊娠 10 日以降毎日、糞と尿を採取した。妊娠 20 日にエーテル麻酔によりラットを安楽死させ、母動物と胎児から多くの組織（肝臓、骨格筋、腹腔内脂肪、胎盤、総血漿、前脳、腎臓、肺、脾臓、心臓、小脳、膵臓、胸腺）とその残部を採取して、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

最終投与後 48 時間以内に大部分の放射能（79.8%）が糞中に排泄され、ごく少量（投与放射能の 0.2%未満）が尿中に排泄されたと報告されている。母動物の組織とその間にある胎児には投与放射能の 1.2%が含まれ、母動物の組織中で最も高値を示したのはカーカス（投与量の 0.37%）と肝臓（投与量の 0.26%）であった。胎児の総放射能量は投与量の約 0.34%であり、胎児の組織中で最も高値を示したのはカーカス（投与量の 0.07%）と肝臓（投与量の 0.06%）であった。この試験では組織中に検出された標識物質の種類は確認されていないが、TBBP-A 自体よりもその代謝物であった可能性が考えられる。

血中における TBBP-A の出現と消失の経時的変化を評価した試験の概要が報告されている（Sato et al., 1996）。試験では雄 Sprague-Dawley ラット 6 例に 500 mg/kg の TBBP-A を単回経口投与した（おそらく強制投与。使用した溶媒の記載なし）。1、2、4、6、12、24 時間後に採血し、電子捕獲型検出器を用いたガスクロマトグラフィーにより TBBP-A 濃度を測定した。グラフデータの解析によれば、TBBP-A 濃度は投与後最初の 1 時間で最大値（約 2,750 pg/mL または 0.18 mg/kg）まで増加した後、1 時間後と 4 時間後の間で急速に減少し（約 400 pg/mL まで。2 時間後の試料中濃度の記載なし）、その後はゆっくりと減少して 24 時間後までにほとんど消失した。

限定的な28日間試験としてCharles RiverラットにTBBP-Aを毎日混餌投与した(International Research and Development Corporation, 1972)。28日目に対照群と1,000 ppm (60 mg/kg) 群の雌雄5例ずつから肝臓および脂肪標本を採取して臭素を分析した結果、脂肪標本中の臭素含有量は両群の動物で同程度であり、脂肪中に生体内蓄積のないことが示された。肝臓標本中の臭素含有量は投与群の方が対照群に比較してやや高かった。

適切に実施された90日間試験では、Sprague-DawleyラットにTBBP-Aを0、0.3、3、30、100 mg/kgの用量で毎日混餌投与した(The Dow Chemical Company, 1975)。この試験の一環として、90日目に各群雌雄2例ずつから肝臓、腎臓、骨格筋、脂肪、血清標本を採取し、臭素を分析した。また、0および3 mg/kg群の雌雄2例ずつから10、20、30、60日目に同じ組織を採取し、臭素を分析した。さらに、0および3 mg/kg群の12例に対しては、90日目以降、対照飼料からなる回復用飼料を給餌し、100、111、132日目に各群雌雄2例ずつを安楽死させた。その結果、組織中の臭素の分析では対照群と投与群の臭素濃度に差は認められず、この試験においても生体内蓄積のないことが示された。

経皮

有効なデータは得られていない。

腹腔内

[¹⁴C] TBBP-A (標識部位の記載なし) を250および1,000 mg/kgの用量で雌Wistarラット60例にオリーブ油を溶媒として単回腹腔内投与した(Szymanska et al., 2001)。代謝ケージに動物を収容し、72時間の試験期間を通じて尿および糞試料を採取した。また、各動物の尾静脈から16回採血した。ただし、採血時間は報告されていない。曝露1、4、12、24、48、72時間後に各用量群4例を断頭し、組織(肝臓、腎臓、脾臓、脳、脂肪、筋肉、副腎、坐骨神経)を摘出した。赤血球、血漿、糞、組織抽出液、尿の¹⁴C量を測定した。さらに、最初の48時間に採取した糞試料を分析し、ガスクロマトグラフィー/質量分析により代謝物を同定した。

試験の著者らは、両用量における24、48、72時間後の尿、糞および種々の組織中放射能の運命(各時点4例の結果)について報告しているが、用量にかかわらず大部分の放射能は糞中に検出された。24時間後には250および1,000 mg/kg群においてそれぞれ投与放射能の $37 \pm 34\%$ および $25 \pm 24\%$ が糞中に排出され、48時間後にはそれぞれ $61 \pm 25\%$ および $43 \pm 19\%$ が、72時間後にはそれぞれ $65 \pm 24\%$ および $51 \pm 17\%$ が排出された。尿は排泄経路としては主要でなく、両用量ともこの経路で72時間までに排出されたのは投与放射能の約0.3%

であった。250 mg/kg 群の動物の血中放射能は 24、48、72 時間後でそれぞれ $1.8 \pm 0.3\%$ 、 $4 \pm 0.4\%$ 、 $3.8 \pm 0.7\%$ であった (1,000 mg/kg 群については測定せず)。投与 72 時間後にはある程度の残留が脂肪 (約 3~6%) と筋肉 (約 11~14%) で認められたが、これらの組織中における ^{14}C の分布には用量依存性がないようであった。ただし、試験の著者らはこれらの計算に誤りがある可能性を述べていることから (誤りの内容の記載なし)、組織中の ^{14}C 量の計算は正しくないかもしれない。また、他の試験では脂肪や他の体組織に TBBP-A の残留がほとんど認められていないことから、生体内蓄積の可能性は大きくないと考えられる。さらに、消化管、腸内容物、皮膚、骨、靭帯その他の放射能レベルを測定していない点にも注意すべきである。

著者らは 250 mg/kg 群についてのみ血漿および赤血球中の放射能レベルをグラフで示しているが、いずれも値は投与量に対する割合としては示されていない。定性的には、血漿中の放射能の最大値は投与後 1 時間以内にみられ、その後、放射能は二相性を示しながら減少した。著者らの計算では第 I 相と第 II 相の半減期はそれぞれ 0.9 時間と 230 時間であった。赤血球中の放射能の最大値は投与 48 時間後にみられ、その減少は一相性を示した。半減期の計算値は 142 時間であった。投与 72 時間後の赤血球中の放射能レベルは血漿中の値より 10 倍以上高かったと報告されている。ただし、その相対的重要性はより定量的な情報がないと不明である。また、赤血球中の放射能レベルは投与 10、15、21 日後も高かったと報告されているが、この所見の質的重要性も不明である。

250 mg/kg 投与動物の糞から抽出した ^{14}C -TBBP-A または代謝物の回収率は、糞中に存在する放射能標識の約 89% であった。抽出物のガスクロマトグラフィーではクロマトグラムに 2 つのピークが認められ、これらは質量分析によってトリブロモビスフェノール A および TBBP-A 未変化体と同定された。量的にはこれら 2 つの物質は糞内に約 1 : 9 の割合で存在していた。

この試験結果から、腹腔内投与した場合、TBBP-A は用量にかかわらずその大部分が未変化のまま糞中に排泄されることが明らかである。排出は、経口投与した場合に報告されているものと同様の経時的変化をたどる。

ヒトにおける試験

ヒトの血清および母乳中 TBBP-A 濃度を測定した試験は多数存在する。これらについて以下に要約する。

スウェーデンのコンピュータ技師の血清中 TBBP-A 濃度は、1 未満~3.4 pmol/g 脂肪 (0.5 未

満～1.8 µg/kg 脂肪)であった。分析した 19 試料中 4 試料で TBBP-A が検出された (Hagmar et al., 2000a)。

Hagmar ら (2000b) はスウェーデンの電子機器解体工場働く 4 人の労働者について血清中 TBBP-A 濃度を測定した。試料採取は夏季休暇直前と、夏季休暇中複数の時点で行なわれた。その結果、休暇直前に採取した試料中濃度は 2～7 pmol/g 脂肪 (1.1～3.8 µg/kg 脂肪) であった。濃度は休暇期間中に減少し、血清中 TBBP-A の半減期は 2.2 日と推定された。

Hagmar および Bergman (2001) の報告によれば、スウェーデンの精錬工場の労働者 9 人のうち 1 人の血漿中に TBBP-A が検出された。その濃度は 0.76 µg/kg 脂肪であった。

スウェーデンのコンピュータ技師の血漿中 TBBP-A 濃度については、さらに Jakobsson ら (2002) も試験を行なっている。この試験では、ある病院の情報技術部門でコンピュータシステムを扱う仕事をしている常勤職員の被験者について検査した。採血は 1999 年に行なわれ、10 人から採取した試料すべてについて TBBP-A を分析した。その結果、分析した 10 試料中 8 試料で TBBP-A が検出されたが、このうち定量限界 (1 pmol/g 脂肪または 0.54 µg/kg 脂肪) 以上存在したのは 4 試料のみであった。検出された TBBP-A の中央値は 1 pmol/g 脂肪未満 (0.54 µg/kg 脂肪未満) であり、範囲は 1 未満～3.4 pmol/g 脂肪 (0.54 未満～1.8 µg/kg 脂肪) であった。

Thomsen ら (2001a および 2001c) は、ノルウェーの 3 種類の職業従事者、すなわち電子機器解体業者、回路基盤製造業者、検査室職員について血漿中 TBBP-A 濃度を測定した。各集団における濃度は、電子機器解体業者が 0.64～1.8 µg/kg 脂肪 (平均 1.3 µg/kg 脂肪)、回路基盤製造業者が「検出せず」～0.80 µg/kg 脂肪 (平均 0.54 µg/kg 脂肪)、検査室職員が「検出せず」～0.52 µg/kg 脂肪 (平均 0.34 µg/kg 脂肪) であった。なお、用いた方法の定量限界は 0.4 ng/kg 血漿であった。また、Thomsen ら (2001b) は別の試験において、ノルウェーのある病院で採取した血漿中に TBBP-A が約 0.4 ng/kg 血漿の濃度で含まれていたとしている。

ノルウェーの各集団における TBBP-A の血清中濃度について Thomsen ら (2002a) はさらに試験を行なっている。試験では 1977 年から 1999 年の間の 6 時点の保存試料を用い、各時点について 40～50 歳の男性 5 人のプール試料中の TBBP-A の有無を分析した。その結果、1977 年と 1981 年の試料では TBBP-A は検出されなかった (使用した方法の定量限界は約 0.4～1.6 ng/kg 血清) が、1986 年から 1999 年にかけての期間では濃度の軽度な増加が認められた (濃度は 1986 年の 0.44 µg/kg 脂肪から 1999 年の 0.65 µg/kg 脂肪に増加)。また、この試験では 1998 年に採取した年齢と性別の異なる 8 群の人々のプール試料についても検査した。各群は 10～14 人で、これらの試料中 TBBP-A 濃度は 0.34～0.71 µg/kg 脂肪であり、0

～4 歳群で最も濃度が高かった。

日本人の血中 TBBP-A 濃度が Nagayama ら (2001) によって求められている。血液試料は 37～49 歳の 54 人の被験者 (男性 27 人、女性 27 人) から 1998 年に採取されたもので、検出された濃度の中央値と最高値はそれぞれ 2.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪および 12.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪と報告されている。この試験結果の速報 (Nagayama et al., 2000) によれば、その当時に分析された 14 試料の平均濃度は 1.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪であった。

DeCarlo (1979) は、米国アーカンソー州の TBBP-A 製造工場の近くに住む 1 人の毛髪試料に TBBP-A が含まれていることを発見した。1 検体の複合試料中濃度は 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

Watanabe および Tatsukawa (1989) は日本人の脂肪中におけるジメチル TBBP-A (TBBP-A の推定代謝物、後に追加される 3 項参照) の濃度を調査した。その結果、分析した 5 試料中にはジメチル TBBP-A は検出されなかった。使用した方法の検出限界は 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪であった。

Kemmlin (2000) は母乳中の TBBP-A 濃度を分析した。試験では西ベルリン地域の 4 人 (25～37 歳) の母乳試料を分析した。試料採取は 1998 年と 1999 年に行なわれた。その結果、2 試料では TBBP-A は認められなかったが、他の 2 試料では 0.29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪と 0.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪の TBBP-A が存在していた。また、フェロー諸島で採取した母乳試料 1 検体についても解析したところ、この試料中濃度は 11.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪であった。

Thomsen ら (2002b) も母乳中に TBBP-A が存在することを示している。分析試料は 2001 年にノルウェーの母親から採取したプール試料であったようである。検出された TBBP-A 濃度は 0.067 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪 (67 pg/g 脂肪) であった。試料中の脂肪含量は 2.6%であったことから、この濃度は全乳中濃度に換算すると 0.0017 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当する。また、牛乳 (牛乳輸送車から直接採取) 中の TBBP-A 濃度は 0.013 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪 (13 pg/g 脂肪) であった。この試料中の脂肪含量は 3.9%であったことから、この濃度は全乳中濃度に換算すると 5.1×10^{-4} $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当する。

ノルウェーにおける母乳中ジメチル TBBP-A 濃度は、約 0.0010～0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 脂肪 (約 10～100 pg/g 脂肪) と報告されている。試料採取は海岸地域 (Tromsø)、地方内陸地域 (Hamar)、既知のダイオキシン排出源がある工業地域 (Skien/Porsgrunn) において 2001 年に行なわれ、各試料は 10～12 人の母親の母乳からなるプール試料であった。また、Oslo のごみ焼却場近くに住む母親の試料も個別に分析された (試料採取は同様に 2001 年)。ジメチル TBBP-A の由来は不明であるが、TBBP-A の生物的メチル化によるものか、ジメチル TBBP-A 自体が

難燃剤として少量または稀に使用されていることによる可能性が考えられた (Thomsen et al., 2003)。

ヒトにおけるトキシコキネティクス試験が欧州連合 (EU) の難燃剤の内分泌影響に関する総合リスク評価 (FIRE) プロジェクトで行なわれていることは承知しているが、報告者は現在その試験報告書を手に入れている。

トキシコキネティクスの要約

職業集団と非職業集団の両方の血清試料から TBBP-A が検出されていることを考えると、入手可能なデータは本物質がヒトにおいて吸収されることを示している。また、吸収された TBBP-A またはその代謝物が母乳中に排泄されることを示す根拠も存在する。

実験動物では、ラットについてのみトキシコキネティクスデータが入手可能である。経口投与では TBBP-A 投与量の 100%が消化管から吸収される。吸入および経皮曝露でのトキシコキネティクス試験は行なわれていないが、吸入に関していえば、TBBP-A 粒子の大きさから呼吸可能なものはごくわずか (15 μm 未満は 4%のみ) であり、このため肺からの吸収もごくわずかと考えられる。粒子の大部分 (現実的な推定値は約 70%) は気道の鼻咽頭領域に沈着後、嚥下され、残りは呼出される。したがって、吸入曝露では約 75%の TBBP-A 粒子が吸収され、その大部分 (70%) は消化管からと推定される。このため、吸入曝露時の健康に対する危険性を理解するには経口曝露試験のデータが重要である。皮膚曝露については、TBBP-A の水溶性の低さ、n-オクタノール/水分配係数の高さ (5.9)、および分子量の大きさ (500 超) から、経皮吸収は少ないことが示唆される。この点を考慮すると、経皮曝露の吸収率は、技術手引書 (TGD) が示すとおりデフォルト値 10%とみなせる。

同様に、曝露後の分布、代謝、および排泄に関しても経口投与についてのみ情報が入手可能である。吸収された後は、投与後 8 時間まで TBBP-A の分布に関する情報はほとんどない。一方、この時点以降の TBBP-A (またはその代謝物) の全身分布は少ないようである (分析された組織のデータに基づく)。血液の定量では、投与された TBBP-A またはその代謝物が 4 時間以降ごくわずかしか存在しないことが示されている。全身分布が少ないことの原因としては、TBBP-A の初回通過代謝が高度なことが一つの可能性として仮定されている。しかし、もしそうであるならば大部分の TBBP-A は投与後 24 時間以内には確実に代謝物として胆汁中に排泄されるはずであるが、データはこれを裏付けていない。このため、この仮説を確認するにはより詳細な検討が必要であろう。また、腸肝再循環が起きている可能性もあるが、肝臓では顕著な TBBP-A は検出されず、血中の動態にも腸肝循環に特徴的な第二のピークはみられていない。加えて、72 時間以前には消化管の分析は実施されていない。

い。このため、TBBP-A の運命で分かっていることについては、吸収されてから糞中に出現するまでの間に大きな間隙がある。

胆汁排泄物の分析から、ある程度（投与量の最大 30%）の代謝が起きていることが示唆される。主な代謝はグルクロン酸抱合であるが、硫酸抱合も限定的に認められる。

経口投与した場合、TBBP-A またはその代謝物は投与後 72 時間以内に主に糞中に排泄され（投与量の約 95%）、少量（1%未満）のみが尿から排出される。腹腔内投与でも同様の糞中排泄プロファイルが報告されているが、糞の放射能を特定したところ、その大部分は未変化の親化合物であった。

大部分の TBBP-A は投与後 72 時間以内に排泄されるため、生体内蓄積の可能性を示唆する科学的根拠はない。

妊娠動物を用いたトキシコキネティクス試験が 1 件行なわれており、TBBP-A またはその代謝物の胎児への顕著な移行はないことが示されている。

他の加盟国の意見

溶解していない TBBP-A 粒子、特に高用量の懸濁液として投与したときの粒子の経口吸収に関する疑問がいくつかの国から提示された。これらの加盟国の意見は、このように高用量で投与された量が 100%吸収されるかどうかについては不確実な部分があり、したがって粒子を懸濁液の状態で投与したのでは毒性の過小評価につながる可能性があるというものである。しかし、大多数の加盟国は英国の報告者の見解、すなわち、その考え方は重要であるものの、データからそのような高用量での経口吸収の定量的な推定値を求めることは不可能であるという見解に賛同した。したがって、経口投与された TBBP-A は 100%吸収されると仮定することで合意した。

4.1.2.2 急性毒性

吸入

TBBP-A の急性吸入毒性試験において、Wistar ラット、NMDI マウス、モルモット各 10 例（各動物種とも雌雄 5 例ずつ）を吸入チャンバーに入れ、0.5 mg/L の TBBP-A のエアロゾルに 8 時間全身曝露させた（International Bio-Research, Inc., 1967b）。エアロゾルはエアロゾル発生装置（ Draeger/Lubeck ）を用いて発生させ、連続的な空気の流れを 8 時間にわたって維

持した。ただし、曝露濃度の設定根拠は示されておらず、液滴の大きさの情報も報告書には記載されていない。試験の結果、曝露期間中と曝露後 48 時間に毒性影響は認められなかった。その後動物を安楽死させたが、肉眼的剖検では投与による病理学的変化は認められなかった。

別の吸入試験では、雄アルビノラット (Dublin 系) 10 例を吸入チャンバーに入れ、TBBP-A のエアロゾル 1.3 mg/L に 1 時間全身曝露させた (Hill Top Research, Inc., 1966)。TBBP-A のエアロゾルは、溶解させた TBBP-A に、取り込んだ空気を通して気泡を発生させ、これをチャンバー内の空気中に送り込んだ。14 日間の観察期間中に死亡はなく、その他の毒性徴候も報告されなかった。動物は同期間後に安楽死させたが、他の情報は記載されていない。

以上のように、ラットをエアロゾル濃度 1.3 mg/L に 1 時間または 0.5 mg/L に 8 時間全身曝露させても死亡はなく、剖検でも肉眼病理学的変化は認められなかった。したがって、結論として、これらの試験結果は TBBP-A の急性吸入毒性が低いことを示している。

経口

ラット

Sprague-Dawley ラット 10 例 (雌雄各 5 例) に TBBP-A を 5,000 mg/kg の用量で 0.25%メチルセルロースを溶媒として単回強制経口投与した (Pharmakon Laboratories, 1981a)。この試験は毒性試験の適正実施に関する基準 (GLP) に従って実施され、現在の規制ガイドラインにも合致していた。14 日間の観察期間中、動物の死亡はなかった。また、他の毒性徴候を示した動物もいなかった。剖検では投与による肉眼病変は観察されなかった。

概要のみ報告されている試験 (Leberco Laboratories, 1958a) では、Holtzman ラット (性別の記載なし) 10 例に TBBP-A を 50 mg/kg の用量で強制経口投与したところ、48 時間の観察期間中に死亡は認められなかった。他の毒性徴候や剖検所見の有無については情報がない。

ある試験ではデータが十分でないものの、種々の臭素系難燃剤の肝毒性について評価がなされており、その一つが TBBP-A であった (Szymanska, 1995)。試験では 1 群 4~6 例の雄 Wistar ラットに 500~1,000 mg/kg の TBBP-A を経口および腹腔内経路 (下記参照) により単回投与した。対照群の動物には投与しないか、またはヒマワリ油を投与した。投与 2、4、12、24、48、72、120 時間後に動物を安楽死させ、血清中のグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 活性、L-γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γ-GT) 活性、トリグリセライド (TG) 濃度と、肝臓のグルタチオン (GSH) 量、マロンジアルデヒド (MDA) 量を

測定した。その結果、TBBP-A 曝露による有害な変化は報告されなかった。

各群 5 例の雄アルビノラット (Dublin 系) からなる 7 群に 100、220、460、1,000、2,150、4,640 および 10,000 mg/kg の TBBP-A をコーン油の 10 または 50%v/v 懸濁液として強制経口投与した (Hill Top Research, Inc., 1966)。14 日間の観察期間中に 10,000 mg/kg (10 g/kg) 群の 2 例が死亡し、残りの動物は 14 日目に安楽死させた。他の情報は報告されていない。

その後行なわれた試験 (International Bio-Research, Inc., 1967a) では、Wistar ラット 10 例 (雌雄各 5 例) に TBBP-A を 50,000 mg/kg (50 g/kg) の用量で単回強制経口投与した結果が概要のみ報告されている。試験では、すべての動物が軽度～中等度の無関心状態になり、投与 5 時間以内に 3 例が死亡した。しかし、これらの死亡動物と 14 日後の残りの動物の剖検では、投与による明らかな病変は認められなかった。

さらに、雌ラット (系統の記載なし、各用量 2 例) に 250、500、1,000、2,000 および 4,000 mg/kg の TBBP-A を 20%コーン油溶液として経口投与した用量設定試験の結果が概要のみ報告されている (The Dow Chemical Company, 1958)。死亡はなかったが、剖検では 1,000 mg/kg において「軽度の肝損傷」と「腎損傷の疑い」という表現の所見が報告され、2,000 および 4,000 mg/kg では肝臓と腎臓の中等度の損傷が報告された (損傷の性質や異常動物数に関する詳細なし)。500 mg/kg 以下の用量における病理学的変化の有無は記載されていないが、報告がないところから影響がなかったものと推察される。他の試験 (現在の規制ガイドラインに従って行なわれた試験や、より高用量で行なわれた試験を含む) では肝毒性や腎毒性は報告されておらず、この単発性の所見には信頼性がないものと考えられる。

結論として、これらの試験結果は TBBP-A の急性経口毒性が非常に低く、ラットにおける経口 50%致死量 (LD₅₀) は 50,000 mg/kg (50 g/kg) 超であることを示している。

マウス

雌雄各 30 例の CD1 マウスに 1,000、1,585、2,512、3,980、6,308 および 10,000 mg/kg の TBBP-A をコーン油を溶媒として強制経口投与した (各用量雌雄 5 例ずつ) (International Research and Development Corporation, 1978a)。14 日間の観察期間中、死亡はなかった。他の詳細は報告されていない。

マウスを用いた別の試験 (Israel Institute for Biological Research, 1978) では、Ness Ziona 系雄マウスに 2,900、3,600、4,500、5,600 および 7,000 mg/kg の TBBP-A をポリエチレングリコールを溶媒として強制経口投与した。各用量とも 6 匹のマウスを用いた。14 日間の試験期

間中、動物の死亡はなく、他の毒性徴候も認められなかった。それ以外の詳細は報告されていない。

結論として、これらの試験結果は TBBP-A の急性経口毒性が低く、マウスにおける経口 LD₅₀ は 10,000 mg/kg (10 g/kg) 超であることを示している。

経皮

GLP に従って実施された急性経皮毒性試験の詳細な報告がある (Pharmakon Laboratories, 1981b)。試験では、New Zealand ウサギ 10 例 (雌雄各 5 例) の擦過皮膚に 2,000 mg/kg の TBBP-A を生理食塩液で軽く湿らせて閉塞適用した。24 時間の曝露期間後、軽度の発赤と浮腫が 1 例の雄に認められた。死亡はなく、他の毒性徴候も 14 日間の観察期間中いずれのウサギにも認められなかった。また、最終剖検時にも明らかな病変は認められなかった。

ある試験では十分なデータが得られていないものの、雌ウサギ 10 例 (系統の記載なし) の剃毛した背部に 200 mg/kg の TBBP-A を適用した結果が報告されている (Leberco Laboratories, 1958b)。皮膚とよく接触させるために被験物質を湿らせたり、溶媒を用いたりしたか、また、適用部位を閉塞させたか否かについては詳細な記載がない。試験の結果、24 時間の曝露期間終了時にすべての動物で明らかな発赤が認められた。しかし、48 時間の観察期間終了時にはいずれの動物の外観も正常であり、動物はこの期間中すべて生存し、他の毒性徴候も報告されなかった。その他の詳細については記載がない。

雌雄各 4 例からなる 4 群のアルビノウサギ (系統の記載なし) の剃毛した腹部皮膚に TBBP-A を適用した (Hill Top Research, Inc., 1966)。各群 2 例のウサギの皮膚は擦過状態にした。被験物質をコーン油で湿らせ、ペースト状にして 1,000、2,150、4,640 および 10,000 mg/kg の用量で半閉塞適用した。曝露期間は 24 時間、観察期間は 14 日間であった。試験の結果、2 例の動物が死亡し、うち 1 例は 1,000 mg/kg 群の無傷皮膚の動物で 13 日目に、他の 1 例は 4,640 mg/kg 群の擦過皮膚の動物で 6 日目に死亡した。しかし、用量反応関係がみられなかったことから、これらの死亡は投与によるものではないと考えられる。また、低用量 2 群の生存動物 7 例中 6 例では体重が増加し、高用量 2 群の生存動物 7 例中 5 例では体重が減少した。14 日間の観察期間終了時に動物を安楽死させた。毒性徴候や肉眼的および病理組織学的検査についてその他の情報は報告されていない。

結論として、これらの試験結果は TBBP-A の急性経皮毒性が低く、経皮 LD₅₀ は 10,000 mg/kg (10 g/kg) 超であることを示している。

腹腔内

雌 Wistar ラット 60 例に [¹⁴C] TBBP-A を 250 および 1,000 mg/kg の用量で、オリーブ油を溶媒として単回腹腔内投与した試験報告がある (Szymanska et al., 2001)。各動物の尾静脈から 16 回採血したが、採血時期は報告されていない。曝露 1、4、12、24、48、72 時間後に各用量群 4 例を断頭し、肝臓を含む組織を検査のために採取した。なお、本文中には対照群の動物に関する記載はないが、結果の項には対照データがグラフとして載っている。代謝関連項目 (4.1.2.1 項参照) の測定に加え、血清中の L-γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γ-GT) 活性および肝組織中のヘムオキシゲナーゼ (HOx) 活性、チトクローム P450 の総量、タンパク量、グルタチオン (GSH) 量の測定を行なった。

肝臓の GSH 量は、投与 4 時間後に 250 mg/kg 群で対照群の値と比較して統計学的に有意に増加した (グラフデータの解析で 1.3 倍)。ただし、24 時間後と 48 時間後には 250 および 1,000 mg/kg の両群で有意でないものの軽度に減少した。ヘムオキシゲナーゼ活性は、投与 12 時間後に 1,000 mg/kg 群で統計学的に有意に増加し (グラフデータの解析で 1.9 倍)、24 時間後には 1,000 および 250 mg/kg の両群で増加した (グラフデータの解析でそれぞれ 2.6 倍と 3 倍)。いずれの用量群でも 48 時間までに値は正常に戻った。(同じ著者によって行なわれた反復経口投与試験では、1,125 mg/kg までオキシゲナーゼ活性に影響がなかったことに注意すること。) 血清中 γ-GT 活性、ミクロソームタンパク量、肝チトクローム P450 の総量には軽微な変化しか認められなかった。

経口投与の項で引用した、1 群 4~6 例の雄性 Wistar ラットに 500~1,000 mg/kg の TBBP-A を単回腹腔内投与した試験の報告がある (Szymanska, 1995)。経口投与と同様に、投与 2、4、12、24、48、72、120 時間後に動物を安楽死させ、血清中のグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 活性、L-γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γ-GT) 活性、トリグリセライド (TG) 濃度と、肝臓のグルタチオン (GSH) 量、マロンジアルデヒド (MDA) 量を測定した。その結果は経口投与と同様で、有害な所見は報告されなかった。

急性毒性の要約

ヒトでの単回曝露の影響に関する情報はない。しかし、動物試験の結果、1 時間の吸入 LC₅₀、経口 LD₅₀、経皮 LD₅₀ は、それぞれ 1.3 mg/L 超、50 g/kg 超、10 g/kg 超であることが判明している。また、いずれの経路による曝露でも、毒性学的に意味のある全身毒性の徴候は明らかでなかった。したがって、すべての曝露経路について TBBP-A の急性毒性は低いと結論できる。

4.1.2.3 刺激性

皮膚

TBBP-A (0.5 g) をコーン油 0.5 mL で湿らせてアルビノウサギ 6 例の無傷部皮膚と擦過部皮膚に 24 時間閉塞適用した試験の報告がある (Hill Top Research, Inc., 1966)。適用から 24 および 72 時間後に発赤と浮腫の徴候について動物を観察した。その結果、いずれの動物のどちらの部位にも刺激性を示す所見は認められなかった。

同様に、別の皮膚刺激性試験では、New Zealand White ウサギ 6 例 (雌雄各 3 例) に TBBP-A を 0.5 g の用量で適用した (Pharmakon Laboratories, 1981f)。被験物質は生理食塩液で軽く湿らせ、これを各動物の擦過部 2 ヶ所と無傷部 2 ヶ所に 24 時間閉塞適用した。適用 24 時間および 72 時間後に発赤と浮腫の徴候について動物を観察した。その結果、刺激性を示す所見は認められなかった。

さらに別の皮膚刺激性試験では、アルビノウサギ 6 例の体幹背側部を剃毛し、TBBP-A を 0.5 g の用量で無傷皮膚の 3 例と擦過皮膚の 3 例に適用した (Israel Institute for Biological Research, 1978)。曝露は 24 時間の閉塞曝露とした。被験物質適用 24 および 72 時間後に、刺激性の徴候 (発赤、浮腫) について皮膚を観察し、Draize の評価基準に従ってスコア化した。その結果、無傷皮膚には刺激性の徴候はみられなかった。擦過皮膚の動物では 24 および 72 時間後の浮腫の平均スコアがそれぞれ 1 および 0、発赤の平均スコアがそれぞれ 0 および 0.3 であった。

適切に実施された 3 週間皮膚毒性試験では、TBBP-A (生理食塩液でペースト状にして適用) を New Zealand White ウサギの背部に 0、100、500 および 2,500 mg/kg/day の用量で 1 日 6 時間、週 5 日間投与した (International Research and Development Corporation, 1979)。各群には雌雄 4 例を用いて、皮膚に毎週 2 回傷をつけた。試験報告書では閉塞適用か、非閉塞適用かは不明であった。

毎日の適用期間の前後に皮膚刺激性の徴候をスコア化した。その結果、100 mg/kg の用量では、3 日目に非常に軽度の発赤が擦過皮膚の 1 例と無傷皮膚の 1 例に発現した。この発赤は、擦過皮膚の動物では合計 5 回の観察時に持続して、また無傷皮膚の動物では 4 回の観察時に持続して認められた。500 mg/kg の用量では非常に軽度の発赤が全動物に認められた。これらは一般に 2 日目に発現して 1~3 日間持続した。2,500 mg/kg の用量では非常に軽度の発赤が 8 例中 6 例に認められた。この発赤は大部分の動物では 1 日目に発現し、2 例では「数日間」、1 例では 10 日間、断続的に持続した。

TBBP-A を希釈せずにウサギ 1 例の腹部の無傷皮膚と擦過皮膚に、また Dowanol DPM (ジプロピレングリコールモノメチルエーテル) の 10%溶液として 2 例目のウサギの腹部の無傷皮膚と擦過皮膚に適用した用量設定試験の概要が報告されている (Biochemical Research Laboratory, 1958)。2 例目のウサギについては耳の無傷皮膚にも 10%溶液を適用した。擦過皮膚には被験物質を 3 日間連続で、無傷皮膚には 10 日間連続で適用した。試験デザインに関するそれ以上の情報は記載されていない。

非希釈の被験物質は無傷皮膚に何ら影響を与えなかった。試験報告書では擦過皮膚についても刺激性の影響はなかったと結論しているが、提示された試験データによれば痂皮形成と癒痕化が認められている。ただし、断定はできないものの、これらは TBBP-A 投与よりも擦過処置で直接生じた可能性が高い。一方、1 例の耳の無傷皮膚に適用した 10%溶液では、1 週目に「不規則な」充血が、2 週目に落屑が生じたが、耳は 14 日以内に正常に戻った。10%溶液では腹部の無傷皮膚への適用でも 2 週目に軽度～中等度の充血と落屑が生じた。試験報告書では擦過皮膚への適用について「基本的に」刺激性は認められなかったと結論しているが、非希釈の被験物質の場合と同様、提示された試験データによれば痂皮形成と癒痕化が認められている。ただし、断定はできないながら、これらも同様に擦過処置で直接生じた可能性が高い。

4.1.2.6 項に記載した TBBP-A による「臭素挫瘡」発現の可能性を検討する 28 日間皮膚毒性試験では、その一環として行なわれた予備的な皮膚刺激性試験において刺激性が発現しなかった最高用量は、TBBP-A 1,000 mg/ポリラン (Polylan) 1 mL であったと報告されている。この予備試験の他の詳細は報告されていない。

以上の結果、TBBP-A は皮膚に対して刺激性を有しないと結論できる。

眼

適切に実施された試験の詳細な報告がある。試験では、TBBP-A を 100 mg の用量で New Zealand White 種ウサギ 6 例 (雌雄各 3 例) の右眼結膜嚢に適用した (Pharmakon Laboratories, 1981c)。適用 1、24、48 および 72 時間後と 7 日後に眼を検査した結果、4 例の動物では 1 時間後に軽度の結膜発赤 (程度 1) が認められたが、24 時間後には観察されなかった。それ以外の眼の刺激性の徴候は他のいずれの時点でも認められなかった。

また、別の試験では 100 mg の TBBP-A を雄アルビノウサギ 6 例の右眼結膜嚢に適用した結果が詳細に報告されている (Israel Institute for Biological Research, 1978)。被験物質の適用前には眼を蛍光色素で染色し、既存の角膜病変がないことを確認した。適用 24、48 および 72

時間後と7日後に眼の反応の程度を記録した。さらに、72時間後と7日後には蛍光染色による眼の検査も実施した。その結果、被験物質の滴下後間もなく（正確な時間の記載なし）、軽度の流涙と結膜発赤が認められた。これらの症状は24時間後には完全に消失していたが、48時間後の結膜発赤の平均スコアは0.17、結膜浮腫は0.3、虹彩刺激は0.17であった。72時間後の平均スコアは結膜浮腫と虹彩刺激が0.17であった。7日後はいずれのスコアも0であった。

1966年に行なわれた試験では、100 mgのTBBP-Aをアルビノウサギ6例の左眼に適用した（Hill Top Research, Inc., 1966）。24、48、72時間後に刺激性の徴候について眼を検査した結果、結膜発赤の平均スコアはそれぞれ1.5、0.5、0.5であった。別の6例を用いて試験を実施したところ、結膜発赤の平均スコアはそれぞれ0.8、0.17、0であった。

TBBP-Aが眼の刺激性を有する可能性についてはさらに別の試験でも検討されている（International Bio-Research, Inc., 1967a）。試験では、被験物質3 mgをNew Zealand Whiteウサギ3例の左眼結膜嚢に適用し、適用後5分以内とその後1時間、4時間、さらに7日間毎日、眼の刺激性の徴候について動物を検査した（角膜病変の検出を容易にするため、蛍光色素を使用）。その結果、角膜、虹彩、結膜に刺激性の徴候はみられなかった。

TBBP-Aを希釈せずに、または10%水溶液としてウサギ2例（各試験条件につき1例を使用）の左右の眼に適用した用量設定試験の概要報告がある（Biochemical Research Laboratory, 1958）。各ウサギの右眼は洗眼し（洗眼時期の記載なし）、左眼は洗眼しないままとした。その結果、非希釈の被験物質では、洗眼した眼と洗眼しない眼の両方において非常に軽度の即時型結膜炎が発現した（グレード2、ただし、1時間以内にグレード1に軽減し、48時間以内に消失）。10%溶液では、洗眼した眼と洗眼しない眼の両方において「軽度の疼痛」、結膜炎、「角膜損傷」が3日間認められた。眼は1週間以内に完全に正常に戻った。

以上の結果、TBBP-Aは眼に対して刺激性を有しないと結論できる。

気道

気道の刺激性に関しては、14日間吸入試験から唯一の知見が得られている（試験の詳細については4.1.2.6項参照）。ただし、曝露濃度の高さと同物質分子に化学的反応性がないことを考えると、この試験でみられた刺激性の徴候は、非常に高濃度のダストに曝露されたことで生じた機械的刺激に起因するものである可能性が最も高いと解釈される（International Research and Development Corporation, 1975）。

刺激性の要約

TBBP-A の皮膚や眼に対する刺激性、また気道に対する感覚的な（機械的でない）刺激性の可能性に関するヒトの試験は報告されていない。

動物試験から得られた証拠の重み付けを考えれば、TBBP-A は皮膚刺激性物質や眼刺激性物質でない。

気道の刺激性に関しては、14 日間吸入試験から唯一の知見が得られている。しかし、用いた濃度の高さと当該物質分子に化学的反応性がないことを考えると、観察された徴候は化学物質による刺激ではなく、機械的刺激の直接的な結果である可能性が高い。したがって、TBBP-A は気道に対して刺激性を有するとは考えられない。

4.1.2.4 腐食性

先に示したデータから、TBBP-A が腐食性物質でないことは明らかである。

4.1.2.5 感作性

動物における試験

TBBP-A (0.5 g、エタノールで湿らせたもの) を雌 Hartley モルモット 10 例の剃毛した側腹部に閉塞適用した皮膚感作性試験の詳細な報告がある (Pharmakon Laboratories, 1981e)。試験区画を適用部位 3 ヶ所に分けて順に処理した。感作は 6 時間ずつ、9 回行ない (隔日で週 3 回、3 週間適用)、投与 7、24、48 時間後に適用部位を検査した。同時に、別の雌 10 例からなる陽性対照群は 1.0%2,4-ジニトロクロロベンゼンの 80%エタノール溶液で処理した。陽性対照群への処理法は試験群と同様にした。試験報告書には陰性対照群の使用に関する記載はない。

最終感作の 14 日後、感作に使用したものと同一濃度の TBBP-A と 2,4-ジニトロクロロベンゼンで惹起した。被験物質は感作部位への適用のほか、さらに 1 ヶ所 (位置は記載されていないが、おそらく感作部位から離れた箇所) に適用した。初回惹起の 48 時間後に再惹起した。各惹起の 7、24、48 時間後に適用部位を観察し、惹起時にみられたあらゆる皮膚反応を、感作時にみられたものと比較した。

陽性対照群では初回および再惹起時に陽性反応が出現した。TBBP-A 曝露群では、感作時に

も惹起時にも刺激性は認められなかった。

本試験は陰性対照がない点で批判される余地があるが、試験結果が陰性であったことから、そのような批判にはあまり意味がない。さらに、陽性対照群でみられた反応と、非希釈の被験物質を感作で 9 回、惹起で 2 回、動物に処理したという事実（これらは感作性反応の検出感度を高める要因と考えられる）からも陰性結果の妥当性が裏付けられる。

雄アルビノモルモット 12 例を用いて TBBP-A の皮膚感作性を特殊な方法で評価した結果が比較的詳細に報告されている (International Research and Development Corporation, 1978b)。モルモットを被験物質投与群 8 例と陽性対照群 4 例の 2 群に分け、被験物質 (0.1%TBBP-A の 0.9%塩化ナトリウム溶液) または陽性対照物質 (0.1%の 2,4-ジニトロ-1-クロロベンゼンの 0.9%塩化ナトリウム溶液) を右側腹部の剃毛した区域に皮内投与した。また、別に動物群を設ける代わりに、陰性対照 (0.9%塩化ナトリウム溶液) を 12 例すべての左側腹部の剃毛区域に注射した。被験物質と対照物質の注射は隔日 (週 3 回) に行ない、各動物が 10 回感作投与を受けるまで続けた。注射の 24 時間後と 48 時間後に、注射部位にみられた発赤の直径と強さおよび浮腫の高さをスコア化した。

最終感作投与の 2 週間後、皮内に惹起投与を行ない (惹起濃度が感作濃度と同じであったか否かは試験報告書では不明)、その 24 時間と 48 時間後に惹起に対する反応をスコア化した。惹起時のスコアが 10 回の感作投与時の平均スコアより大きい場合に、被験物質はその動物における感作性物質であるとみなした。

被験物質投与群では 3 例で感作部位に軽度の皮膚反応がみられたが、惹起部位に皮膚反応を示した動物はいなかった。これに対し、2,4-ジニトロ-1-クロロベンゼンを投与した全動物では、惹起部位において、感作部位で観察されたものより重度の発赤と浮腫が認められた。いずれの動物も塩化ナトリウム溶液のみによる感作および惹起部位には皮膚反応はみられなかった。なお、この試験結果は陰性であるが、これが偽陰性である可能性は排除できない。感作時には 3 例を除くいずれの動物にも被験物質による皮膚反応が生じなかったが、被験物質の反応性を最大にするには、感作時の用量は刺激反応を引き起こすのに十分なものでなければならない。

ヒトにおける試験

Draize の反復投与法の変法を用い、TBBP-A (濃度 50~70%) を 3~5 mg の用量で被験者 54 人の上腕に閉塞適用した (International Research and Development Corporation, 1978d)。TBBP-A は水と混ぜて「濃厚スラリー(訳注：泥状懸濁液)」とし、ペースト状にして隔日または 3 日

に1回（適用時間48～72時間）、計10回適用した。各適用では同じ部位を用いた。適用時間終了時に残存被験物質があれば拭き取り、皮膚反応の有無について適用部位を検査した。10回目の適用の10～14日間後、被験者に被験物質を48時間再曝露させた。この惹起投与には別の部位（位置の記載なし）を用いた。適用48および72時間後にこの部位の皮膚反応を検査した。

感作期間中、1例の被験者で適用後に低グレードの発赤または「疑わしい」反応がみられた（「疑わしい」反応とは、存在自体が疑わしいもの、または真の刺激性反応でないと考えられるものと定義されていた）。さらに別の3例の被験者でも「疑わしい」反応がみられた。惹起期間後には、1例の被験者でパッチをはずした時に低グレードの発赤が認められたが、試験の著者によるとこれはテープによって刺激性反応が増悪したものと考えられた。結論として、この試験結果はTBBP-Aがこれら54人の被験者において皮膚感作性物質でなかったことを示している。

呼吸器感作性

有効なデータは得られていない。

感作性の要約

現時点で入手可能なヒト反復投与試験では、TBBP-Aが皮膚感作性物質であることを示す知見は得られていない。また、TBBP-Aの広範な職業的使用にもかかわらず、皮膚感作性の症例報告はない。同様に、広範な職業的使用にもかかわらず、呼吸器感作性の症例報告もない。

2つの動物試験にはともに方法論的な弱点はあるものの、感作性は適切に評価されたと考えられる。したがって、動物試験からもTBBP-Aは皮膚感作性物質ではないと考えられる。TBBP-Aの呼吸器感作性について検討した動物試験はないが、明らかな皮膚感作性がみられないこととその総体的な非反応性から、TBBP-Aは呼吸器感作性物質でないことが示唆される。

一連の知見をすべて考慮すると、TBBP-Aの感作性は適切に検討されたものとみなすことができ、TBBP-Aはヒトにおいて皮膚感作性物質でも呼吸器感作性物質でもないと考えられる。

4.1.2.6 反復投与毒性

動物における試験

吸入

14日間吸入試験で、TBBP-Aのダストを2、6および18 mg/Lの濃度で含む空気をラット（系統の記載なし）に1日4時間、週5日ずつ、2週間にわたって全身曝露させた（粒子の大きさに関する情報の記載なし）（International Research and Development Corporation, 1975）。対照群の動物には同じ方法で空気のみを曝露させた。4群（3投与群と対照群）それぞれについて雌雄各5例を使用した。曝露期間前、曝露期間中、曝露期間直後に動物の行動と外観の変化を観察した。14日目に対照群と6および18 mg/L群の動物から血液および尿試料を採取し、血液生化学的検査と尿検査を行なった。その後、すべての動物を安楽死させて剖検した。6および18 mg/L群については様々な組織を病理組織学的検査に供した。

6および18 mg/L群では、過度の流涎と透明鼻汁が全動物で、ポルフィリン性の鼻汁と過度の流涙が大多数の動物で認められた。これらの観察所見には用量依存性があり、2 mg/L群では過度の流涎が唯一の毒性徴候で、かつ約50%の動物に時折認められたのみであった。TBBP-A分子に化学的反応性がないことを考えると、全体的にみて、これらの影響は高濃度のダストによる機械的刺激に起因する可能性が最も高い。試験期間中に動物の死亡はなく、体重と摂餌量は対照群と投与群で同様であった。また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査の各項目に投与による変化はみられなかった。

肉眼的剖検では被験物質による病変は認められなかった。肝臓の平均絶対および相対重量が雌のみ3投与群すべてで減少した（絶対重量は2、6、18 mg/L群でそれぞれ対照群の値の86%、87%、87%、相対重量は同じく84%、82%、83%）と報告されているが、用量反応関係はみられなかった。また、統計学的に有意であったのは相対重量の減少のみであった。同様に、甲状腺/上皮小体の平均絶対および相対重量が雄の3投与群すべてで軽度増加したが、これは統計学的に有意でないか、用量に関連していなかったため、毒性学的に意味がないと考えられた。肝臓、甲状腺/上皮小体、および検査したその他のいずれの組織にも被験物質による病理組織学的変化は認められなかった。

結論として、投与による全身毒性を示す所見は高用量である18 mg/Lまで認められなかった。ただし、おそらく非常に高濃度のダストによる機械的刺激の結果として、眼と上部気道の局所的刺激を示す所見がすべての用量で認められた。

経口

TBBP-A の亜慢性毒性を GLP と経済協力開発機構 (OECD) のガイドラインに従って評価した試験がある (MPI Research, 2002a)。試験では、TBBP-A を 0、100、300 および 1,000 mg/kg/day の用量でコーン油を溶媒としてラットに 13 週間毎日強制経口投与した。用量は前回試験のデータに基づいて設定した。100 および 300 mg/kg 群には雌雄各 10 例、0 および 1,000 mg/kg 群には雌雄各 15 例を使用した (0 および 1,000 mg/kg 群の雌雄各 5 例については投与後 6 週間にわたって評価した)。動物の生死、損傷、および飼料と飲水の摂取が可能かどうかを毎日観察し、詳細な身体検査/一般状態観察と神経行動学的評価、および体重と摂餌量の測定を毎週行なった。詳細な機能観察総合評価 (FOB) を試験前と 12 週時に行ない、12 週時には自発運動量 (MA) も評価した。眼科学的検査を試験前、13 週時および投与後の回復期間終了時に実施した。13 週時と投与後の回復期間終了時には、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量測定、病理学的検査 (肉眼的および病理組織学的検査) も実施した。加えて、甲状腺ホルモン濃度を 33 日目 (約 5 週)、13 週時、回復期間終了時に測定した。

試験期間中、雌 5 例が死亡した。内訳は 1,000 mg/kg 群 3 例、対照群 2 例であった。また、1,000 mg/kg 群では 4 例目の雌が切迫殺された。1,000 mg/kg 群の動物の剖検所見から、これらの死亡は被験物質によるものではなく、投与時の損傷の結果であることが示唆された。他の動物はすべて計画安楽死まで生存したが、雌 6 例 (対照群 2 例、100 mg/kg 群 1 例、300 mg/kg 群 1 例、1,000 mg/kg 群 2 例) は最終採血直後に死亡した。しかし、用量反応関係がみられないため、これらの死亡が投与によるものとは考えられない。

毎週の観察と FOB では、TBBP-A 投与による神経行動学的影響は認められなかった。自発運動量の評価でも毒性学的に意味のある投与の影響は認められず、体重増加量にも影響はなかった。一つ以上の投与群において、摂餌量が対照群より統計学的に多い週が投与期間中数回認められたが、一時的であり、用量との関連性もなかったため、投与によるものではないと考えられる。眼科学的検査では投与による影響は認められなかった。

血液学的検査において投与動物と対照動物の間にみられた唯一の差は、血小板数が試験終了時に 1,000 mg/kg 群の雄で統計学的に有意に低かったことであった (-17%)。しかし、回復期間終了時の対照群と投与群の値は同程度であり、また雌ではいずれの時期にも差はみられなかった。したがって、血小板数におけるこの単発性の差は TBBP-A によって生じたものではないと考えられる。

血液生化学的検査では、総ビリルビン値が試験終了時に 1,000 mg/kg 群の雌雄と 300 mg/kg

群の雌で対照群より統計学的に有意に高かった (2~3 倍)。1,000 mg/kg 群の雌の血清アルカリフォスファターゼ (ALP) 値も対照群より統計学的に有意に高かった (1.7 倍)。しかし、回復期間終了時には対照群と投与群のビリルビンおよび ALP 値は同程度であった。肝毒性を示す他の血液生化学的指標 (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) など) には投与群と対照群間に差がないこと、また病理組織学的検査で肝障害を示唆する所見がない (後述) ことから、これらの血液生化学的検査項目は毒性反応を示したものではないと結論される。尿検査項目には群間の差はなかった。

甲状腺ホルモン分析の結果、対照群と投与群の血清 TSH および T3 濃度は雌雄とも全時点で同程度であった。一方、平均血清 T4 濃度の統計学的に有意な減少が雄の全用量群において 33 日目 (0、100、300、1,000 mg/kg 群でそれぞれ 5.0、3.7、3.4、3.4 ng/dL) と 90 日目 (0、100、300、1,000 mg/kg 群でそれぞれ 5.0、3.3、2.6、3.0 ng/dL) の双方で認められた。しかし、これらの減少には用量反応関係がみられなかった。また、30 日間の回復期間後の血清 T4 濃度は対照群の雄と高用量群の雄で同程度であった。雌では平均血清 T4 濃度の統計学的に有意な減少が全投与群の動物において 33 日目に認められた (0、100、300、1,000 mg/kg 群でそれぞれ 4.3、3.3、3.2、3.3 ng/dL)。しかし、この減少にも用量反応関係がみられなかった。平均血清 T4 濃度は 90 日目には対照群と投与群の雌で同程度になり、30 日間の回復期間後も対照群と高用量群の雌の値は同程度であった。

300 および 1,000 mg/kg 群の雄では脾臓の絶対重量が対照群に比較して統計学的に有意に減少した (それぞれ-15%と-18%)。しかし、30 日間の回復期間後には、対照群の雄と 1,000 mg/kg 群の雄の脾臓の絶対重量は同程度であった。脾臓の相対重量には投与動物と対照動物との間に差はなく、また雌の脾臓重量には投与による影響は認められなかった。加えて、脾臓の病理組織学的検査では投与による所見は観察されなかった。以上を考慮すると、雄の脾臓重量におけるこれらの変化は毒性学的に意味のない偶発的所見である可能性が高い。300 mg/kg 群では対照群に比較して精巣上体の平均相対重量が統計学的に有意に高かったと報告されている (+13%)。しかし、高用量群ではこのような増加はみられず、病理組織学的検査でも投与による影響は認められなかった。したがって、この重量の変化は毒性学的に意味のない偶発的所見である可能性が高い。

投与群の雌雄では、上記以外に臓器重量 (肝臓と甲状腺/上皮小体を含む) の統計学的に有意な変化は報告されていない。また、病理組織学的検査 (肝臓、甲状腺、上皮小体、下垂体を含む) でも、投与による明らかな所見は雌雄いずれにも認められなかった。

この試験で認められた唯一の重要な所見は、投与群の雄で 33 日目と 90 日目に、また投与

群の雌で 33 日目に認められた血清 T4 濃度の減少である。しかし、同所見には用量反応関係が認められず、雌では持続性もなかった。また、雌雄とも血清中の TSH や T3 濃度には統計学的に有意な変化はなかった。さらに、肉眼的および病理組織学的検査では、肝臓、甲状腺、上皮小体、下垂体に投与による変化は認められなかった。雄における血清 T4 濃度の減少は 33 日目から 90 日目まで持続したが、仮にこれを毒性学的に意味のある事象と考えたと、甲状腺ホルモン濃度の異常に対するラットの感受性を考えれば、甲状腺のホメオスタシスにかかわる他の項目も同期間中に影響されると予想される。しかし、これは明らかに当てはまらない。

試験の著者らは、血清 T4 濃度の減少を説明できる可能性のあるメカニズムを示唆している。TBBP-A はトランスサイレチン (TTR、*in vitro* でラットにおける主要 T4 結合タンパク) と結合した T4 を置換することが示されており、仮にこれが *in vivo* で起きれば、置換後の T4 は代謝を受けて排出され、T4 濃度は減少するであろう。しかし、*in vivo* で TBBP-A が TTR と結合することは示されていない (Meerts et al., 1999)。また、T4 の代謝と排出の増加は肝臓に変化を生じさせたはずであるが、明らかにそのような変化は認められなかった。したがって、このメカニズムは観察された変化を正しく説明するものとは考えられない。

現時点では、報告された血清 T4 濃度の減少を説明できるメカニズムはない。しかし、用量反応関係がみられないことと、他に甲状腺に関連した意味のある変化がないことから、この減少は有害であるとは考えられない。したがって、この試験では高用量である 1,000 mg/kg/day まで、毒性学的に意味のある明らかな有害影響は認められなかったといえる。

適切に実施された 90 日間試験では、Sprague-Dawley ラットに TBBP-A を 0、0.3、3、30 および 100 mg/kg/day の用量で混餌投与した (The Dow Chemical Company, 1975)。0 および 3 mg/kg 群には雌雄各 21 例、残りの 3 群には雌雄各 7 例を使用した (0 および 3 mg/kg 群は雌雄各 6 例の回復群を含んでいたため、動物数が多かった)。

動物の外観と行動を週数回観察し、体重と摂餌量も定期的に測定した。86 日目に对照群と 100 mg/kg 群から血液および尿試料を採取して、血液学的検査項目と尿検査項目を測定した。

90 日目に各群雌雄 7 例ずつについて一晩絶食後の体重を測定した後、安楽死させた。安楽死させた全動物について肉眼病理学的検査を行なった。各群雌雄 5 例ずつの臓器重量を測定し、様々な組織切片について病理組織学的変化の有無を検査した。残りの各群雌雄 2 例ずつからは肝臓、腎臓、骨格筋、脂肪、および血清試料を採取し、臭素の分析を行なった (結果については 4.1.2.1 項参照)。0 および 3 mg/kg 群からは 10、20、30 および 60 日目に

さらに雌雄 2 例ずつを安楽死させ、同じ組織から試料を採取して臭素の分析を行なった。0 および 3 mg/kg 群の残りの 12 例（雌雄 6 例ずつ）には対照飼料からなる回復用飼料を給餌し、このうち各群雌雄 2 例ずつを 100 日目に、同じく 2 例を 111 日目に、2 例を 132 日目に安楽死させた。これらの動物から肝臓、腎臓、骨格筋、脂肪、および血清試料を採取し、臭素濃度を測定した。臭素濃度分析用に安楽死させた全動物について、肝臓および腎臓重量を測定した（臭素分析に用いた方法の技術的な詳細については報告なし）。

投与による死亡はなく、試験期間を通じて外観や行動の変化もみられなかった。対照群と投与群の間には体重に関して有意差はなく、摂餌量にも投与による差はなかった。100 mg/kg 群の雌では軽度ながら統計学的に有意なヘマトクリット値の減少がみられたが、Sprague-Dawley ラットの正常範囲内に留まっていたことから、毒性学的に意味がないと考えられる（同群では赤血球数も軽度に減少したが、統計学的に有意ではなかった）。100 mg/kg 群の雌では、対照群の動物に比較して、血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼの統計学的に有意な減少（-17%）も認められたが、関連する病理学的変化がなかったことから、同変化は生理学的または毒性学的に意味のないものと考えられる。投与による肉眼病理学的変化や病理組織学的変化は認められなかった。

結論として、この試験では TBBP-A を 100 mg/kg/day までの用量で反復混餌曝露しても有害な影響は認められなかった。

ラット（系統の記載なし）に TBBP-A を 0、1、10、100 および 1,000 ppm（雄ではそれぞれ約 0.07、0.7、7.2、75 mg/kg/day、雌ではそれぞれ約 0.07、0.77、7.4、72 mg/kg/day）の用量で混餌投与した限定的な 28 日試験の報告がある（International Research and Development Corporation, 1972）。各群には雌雄 25 例ずつを使用し、4 週間の被験物質投与後と投与終了から 2、6 および 12 週間後に各群から雌雄 5 例ずつを安楽死させ、肉眼病理学的検査を行なった。また、4 週時に安楽死させた動物の肝臓、腎臓、甲状腺の切片についてのみ病理組織学的検査を行なった。さらに、4 週時には対照群の動物と 1,000 ppm 群の動物から採取した肝臓および脂肪試料について臭素分析も実施した（4.1.2.1.項参照、臭素分析に用いた方法の技術的な詳細については報告なし）。

試験期間中、投与に関連した毒性徴候は認められず、剖検でも投与による病変（肉眼的または組織学的病変）や臓器重量の変化は観察されなかった。

また、TBBP-A を雄性 Sprague-Dawley ラットに 4 週間毎日強制経口投与した試験結果の報告がある（Sato et al., 1996）。雄 3 例で構成される 6 群には 0、0.1、0.3、1.0、3.0 および 10 mg/kg の用量で投与し（「低用量」試験）、また別の雄 3 例で構成される 6 群には 0、10、30、100、

300 および 1,000 mg/kg の用量で投与した（「高用量」試験）。溶媒にはジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた。各動物の体重を毎日測定し、16 日目まで 2~4 日間隔で採血してヘマトクリット値を求めた。4 週間後に動物を安楽死させて採血した。血中尿素窒素濃度とコリンエステラーゼ活性を測定し、腎臓と肝臓を秤量した。高用量試験では凝固時間とコレステロール濃度も測定した。病理組織学的検査は行なわなかった。

高用量試験では、11 日目以降、1,000 mg/kg 群において統計学的に有意な体重増加量抑制（-15%以上）が認められ、28 日目には全群で統計学的に有意な、用量に関連した体重増加量抑制が観察された。グラフデータによれば、28 日目の変化は 10 mg/kg 群の約 10%から 1,000 mg/kg 群の 25%の範囲であった。低用量試験では、20 日目以降、0.3、1.0 および 10 mg/kg 群において統計学的に有意な体重増加量抑制が認められた。グラフデータによれば、3 群における抑制はいずれも約 15%であった。摂餌量と摂水量の減少は認められなかった。臓器重量には毒性学的に意味のある差はなく、試験期間中、死亡や毒性を示す症状もなかったと報告されている。

2 または 6 日目以降、10~1,000 mg/kg 群で統計学に有意なヘマトクリット値の低下が明らかであった。ただし、このうち 300 mg/kg 未満の群ではその後回復が認められた。この低下には用量との関連性がなく、値もラットにおける正常範囲内であったことに注意すべきであり、したがって、これらは毒性学的に意味がないと考えられる。その他、毒性学的に意味のある影響は認められなかった。

結論として、この試験結果からは、毒性学的に意味のある可能性を有する影響は 0.3 mg/kg 以上で認められた体重抑制のみであることが明らかであった。しかし、同所見は他の試験と一致しない。また、この試験報告の不完全さを考えると、同所見よりもより確実性のある試験と透明性のあるデータの方を採用すべきである。

TBBP-A の反復曝露が動物の肝臓に与える影響の評価を目的にした試験が、特にヘム代謝に対する影響に注意を払って行なわれた（Szymanska et al., 2000）。試験には Wistar ラットが用いられた。予備試験では雌雄ラット（群の大きさの記載なし）に TBBP-A を 375、750 および 1,125 mg/kg の用量で 7 日間毎日強制経口投与したが、その結果からは得るところがなかった。本試験では雌ラット（各群 4~5 例）に TBBP-A を 10、50 および 250 mg/kg の用量で 7、14、21 および 28 日間毎日強制経口投与した。対照群の動物（各群 3~4 例）にはヒマワリ油を強制経口投与するか、または無処置とした。最終投与 24 時間後に動物を安楽死させた。

肝毒性の指標として、血清中のアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、トリグリセラ

イド (TG) および L- γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GT) 値、肝臓のチトクローム P-450 総量、ならびに肝臓のグルタチオン (GSH) およびマロンジアルデヒド (MDA) 量を用いた。ヘム合成障害の指標としてはポルフィリン類 (8-, 7-, 6-, 5-, 4-カルボキシポルフィリン) の尿中排泄量を用い、また間接的な指標として 5-アミノレブリン酸合成酵素 (ALA-S)、5-アミノレブリン酸デヒドラターゼ (ALA-D)、5-アミノレブリン酸の尿中排泄量 (ALA-U) を用いた。異化活性は肝臓のヘムオキシゲナーゼ活性 (HOx) により求めた。さらに、光学顕微鏡を用いて肝臓の組織像を評価した。

本試験では尿および血液検査項目に軽度な群間の差が認められたが、用量との関連性がなく、統計学的、毒性学的にも意味のある変化ではなかった。

尿中ポルフィリン濃度には明らかな増加傾向が認められたが、その傾向はやや不規則であった。唯一の確実な所見は、250 mg/kg 群で 14 日目にみられた 4-カルボキシポルフィリンを除くすべてのポルフィリン類の統計学的に有意な増加であった (対照群と比較して+30~35%)。しかし、21 日目には値は対照群とほぼ同じになった。このため、これは偶発的な所見と考えられる (真の影響ならば持続しているはずである)。ヘム合成障害を検討するための他の測定項目、異化活性、肝毒性の指標には、上記以外の統計学的に有意な変化は報告されなかった。また、病理組織学的検査では壊死性変化はみられなかったようであり、他の詳細については記載されていない。

ある試験はデータが不十分であり、ほとんど得られる情報がないが、種々の臭素系難燃剤の肝毒性について評価されており、その一つが TBBP-A であった (Szymanska, 1995)。試験では 1 群 4~6 例の雄性 Wistar ラットに 500~2,250 mg/kg の TBBP-A を経口経路により 3~7 回反復投与した (投与間隔と用量群数の記載なし。なお、500~1,000 mg/kg の TBBP-A の経口および腹腔内経路による単回投与も行なわれている。4.1.2.2 項参照)。対照群の動物には投与しないか、またはヒマワリ油を投与した。

最終投与 24 時間後に動物を安楽死させ、血清中のグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 活性、L- γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GT) 活性、トリグリセライド (TG) 濃度と、肝臓のグルタチオン (GSH) 量、マロンジアルデヒド (MDA) 量、ALA-S 活性、ALA-D 活性を測定した。肝臓については壊死性変化の有無も検査した。

TBBP-A の影響については、 γ -GT 活性、TG 濃度、GSH 量に投与の影響がなかったことを除き、ほとんど報告がない。1,000 mg/kg の 3 回投与後に血清 GPT 活性の増加が認められたが、その反応の程度も、それが統計学的に有意な増加であったかどうかも報告されていない。1,000 mg/kg より高用量、または低用量における血清 GPT 活性については報告がなく、

このため同所見単独ではその意義が不明である。また、1,100 mg/kg の 7 回投与後に肝臓で MDA 量が 2~3 倍に増加したと記載されているが、これについても他の用量の情報が報告されておらず、このため同所見単独ではその意義が不明である。さらに、TBBP-A 投与により ALA-D 活性が統計学的に有意に低下したと述べられているが、これを裏付けるデータは示されておらず、その意義は不明である。

この試験では方法と結果の詳細が欠如しているため、ここから明確な結論を導くことは不可能である。

同様に、データが不十分であるものの、TBBP-A の腎臓に対する影響について検討した試験では、被験物質を 10、50 および 250 mg/kg の用量でヒマワリ油を溶媒にして雌 Wistar ラットに 7、14、21 および 28 日間毎日強制経口投与した結果が報告されている（各投与群の動物数の記載なし）（Frydrych and Szymanska, 2001）。対照群としては溶媒（ヒマワリ油）対照群と無処置対照群の 2 群を設けた。最終投与後 24 時間にわたって動物を代謝ケージに入れ、尿試料を採取した。動物の安楽死の時期や方法については報告がないが、腎臓と血液を採取したことが報告されている。試験では、血清中のクレアチニンおよび尿素濃度、腎臓の GSH 量、尿中の尿素およびタンパク濃度、ならびに尿中の上皮細胞数（アジスカウント-尿沈渣定量検査）を求めた。

試験の結果、用量に関連した、または毒性学的に意味のある影響は認められなかった。

ラットにおける 28 日間経口毒性試験が EU の FIRE プロジェクトの一環として行なわれていることが分かっているが、現時点では試験報告書を入手できていない。

経皮

適切に実施された 3 週間皮膚毒性試験では、TBBP-A（生理食塩液でペースト状にして適用）を New Zealand White 種のウサギ背部に 0、100、500 および 2,500 mg/kg の用量で 1 日 6 時間、週 5 日間投与した（International Research and Development Corporation, 1979）。各群には雌雄 4 例ずつを用いた。各群 4 例のウサギの投与部皮膚には毎週 2 回傷をつけた。また、被験物質を摂取しないようにカラーを使用した（試験報告書では閉塞適用か、非閉塞適用かは不明）。

毒性徴候の有無について毎日動物を観察した。また、適用期間の前後に皮膚刺激性の徴候をスコア化した。毎週体重を測定し、試験前と 3 週時に血液学的/血液生化学的検査項目と尿検査項目を検査した。

行動、外観、生存率には被験物質による毒性を示す変化は認められなかった。また、明らかな刺激性の徴候もみられなかった（詳細は 4.1.2.3 項参照）。体重変化は全群で同様であり、血液学的/血液生化学的検査項目と尿検査項目に投与による変化はなかった。

投与期間終了時に動物を安楽死させ、剖検後、対照群と 2,500 mg/kg 群の一部の組織を病理組織学的検査に供した。剖検と病理組織学的検査において、毒性学的に意味のある、被験物質に関連した病変はみられなかった。

皮膚における「臭素痤瘡」（塩素痤瘡の類似病変）発現の可能性を検討するようにデザインされた反復経皮曝露試験がある（Pharmakon Laboratories, 1981d）。この試験では、0.5、5 および 50%の TBBP-A ポリラン（Polylan）溶液 0.1 mL を 3 群のウサギ（New Zealand White 種、各群雌雄 2 例ずつ）の片側の耳道に週 5 日、4 週間にわたって適用した。高用量である 50%TBBP-A ポリラン溶液（ポリラン 1 mL 中に TBBP-A 1,000 mg を含む）は、予備的な皮膚刺激性試験において刺激性が認められなかった最高用量であったと報告されている。なお、対側の耳を対照として用い、ポリラン 0.1 mL を適用した。被験物質の投与前と投与 7、14、21 および 28 日後に「臭素痤瘡」の発現の有無を記録し、試験終了時には全動物について肉眼的剖検を行なった。その結果、低用量群の 1 例で 7 日目に軽度の「臭素痤瘡」反応がみられた以外、他の動物にはその他の反応は認められなかった。また、肉眼的剖検でも投与による所見または毒性学的に意味のある所見は認められなかった。

この試験結果から、TBBP-A は「臭素痤瘡」を引き起こす物質ではないと考えられる。この試験で検討された皮膚反応の型は、実験用げっ歯類を用いた通常の反復曝露試験では検出できないが、ウサギの耳またはヌードマウスモデルを用いて検出することができる（Klien-Szanto et al., 1991）。本試験は、TBBP-A と塩素痤瘡を生じさせるダイオキシンとの間に、ある程度の構造類似性があるため実施されたものと推察される。

反復曝露の要約

ヒトでの TBBP-A の反復曝露による影響に関する情報はないが、その影響はラットとウサギを用いた反復曝露試験において評価されている。

反復吸入毒性試験は 1 試験しかない。その試験では、ラットを 18 mg/L までの濃度で 1 日 4 時間、14 日間にわたって曝露したが、被験物質による毒性学的に意味のある全身性の影響はみられなかった。6 mg/L 以上では気道に局所刺激の徴候が認められたが、TBBP-A 分子に化学的反応性がないことを考えると、非常に高濃度のダストを含む空気を吸入したことの物理的な影響に起因する可能性が最も高く、したがって、毒性学的な意味はないと推察さ

れる。

GLP と OECD のガイドラインに従って行なわれた 90 日間試験では、1,000 mg/kg までの用量の経口曝露で毒性学的に意味のある影響は認められなかった。これは他の試験の結果によっても裏付けられた。

唯一の通常型反復経皮曝露試験では、ウサギに 2,500 mg/kg までの用量を投与したが、毒性学的な意味のある、被験物質による影響はみられなかった。

さらに、TBBP-A は「臭素痤瘡」（塩素痤瘡の類似病変）を生じる物質ではなかった。

他の加盟国の意見

ラットで観察された T4 濃度減少のヒトの健康影響評価における意義に関する懸念がいくつかの国から提示された。しかし、大多数の加盟国は、これらの影響は有害とは考えられないという英国の見解（上述）に合意した。

4.1.2.7 変異原性

In vitro 試験

細菌／酵母系

復帰突然変異試験

TBBP-A を含む 270 の化学物質の変異原性を、ネズミチフス菌と哺乳類のマイクロソームを用いたプレインキュベーション変法によって詳細に調べた試験がある（Mortelmans et al., 1986）。試験では、ネズミチフス菌の菌株 TA1535、TA1537、TA98、TA100 を用い、Aroclor 1,254 で誘導したラットとハムスターの代謝活性化系の存在下と非存在下で化学物質を調べ、評価した。TBBP-A の濃度を 0、100、333、1,000、3,333 および 10,000 µg/プレートとしたところ、細胞毒性はみられなかったが、1,000 µg 以上で析出が生じた。なお、代謝活性化の存在下と非存在下での溶媒対照と陽性対照を設けた。その結果、TBBP-A の変異原性は陰性であった。さらに 2 回目の試験を別に行ない、この試験結果の妥当性を確認した。溶媒対照と陽性対照では適切な反応が認められた。

TBBP-A の変異原性を酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D3 とネズミチフス菌 6 菌株 (TA92、TA98、

TA100、TA1535、TA1537、TA1538) を用い、いずれも代謝活性化の存在下と非存在下で検査した (The Dow Chemical Company, 1985)。その結果、細菌を用いた試験では TBBP-A 濃度 5、10、50、100、500 および 1,000 μg /プレートにおいて、酵母を用いた試験では TBBP-A 濃度 0.01 および 0.0075%において、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。より高濃度では毒性としてコロニー数の減少が認められた。溶媒対照と陽性対照では適切な反応が認められた。

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D3 とネズミチフス菌 (TA92、TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) に TBBP-A を 0.1、1、19、100 および 500 μg /プレートの濃度で DMSO を溶媒として曝露したとき、TBBP-A の変異原性は代謝活性化の存在下、非存在下ともに陰性であった (Velsicol Chemical Company, 1977)。

ある Ames 試験では、TBBP-A はネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 において、濃度 1、10 および 100 μg /プレート (溶媒は DMSO を使用) で、代謝活性化の存在下、非存在下ともに陰性であったことが概要のみ報告されている (Israel Institute for Biological Research, 1978)。

これも概要のみ報告されている別の Ames 試験では、TBBP-A は酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D4、D3 とネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA1538、TA92、TA98、TA100 において、濃度 0.25、0.5、5 および 50 μg /プレート (溶媒は DMSO を使用) で、代謝活性化の存在下、非存在下ともに陰性であった (Litton Bionetics, Inc., 1976)。

TBBP-A の変異原性は、さらに 2 試験でネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 を用いて評価されている (Ethyl Corporation, 1981)。最初の試験は、濃度を 0.005、0.015、0.05、0.15 および 0.5 mg /プレートとし、代謝活性化の存在下と非存在下で 3 回実施された。試験では陽性対照と溶媒対照も使用された。その結果、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。高濃度では毒性が明らかであった。また、陽性対照と陰性対照の結果は許容範囲内であった。

2 回目の試験については概要のみ報告されており、TBBP-A 濃度 0.001、0.003、0.01、0.3 および 0.1 mg /プレートにおいて、代謝活性化の存在下、非存在下ともに復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

TBBP-A については *in vitro* の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験が適切に実施かつ報

告されている (BioReliance, 2001)。試験ではヒト末梢血リンパ球 (HPBL) を用い、Aroclor で誘導した S9 活性化系の存在下と非存在下での評価が行なわれた。溶媒としては DMSO を用いた (被験物質は DMSO に 500 mg/mL の濃度まで可溶)。

予備的な毒性試験を実施して本試験での濃度を設定した後、HPBL の培養細胞に TBBP-A を 2 系列で曝露した。細胞の曝露は S9 活性化系存在下と非存在下で 4 時間、また S9 活性化系非存在下で 20 時間とした。染色体異常評価のための最高濃度は、少なくとも 50% の毒性 (分裂阻害に基づき測定) を示す濃度に設定した。4 時間曝露試験における TBBP-A の用量は、代謝活性化非存在下で 0、6.25、25 および 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、同存在下で 0、3.125、12.5 および 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。20 時間曝露試験における TBBP-A の用量は 0、6.25、25 および 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。20 時間後に細胞を回収した。すべての試験において適切な陽性対照と陰性対照を設けた。少なくとも 200 個 (2 系列の処理条件のそれぞれについて 100 個) のよく広がった分裂中期細胞を検査し、染色分体型異常と染色体型異常をスコアした。

構造異常や数的異常を示す分裂中期細胞の割合には、いずれの濃度の TBBP-A においても、溶媒対照と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。また、溶媒対照と陽性対照では予期したとおりの反応が認められた。したがって、この試験では TBBP-A は染色体の構造異常や数的異常を誘発しなかったと結論することができる。

哺乳類細胞を用いた遺伝子内組換え

TBBP-A を含む多くの臭素系難燃剤の哺乳類細胞における遺伝子内組換え能を *in vitro* の Sp5/V79 および SPD8 組換え試験を用いて評価した (Helleday et al., 1999)。これらの試験で用いたクローンでは *hprt* 遺伝子が重複しており、このため機能しない HGPRT タンパクが作られる。両試験では、変異遺伝子から機能性の表現型を持つ *hprt* 遺伝子への復帰変異の頻度を被験物質が増加させるかを調べ、これにより被験物質の遺伝子内組換え能を評価するものである。

SPD8 試験では 0、5、10、20、30 および 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (溶媒は DMSO を最終濃度 0.2%として使用) の用量で、Sp5 試験では 0、10、20、40 および 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (溶媒は DMSO を最終濃度 0.2%として使用) の用量で、細胞を TBBP-A と 24 時間培養した。このうち 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では被験物質の析出が認められた。細胞毒性の指標としてクローニング効率と増殖抑制を評価した。

TBBP-A は SPD8 試験と Sp5 試験のいずれにおいても、いくらかの毒性 (30~50% の増殖抑制) が生じる用量において復帰変異コロニー数を増加させなかった。陽性対照に使用した

カンプトテシン (100 ng) の影響に関するデータは示されていない。

In vivo 試験

データは得られていない。

変異原性の要約

細菌株 (Ames 試験) と酵母を用いた多くの *in vitro* 試験が代謝活性化の存在下と非存在下で行なわれてきたが、TBBP-A は一貫して陰性の結果を示している。これらの試験の実施方法はおおむね現在の規制ガイドラインに合致していた。同様に、ヒト末梢血リンパ球を用いて適切に行なわれた染色体異常試験と特殊な *in vitro* 組換え試験においても TBBP-A の結果は陰性であった。

In vivo 試験のデータは得られていない。

結論として、*in vitro* 試験における明らかな陰性結果と、遺伝毒性の可能性を示すような構造の欠如を考慮すると、遺伝毒性の懸念は認められない。

4.1.2.8 発がん性

発がん性試験の報告はない。しかし、入手可能な *in vitro* の変異原性試験のデータからは発がん性を疑わせる知見は得られておらず、反復曝露試験においてもそのようなことを示唆する所見 (増殖性変化など) はみられていない。

4.1.2.9 生殖毒性

受胎能に対する影響

生殖能と受胎能に対する TBBP-A の影響については、GLP と OECD のガイドラインに準拠した二世世代試験で評価されており (MPI Research, 2002b, 2003)、同じ試験で F₂ 世代における TBBP-A の発達神経毒性も評価されている。試験では Sprague-Dawley ラット (各群雌雄 30 例ずつ) に TBBP-A を 0、10、100 および 1,000 mg/kg/day の用量でコーン油を溶媒として強制経口投与した。F₀ 世代には交配前 10 週間と交配期間中 2 週間にわたって投与を行なった。交配では、各群の雌雄を無作為に対にして 2 週間同居させた。雌には妊娠および哺育期間中も被験物質を投与した。F₀ の雄は交配期間後、F₀ の雌は F₁ 児の離乳後に安楽死さ

せた。離乳時に各群雌雄 30 例ずつを無作為に選び、F₀ 世代と同じ方法で生殖能を評価した。選抜後、残りの F₁ 児は安楽死させて剖検した。F₂ 世代の離乳時に発達および神経行動学的評価（詳細な一般状態の観察、自発運動量、学習、記憶、聴覚性驚愕馴化の評価、各群雌雄 10 例ずつ）を行ない、さらに神経病理学的評価（脳重量の測定と、脳、脊髄、末梢神経の神経病理学的評価、いずれも各群雌雄 10 例ずつ）を行なった。これらのデータは神経行動学的/神経病理学的試験の項に記載されている。

F₀ 動物ならびに継続飼育された F₁ および F₂ 動物について、試験期間を通して定期的に詳細な一般状態の観察を行ない、体重と摂餌量を記録した。また、継続飼育されたすべての F₁ 動物（各群雌雄 30 例ずつ）ならびに発達および神経行動学的評価用に継続飼育された F₂ 動物（各群雌雄 40 例ずつ）について、性成熟（膣開口と包皮分離の時期）を検査した。安楽死後、すべての F₀ 動物と継続飼育された F₁ 動物について、肉眼的および病理組織学的検査を行なった。検査した器官は副腎、脳、生殖器（卵巣、精巣、精巣上体）、腎臓、肝臓、下垂体、前立腺、精囊/凝固腺、脾臓、胸腺、腫瘤、子宮頸を含む子宮（両側子宮角）/卵管、膣であった。なお、甲状腺は検査に含まれていなかった。対照群と 1,000 mg/kg 群のすべての F₀ 動物および継続飼育された F₁ 動物について、生殖器系組織を病理組織学的に評価した。F₀ 動物と継続飼育された F₁ 動物の雄について精子検査（運動能、精巣上体尾部精子数および形態）を、同じく雌について原始卵胞数の計数をそれぞれ行なった。さらに、F₀ 動物と継続飼育された F₁ 動物の各群雌雄 10 例ずつについて、安楽死の数日前に血清 T₃、T₄、TSH 濃度を測定した。

F₀ および F₁ 世代の親動物で認められた投与による影響は、F₁ 雄の 1,000 mg/kg 群における交配前期間中（1～11 週）の統計学的に有意な体重増加抑制（7%）のみであった。他には、毒性徴候、性周期、生殖能（交尾行動、受胎能）、体重増加量、妊娠/哺乳期間中の体重と摂餌量、妊娠期間、児動物のデータの評価において、また、肉眼的および病理組織学的検査、器官重量、精子検査、原始卵胞数において、F₀ および F₁ 世代のいずれにも投与による影響はみられなかった。

また、F₁ 児と F₂ 児のいずれにも、体重、症状、性比、離乳までの生存率、剖検所見、器官重量データに投与による影響はみられなかった。

F₀ 世代では、平均血清 T₄ 濃度の統計学的に有意な低下が 100 および 1,000 mg/kg 群の雄（0、10、100、1,000 mg/kg 群でそれぞれ 4.70、5.08、3.90、3.38 ng/dL）と 1,000 mg/kg 群の雌（0、10、100、1,000 mg/kg 群でそれぞれ 4.23、3.45、3.50、2.39 ng/dL）で認められた。F₁ 世代では、100 および 1,000 mg/kg 群の雌雄で T₄ 濃度が統計学的に有意に低下した（0、10、100、1,000 mg/kg 群で雄はそれぞれ 6.29、5.98、3.91、3.33 ng/dL、雌はそれぞれ 5.00、4.42、3.40、

3.41 ng/dL)。また、F₀世代の雄の1,000 mg/kg群では、平均血清 T₃濃度の統計学的に有意な低下が認められた(0、10、100、1,000 mg/kg群でそれぞれ102.7、92.8、97.5、83.2 ng/dL)。しかし、F₀世代の雌、またはF₁世代の雌雄のいずれの用量にも、平均血清 T₃濃度の統計学的に有意な低下はみられなかった。平均血清 TSH濃度は、F₀およびF₁世代の雌雄ともすべての用量で対照群と同様であった。

TSH濃度には影響がなく、下垂体や肝臓の肉眼的または組織学的変化も報告されていない(甲状腺組織の検査は未実施)ことから、F₀およびF₁世代の雌雄でT₄濃度の低下が、またF₀世代の雄の高用量のみでT₃濃度の低下が起きるメカニズムは不明である。しかし、ラットでの甲状腺のホメオスタシス異常に関連する他の項目にほとんど影響がないことから、認められた低下には毒性学的意味がないと考えられる。試験の著者は、この減少が肝臓におけるT₄-ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素(UDP-GT、循環中のT₄の排除に関わる酵素)の誘導の結果である可能性を示唆している。しかし、酵素濃度は測定されておらず、肝臓の形態にも変化がないため、これが低下のメカニズムであることの根拠は乏しい。

神経行動学的／神経病理学的試験

F₂世代の離乳時に、神経行動学的検査のため、各群雌雄40例ずつの児動物を継続飼育とした。また、神経病理学的検査のため、これとは別に各群雌雄20例ずつの児動物を継続飼育とした(脳重量の測定と、脳、脊髄、末梢神経の神経病理学的評価にいずれも各群雌雄10例ずつ)。残りのすべてのF₂児は離乳の約1週間後に安楽死させ、剖検した。

各群雌雄10例ずつについて生後4、11、21、35、45および60日に詳細な状態の観察を行なった。その結果、投与による所見は報告されなかった。

神経行動学 — 自発運動量

選抜されたF₂児(各群雌雄10例ずつ)について、生後13、17、21および60日に、電子分析記録器付きDigiscan運動測定装置を用いて自発運動量を測定した。測定では動物を20分間運動チャンバーに入れ、水平および垂直方向の運動量と総移動距離を記録した。また、排糞、排尿、立ち上がり、身づくろい、後ずさを記録して、情動性を評価した。

生後13日には、自発運動量と情動性において、対照動物と投与動物間に統計学的有意差はみられなかった。

生後17日には、自発運動量と情動性において、雄の対照動物と投与動物間に統計学的有意

差はみられなかった。雌では、統計学的に有意な水平運動量の減少が 10 mg/kg/day 群で 15～20 分の時間区分に、また 100 mg/kg/day 群で 20 分間の合計において認められた (100 mg/kg/day 群では 5 分間隔の時間区分のいずれにも差はなし)。他の時間区分および用量では統計学的に有意な変化は報告されていない。また、移動距離、垂直運動量、情動性には、雌の対照動物と投与動物間に統計学的有意差はみられなかった。用量反応関係がないこと、水平運動量の変化に伴う移動距離の減少がないこと、さらに雄では反応がないことから、統計学的に有意なこれらの変化は偶発的な所見であり、毒性学的に意味のないものと考えられる。

生後 21 日には、100 mg/kg/day 群の雌を除き、自発運動量と情動性において、対照動物と投与動物間に統計学的有意差はみられなかった。100 mg/kg/day 群の雌では、5～10 分の時間区分と 20 分間の合計において、水平運動量と移動距離が統計学的に有意に減少した。しかし、用量反応関係がなく、雄ではいずれの反応もみられないことから、これらの変化は毒性学的に意味のない、偶発的な所見と考えられる。

生後 60 日については、移動距離のデータは雌雄とも提示されていない。雌では、水平および垂直運動量と情動性において、対照動物と投与動物間に統計学的有意差はみられなかった。雄では、垂直運動量と情動性には統計学的に有意な影響はみられなかったが、水平運動量が 0～5 分の時間区分に 100 および 1,000 mg/kg/day 群の双方で (それぞれ対照値の 76% と 70%)、また 5～10 分の時間区分に 1,000 mg/kg/day 群のみ (対照値の 68%) において統計学的に有意に減少した。他の用量および他の時間区分 (20 分間の合計を含む) には統計学的に有意な影響は報告されていない。雌では影響が報告されていないこと、また種々の日齢 (生後 13、17、21、60 日) の動物および雌雄で一貫した変化の傾向が認められないことから、雄で生後 60 日にみられた差は偶発的な所見で、投与とは無関係である可能性が最も高いと考えられた。

神経行動学 — 学習と記憶 — 受動的回避試験

選抜された F₂ 児 (各群雌雄 10 例ずつ) について、生後 22 および 60 日に、ステップスルー型受動的回避試験を用いて学習と記憶を評価した。試験装置は自動扉で仕切られた明室と暗室からなっていた。各動物について 1 日 1 回、3 日間連続で試験した。試験では、各動物をまず明室に入れて 30 秒間馴化させた後、3 分間隔壁を開いて暗室に移動できるようにし、各試行で動物が明室に留まっていた時間を記録した。試験初日には動物が明室から暗室へ移動したら 3 秒間の通電刺激を与えた。2 日目と 3 日目には 3 分間に動物が明室から暗室に移動しても刺激は与えず、明室にいた時間の記録のみを行なった。時間内に暗室に移動しなかった動物は元のケージに戻した。

生後 22 日の雄の試験 1 日目に動物が明室にいた時間は比較的短く、対照群と投与群間に統計学的有意差はみられなかった。2 日目の雄は(予想どおり)長時間明室に留まっていたが、1,000 mg/kg/day 群の動物では対照群の動物に比して明室に留まる時間が統計学的に有意に短かった。3 日目には、対照群と投与群の雄の間に差はみられなかった。2 日目と 3 日目で一貫した反応がみられないことから、2 日目にみられた差が学習に対する投与の影響を示している可能性は低いと示唆される。雌では、対照群と投与群間に統計学的有意差は認められなかった。

生後 60 日の雄の試験 1 日目に動物が明室にいた時間は、対照群と比較して全投与群で統計学的に有意に短かった。しかし、2 日目と 3 日目には差は認められなかった。1 日目の差は、明室から暗室に移動した対照動物が 10 例中 3 例のみであったのに対し、投与群では 10 例中 8~10 例が移動したために生じたもので、この 1 日目の対照群の予想に反した行動は、試験方法の信頼性を疑問視させるものである。雌では、対照群と投与群間に統計学的有意差は認められなかった。

以上の結果より、雌では学習と記憶に対する投与の影響はみられなかった。雄では対照動物と投与動物間にいくらか差がみられたが、各試験日および各日齢(生後 22 日と 60 日)の動物で一貫した傾向が認められないことから、これらの差は投与によるとは考えられない。

神経行動学 — 学習と記憶 — M 型水迷路試験

受動的回避試験に用いたものと同じ各群雌雄 10 例ずつについて、生後 110 日から M 型水迷路試験で学習と記憶を評価した。試験では 1 日 10 回の試行を 4 日間連続して短期記憶を評価し、さらにその 5 日後に再度動物を試験(10 回試行)して長期記憶を評価した。迷路通過時間を最長 60 秒間とし、通過/失敗回数、通過時間、エラー数を解析した。

迷路通過に失敗した動物は非常に少数であり、対照群と投与群間には事実上差はなかった。また、平均通過時間にも対照動物と投与動物間で差はなかった。試行を行なった各日の平均通過時間はいずれの群も同程度であり、各試行日の試行中の平均エラー数にも対照群と投与群間に全体として差はなかった。9 日目のデータは 4 日目のデータと同様であり、短期記憶同様、長期記憶にも投与による影響がないことが示された。

神経病理学

試験の神経病理学的検査部分では、各群雌雄 10 例ずつの F₂ 児を無作為に選んで生後 60 日

に脳重量測定を、同様にして生後 60 日に脳、脊髄、末梢神経の神経病理学的評価を行なった。また、0 および 1,000 mg/kg/day 群の雄各 10 例、ならびに 0 および 1,000 mg/kg/day 群の雌それぞれ 10 および 9 例について、生後 60 日に頭頂部皮質の厚さを測定した (MPI Research, 2003)。さらに、各群雌雄 10 例ずつの F₂ 児を無作為に選んで生後 11 日に安楽死させ、神経病理学的検査と形態計測を行なった。形態計測では、頭頂部皮質、海馬、小脳の外顆粒層、分子層およびプルキンエ細胞/内顆粒層、ならびに視床の厚さを測定した。

形態計測で差が認められたのは頭頂部皮質のみであり、生後 11 日に安楽死させた 1,000 mg/kg 群の F₂ 児で頭頂部皮質の厚さが統計学的に有意に減少した (0、10、100、1,000 mg/kg 群の雄でそれぞれ 1.61、1.56、1.49、1.23 mm、雌でそれぞれ 1.60、1.46、1.56、1.33 mm)。厚さの減少は 10 および 100 mg/kg 群でもみられたが、その差は統計学的に有意ではなく、用量依存性の反応を示すものとは考えられなかった。頭頂部皮質には、変性、壊死、細胞消失、脱髄、増殖性変化、神経細胞密度の変化などの組織学的変化はみられなかった。生後 60 日の対照群と 1,000 mg/kg 群の頭頂部皮質の厚さには、雄 (それぞれ 2.13 mm と 2.09 mm) または雌 (それぞれ 2.10 mm と 2.06 mm) のいずれにも差はみられなかった。

生後 60 日の脳重量には投与による影響はなかった。また、生後 60 日の F₂ 動物の脳、脊髄、神経、神経節には組織学的変化はみられなかった。

以上をまとめると、高用量群の F₂ 児では生後 11 日に統計学的に有意な頭頂部皮質の厚さの減少が認められたが、生後 60 日にはこの群の F₂ 児でそのような影響はみられなかった。また、これらの動物では生後 11 日と 60 日のいずれにも組織学的変化はみられなかった。したがって、頭頂部皮質の厚さの減少は一過性または偶発的所見であり、毒性学的に意味がある可能性は低い。

結論として、本試験では受胎能や発達 (神経系の発達を含む) に対する影響および毒性学的に意味のある他のいずれの影響も 1,000 mg/kg/day の用量まで認められなかった。本用量では親動物においてヒトで問題になるような一般毒性を生じなかったものの、この用量は十分に高く、経口経路による TBBP-A の生殖毒性を適切に評価できたと考えられる。

EU の FIRE プロジェクトの一環として追加の一代試験が行なわれたことが分かっているが、報告者は現在その試験報告書を手に入っていない。

発生に対する影響

Wistar ラット (各群 22~24 例) の妊娠動物に TBBP-A を 0、280、830 および 2,500 mg/kg

の用量でオリーブ油を溶媒として妊娠 0 日から妊娠期間を通じて経口投与した (Noda et al., 1985)。用量設定は予備試験結果に基づくもので、その試験では最高用量の 2,500 mg/kg で毒性学的に意味のある影響は認められなかった。

妊娠 20 日に約 2/3 の動物を安楽死させた。主要器官について肉眼病変の有無を観察し、黄体数、着床数、生存胎児数、早期胎児死亡 (吸収または胎盤遺残) 数、後期胎児死亡 (吸収または死亡胎児) 数を評価した。また、生存胎児の体重を測定し、胎児の性別と外表異常の有無を検査した。約半数の胎児について骨格異常を検査し、残りについて内臓異常を検査した。

自然分娩させた動物について妊娠期間を求めた。また、生存児および死亡児数、出生児の性別、ならびにあらゆる異常の有無を検査した。出生児は出生後 21 日の離乳まで哺育し、その間、体重測定と成長の状態 (耳介展開、毛生、下顎切歯萌出、眼瞼開裂などを指標として) および一般状態の観察を行なった。その後、生存児動物を安楽死させ、骨格異常の有無を検査した。母動物も分娩後 21 日に安楽死させて主要器官の肉眼病理学的検査を行ない、着床痕数を記録した。

投与群の母動物には妊娠期間を通じて毒性学的に意味のある影響はみられなかった。TBBP-A を投与した母動物では妊娠初期に体重増加量が対照動物よりも軽度に増加したが、8 日以降の体重増加量はすべての群で同程度であった。また、すべての TBBP-A 投与群で妊娠初期に摂餌量が有意に減少したが、妊娠中期からは 2,500 mg/kg 群で摂餌量が増加した。投与期間中、その他の差は認められなかった。肉眼病理学的検査では、830 mg/kg 群の 1 匹における腎結石とその結果生じた片側の腎臓の変形 (明らかに投与とは無関係) 以外、母動物に異常は認められなかった。

TBBP-A は妊娠期間の長さに影響を与えず、胎児の発生にも毒性学的に意味のある影響を与えなかった。妊娠 20 日に検査した胎児では、外表検査、内臓検査、骨格検査において毒性学的に意味のある所見はみられなかった。正常に分娩され、21 日まで哺育された児動物では、投与群と対照群間に発生の差は認められなかった。

これらの結果から、TBBP-A はラットの発生に対して 2,500 mg/kg の用量まで有害な影響を与えなかったといえる。本用量では母動物において毒性が生じなかったものの、この用量は十分に高く、経口経路による発生毒性の影響を適切に評価できたと考えられる。

適切に実施された別の発生毒性試験では、妊娠ラット (各群 25 例) に TBBP-A を 0、100、300 および 1,000 mg/kg の用量で妊娠 0~19 日に毎日強制経口投与した結果が詳細に報告さ

れている (MPI Research, 2001)。投与期間を通じて動物の毒性徴候を観察し、体重増加量と摂餌量を測定した。妊娠 20 日に安楽死させて剖検し、妊娠子宮および肝臓重量を測定した。また、総黄体数、着床数、早期および後期吸収数、生存および死亡胎児数、胎児の性別および重量を記録した。さらに、すべての胎児について骨格と内臓の変異または奇形を肉眼的に検査した。

母動物には投与による死亡はなかった。300 mg/kg 群の 1 例が妊娠 5 日に死亡したが、この死亡は投与時の損傷によるものであった。投与による症状はなく、母動物の体重増加量と摂餌量にも影響はみられなかった。投与動物の肉眼的検査でみられた少数の所見はいずれも低頻度であり、投与によるものではないと考えられた。100 mg/kg 群では母動物の肝臓重量が軽度ながら統計学的に有意に減少したが、300 および 1,000 mg/kg 群ではこのような所見はみられなかったため、投与とは無関係と考えられた。

妊娠関連項目に投与の影響はみられなかった。同様に、胎児の体重、性比、外表検査結果、内臓および骨格検査結果にも投与の影響はみられなかった。したがって、本試験では TBBP-A は発生に対して 1,000 mg/kg の濃度まで有害な影響を示さなかったと結論できる。本用量では母動物に対する毒性はみられなかったが、上記同様、この最高用量は十分高いものである。

催奇形性試験における TBBP-A の用量を決定するためのある用量設定試験で交尾した雌ラットが用いられた (Velsicol Chemical Corporation, 1978)。交尾時のラットは 15 週齢であり、これに TBBP-A を 0、30、100、300、1,000、3,000 および 10,000 mg/kg/day の用量で妊娠 6～15 日の間強制経口投与した。各群には 5 例を用いた。動物の毒性徴候を毎日観察し、個体別体重を妊娠 0、6、12、15 および 20 日に測定した。妊娠 20 日にすべての動物を安楽死させ、生存および死亡胎児数、早期および後期吸収数、総着床数、黄体数を記録した。

3,000 mg/kg 以下の群の動物では生存率が 100%であり、他の毒性徴候もみられなかった。10,000 mg/kg 群では 3 例が死亡したのに加え、緑色の軟便がみられ、肛門性器部の被毛の乱れが増加した。同群の動物では妊娠 6～15 日に軽度な体重増加抑制も認められた。しかし、子宮検査所見に関しては、いずれの用量においても、生存および死亡胎児数、吸収数、着床数、黄体数の平均値に被験物質による差はみられなかった。すなわち、高度な母動物毒性を生じる用量を含め、非常に高い用量に至るまで、評価した発生関連項目に対する有害な影響はみられなかった。

発達神経毒性を評価したある試験では、雄性 NMRI マウスの新生児に対し、TBBP-A を生後 10 日に単回経口投与した (Eriksson et al., 1998, Eriksson et al., 2001)。TBBP-A の投与量は 0.75

および 11.5 mg/kg で、対照群のマウスには 20%脂肪懸濁液からなる溶媒を投与した。各群には 3~4 腹子からのマウスを使用した。2 および 4 ヶ月齢時に、異なる 3~4 腹から無作為に選んだ 8 例について自発行動の検査を行なった。検査では移動、立ち上がり、総運動量、およびケージ内のすべての種類の振動（マウスの動作、身震い（振戦）、身づくろいによって引き起こされるもの）を測定した。また、5 ヶ月齢時に、異なる 3~4 腹から無作為に選んだ 16~18 例について、空間探索課題の学習および記憶能力を水迷路を用いて評価した。その結果、投与動物では試験期間を通じて対照動物と比べ、TBBP-A 投与による能力の差は認められず、機能異常の症状もみられなかった。

最近行なわれた未発表の試験（Hass et al., 2003）では、OECD のガイドライン案（TG426）に基づく試験デザインに従って TBBP-A の発達神経毒性を評価した。

妊娠ラット 20 例（Mol : WIST）からなる 3 群に TBBP-A を 0、50 および 250 mg/kg/day の用量でピーナツ油を溶媒として妊娠 7 日から生後 17 日まで強制経口投与した。動物の毒性徴候を毎日観察し、投与期間を通じて体重を測定した。出産予定日（妊娠 22 日）を生後 0 日とした。出産後、出生児数、性別、および異常の有無を確認した。可能であれば、死亡児の肉眼的検査を行なった。

生後 21 日に児動物を離乳させ、各腹から無作為に選んだ雌雄 1 匹ずつについて行動学的検査を行なった。

生後 6 および 13 日に体重を測定して出生後の発育を評価した。出生時に肛門生殖突起間距離を測定した。生後 13 および 14 日に乳輪または乳頭の有無を検査した。また、性成熟時の日齢と体重を記録した。性成熟は、雌では膣開口、雄では陰茎龟头と包皮の分離により評価した。

種々の行動学的検査を行ない、自発運動量と馴化能、遊び行動、甘味嗜好性、学習と記憶について評価した。

生後 21 日（離乳前）、生後 27 日および 12 週時（成熟後）に、動物を運動量測定ボックスに入れて 30 分間自発運動量を測定した。なお、馴化能を評価するため、30 分を 15 分ずつの 2 期間に分けた。

生後 31 日に遊び行動の評価を行なった。各群の動物を 2 例ずつ一緒にし、遊び行動の開始潜時と押さえ込み回数をスコア化した。

Morris 水迷路を用いて学習と記憶を評価した。試験は 9、13 および 17 週齢時に行なった。試験では 1 日 4 回、4 ヲ所の異なる地点から試行を開始し、動物が遊泳して水面下のプラットフォームに到達し、そこに上った時点で終了とした。動物が 60 秒以内にプラットフォームを見つけられない場合にはそこまで導いた。プラットフォームを見つけるまでに動物が通った経路を記録し、みつけるまでの所要時間、経路の長さ、遊泳速度を評価指標とした。安定した成績が得られるまで動物を訓練した（1 日 4 回の試行を 5 日間連続して実施）。次に、記憶を評価するため、学習期間の 4 週後に 4 回の試行を 2 日間連続で、そのさらに 4 週後に 4 回の試行を 1 日のみ行なった。この最後の「記憶」試験の翌日にはプラットフォームを元の場所とは反対側に置き、再び 4 回の試行を行なった（「逆転学習」）。さらに、その翌日、プラットフォームをプールの中央に移動し、4 回の試行を行なった（「新規学習」）。

5 ヲ月齢時の動物について甘味嗜好性試験を行なった。試験では、動物が通常の水と甘味のある 0.25% サッカリン水を 3 日間選択できるようにし、体重 100 g あたりのサッカリン摂取量を記録した。

6～7 ヲ月齢時に標準的な 8 方向放射状迷路を用いて動物を検査した。迷路のアームには餌のピーナツ片を報酬として置き、3 週間にわたって 1 日 1 回、15 回の試行（週 5 試行）による試験を行なった。試験では動物を迷路の中央に入れ、すべてのアームに進入するか、10 分間経過するまで探索させて、すべてのアームに進入するまでの時間を記録した。また、一つのアームに 2 回以上進入した場合をエラーとし、エラー数も記録した。

生後 15 日に無作為に選んだ雄の児動物 15 例（各群 5 例、各腹 1 例）について、また離乳後（生後 22 日）に無作為に選んだ各群雌雄 10 例ずつ（各腹雌雄 1 例ずつ）について、さらに成熟動物（数の記載なし）について、肉眼的および病理組織学的検査を行なった。生後 15 日および 22 日の雄と成熟動物から左右の精巣と甲状腺を、生後 22 日の雄と成熟動物から脳、左右の精巣上部、前立腺腹葉、精嚢を摘出し、秤量した。また、生後 15 日の雄の精巣と甲状腺、生後 22 日の雄の左精巣、左精巣上部、甲状腺、前立腺腹葉、精嚢、および生後 22 日の雌雄の脳について病理組織学的検査を行なった。

生後 22 日に安楽死させた動物（各群 8～10 例、各腹 1 例）について血清 T3 および T4 濃度を測定した。

同じく生後 22 日に安楽死させた動物について、脳ホモジネート中の神経伝達物質濃度を測定した。測定項目は 5-ヒドロキシトリプタミン（5-HT）、ノルアドレナリン（NA）、ドパミン（DA）であった。

妊娠期間中の母動物の体重増加量、妊娠期間の長さ、同腹児数、新生児の死亡率、出生時体重は、対照動物と投与動物で同様であった。また、出生時の肛門生殖突起間距離、生後 13 日の乳輪/乳頭、性成熟の時期には投与による影響はみられなかった。離乳時（生後 21 日）、50 mg/kg/day 群では雌雄の児動物の体重が対照群の児動物に比較して統計学的に有意に低かった（雄と雌でそれぞれ対照群の値の 89%と 88%）が、250 mg/kg/day 群ではそのような差はなかった。同様の所見は生後 92 日にも認められ、50 mg/kg/day 群では雌雄の児動物の体重が対照群に比して統計学的に有意に低かった（雄と雌でそれぞれ対照群の値の 92%と 92%）が、250 mg/kg/day 群ではそのような差はなかった。統計学的に有意な変化が認められたのは低用量群のみであること、また生後 92 日の減少は対照群の値の 10%未満であったことから、これらは毒性学的に意味のある投与の影響とは考えられない。

遊び行動の開始潜時と押さえ込み回数には群間に有意差はみられなかった。また、甘味嗜好性試験においても対照動物と投与動物間に有意差はなかった。

生後 21 日における 30 分間の観察期間全体の自発運動量には、雌雄とも投与群と対照群間に有意差はなかった。しかし、15 分ずつ 2 期間に分けた運動の型の分析では、雌で統計学的に有意な変化が報告されている。前半期間には対照動物と投与動物間に統計学的に有意な運動量の差はみられなかったが、後半期間には対照群と 50 mg/kg/day 群の運動量が前半の値のそれぞれ 17%と 32%まで減少したのに対し、高用量群の運動量は前半の値と同程度であり、対照群の運動量よりも統計学的に有意に高かった。これは 250 mg/kg/day を投与した雌における馴化能の低下を示している。一方、雄では 15 分ずつの運動量の分析において、馴化に対する影響を示す所見はみられなかった。

生後 28 日における 30 分間の観察期間全体の自発運動量にも、雌雄とも投与群と対照群間に有意差はなかった。また、雌では前半期間に差は報告されなかった。しかし、後半期間には 250 mg/kg/day 群と 50 mg/kg/day 群で対照群と比較して運動量の増加が認められた。後半期間における対照群の運動量は前半の値の約 6%であり、これはおそらく大部分の雌がこの期間中動かなかったためと考えられる。これに対し、50 および 250 mg/kg/day 群では、後半期間の運動量はそれぞれ前半の値の 35%と 23%であり、対照群との差は一元配置分散分析（ANOVA）では有意でなかったが、ノンパラメトリックな Fisher のカイ二乗検定では有意であった（対照群の結果は明らかに非正規性分布を示していることから、検定法としては後者がおそらく最も適当と考えられる）。これは 50 および 250 mg/kg/day 群の雌で、対照群と比較して馴化能が低下したことを示しているが、用量反応関係がみられないことから、偶発的所見である可能性も考えられる。一方、雄では 15 分ずつの運動量の分析において、馴化に対する影響を示す所見はみられなかった。

12 週齢時に検査した成熟動物についても、雄では投与群と対照群間に差は報告されず、雌の投与群と対照群間にも 30 分間の観察期間全体では差がなかった。前半期間の雌では 50 mg/kg/day 群の運動量が対照群に比べて減少したが、統計学的には有意でなく、一方、250 mg/kg/day 群の運動量は対照群と同程度であった。後半期間には 250 mg/kg/day 群の運動量が対照群の値より高く、運動量のカウンターの平均 (\pm 標準誤差) は対照群、50 mg/kg/day 群、250 mg/kg/day 群でそれぞれ 368 (\pm 77)、399 (\pm 49)、463 (\pm 38) であった。対照群と 250 mg/kg/day 群の運動量のカウンターの差は ANOVA では有意でなかったが、Fisher 検定では有意であった。ただし、現在手元にある情報ではどちらがより適切な検定法かを判断できず、報告書からは Fisher 検定の適切さを正当化する根拠は認められない。2 つの期間における運動量の変化を比較すると、各群の後半の運動量はそれぞれ前半の 42、61、53%であり、この比較によれば (250 mg/kg/day 群よりも) 50 mg/kg/day 群の馴化能が最も低かった可能性が示唆される。

結論として、250 mg/kg/day 群の雌の生後 21 日における馴化能には対照群と差があったといえる。しかし、この雌の生後 28 日の検査では馴化に対する影響を示す明らかな所見はみられず、成熟動物における影響の根拠も弱いものに過ぎなかった。また、雄の馴化はいずれの時期にも影響を受けなかった。

Morris 水迷路を用いた試験では、最初の 5 日間で 2 回、遊泳距離と潜時において対照群と投与群間に統計学的有意差が認められた。まず 1 日目には、250 mg/kg/day 群の雌で、対照動物と比較して、遊泳距離とプラットホームをみつけるまでの潜時が統計学的に有意に短縮した。また 5 日目には、250 mg/kg/day 群の雄で、対照動物と比較して、遊泳距離とプラットホームをみつけるまでの潜時が統計学的に有意に延長した。動物の遊泳速度には雌雄ともいずれの用量群にも差はなかった。対照群と投与群間の差に一貫した傾向がなかったことから、散見された有意差は偶発的に生じたものであることが示唆された。

記憶の評価のため再度試行を行なったところ、250 mg/kg/day 群の雄では試験 1 日目に実施した 4 回の試行の 1 回目と 2 回目において、統計学的に有意な遊泳距離の延長が認められた。また、プラットホームをみつけるまでの潜時も 2 回目の試行において統計学的に有意に延長した。しかし、1 日目の 4 回の試行の平均遊泳距離には投与動物と対照動物間に有意差はなかった。雌では 3 日間の試行中、また雄でも試行 2 日目と 3 日目には差は認められなかった。有意差は非常に散発的にしか認められなかったこと、また 12 回の試行において一貫した傾向がみられなかったことから、これらの結果が記憶に対する投与の影響を示しているとは考え難い。

この試験の「逆転学習」の部分では、投与による有意差は報告されていない。

試験の「新規学習」の部分では、250 mg/kg/day 群の雌と 50 mg/kg/day 群の雄において、1 回目の試行で統計学的に有意な遊泳距離の延長が認められたが、2~4 回目の試行では差は報告されなかった。これらの散発的な差は一貫した傾向を示さなかったため、偶発的に生じたものと考えられる。したがって、「新規学習」には投与による明らかな影響はないと結論することができる。

放射状アームの迷路を用いて試験を行なったところ、1、2 および 3 週時の試行において、投与群と対照群間に統計学的に有意な平均潜時の差はなかった。平均エラー数は 3 週間の試験中に減少した。250 mg/kg/day 群の雄では、対照群と比較して統計学的に有意なエラー数の増加が 1 週時（平均 ± 標準偏差は対照群と 250 mg/kg/day 群でそれぞれ 4.09 ± 1.34 および 5.13 ± 1.76 ）ならびに 2 週時（ 1.13 ± 1.13 および 2.60 ± 1.90 ）に認められたが、3 週時にはみられなかった。著者らはこの差が統計学的に有意であったと述べているが、平均の標準偏差が重なっていることから、通常のパラメトリックな統計検定法を用いれば有意差は生じない可能性がある。雌では有意差は報告されていない。また、隣接するアームを選ぶ頻度については、1 週時に 250 mg/kg/day 群の雄で統計学的に有意な低下が認められたが、2 および 3 週時の雄、ならびに雌では試験を通じてそのような変化はみられなかった。結論として、この試験は、高用量群の雄の学習能力と記憶に対してごく軽微な影響があることの科学的根拠を示している。

3 種類の日齢群の動物（生後 15 日、22 日、成熟動物）では、最終体重や検査したいずれの器官重量にも投与による影響はみられなかった。また、生後 15 および 22 日には、病理組織学的検査において脳や検査したいずれの生殖器にも投与による影響はみられなかった。

生後 22 日の雄では、血清 T3 および T4 濃度に投与による影響はみられなかった。

生後 22 日および成熟動物の脳中の NA、DA、5-HT 濃度には、投与動物と対照動物間に有意差はなかった。

結論として、この試験は 250 mg/kg/day 群の雌の児動物における馴化行動の変化および雄の児動物における学習と記憶の変化に関する限定的な科学的根拠を示しているといえる。しかし、報告された変化は非常に小さく、また異なる時期に実施された検査で十分に一貫性のある傾向がみられなかったため、この試験から決定的な結論を導くことはできない。同様に、発達神経毒性についても、両性で一貫した変化がみられず、確証的な所見を示すような病理組織学的検査も行なわれなかったため、その科学的根拠は不十分である。

Fukuda ら（2004）は非定形的な試験を行なって、Sprague-Dawley ラットの新生児と若齢動

物に TBBP-A を経口投与した際の影響を検討した。

予備的な試験の一環として、ラットの新生児（各群雌雄 5 例ずつ）に対し、TBBP-A を 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロースに懸濁して 0、40、200 および 1,000 mg/kg/day の用量で生後 4～21 日に強制経口投与した。試験では動物の一般行動を毎日観察し、体重を週 2 回測定した。生後 22 日に安楽死させて血液学および血液生化学的検査を行ない、さらに肉眼的に検査した。

著者らの報告によれば、1,000 mg/kg/day 群でみられた所見は、下痢、体重減少、プロトロンビン時間と活性化トロンボプラスチン時間の短縮、血色素量の減少、血小板数、乳酸脱水素酵素 (LDH)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、血中尿素窒素 (BUN)、総ビリルビンおよびクレアチニンの増加、顕著な腎臓腫大、ならびに軽度な盲腸拡張であった（結果の統計学的有意性や、各所見が雄、雌、または両性のいずれで観察されたかについては記載なし）。1,000 mg/kg/day 群では雌雄において肝臓と腎臓の絶対および相対重量が統計学的に有意に増加したと報告されている。ただし、提示されているデータは相対重量のみである。雄と雌の肝臓相対重量は、対照群に比較して、それぞれ 16%と 18%増加した。一方、腎臓相対重量は雌雄ともに 600%以上増加したと報告されている。200 mg/kg/day 群では腎臓重量に対する投与の影響はなかった。

主たる試験では、ラットの新生児（各群雌雄 6 例ずつ）に対し、TBBP-A を 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロースに懸濁して 0、40、200 および 600 mg/kg/day の用量で生後 4～21 日に強制経口投与した。動物は最終投与後に安楽死させた。ただし、回復群の動物（各群雌雄 6 例ずつ）は 12 週齢時に安楽死させた（TBBP-A の休薬期間は 9 週間）。試験では一般行動を毎日観察し、体重を投与期間中は週 2 回、回復期間中は週 1 回測定した。また、24 時間の摂餌量を回復期間中週 1 回測定した。雄については生後 20 日、雌については生後 21 日に、歩行状態、瞳孔反射、聴覚反射、角膜反射、視覚性置き直し反射、平面および空中立ち直り反射、同側屈筋反射を検査した。さらに、毛生、切歯萌出、眼瞼開裂をすべての動物についてそれぞれ生後 7 日、9 日および 11 日以降観察し、精巣下降と膣開口を回復群についてのみそれぞれ生後 17 日および 29 日以降観察した。生後 78～82 日の期間中に尿検査を実施し、安楽死の際に血液学および血液生化学的検査を実施した。

脳、下垂体、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、甲状腺、肺、精巣、精巣上部、前立腺、卵巣、子宮の肉眼的検査（全用量群）および病理組織学的検査（対照群と高用量群のみ）を行なった。また、気管、胃、腸、膵臓、リンパ節、膀胱、脊髄、坐骨神経、精嚢、骨、骨髄も病理組織学的に検査した（対照群と高用量群のみ）。

200 および 600 mg/kg 群の一部の雌雄では、投与期間中、下痢が散発的に認められた。体重増加量には対照群と TBBP-A 投与群間に差はなかった。また、いずれの用量群にも身体発育分化や反射の発達に明らかな変化は検出されなかった。血液学および血液生化学的検査では、600 mg/kg/day 群において、対照動物と比較して、血色素量の統計学的に有意な減少が雌で、活性化トロンボプラスチン時間の統計学的に有意な短縮が雄で、総ビリルビンの統計学的に有意な増加が雌雄で認められた。また、先の試験と同様に、高用量群の雌雄で腎臓の絶対および相対重量が顕著に増加した（対照群と比較して雄では 280%、雌では 365%の増加）。さらに、肝臓の相対重量が高用量群の雄で軽度に増加した（11%）。

病理組織学的検査では、腎臓の皮髄境界部から内側皮質にかけて尿細管拡張を伴う両側性の多嚢胞性病変が 600 mg/kg/day 群のすべての動物（雌では中等度、雄では高度の記載あり）と 200 mg/kg/day 群の雄 6 例中 2 例（軽度の記載あり）で認められた。600 mg/kg/day 群の病変は非常に高度であったため、組織標本は肉眼的検査で海綿状にみえた。また、皮髄境界部から内側皮質にかけて腎尿細管上皮過形成が認められ、外側皮質は嚢胞による圧力のため収縮していた。一部のラットでは尿細管内の顕著な硝子円柱や好塩基性再生尿細管、または化膿性炎症反応も認められた。それ以外には、600 mg/kg/day 群の雄 6 例中 3 例における小葉中心性肝細胞肥大を除き、組織学的変化は報告されていない。

回復期間後、高用量群の動物の腎臓絶対重量はなお対照群の値の 1.3 倍高値を示した（実際のデータの報告なし）。病理組織学的検査では、腎臓の多発性嚢胞が 200 mg/kg/day 群の雌雄各 1 例（軽度の記載あり）と 600 mg/kg/day 群のすべての動物（中等度～高度の記載あり）で認められた。また、これらの腎臓には間質線維化からなる修復性変化が認められたと報告されている。

若齢動物の試験では、5 週齢のラット（各群雌雄 5 例ずつ）に対し、TBBP-A を 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロースに懸濁して 0、2,000 および 6,000 mg/kg/day の用量で 18 日間強制経口投与した。試験では一般行動を毎日観察し、体重を週 2 回測定した。投与期間終了時に動物を安楽死させて主要器官を肉眼的に検査した。また、腎臓を組織学的に検査した。その結果、一般行動、体重、腎臓重量には変化はみられなかった。また、腎臓の病理組織学的検査でも異常は観察されなかった。

これらの試験は、ラットの新生児に TBBP-A を生後 4 日から 21 日まで強制経口投与すると、200 および 600 mg/kg では腎臓に対する影響（尿細管拡張を伴う多嚢胞性病変）がみられるが、40 mg/kg ではそのような影響はみられないことを示している。しかし、5 週齢のラットに 2,000 および 6,000 mg/kg の TBBP-A を 18 日間強制経口投与しても、また GLP と OECD ガイドラインに準拠して行なわれた詳細なラット二世世代試験で 1,000 mg/kg/day までの用量

で強制経口投与しても、このような影響は観察されなかった。この影響は、非常に高用量の TBBP-A をこのような若齢動物(訳注：新生児の意と思われる)に対して直接強制経口投与するという、通常行われない方法の結果生じた可能性があると考えられる。したがって、ヒトの健康評価におけるこの単発的な所見の妥当性は疑問が残る。

生殖毒性の要約

ヒトにおける試験の報告はない。

ラットにおける二世世代生殖毒性試験から得られた情報によれば、TBBP-A は受胎能や生殖能に対して 1,000 mg/kg の用量まで毒性学的に意味のある影響を与えないといえる。

TBBP-A の発生に対する影響は、予備的な用量設定試験と、従来の子胎形態検査を含む二つの標準的な発生毒性試験で検討されているが、これらの試験では 10,000 mg/kg/day の用量まで発生毒性を示す所見はみられなかった。

また、ラットでは 2 つの発達神経毒性試験が適切に行なわれ、マウスでも出生後の発達神経毒性試験が行われている。ラットの試験では母動物を妊娠および哺育期間中曝露した。第一の試験は二世世代試験の一部で、行動および学習/記憶検査、特殊な神経病理組織学的検査、ならびに脳の形態計測が含まれていたが、この試験では 1,000 mg/kg/day の用量まで神経の発達に対する有害影響を示す確実な科学的根拠は得られなかった。第二の試験では行動および学習/記憶検査と神経組織化学検査が行なわれたが、特殊な神経病理組織学的検査は行われなかった。試験では、妊娠ラットに TBBP-A を 0、50 および 250 mg/kg/day の用量でピーナツ油を溶媒として妊娠 7 日から生後 17 日まで強制経口投与し、離乳児について神経行動学的評価を行った。その結果、250 mg/kg/day 群の雌の児動物における馴化行動の変化および雄の児動物における学習と記憶の変化に関する限定的な科学的根拠が認められた。しかし、報告された変化は非常に小さく、また異なる時期に実施された検査で十分に一貫性のある傾向がみられなかったため、この試験から決定的な結論を導くことはできない。同様に、発達神経毒性についても、両性で一貫した変化がみられず、確証的な所見を示すような病理組織学的検査も行われなかったこと、さらに第一の試験では 100 および 1,000 mg/kg/day の用量でこのような所見はみられていないことから、その科学的根拠は不十分である。

マウスの試験では、10 日齢の新生児に比較的低用量で単回投与を行なったところ、行動、学習、記憶に影響はみられなかった。

ある非定形的な試験では、ラットの新生児に TBBP-A を生後 4 日から 21 日まで強制経口投与すると、200 および 600 mg/kg では腎臓に対する影響（尿細管拡張を伴う多嚢胞性病変）がみられたが、40 mg/kg ではそのような影響はみられなかったと報告されている。しかし、5 週齢のラットに 2,000 および 6,000 mg/kg の TBBP-A を 18 日間強制経口投与しても、また GLP と OECD ガイドラインに準拠して行なわれた詳細なラット二世世代試験で 1,000 mg/kg/day までの用量で強制経口投与しても、このような影響は観察されなかった。この二世世代試験でも児動物は授乳を通して間接的に TBBP-A に曝露されていた可能性に注意する必要がある。この点を考慮すると、Fakuda ら（2004）によって報告された腎臓の変化は、非常に高用量の TBBP-A をこのような若齢動物（訳注：新生児）に対して直接強制経口投与するという、通常行われない方法の結果生じた可能性があると考えられる。これらの若齢動物（訳注：新生児）は TBBP-A の腎毒性の影響に対して成熟動物よりおそらく高感受性を示すが、これはその代謝能力の未成熟さ、または腎臓の未成熟さによると考えられる。環境中の TBBP-A に曝露される乳幼児のためのリスク判定は、本試験で明らかになった無毒性量（NOAEL）40 mg/kg/day に基づいて行なわれる。

結論として、データからは、TBBP-A が発生毒性物質または神経毒性物質として作用する可能性を示す確固たる科学的根拠は得られていない。

他の加盟国の意見

神経行動学的発達に対する影響が認められたため、NOAEL は 50 mg/kg/day になるという見解を表明した国もあった。しかし、大多数の加盟国は報告者による上記の見解に合意した。

4.1.2.10 その他の試験

In vitro

レセプター試験

TBBP-A と他の臭素化ビスフェノール A 類似体のエストロゲン様作用を MCF-7 細胞株を用いて検討した試験がある（Samuelson et al., 2001）。試験では、17β [³H] エストラジオールとエストロゲン受容体の結合に対する被験物質の競合活性を、MCF-7 細胞のホモジネートと培養細胞自体を用いて測定し、相対結合親和性（RBA）を求めた。

細胞ホモジネート試験では、TBBP-A の RBA は全被験物質中で最低であった（試験対象の化学物質中で RBA が最高であったビスフェノール A の 0.05 に対し、0.004）。細胞試験では

RBA は算出できなかった。これは、血清含有培養液を用いると TBBP-A は 17 β [3 H] エストラジオールを置換できず、無血清培養液を用いると TBBP-A の高濃度 3 群では細胞死が起き（死亡理由の説明なし）、より低濃度の群では 17 β [3 H] エストラジオールを置換できなかったためである。

また、MCF-7 細胞を用いて被験物質の細胞増殖作用も検討した。その結果、TBBP-A の MCF-7 細胞刺激作用は 17 β エストラジオールの 27%であった。ただし、その効力は 17 β エストラジオールより数桁弱く、17 β エストラジオール濃度 10^{-11} M に対し、この作用を示すのに要した TBBP-A 濃度は 10^{-5} M であった。

さらに、全被験物質について、エストロゲン特異的タンパク pS2 とプロゲステロン受容体発現誘導作用を検討した。その結果、TBBP-A による両タンパクの誘導作用は最も弱かった（17 β エストラジオールのそれぞれ約 40%と約 25%）。これらのタンパクを発現させる TBBP-A 濃度は 10^{-5} M であった。一方、17 β エストラジオールが発現を引き起こす濃度は記載されていないため、この試験における TBBP-A と 17 β エストラジオールの相対的な効力については結論できない。

組換え酵母を用いたエストロゲン試験で、TBBP-A を含む 73 種のフェノール系物質の活性を評価した (Miller et al., 2001)。酵母細胞にはヒトエストロゲン受容体 α (ER α) 遺伝子を、エストロゲン応答配列および酵素 β -ガラクトシダーゼをコードする *Lac Z* レポーター遺伝子とともに導入した。この細胞を被験物質と発色基質クロロフェノールレッド β -D-ガラクトピラノシド (CPRG) を含む培地中で培養した。各試験には 17 β エストラジオール（陽性対照として）と溶媒対照（エタノール）を含めた。また、それぞれの被験物質について少なくとも 2 回ずつ試験した。その結果、TBBP-A はエストロゲン活性を示さなかった。

ポリ臭素化ジフェニルエーテルおよび TBBP-A を含むポリ臭素化ビスフェノール A 化合物のエストロゲン活性を、エストロゲン反応性のルシフェラーゼレポーター遺伝子構築体を安定的に導入したヒト T47D 乳がん細胞株を用いて検討した (Meerts et al., 2001)。試験ではルシフェラーゼ活性を測定してこれらの化合物のエストロゲン作用を評価した。TBBP-A の濃度は 0.05、0.1、0.5、1.0 および 5 μ M に設定した（高濃度の設定理由は不明）。各濃度について 3 回測定し、各試験は少なくとも 2 回繰り返した。その結果、試験に用いた濃度での TBBP-A のルシフェラーゼ誘導活性は「1%未満（17 β エストラジオール 30 pM のルシフェラーゼ誘導活性の最大値に対する値）」と報告されている。したがって、この試験の条件下では TBBP-A はエストロゲン活性を示さなかった。

TBBP-A を含む数種の臭素系難燃剤については、サイロキシシン (T $_4$) のトランスサイレチン

(TTR、甲状腺ホルモン結合性の輸送タンパク)との結合に対する競合作用が、*in vitro* の競合結合試験において、ヒト TTR と、置換される放射性リガンドとして $^{125}\text{I-T}_4$ を用いて適切に評価されている (Meerts et al., 2000)。試験では、500 nM まで少なくとも 8 段階の濃度の TBBP-A について評価し、対照としては溶媒のジメチルスルホキシドを用いた。

T_4 の 50% 阻害濃度 (IC_{50} 、50% 競合時の基質濃度) を TBBP-A の IC_{50} で除して、 T_4 に対する TBBP-A の相対結合強度を求めた。その結果、TBBP-A の相対結合強度は 10.6 であり、500 nM で最大 $96.5 \pm 0.1\%$ の競合を示した。

この試験結果は、*in vitro* において TBBP-A が T_4 の TTR との結合に対してかなりの競合能を有することを示している。

Mariussen および Fonnum (2003) は、ある大きな試験の一環として、分離したラット脳のシナプトソーム (雄 Wistar ラットの脳から新たに調製) への神経伝達物質ドパミン、グルタミン酸、 γ -アミノ-n-酪酸 (GABA) の取り込みに対する TBBP-A の影響を検討した。また、膜電位とドパミンのシナプス小胞への取り込みに対する TBBP-A の影響も検討した。

TBBP-A は神経伝達物質の取り込みを濃度依存的に阻害し、 IC_{50} (50% の取り込み阻害を生じさせる TBBP-A 濃度) はグルタミン酸取り込みに関しては $6 \mu\text{M}$ 、ドパミン取り込みでは $9 \mu\text{M}$ 、GABA の取り込みでは $16 \mu\text{M}$ であった。ドパミン取り込みに対する TBBP-A の速度論的解析では、TBBP-A は競合阻害と非競合阻害の混合型を示すことが明らかになった。

TBBP-A はテトラ [^3H] フェニルホスホニウムブロミド (膜電位に対する影響の指標) の取り込みを濃度依存的に阻害し、シナプトソームの膜電位に影響することが明らかになった。その IC_{50} は $16 \mu\text{M}$ であった。

また、TBBP-A は分離したラット脳のシナプス小胞へのドパミンの取り込みを IC_{50} 値 $3 \mu\text{M}$ で阻害することも示された。

結論として、この試験は、*in vitro* において TBBP-A がラット脳のシナプトソームへの神経伝達物質の取り込みを阻害し、その膜電位に影響を与えることを示しているが、これらの所見の *in vivo* への外挿については結論は出せない。

細胞増殖試験

ヒト乳癌細胞 (MCF-7 細胞) の増殖を用いて、TBBP-A を含む多くの化学物質のエストロ

ゲン様作用が評価された (Körner et al., 1996)。濃度 10^{-13} ~ 10^{-8} M の 17 β エストラジオールを陽性対照として用い、被験物質は 10^{-9} ~ 10^{-4} M の濃度で試験を行なった。その結果、TBBP-A は明らかに MCF-7 細胞の増殖を刺激した。しかし、17 β エストラジオールと比較すると、最大反応を得るために必要な濃度は 4 桁高かった。増殖効果がエストロゲン受容体を介するものかを確認するため、抗エストロゲンであるタモキシフェン 5×10^{-6} M との同時処理も行なった。その結果、同時処理によって TBBP-A の増殖効果が完全に失われたため、TBBP-A はエストロゲン受容体に対してある程度の結合能を有し、それによってこの試験では弱いエストロゲン様活性を示すことが明らかになった。

結論として、*in vitro* スクリーニング試験から得られた知見の重要性を考慮すると、TBBP-A は顕著なエストロゲン様作用を示さないといえる。

In vivo

妊娠ラットにおける TBBP-A の分布 (4.1.2.1 項参照) および TBBP-A の子宮内曝露による母動物と児動物の甲状腺ホメオスタシスに対する影響が検討されている (Meerts et al., 1999)。試験では妊娠 Wistar ラットに対し、 14 C 環標識 TBBP-A を 5 mg/kg の用量で妊娠 10~16 日に経口投与した。対照動物にはコーン油のみを投与した。各群の動物数は記載されていない。妊娠 10 日以降毎日、糞と尿を採取した。妊娠 20 日にエーテル麻酔によりラットを安楽死させた。母動物の血液を後大静脈から採取し、また母動物と胎児の双方から多くの組織とその残部(形骸)を採取して液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した(試験のこの部分の結果は 4.1.2.1 項に報告されている)。

母動物と胎児の血漿中遊離サイロキシシン (T_4) 濃度、総 T_4 および総 T_3 濃度、ならびに甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度を測定した。また、脳の II 型脱ヨウ素酵素活性と肝臓における T_4 のグルクロン酸抱合を母動物と胎児の双方について測定し、*ex vivo* における 125 I- T_4 のトランスサイレチン (TTR) に対する競合結合を母動物および胎児血漿について検討した(後者は動物の血漿を 125 I- T_4 と反応させた後にポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) 分析を行なって評価した)。

母動物の体重、総同腹児数、吸収数に影響はみられなかった。ただし、TBBP-A に曝露された母動物では、対照動物と比較して胸腺重量の対体重比が統計学的に有意に高かった (+16.8%)。また、曝露動物の胎児の平均体重も対照群より軽度に (しかし、統計学的には有意に) 高かった (+7.3%)。

母動物と胎児の血漿中総 T_4 濃度および遊離 T_4 濃度には TBBP-A による影響はなく、母動物

では T₃ 濃度にも影響はなかった。胎児の血漿中には T₃ は検出されなかった。II 型脱ヨウ素酵素活性と肝臓の T₄ も、母動物、胎児ともに TBBP-A による影響を受けなかった。一方、母動物の TSH は統計学的に有意ではない増加を示し(対照動物と投与動物でそれぞれ 22.0 ± 3.7 および 18.0 ± 2)、胎児の TSH は統計学的に有意な増加を示した(対照動物と投与動物でそれぞれ 4.9 ± 1.4 および 1.6 ± 1.4)。

この試験の報告はデータが不十分であり、胎児(および母動物)の血漿採取方法の記載がなく、試験に用いた動物数も記載されていないことを考えると、これらの所見の毒性学的意義は疑問である。母動物でみられた TSH 濃度の統計学的に有意でない増加については、ラットを用いて最近行なわれた規制目的の標準的な 90 日間経口投与試験でも、受胎能と神経行動学的発達をみる標準的なラット二世世代生殖試験でも認められておらず、したがって毒性学的に意味のある影響ではなく単発性の所見と考えられる。胎児でみられた TSH 濃度の統計学的に有意な増加については、他の試験で比較できるようなデータはないが、胎児の血漿採取方法に関する情報がないこと、また胎児での試料採取において予想される種々の制約を考えると、この所見の信頼性は不明である。

胎児と母動物の血漿の PAGE 分析では、TTR に ¹⁴C の標識は検出されなかった。また、¹²⁵I-T₄-TTR 結合の減少も認められなかった。しかし、投与用量の低さ(5 mg/kg)と投与期間の短さ(妊娠 10~16 日)を含め、この試験の限界を考えると、これらの所見について明確な結論は出せない。さらに、*ex vivo* での ¹²⁵I-T₄ の TTR に対する競合結合の試料は妊娠 20 日に採取されたが、大部分(79.8%)の TBBP-A またはその代謝物は最終投与(妊娠 18 日)後 48 時間以内に糞中に排泄されることがトキシコキネティクスの分析結果から示されていることを考えると、この試験で認められた TBBP-A の TTR に対する競合結合の欠如は、採取時期が遅かったことによる可能性がある。

結論として、*in vitro* の試験では、TBBP-A が動物において T₄ の TTR との結合に対して高い競合能を有していることが示された。しかし、*in vivo* における TBBP-A の TTR に対する親和性に関しては、入手できる限定的なデータから明確な結論を出すことはできない。