

て B-i), ii), iii) に則り GeneChip による網羅的遺伝子発現データを得た。

MEHP 曝露により有意差 ( $t$ -test  $p < 0.05$ ) を呈する 2518 遺伝子を対象に、群内分散が  $\%CV < 100$  となる発現域にある 199 遺伝子 (図 1) について詳細な検討を行った。用量相関のある遺伝子として、MEHP 曝露により発現誘導される傾向のある 15 遺伝子 (Exoc6, Ptgr2, Vamp4, Ttc37, Zfp639, Slc25a19, Zfp322a, Sgpl1, Ml11, Zfp42, Vps37a, Mcmbp, Nup54, Nus1, Ev1)、及び発現抑制される傾向のある 10 遺伝子 (Htatsf1, Retsat, Senp2, Csnk2a2, Smndc1, Gent2, Zfp212, Eras, Runx1, Nkx6-2) を最終的に抽出した。これらの中には、DNA メチル化や、形態形成、精子形成、神経系発達に関わる遺伝子が存在し、潜在的な標的として興味深い、発現変動量はいずれも極僅かであった。

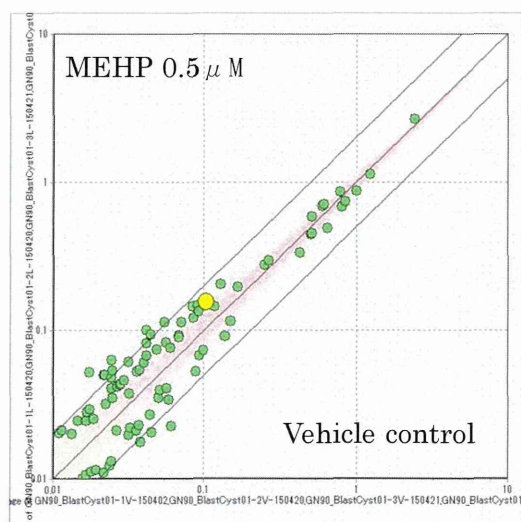


図 1 MEHP 曝露による遺伝子発現変動 (緑点、黄点は  $p < 0.05$ )。薄赤点は有意差のない遺伝子。黄点は一例として DNA メチル化に関与する Ml11 遺伝子を示す。対角線上下の 2 倍変動線を越えるものはほとんど無かった。

#### iv) 微量サンプルにおける DNA メチル化解析技術の比較検討

DNA メチル化状態の精密評価に関しては、H26 年度に約 60 個の胚盤胞から抽出可能な量に相当するマウス DNA を用いて PBAT 法を試行しており、解析可能なデータを得られることを確認済みであるが、本研究で用意できる胚盤胞サンプルはさらに少量となる可能性がある (フタル酸曝露による受精卵発育不全の可能性があった) ため、より微量 DNA サンプルにも対応可能な Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit (Swift 社) についても同様の検討を行った。その結果、PBAT 法よりも多いリード数 (シーケンスした DNA 断片の数) を獲得可能であり、より信頼性の高いデータが得られることが確認できた。

現在、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit を用い、iii) と同等の MEHP 曝露サンプルについて網羅的 DNA メチル化解析を実施中である。

#### D. 考察

MEHP に関しては計画通り曝露実験を進めているが、網羅的な遺伝子発現解析の結果、発現変動は極僅かであった。ただし発現変動のあった遺伝子の中には神経系発達や DNA メチル化に関与するものもあり、実施中の情動認知行動解析や DNA メチル化解析の結果を加味して総合的に評価する必要がある。

#### E. 結論

MEHP については平成 27 年度計画通り

曝露実験を進め、胚盤胞レベルでの網羅的遺伝子発現や DNA メチル化解析から、個体レベルでの情動認知行動解析まで実施して分子機序の解析に基づく安全性評価研究を行った。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tanaka M, Yamazaki Y, Kanno Y, Igarashi K, Aisaki K, Kanno J, Nakamura T. Ewing's sarcoma precursors are highly enriched in embryonic osteochondrogenic progenitors. *J Clin Invest.* (2014);124(7):3061-74.

Janesick A, Nguyen TT, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Chandraratna RA, Kanno J, Blumberg B. Active repression by RAR $\gamma$  signaling is required for vertebrate axial elongation. *Development.* (2014);141(11):2260-70.

Kanno J, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Matsuda N, Morita K, Tsuji M, Moriyama N, Furukawa Y, Otsuka M, Tachihara E, Nakatsu N, Kodama Y. (2013) Oral administration of pentachlorophenol induces interferon signaling mRNAs in C57BL/6 male mouse liver. *J Toxicol Sci.* 38(4):643-54.

##### 2. 学会発表

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki and Jun Kanno, Dynamic biomarkers translatable to clinical outcomes generated by Percellome Toxicogenomics, The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASITOX2015) (2015. 6. 24), Jeju, Korea

北嶋 聡、種村健太郎、古川佑介、小川幸男、高橋祐次、大西 誠、相磯成敏、相崎健一、菅野 純  
シックハウス症候群レベルの極低濃度曝露の際の海馬における Percellome 法による吸入トキシコゲノミクスと遅発性中枢影響解

析

第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015. 6. 30)

菅野 純、相崎 健一、北嶋 聡

Percellome Toxicogenomics における動的バイオマーカー (Dynamic Biomarker) のカタログ化とその毒性予測利用  
第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015. 7. 1)

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Percellome Toxicogenomics for Mechanistic Analysis Towards Chronic Toxicity by a Newly Designed Repeated Dose Study, 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX2015) (2015. 9. 15), Porto, Portugal

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

# 初期胚解析のための 網羅的定量的遺伝子発現解析手法 (Percellome法)の最適化

1

## 技術的問題点

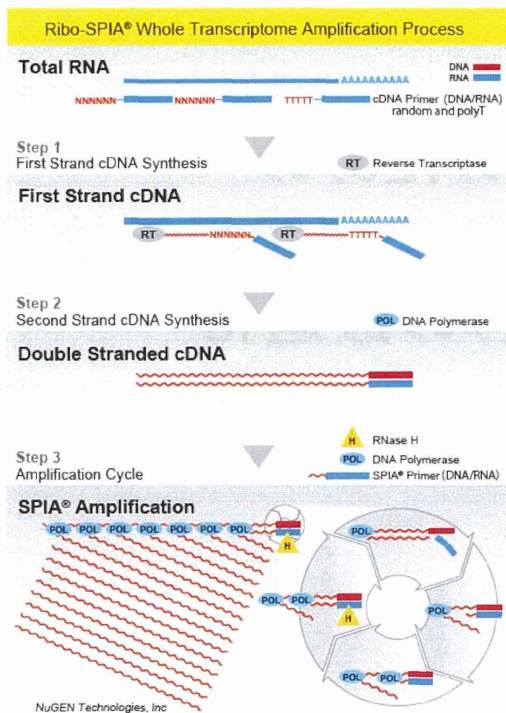
---

- サンプル量が通常解析の1000分の1程度
  - 定量性を維持しつつ、高い増幅効率が必要
  - 外部RNA Spike添加のための指標変更

サンプル中のDNA量 → サンプル中の細胞数

2

# 微量RNAの高増幅プロトコル



SPIA=Single Primer Isothermal amplification  
 500pg~100ngのtotal RNAから逆転写・増幅し、  
 μgオーダーのcDNAを得ることが出来る  
 (NuGEN社)。

3

# 胚盤胞の構成細胞数



胚盤胞

≒ 細胞 20個

1サンプル = 胚盤胞 50個のプール  
 ≒ 細胞 1000個

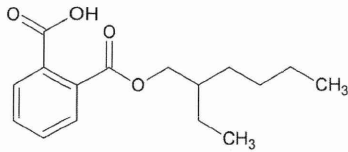
胚盤胞1個あたりの平均細胞数	20cell
プールした胚盤胞数	50
ホモジナイズ液量	100uL
推定gDNA濃度	5.00E-05g/L
添加係数(SpF)	0.02
GSC添加量	1.00E-10L
=	1.00E-04uL

4

## MEHP曝露(3日間)の胚盤胞における網羅的遺伝子発現解析

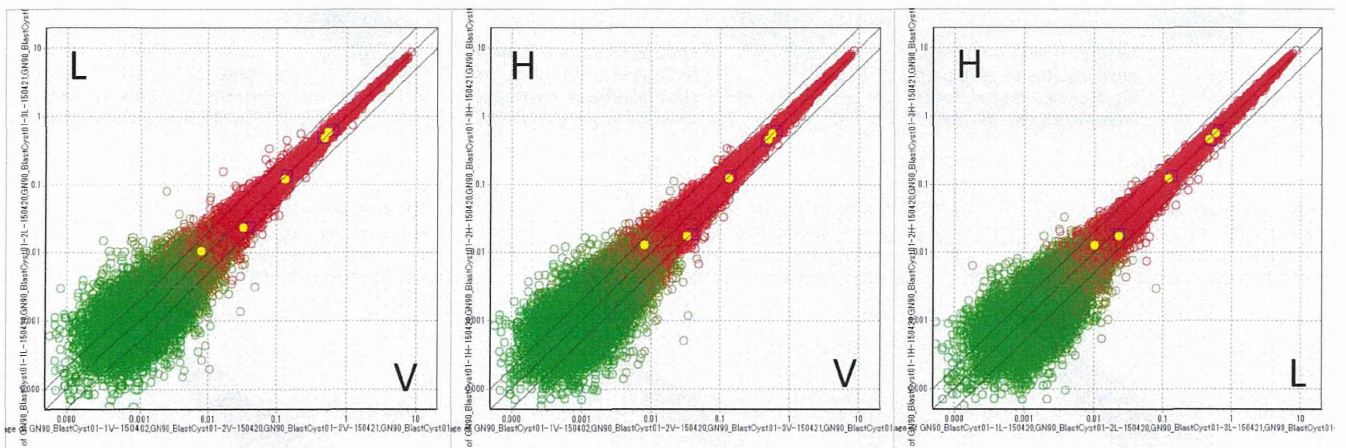
5

## MEHP曝露(3日間)の胚盤胞における網羅的遺伝子発現解析



V:	0 $\mu$ M
L:	0.5 $\mu$ M
H:	5.0 $\mu$ M

受精～3日後までMEHP曝露下に培養し、胚盤胞を得た。



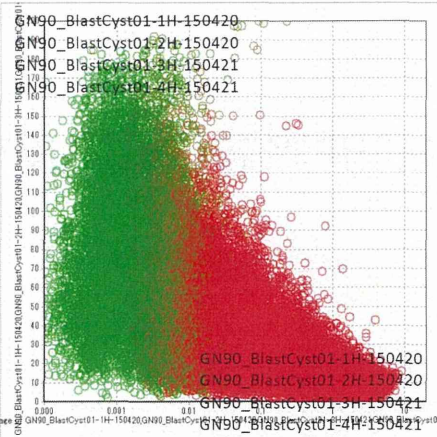
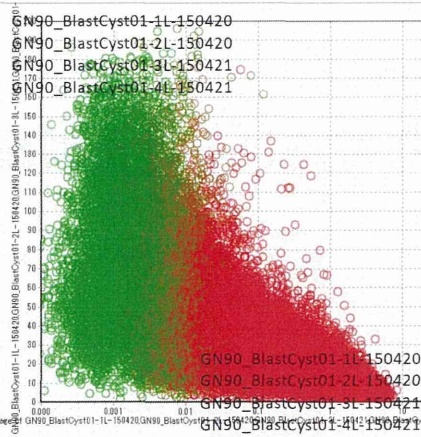
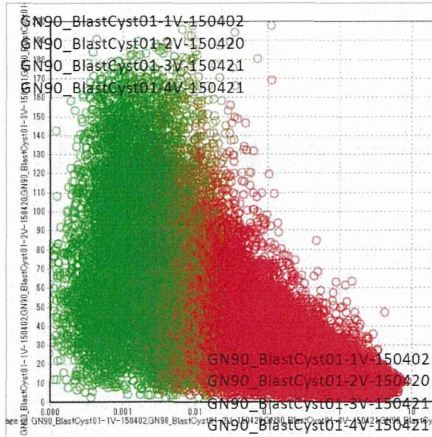
6

# 信頼域

V

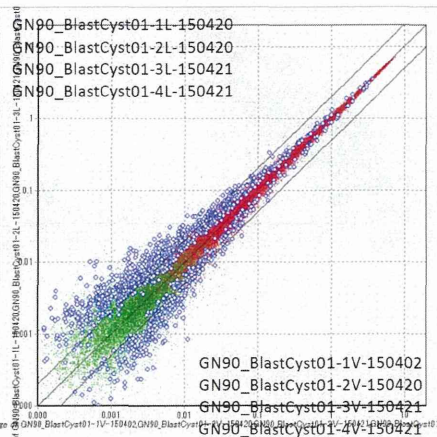
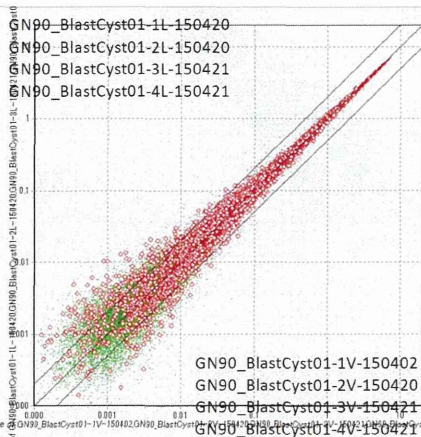
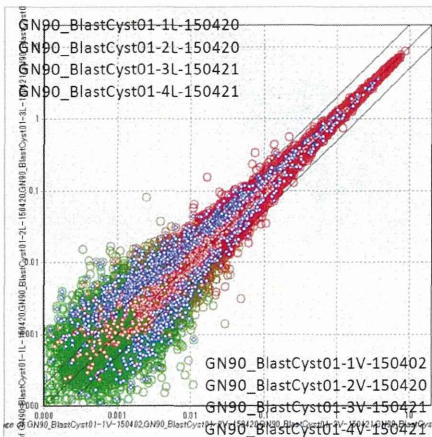
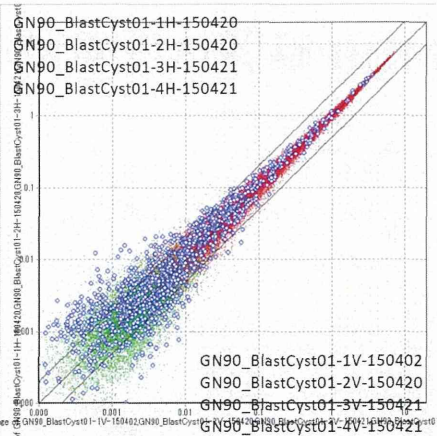
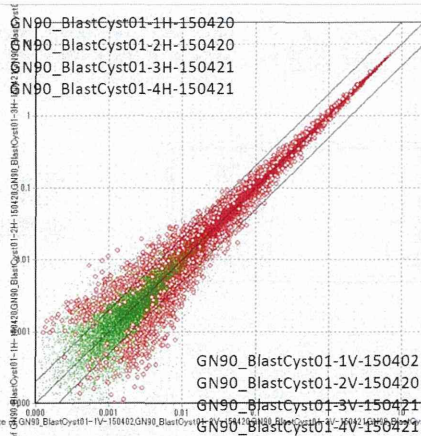
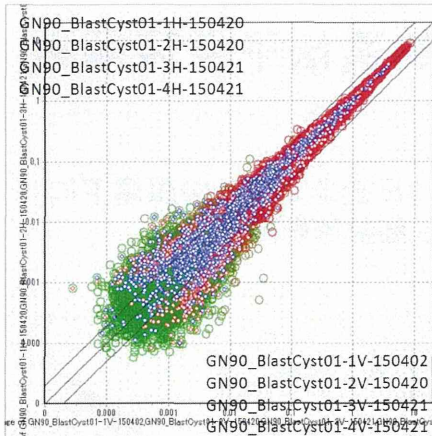
L

H



%CV  
↑  
expression →

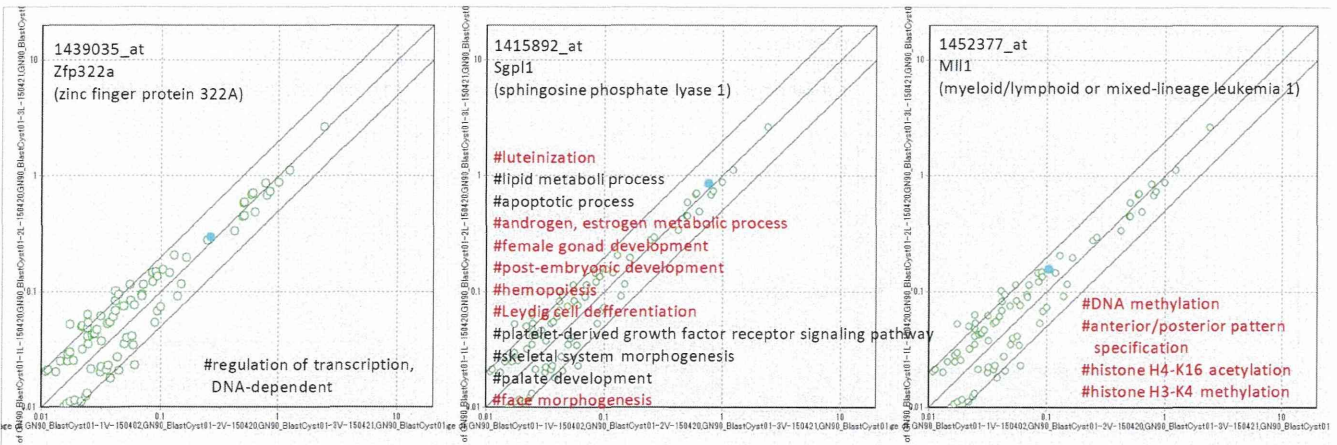
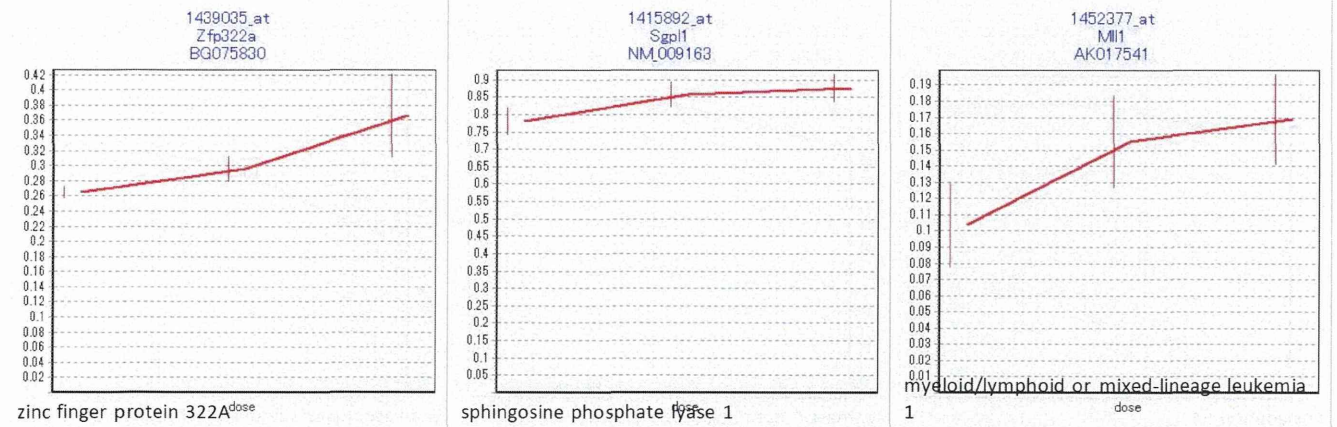
7



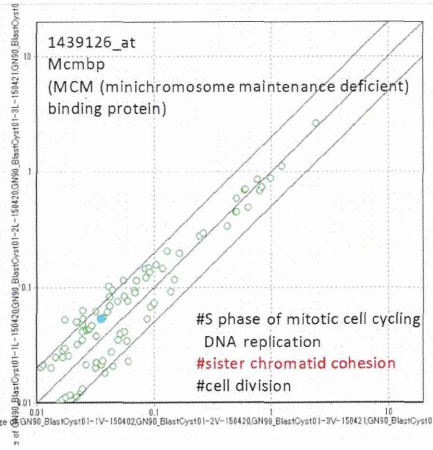
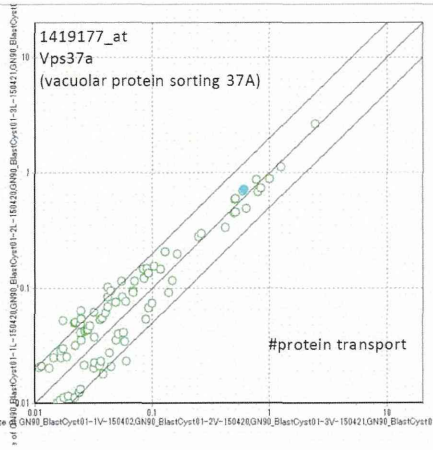
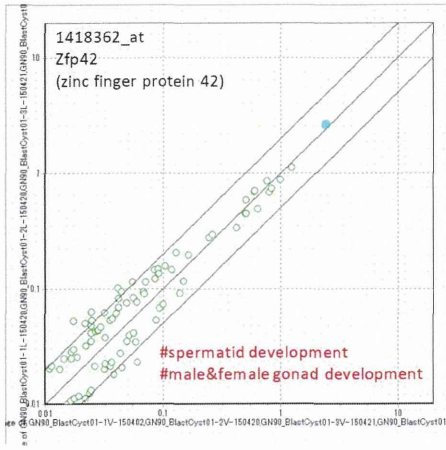
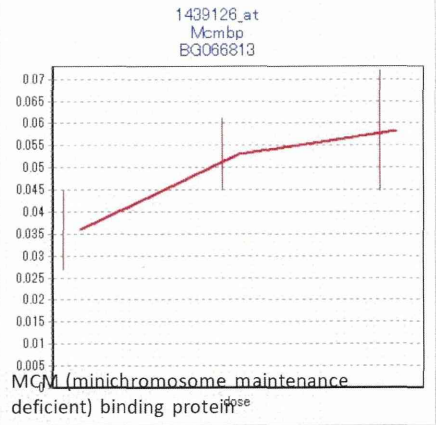
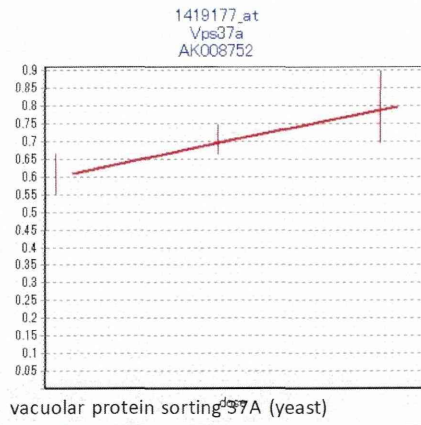
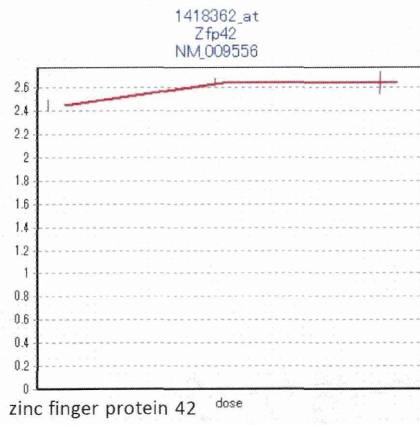
8

# MEHP曝露で発現誘導された遺伝子

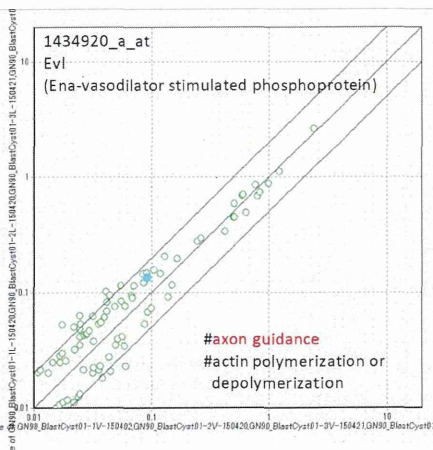
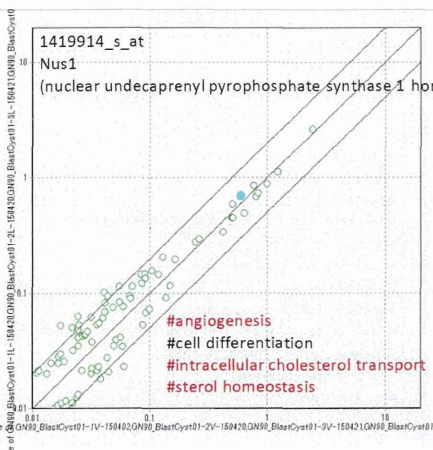
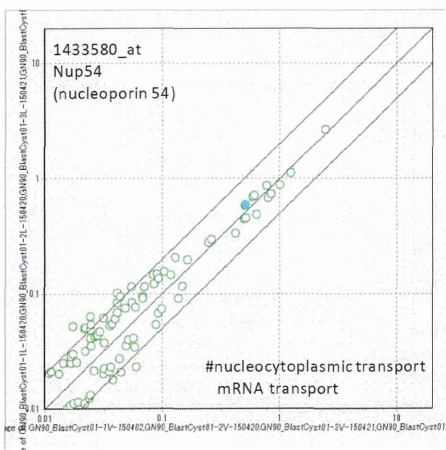
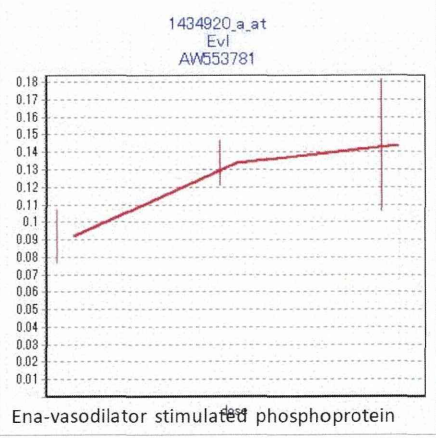
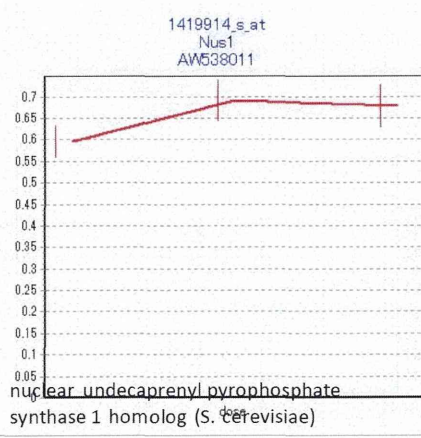
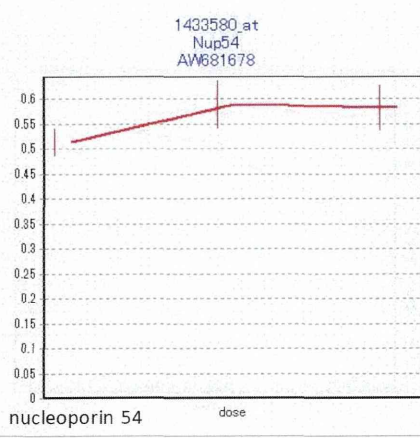
9



10



11

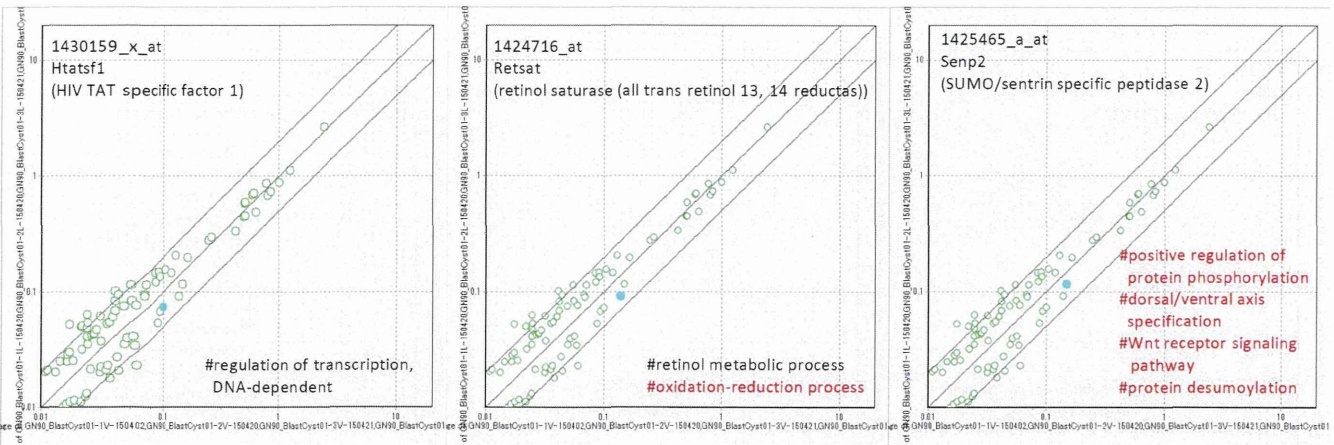
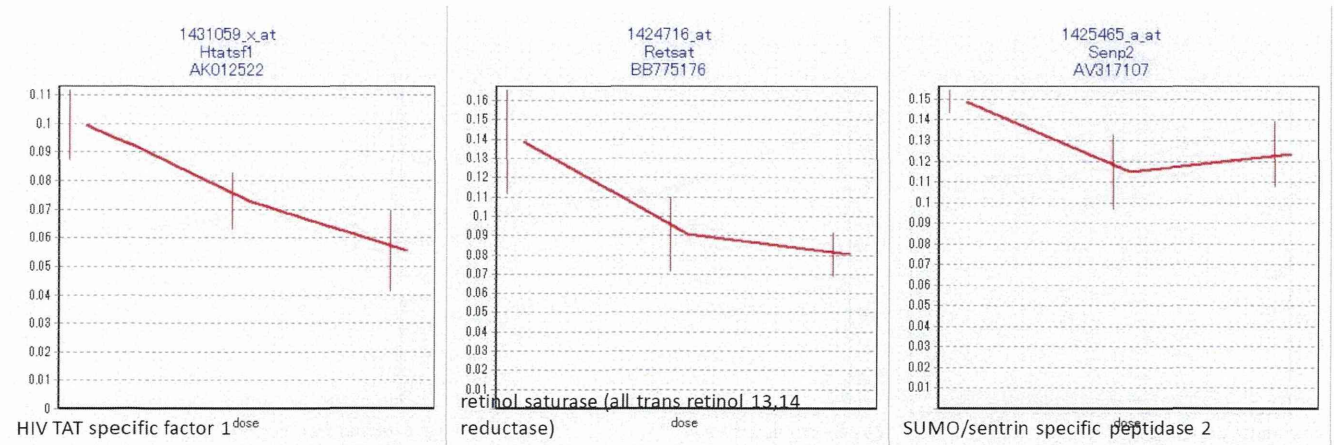


12

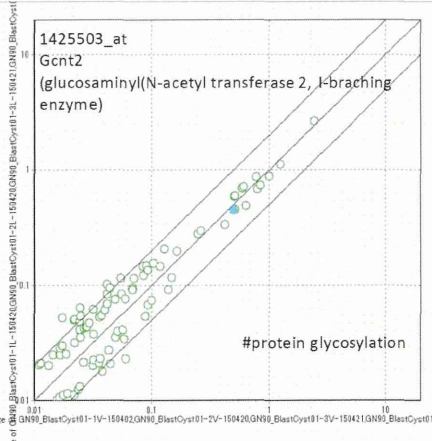
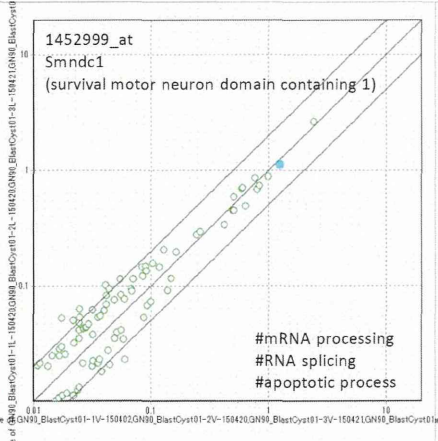
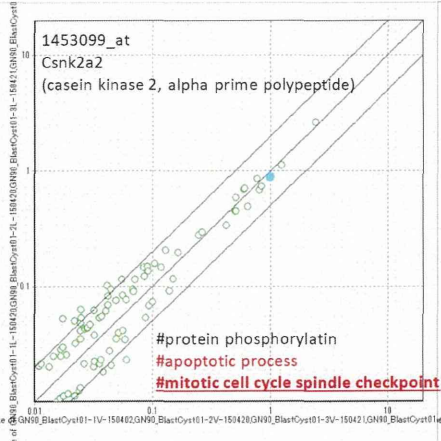
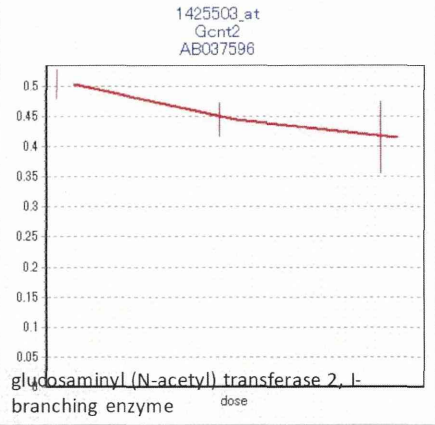
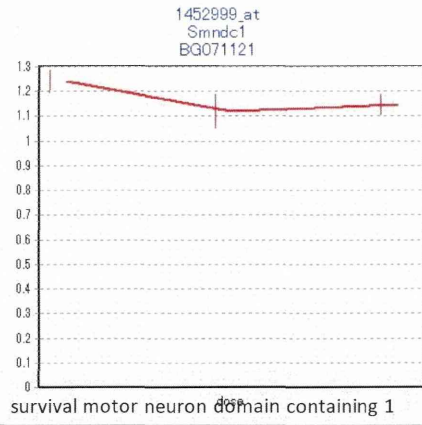
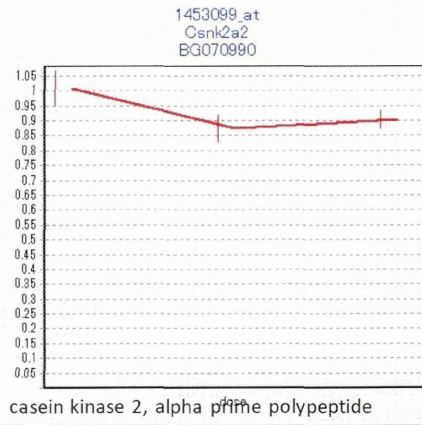


# MEHP曝露で発現抑制された遺伝子

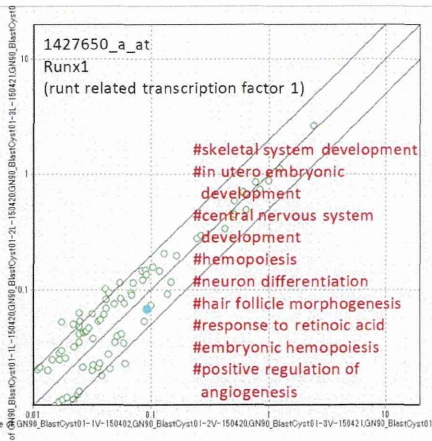
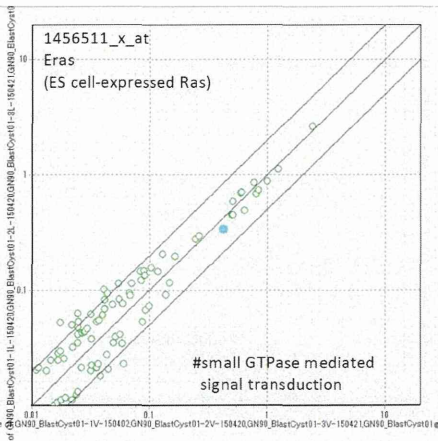
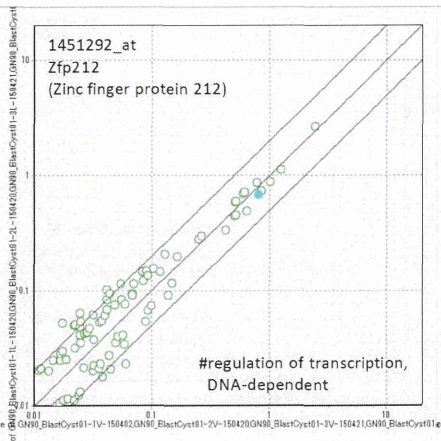
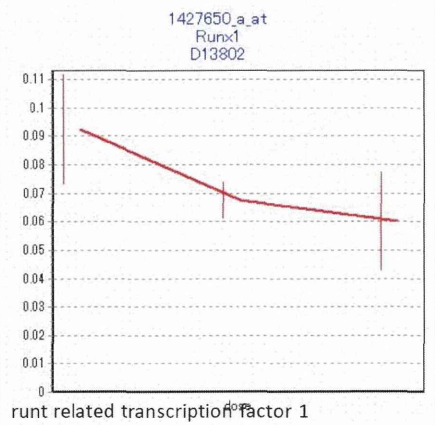
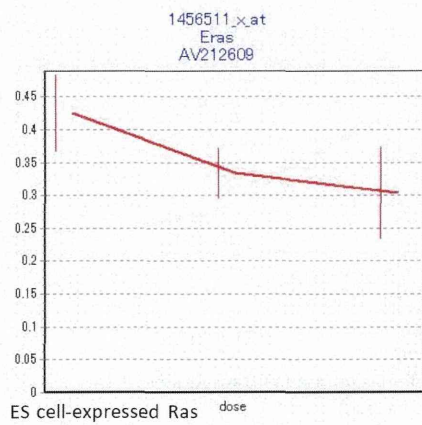
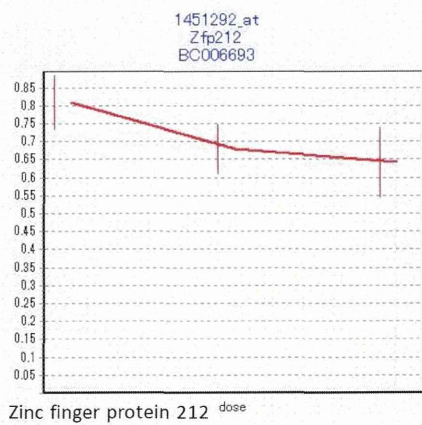
13



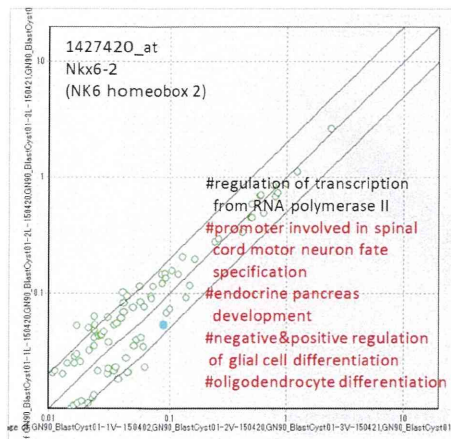
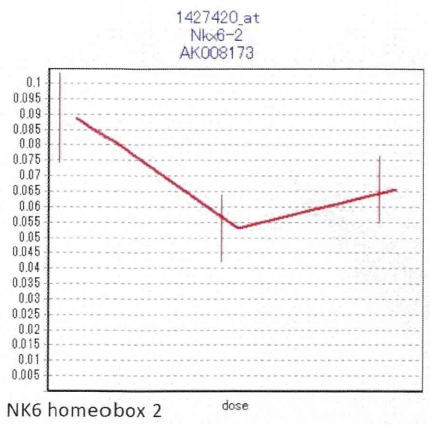
14



15



16



17

## RSortで自動抽出した変動遺伝子の数(降順)によるリスト

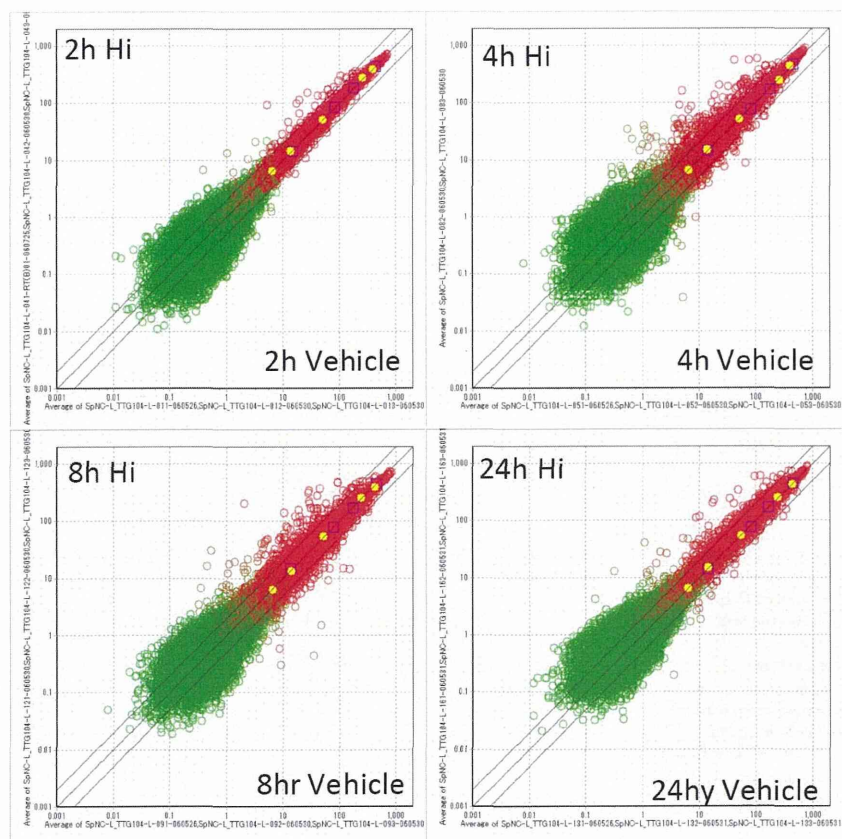
	Name	Condition	CP
1	TTG205-L	BTAZ3846(CoCAM 1)	12265
2	TTG206-L	BTAZ3884(CoCAM 2)	9326
3	TTG032-L	"3-Amino-1H-1,2,4-triazole"	6641
4	TTG137-CX	alpha-Lipoic Acid	6396
5	TTG173-L	TCDD/AhRKO	6395
6	TTG214-L	Red No.501	6210
7	TTG109-HC	Acephate	6180
8	ITG012-L	Formaldehyde (2hr x 1day)	5747
9	TTG041-L	Valproic acid sodium salt	5723
10	TTG098-L	DEHP	5687
11	TTG037-L	Phenobarbital	5584
12	TTG157-K	Valproic acid sodium salt	5582
13	TTG104-L	MEHP	5457
14	TTG052-L	All trans retinoic acid	5393
15	NTG024-HC	Triazolam (2 weeks old)	5241
16	TTG194-L	TTG4: A) Valproic acid sodium salt, B) Valproic acid sodium salt (TTG4(2+1))	5062
17	TTG041-K	Valproic acid sodium salt	4900
18	TTG157-L	Valproic acid sodium salt	4743
19	TTG136-L	Phytol	4739
20	TTG074-L	Bromobenzene	4610
21	TTG160-K	5-fluorouracil	4603
22	TTG016-L(C)	Pentachlorophenol	4420
23	TTG141-L	Tributyltin chloride x Clofibrate	4396
24	TTG109-CX	Acephate	4347
25	ITG001-L	Formalin (6hr x 7day)	4293
26	TTG195-L	TTG4: A) Valproic acid sodium salt, B) Valproic acid sodium salt (TTG4(4+1))	4251
27	TTG157-CX	Valproic acid sodium salt	4238
28	TTG053-L	Ethinyl estradiol (PLD)	4209
29	TTG038-Y	Hydroxycitric Acid	4205
30	TTG204-L	Red No.225	4200
31	TTG110-L	Glycyrrhizin	4110
32	TTG160-L	5-fluorouracil	3982
33	TTG098-K	DEHP	3978
34	TTG154-L	Sodium Dehydroacetate	3957
35	TTG132-L	Curcumin	3847
36	TTG086-L	Coenzyme Q10	3757
37	TTG044-K	Clofibrate	3722
38	TTG054-L	Diethylnitrosamine (C57BL/6)	3711
39	TTG031-K	"2-Chloro-4,6-dimethylaniline"	3696
40	TTG151-L	Valproic acid sodium salt x Valproic acid sodium salt	3622
41	TTG118-L	Clofibrate x Clofibrate	3535
42	TTG146-CX	Forskolin	3453
43	TTG193-L	TTG4: A) Valproic acid sodium salt, B) Valproic acid sodium salt (TTG4(1+1))	3390
44	TTG109-L	Acephate	3389
45	TTG182-L	Imidacloprid	3364
46	TTG156-L	Food Red No.104	3347
47	TTG044-L	Clofibrate	3322
48	TTG010-L	Acetaminophen	3270
49	TTG209-L	BTAZ7032(CoCAM 5)	3253
50	ITG031-L	Chlorpyrifos (6hr x 7day)	3240

DEHP(TG菅野班)  
0, 200, 700, 2000mg/kg  
≒0, 512, 1800, 5120 μM

MEHP(TG菅野班)  
0, 70, 200, 700mg/kg  
≒0, 250, 715, 2500 μM  
↑L群の500倍

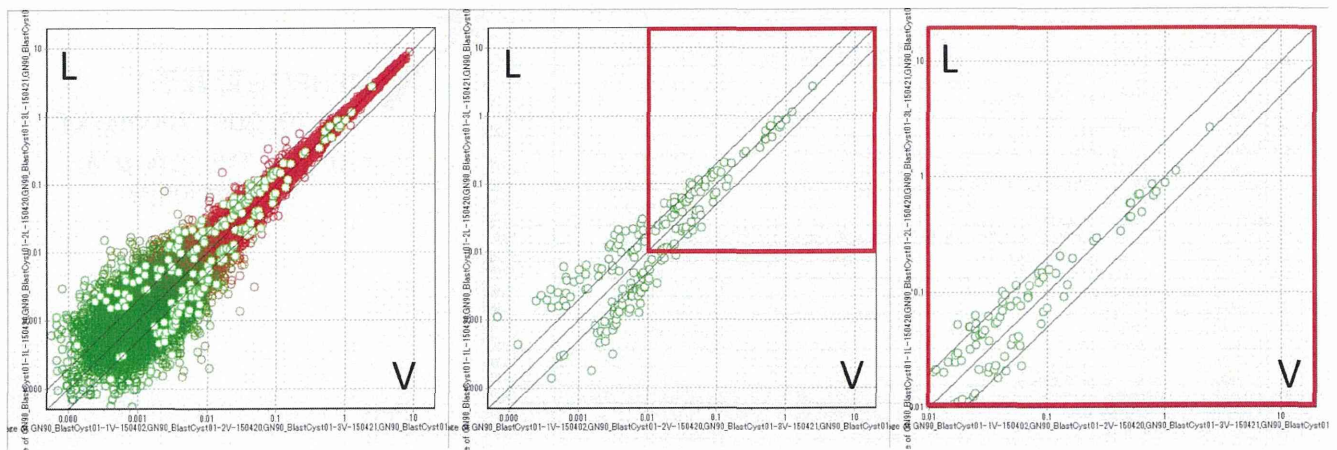
18

# MEHP経口投与(700mg/kg)マウス肝の遺伝子発現変動



19

# MEHP曝露の胚盤胞における遺伝子発現の変動量



20

## MEHP曝露の胚盤胞における遺伝子発現解析結果

---

- 用量相関のある遺伝子として、MEHP曝露により発現誘導された15遺伝子、及び発現抑制された10遺伝子を抽出した。
- これらの中には、DNAメチル化や、形態形成、精子形成、神経系発達に関わる遺伝子も存在し、潜在的な標的として興味深い。
- 発現変動量はいずれも僅かであった。

21

## 実施中の解析

---

### • MEHP曝露胚盤胞の網羅的DNAメチル化解析

- 遺伝子発現に変動のあった遺伝子だけでなく、次世代シーケンサを利用して全ゲノムを対象とする。
- Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit導入。

22

## 厚生労働科学研究 (H26-化学-指定-002)

受精卵培養液中のフタル酸類の受精卵及び出生児に対する影響評価研究

### 分担研究報告書

発生工学手法を用いた初期胚への *in vitro* 影響解析研究

分担研究者 安彦 行人

国立医薬品食品衛生研究所・毒性部・第四室

主任研究官

#### 研究要旨

ヒト生殖補助医療における体外受精・胚移植で用いられる培養液類から高濃度のフタル酸類 (DEHP・MEHP) が検出されたことに鑑み、その胚発生および情動認知行動への影響を動物実験により詳細に解析することを目的に研究を行った。本年度はマウス体外受精胚を MEHP 曝露条件下で胚盤胞まで培養し、仮親に移植して出生させることで、情動認知行動解析に十分な匹数のマウス個体を得ることに成功した。あわせて DNA メチル化解析・遺伝子発現解析のための胚盤胞サンプルも採取した。DEHP については、培養液に流動パラフィンを重ねる通常の培養条件下では、培養液中に保持されないことから培養条件の再検討を行い、DEHP を吸着することが疑われる流動パラフィンを使用せずに胚培養・マウス個体作出を検討した。ヒト ES・iPS 細胞を用いて得られた結果をヒト初期胚に敷衍するための基盤データとしてマウス ES・EpiS 細胞の比較系樹立も進めており、*in vitro* 曝露実験のための、細胞増殖曲線の作成および凍結細胞ストックの作製を行った。

#### A. 研究目的

生殖補助医療において、体外受精で出生する児の数は近年急激に増加しており、2013年には42554人と全出生数の4.1%を占めるに至っている。

平成24年度厚労科研費・化学物質リスク研究事業(牧野班)の調査により、ヒト体外受精に用いられる精子調製液、受精卵培養液および添加用ヒト血清アルブミン溶液から、高濃度(母体血清中濃度の数百~数千倍)のDEHPおよびMEHPが検出され

た。これらフタル酸類が個体におよぼす影響について不足している科学的情報を、マウスを用いて取得すると共に、初期胚の化学物質曝露に対する短期間且つ高感受性の安全性評価手法を開発する。

#### B. 研究方法

i) マウス人工受精卵の MEHP 曝露による胚盤胞期胚およびマウス個体の作出  
培養液に流動パラフィンを重ねる通常のマウス胚培養条件では、DEHP が培養液

中に保持されないことから、フタル酸類曝露実験については添加量通りの曝露量が得られる MEHP を先行させた。C57BL/6CrSlc ♀ を過排卵処理 (PMSG 5units/匹 腹腔内投与、48 時間後に hCG 5units/匹 腹腔内投与) して得た未受精卵を、同系統の凍結精子を用いて体外受精させ、MEHP (和光純薬、Lot No. TSM0238) を添加した培養液中で胚盤胞まで培養した。MEHP は媒精 3 時間後に用いる洗浄培地から添加し、用量は V 群 0 $\mu$ M、L 群 0.5 $\mu$ M、H 群 5 $\mu$ M とした。MEHP エタノール溶液 (L 群 5mM、H 群 50mM) を調製し、ヒト・リコンビナントアルブミン溶液 (Vitrolife G-MM, Lot No. 10038) 500 $\mu$ l に対し 5 $\mu$ l の割合で添加して 100 倍濃度ストック溶液とした。KSOMaa 培地 (Millipore、Lot No. 40530-1) にストック溶液 1/100 容を添加して MEHP 添加培養液を調製した。胚培養は 100 $\mu$ l 培養液滴あたり胚数 20 個で行い、流動パラフィン (ナカライテスク、Lot No. M4P3642) を重層した。培養前および培養後の培養液サンプルを保存し、GC/MS/MS により MEHP 濃度を検出下限 0.0072 $\mu$ M にて測定した (当所生活衛生化学部・河上強志主任研究官の協力)。培養により得られた胚盤胞 (受精後 3 日) のうち 80-100 個を 20 個/匹の割合で偽妊娠 MCH ♀ マウス (交尾後 2.5 日) に移植し、帝王切開にて産仔を得、自然交配により出産させた MCH 系マウスに里子付け (里子 4 匹、里親自身の子 6 匹の計 10 匹に数を統一) して哺育させた。情動認知行動解析に十分な数のマウス個体を確

実に得るため、体外受精から胚培養、胚移植・胚サンプリング、帝王切開に至る実験は 3 セット連続で、同一個体♂由来の精子および同一ロット♀マウス由来の未受精卵を用いて行った。

また遺伝子発現解析および DNA メチル化解析のため、1 サンプルあたり 70-100 個の胚盤胞を、RLT バッファー (QIAGEN) にて溶解し、-80 $^{\circ}$ C にて保存した。

#### ii) ガラスシャーレ・流動パラフィン非重層培養系によるマウス胚培養・個体作製の試み

培養に用いる流動パラフィンおよびプラスチックシャーレが DEHP を強く吸着することが疑われたことから、ガラスシャーレを用い流動パラフィンを重層しない条件でのマウス胚培養を試みた。30mm ガラスシャーレ (東京硝子器械株式会社) をフタル酸除去のため 250 $^{\circ}$ C、16 時間焼成し、KSOMaa 培地 2ml を加えてマウス胚を培養した。対照として通常法のプラスチックシャーレ・流動パラフィン使用、および流動パラフィンを重層しないプラスチックシャーレ (培養液 2ml) での培養を行った。プラスチックシャーレは住友ベークライト、MS-11350 を使用した。得られた胚盤胞 (受精後 3 日) を偽妊娠 MCH ♀ マウス (交尾後 2.5 日) に移植し、16 日後に着床率・満期発育率を評価した。

#### iii) マウス ES 細胞、EpiS 細胞の比較を行う実験系の確立

ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞と性質が近いと考えられるマウス由来の EpiS 細胞と、

胚盤胞の内部細胞塊由来で EpiS 細胞より多能性が高いと考えられているマウス ES 細胞との間で、DEHP や MEHP を含む化学物質に対する、主としてエピジェネティックな反応の差異を検討するため、同系統マウス由来の ES・EpiS 細胞を用いた曝露実験系の確立を行った。曝露実験を適確に実施するために、これら細胞の増殖曲線の作成および凍結細胞ストックの作製を行った

### C. 研究結果

i) マウス人口受精卵の MEHP 曝露による胚盤胞期胚およびマウス個体の作出  
MEHP 添加培養液を用いてマウス受精卵を培養した結果、2 細胞期到達率は 63~67%、うち胚盤胞到達率は 91~97%、着床率 37~54%、移植胚数に対する出生率は 19~21%で、いずれも 3 回の実験において V、L、H 各群間に有意な差は見られなかった。合計で V 群 38 匹、L 群 33 匹、H 群 31 匹の♂マウスが得られ、情動認知行動解析のための必要数を十分に満たせると考えられた。情動認知行動解析実験の対照群として、自然交配・自然分娩による C57BL/6CrSlc 子マウスの作出も行い、♂14 匹を得ている。

ii) ガラスシャーレ・流動パラフィン非重層培養系によるマウス胚培養・個体作製の試み  
ガラスシャーレを用いた流動パラフィン非重層培養において胚盤胞までの発生率は 9 割を超え、オイルを用いた培養と遜色なかった。しかし現行法（流動パラフィン重層）、ガラス

シャーレ法（流動パラフィン無し）それぞれで培養した胚盤胞を偽妊娠マウスへ移植し、着床率・発生率をチェックしたところ、現行法では 44%の満期発育胎児が得られたのに対し、ガラスシャーレ法では 1.6%に留まった（いずれも recipient 数 3、各々 20-21 個の胚盤胞を移植）。ガラスシャーレ法で満期発育胎児率が悪かった原因として、高温焼成によりシャーレ表面に有害物質が付着した、ガラス表面に培地成分が吸着された、等の仮説を立て、焼成後ガラスシャーレの超純水洗浄や、培地での conditioning を行ったが、着床・出生率に改善は見られなかった。一方、流動パラフィン非重層プラスチックシャーレを用いた培養では出生率 21%で、対照の流動パラフィン重層群の出生率 29%と同等であった。

iii) マウス ES 細胞、EpiS 細胞の比較を行う実験系の確立  
本年度は遺伝子発現解析および DNA メチル化解析のための必要核酸量（細胞数）から、播種細胞数およびタイムコースの確定のため、ES・EpiS 細胞それぞれの増殖曲線を作成した。あわせて、曝露実験スタートに必要な凍結ストック細胞の作製も行い、十分量のストックを得ることができた。

### D. 考察

生殖補助医療においては胚盤胞までの比較的長期の培養を行う手技が主流となっているため、本研究ではマウス胚盤胞を主たる解析対象とした。



初期胚の体外培養が DNA メチル化割合の変化などエピジェネティックな変化をもたらすことを示唆する報告があるが、その機構や原因物質は明らかでなく、個体の発生や情動認知など生後の機能に及ぼす影響も不明である。

本年度の実験で、受精直後から胚盤胞期まで MEHP に曝露した胚から、マウス個体を情動認知行動解析に十分な匹数得ることができた。受精率・胚盤胞期までの発生率・着床および出生率については、MEHP 曝露の有無および用量間に有意な差は見られなかった。今後、得られた個体について体重増加の観察および情動認知行動解析を進める。同様に MEHP 曝露胚盤胞サンプルを得て、遺伝子発現変動、DNA メチル化の変動解析を行い、安全性評価法開発のためデータ収集を進める。

一方、DEHP については、きわめて低い水溶性のため、通常の培養条件では培養液中から流動パラフィン相に急速に移行すると考えられ、胚培養では曝露実験を行うことができないことが明らかになった。培養液中 DEHP 濃度の維持が可能な培養法を検討したが、ガラスシャーレ使用・流動パラフィン非重層での培養では胚盤胞はできるものの、胚盤胞移植による出生個体がほとんど得られなかった。プラスチックシャーレ使用であれば流動パラフィン非重層培養での個体作出が可能と予想されるが、培養液中 DEHP 濃度の変動について改めて検討が必要である。

多能性幹細胞研究の進展を受け、化学物

質の初期胚への影響を評価するため ES 細胞・iPS 細胞が用いられるケースが出てきているが、ヒトの ES・iPS 細胞はマウスでいう EpiS 細胞に相当するやや分化が進んだステージであり、初期胚の代用とすることは必ずしも適切でない。より分化段階が低く初期胚をよく模倣すると考えられるマウス ES 細胞を、マウス EpiS 細胞と同一生物種内で比較することで、ヒト ES・iPS 細胞を用いた実験結果をより適切にヒト胚に敷衍できると考えられる。

#### E. 結論

MEHP については曝露胚盤胞移植によるマウス生産に成功し、今年度内に情動認知行動解析を実施する。DEHP 曝露については曝露濃度安定化のために培養プロトコルの最適化を進めつつ、胚培養開始から DEHP が流動パラフィンに移行するまでの短期間の曝露でも胚に影響を与えるか否か、検討が必要である。マウス ES・EpiS 細胞の比較系については曝露実験プロトコルを確立し、近く解析に入る。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

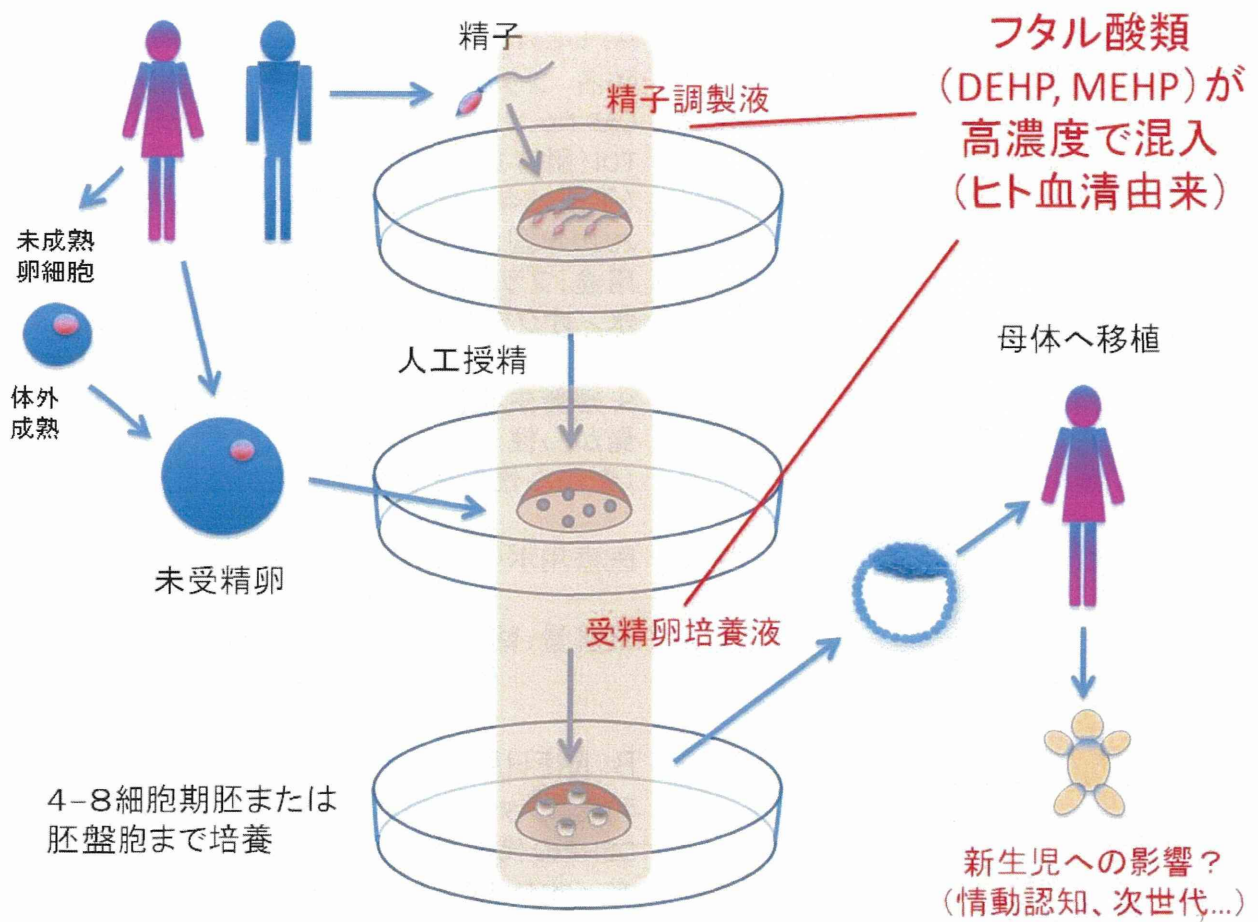
なし

3. その他

なし

# 体外受精に用いられる培養液中の フタル酸エステル類が、胚発生および個体に 及ぼす影響の解析

安彦 行人



## 背景：ヒト胚の培養液中に高濃度でフタル酸類(DEHP, MEHP)が混入していた

- 厚労科研費・牧野班※(平成22年度)での測定結果

### 最大検出量

受精卵培養液:	DEHP 0.2 $\mu$ M	MEHP 0.5 $\mu$ M
精子調製液:	DEHP 0.3 $\mu$ M	MEHP 1.0 $\mu$ M
(母体血清 中央値):	DEHP <0.03 $\mu$ M	MEHP <0.01 $\mu$ M

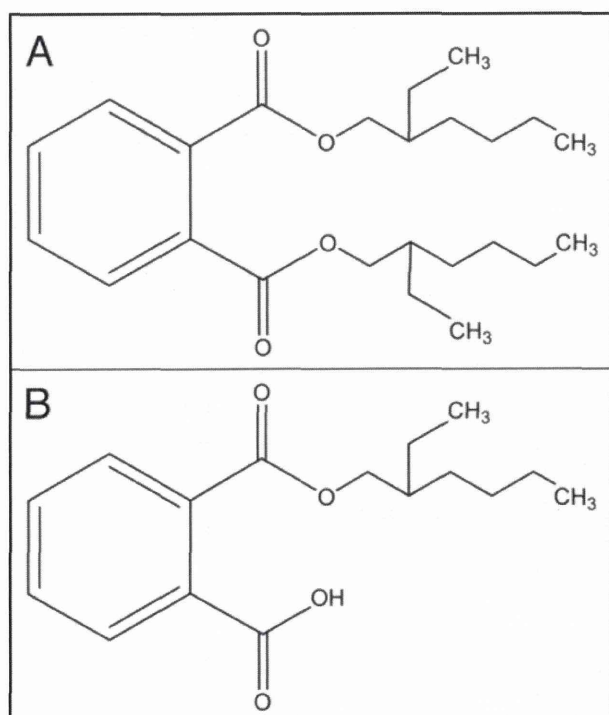
添加用ヒト血清アルブミン: DEHP 2.5 $\mu$ M MEHP 6.6 $\mu$ M

※化学物質リスク研究事業「化学物質の子供への健康影響に関するエピジェネティクス評価法の開発に関する研究」

人体への影響の有無を推定するための知見が少ない。

動物を用いた実験が必要

3



### A: DEHP

和名 フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)

CAS No. 117-81-7

TDI(耐容1日摂取量)30 $\mu$ g/kg/day

(平成25年、食品安全委員会)

2010年国内出荷量 140,389トン

用途:プラスチック可塑剤

水/オクタノール分配係数 logKow = 7.5

生殖発生毒性(マウス)NOAEL 14mg/kg/day

発がん性 グループ2B

(発がん性を有する可能性がある)

医療用ポリ塩化ビニル製品(血液バッグ等)

...代替が遅れている

曝露量:輸血(成人)8500 $\mu$ g/kg/day

(新生児)22600 $\mu$ g/kg/day

### B: MEHP

和名 フタル酸モノ(2-エチルヘキシル)

DEHPの代謝産物

水/オクタノール分配係数 logKow = 4.73

4