

1 日までに細胞分裂を終了するため、生後2日のSDラットの精巣から調製したセルトリ細胞及
2 び原生殖細胞の共培養系を用いてMEHPの作用を検討された(Li et al. 1998)。MEHPは用量
3 依存的なセルトリ細胞からの原生殖細胞の分離を引き起こすと共に、セルトリ細胞の増殖を
4 抑制した。また、MEHPはFSH刺激によるセルトリ細胞の増殖を抑制したが、MEHPのセルトリ
5 細胞の増殖抑制に対するcAMPの添加効果は認められなかった。これらのことから、新生児
6 期にラットがMEHPに暴露されるとセルトリ細胞数の減少を招き、その結果成熟期での精子形
7 成減少の生じることが推定される。

8 一方、2歳未満の若いカニクイザルにDEHPを500 mg/kgで14日間投与しても精巣に変化
9 の見られないことを報告されている(Pugh et al. 2000)。また、マーモセットにおいても精巣毒性
10 が発現していない(Kurata et al. 1998; Tomonari et al. 2006)。しかし、サルで精巣毒性の発現
11 しないメカニズムが充分解明されていないことから、TDI設定にげっ歯類の無毒性量を用いる
12 こともまた適切であると考えられる(Koizumi et al. 2001)。

13 なお、環境省は DEHP (10,50,250ug/kg,1.25,40,50,100,200,1000mg/kg)を 42 日間強制経口
14 投与した一世代試験の結果、影響が既に報告されている用量付近(100mg/kg)で F0 母動物
15 の肝臓細胞腫大などの有意な所見が認められたと報告している (<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

17 なお、DEHP を含む複数のフタル酸を投与してその影響を検討したいくつかの研究が報告
18 されている。SD ラットの妊娠 14-18 日に DBP と DEHP (それぞれ 500mg/kg)を混合投与した
19 研究において、性成熟した雄の児を剖検した結果、DBP+DEHP の混合投与は、DBP または
20 DEHP 単独の投与と比較して、尿道下裂や精巣上体不全、生殖器重量の低下、生殖細胞の
21 変異などを相加的に増加させることが示された。また、生後 13 日での AGD 減少と、妊娠 18
22 日でのテストステロン生成、insl3 および cyp11a の遺伝子発現に、DBP・DEHP の相加的作用
23 が認められた(Howdeshell et al. 2007)。

24 BBP、DBP、DEHP、DEP、DiBP、DPP のテストステロン生成に対する複合作用を調べるた
25 めに、それぞれのフタル酸エステルがテストステロン生成を同レベルに減少させるように投与
26 量を設定し(DPP:最高投与量として 100 mg/kg、それ以外のフタル酸は最高投与量とし 300
27 mg/kg)、SD ラットの妊娠 8-18 日に単独または混合投与を行った研究では、混合投与におい
28 て、胎児のテストステロン生成が相加的に減少することが示された(Howdeshell et al. 2008b)。

29 BBP、DBP、DEHP、vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuron のテストステロン生成に
30 対する相加的な作用を調べるために、SD ラットの妊娠 14-18 日に単独または混合投与を行
31 った。混合投与のそれぞれの最高投与量を BBP (150 mg/kg)、DBP (150 mg/kg)、DEHP (150
32 mg/kg)、vinclozolin (15 mg/kg)、procymidone (15 mg/kg)、prochloraz (35 mg/kg)、linuron (20
33 mg/kg)とし、0、25、50、75%の投与量を用いて比較を行った。これらの物質は、①テストステ
34 ロン生成の抑制(BBP、DBP、DEHP)、②アンドロゲン受容体アンタゴニズム(vinclozolin、
35 procymidone、prochloraz、linuron)という異なるメカニズムによって抗アンドロゲン作用を示す
36 と考えられているが、これらの物質の混合投与についても、AGD の減少や乳頭保持など作用

1 は相加的であった(Rider et al. 2008)。

2 Wistar ラットの妊娠 13-21 日に DEHP 単独(150mg/kg)、DBP 単独(100、500mg/kg)、また
3 は、DEHP(150mg/kg)+DBP(100mg/kg)の混合投与を行った結果、胎児の精巣テストステロ
4 ンレベルの減少が DBP の 500mg/kg 投与及び DEHP+DBP の混合投与で認められた。
5 DEHP+DBP の混合投与は、精細管の径の減少や、原生細胞の多角細胞化などを引き起こ
6 したが、単独投与では認められなかった(Martino-Andrade et al. 2008)。

7
8
9 ヒトへの影響としては、DEHP(MEHP)の暴露が精液量の減少、精子の形態異常の増加
10 (Zhang et al. 2006)、血中フリーテストステロン量の減少(Pan et al. 2006)、精子の DNA 損傷の
11 増加(Hauser et al. 2007)に参与していることが示唆されている。Colonらは、プエルトリコの女
12 児にみられる乳房の早熟とDEHP(MEHP)暴露とに相関関係があると報告している(Colon et al.
13 2000)。また、DEHP(MEHP)暴露 が子宮内膜症(Cobellis et al. 2003; Reddy et al. 2006)や在胎
14 期間の短縮(Latini et al. 2003)と関連しているという報告もある。

15

16 4. 発生毒性

17 DEHP をICR マウスに妊娠0-18日に0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0%(0, 70, 190, 400, 830, 2,200
18 mg/kg)混餌投与した結果、400mg/kg以上の投与で生存胎児の体重減少、奇形児の増加が
19 認められ、NOAELは70mg/kgとされた(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura 1982)。CD-1
20 マウスの妊娠0-17日に0.025, 0.05, 0.1または0.15%のDEHPを含む飼料を与えたとき、0.1%
21 (191 mg/kg)以上の投与量で胚死亡の増加がみられ、0.05% (91 mg/kg)以上の投与量で形態
22 異常胎児の増加が認められことから、LOAELは91 mg/kg(0.05%), NOAELは44 mg/kg(0.025%)
23 とされている(Tyl et al. 1988)。なお、環境省はDEHP(10,50,250 ug/kg, 1.25,40,50,100,200,1000
24 mg/kg)を42日間強制経口投与した一代試験の結果、50ug/kgにおいてF₁雌の血清中FSH
25 濃度の高値が得られたが、生理的変動の範囲内であると考えられたと報告している
26 (<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

27

28 ヒトの児についての調査から、妊婦のDEHPを含むフタル酸類の代謝物の量と男児の生殖
29 器官の発達間に有意な関連性があることが最近報告された(Swan 2008)。

30

31 5. その他

32 DEHP を周産期のNc/Nga マウスに100 μg/匹の用量で腹腔内投与し、生後8週の雄の児
33 の耳にアレルギーを注射したところ、アレルギー反応が増加したとの報告が有る(Yanagisawa
34 et al. 2008)。また、室内の塵中の DEHP 量と子供の喘息との間に有意な相関が認められたと
35 の報告があり(Kolarik et al. 2008)、DEHP による生殖・発生毒性に加えて、アレルギーとの関
36 係にも注意しておく必要があると思われる。

1 なお、2000 年の厚生省生活衛生局食品化学課長通知(平成12年6月14日 衛化第31
2 号)の DHEP の評価においては、「フタル酸エステル類については内分泌ホルモン様の作用
3 及びそれに基づく生体障害の可能性が問われている。DEHPにおける内分泌かく乱の可能性
4 の如何は今後の研究を待たなければならないが、*in vitro* 試験における最低作用濃度($10\mu\text{M}$
5 $=3.7\text{mg/kg}$)でも従来の精巣毒性で求められている無毒性量に較べて著しく低用量とは言え
6 ず、さしあたり一般毒性についてこれまでの毒性試験の評価方法で判断することは差し支え
7 ない」とされている。

8

1 Butyl Benzyl Phthalate (BBP)

2

3 1. トキシコキネティクス

4 ラットにおけるBBPの経皮吸収は遅い(7日間で27%)(Elsisi et al. 1989)。一方、ラットの
5 BBP経口投与では速やかに吸収されるが、2-200 mg/kgの投与で75%が吸収され、2000
6 mg/kgの投与では22%しか吸収されないことから、吸収量に限度があると考えられる
7 (Eigenberg et al. 1986)。BBPは腓リパーゼや小腸のエステラーゼによって、速やかにモノエス
8 テルや他のフタル酸エステルに代謝されると考えられる。代謝物のモノブチルフタレート
9 (MBuP)とモノベンジルフタレート(MBeP)の比率は5:3とされ(IPCS (WHO) 1999)、グルクロン酸
10 抱合の後、尿中に排出される(Erickson 1965; Eigenberg et al. 1986; Mikuriya et al. 1988)。ラッ
11 トの2000 mg/kg投与では、モノ体代謝物に対するグルクロン酸抱合体の比率が20 mg/kgの
12 投与と比較して減少することから、グルクロン酸経路は高濃度投与で飽和すると考えられる。
13 BBP及びその代謝物の排出は早く、約90%が24時間以内に排泄される。BBPの血中におけ
14 る半減期は10分で、モノ体代謝物の半減期は約6時間である。ラットにおけるBBPのトキシコ
15 キネティクス試験情報は概ね整っており、これらの試験結果は、ヒトのトキシコキネティクスに
16 も応用できるものと考えられる。

17

18 2. 一般毒性

19 動物における経口及び経皮投与のLD₅₀が2 g/kg bwを超えることから、急性毒性は強くない
20 と考えられる(IPCS (WHO) 1999)。

21 ラットにおける慢性・亜慢性混餌投与試験では、体重、腎臓、肝臓、精巣における毒性が認
22 められている(Agarwal et al. 1985; Hammond et al. 1987; NTP 1997)。初期の毒性兆候として
23 腎・肝臓の相対重量増加が120-151 mg/kg以上の投与で認められており、肝臓の病理学的
24 変化は960 mg/kg以上の投与で、また腎臓の影響は500 (雄) - 1,200 (雌) mg/kg以上で報告
25 されている。貧血は500 mg/kg以上の投与でみられた。381 mg/kgの投与では膵臓に影響が
26 みられ、膵臓もラットにおける標的器官である可能性がある。精巣、精囊、精巣上体及び前立
27 腺の影響は1,338 mg/kg以上の投与で確認されている。ラットにおける吸入試験では、肝・腎
28 重量の増加が最高用量の789 mg/m³(約150 mg/kg)でみられた(Hammond et al. 1987)。BBP
29 はラットにおいて、弱いペルオキシソーム増殖誘引剤と考えられる。

30 B6C3F1マウスの2年間混餌投与の結果、体重の減少が1,029 mg/kg以上の投与でみられ
31 たが、生殖器を含むいずれの器官においても影響が認められていないことから(NTP 1982b)、
32 マウスはラットよりBBPの毒性に対する感受性が低いと考えられる。イヌの90日間経口投与
33 においても体重減少がみられたものの、精巣や肝臓に病理学的変化がなく(Hammond et al.
34 1987)、イヌのBBP毒性に対する感受性も低いと考えられる。B6C3F1マウスの2年間の混餌
35 投与試験では、発がん性は認められず、雌の単核白血球数がわずかに上昇したのみであつ
36 た(NTP 1982b)。一方、ラットの2年間混餌投与試験では、雄の腎臓重量増加および雌の腎症

1 を根拠にLOAELを120 mg/kg(雄)、300 mg/kg(雌)としている。また、500 mg/kg投与で雄に膵
2 臓がんの兆候が認められ、1,200 mg/kgで雌の膵臓及び膀胱の発がん性に対し疑わしい結
3 果が得られた(NTP 1997)。一般毒性を示す動物試験は十分に存在し、肝臓が第一の標的器
4 官であると示唆された。

5 BBPを含むフタル酸混合物の職業曝露は、呼吸器系・神経系の疾病及び発がんに関連が
6 あるとされている(IPCS (WHO) 1999)。また、PVC(通常BBPが含まれている)製フロアカバー
7 からの屋内曝露が幼児の気管支閉塞のリスクと関係するという報告もある(Jaakkola et al.
8 1999)。

10 3. 生殖毒性

11 交配前2週間WUラットに強制経口投与した生殖毒性スクリーニング試験の結果、1000
12 mg/kgでは受胎能の低下及び精巣の病理学的変化が認められた(Piersma et al. 1995)。また、
13 妊娠母体数および一腹当たりの生存児数の減少も1,000 mg/kgで認められたが、これらの影
14 響が雌雄どちらの親の毒性に起因したのかは明らかに出来なかった。この試験における生
15 殖のNOAELは500 mg/kgとされた。Wistarラットに混餌投与した1世代生殖毒性試験の結果、生
16 殖に影響はみられなかった(TNO NaFRI 1993)。この試験におけるNOAELは418 mg/kg(雄) -
17 446 mg/kg(雌)とされた。一方、SDラットの2世代繁殖試験では、F₀・F₁の全身毒性及びF₁の
18 受胎能低下が750 mg/kgで認められ、BBPの受胎能のNOAELは250 mg/kgとされた(Tyl et al.
19 2004)。

20 慢性・亜慢性試験で、精巣に組織学的影響が見られた最も低い投与量は、F344ラットの混
21 餌投与で得られた1,338 mg/kgとされていたが(Agarwal et al. 1985)、SDラットの2世代繁殖試
22 験(F₀雄: 交配前12週から投与; F₀雌: 交配前2週から出産後21日まで投与・F₁雌雄: 離乳後か
23 ら投与)において、精巣・精巣上体・精囊への影響が500 mg/kgの投与でF₁ラットの思春期以
24 降に確認された(Nagao et al. 2000)。また、F₀ラットの卵巣重量の減少も500 mg/kgでみられた
25 ことから、この試験における生殖器に対するNOAELは100 mg/kgとされた。DBPやその代謝
26 物のMBuPの胎内曝露や新生児曝露が、後の生殖に関連するとされる報告(Wine et al. 1997;
27 Mylchreest et al. 2000)からも判断されるように、感受性の高い時期のBBP投与による評価が
28 重要とされ得る。なお、F344ラットに200 mg/kgを10週間混餌投与した結果、精子減少が認め
29 られた報告もあるが(NTP 1997)、回復期が精子数を評価するためには短過ぎた点と、同じラ
30 ボで550 mg/kgを26週間投与し精子数に影響が認められなかった点(NTP 1997)からNOAEL
31 の設定に考慮されなかった。なお、上述2つの試験では受胎能に影響は認められなかった
32 (NTP 1997; Nagao et al. 2000)。

33 B6C3F1マウスへの混餌投与では、2,058 mg/kgまでの投与で生殖器への影響がなく、ビー
34 グル犬への混餌投与でも、1,852 mg/kgまでの投与で精巣への影響が認められなかった。以
35 上の結果から、BBPのラットの受胎能に対するNOAELは250 mg/kg、生殖器に対するNOAEL
36 は100mg/kgと判断された。

1 なお、経済産業省の報告によると、BBP(100,200,400mg/kg)を1群あたり雌雄各 24 匹の
2 Crj:CD(SD)IGS ラットに2世代にわたって強制経口投与した結果、親動物では、100mg/kg 投
3 与で流涎、精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少がみられた。また、
4 400mg/kg で受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延がみられた。NOAEL は 100mg/kg 未満と
5 された (<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>)。また、環境省は、BBP
6 (2,12,60,300ug/kg, 40,100,200,400,500,1000,2000mg/kg)を 42 日間強制経口投与した試験の
7 結果、影響が既に報告されている用量付近(500mg/kg)で F1 生存児数の減少、F1 雄の体重
8 減少や AGD 短縮などの有意な所見が認められたと報告している
9 (<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

10 なお、BBP を含む複数のフタル酸を投与して際の複合影響について検討した以下の研究
11 が報告されている。

12 BBP (500 mg/kg)と除草剤である linuron (75 mg/kg)の精巣テストステロンに対する影響、生
13 殖発生における影響、新生児 AGD と若年期乳輪数と成体時の生殖変化の関係を調べるた
14 めに、BBP 単独、linuron 単独、linuron+BBP の併用投与を妊娠 15-19 日のラットに投与した。
15 何れの投与でも精巣 T 及び P 低下、雄 AGD 短縮・乳輪数増加がみられたが、併用投与の作
16 用は相加的であった。また、新生児の AGD や乳輪数増加は成熟期の AGD や乳頭保持、生
17 殖器の奇形や生殖器官や組織の重量と有意に相関していた(Hotchkiss et al. 2004)。

18 ラットの妊娠 14-18 日に DBP 単独(500mg/kg)、BBP 単独(500mg/kg)、DBP+BBP の混合
19 (それぞれ 500mg/kg)を投与した結果、生殖器の外表・内部奇形は DBP+BBP の混合投与が
20 相加的に増加した。また、vinclozolin (50 mg/kg) + procymidone (50 mg/kg)、DBP
21 (500mg/kg)+procymidone (50mg/kg)の混合投与でも尿道下裂や陰囊の増加などに相加作用
22 が認められた[(Hotchkiss ら、出版予定)、(Gray et al. 2006; Howdeshell et al. 2008a; Rider et
23 al. 2009)より要旨入手可]。

24 妊娠 8-18 日の SD ラットに単独または混合で BBP、DBP、DEHP、DEP、DiBP、DPP を
25 (DPP:100 mg/kg、それ以外は 300 mg/kg)投与し、テストステロン生成に対する相加的な作
26 用を調べるた研究で、胎児のテストステロン生成は相加的に減少した((Howdeshell et al.
27 2008b);DEHP の項参照)。また、妊娠 14-18 日の SD ラットに単独または混合投与で BBP、
28 DBP、DEHP、vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuron 投与した研究で、AGD の減少や
29 乳頭保持などの抗アンドロゲン作用は相加的であった((Rider et al. 2008);DEHP の項参照)。

30
31 ヒトへの影響としては、MBuP または MBzP の暴露が精子濃度の低下、精子の運動性の低
32 下(Duty et al. 2003; Hauser et al. 2006)、血中フリーテストステロン量の減少(Pan et al. 2006)
33 に関与していると示唆されている。しかし、インヒビンBや卵胞刺激ホルモンの血中濃度は
34 MBuP または MBzP の影響を否定している(Duty et al. 2005)。また、BBP の暴露が子宮内膜
35 症と関連しているという報告もある(Reddy et al. 2006)。

1 4. 発生毒性

2 BBPの発生毒性に対する試験では、妊娠6-15日または妊娠7-15日の高用量の経口投与
3 において、児死亡および催奇形性が確認されている。これらの毒性は、投与量および発育年
4 齢に依存する。SDラット及びWistarラットの発生毒性に対するNOAELは、420-500 mg/kgとさ
5 れ、750 mg/kg以上の投与では、出生前死亡の増加、胎児の成長遅延、外表・骨格・内臓奇
6 形がみられた(Field et al. 1989; Ema et al. 1992)。投与期間を妊娠0-20日に延長した結果、
7 Wistarラットの発生毒性に対するNOAELは185 mg/kgであった。

8 MBuP及びMBePのラットの催奇形試験(Ema et al. 1995; Ema et al. 1996a)においても、BBP
9 を用いた試験(Ema et al. 1992)と同様の結果が得られ、MBuP及びMBePがBBPの毒性に関与
10 していることが示唆されたが、MBuP及びMBePまたはBBPの間の毒性に対する量的比較は
11 できていない。MBuPを用いたラットの試験では、1,000 mg/kgで移動精巣や精巣下降との関
12 連が示唆された(Imajima et al. 1997)。これらの影響は、摂餌量減少によるものでなく化学物
13 質そのものの毒性影響と考えられ(Ema et al. 1991)、胚吸収のメカニズムは黄体機能の低下
14 によるプロゲステロンの減少と推定される(Ema et al. 1994)。

15 SDラットの2世代繁殖試験では100 mg/kgにおいてF₁児の体重低下が、また500 mg/kgにお
16 いてF₁児のAGD短縮、精巣・精巣上体重量減少、FSHレベルの減少、精原細胞・精母細胞の
17 減少がみられ、この試験における発生毒性のNOAELは20 mg/kgとされた(Nagao et al. 2000)。
18 また、最近行われたSDラットの2世代繁殖試験では、250 mg/kgの投与でF₁・F₂児の絶対及び
19 体重補正後のAGDの短縮がみられ、この試験におけるNOAELは50 mg/kgとされた(Tyl et al.
20 2004)。

21 CD-1マウスの母体及び発生毒性におけるNOAELは、182 mg/kgとされ、910 mg/kg
22 (LOAEL)以上の投与で胚吸収や出産前死亡、一腹当たりの生存児数減少、外表・骨格奇形
23 がみられた(Price et al. 1990)。ウサギを用いた試験では、母体および生殖に対する毒性が10
24 mg/kgまでの投与で認められなかったが(Monsanto 1978)、最大耐量が定められなかったので、
25 この試験結果の有用性には限界がある。

26 Wistarラットの交配・妊娠・授乳期間の低用量の飲水投与では1及び3 mg/L (0.14 及び
27 0.385 mg/kg)で、出産後の児の死亡が増加した(TNO NaFRI 1998)。3 mg/Lの投与では再現
28 性が得られ、LOAELは0.385 mg/kg (3 ppm)、NOAELは0.140 mg/kg (1 ppm)と判断された。し
29 かし、これらの試験を行ったラボでは同時期に行った他の試験においても、非投与群を含む
30 動物の生後0-4日の死亡数が多くなっており、試験の信頼性に疑問が残る。また、投与群単
31 位の統計処理では有意差が認められたものの一腹単位では有意差が認められていない。更
32 に、Wistarラットを用いた類似飲水投与試験(1 mg/L)(Sharpe et al. 1995; Ashby et al. 1997)
33 や、異なる飲水投与試験(1 ppm: 0.170 μ g/kg; 3 ppm:0.540 μ g/kg)や混餌投与試験(1 ppm:
34 0.11 μ g/kg; 3 ppm: 0.34 μ g/kg)においても、児の死亡に影響はみられなかった(Bayer AG
35 1998)。

36 以上の結果より、発生毒性のNOAELは、2世代繁殖試験で抗アンドロゲン作用の指標とさ

1 れるAGDの減少がみられたことから、50 mg/kgと判断された。

2 なお、経済産業省の報告 (<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>) に
3 よると、BBP(100,200,400mg/kg)を1群あたり雌雄各24匹のCrj:CD(SD)IGSラットに2世代にわ
4 たって強制経口投与した結果、児動物は100mgで雄動物の体重の低値及びAGDの低値が
5 みられ、NOAELは100mg未満と判断された。また、環境省は、BBP (2,12,60,300ug/kg,
6 40,100,200,400,500,1000,2000mg/kg)を42日間強制経口投与した試験の結果、影響が既に報
7 告されている用量付近(500mg/kg)でF1生存児数の減少、F1雄の体重減少やAGD短縮などの
8 有意な所見が認められたと報告している。なお、F₂:F₁雌と無処置雄との2次交配結果の体重
9 増加量の低値(60,300ug/kg)でも有意な反応が認められたが、その意義は今後の検討課題と
10 している (<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

11
12 ヒトへの影響としては、母乳中のMBuP及びMBzP濃度と児の精巣停留には相関関係がな
13 いものの、児の性ホルモン結合グロブリン量、卵胞刺激ホルモン/フリーテストステロン比率、
14 フリーテストステロン量との相関関係がみられた(Main et al. 2006)。また、母親の血中 MBuP
15 及び MBzP 濃度が AGD/体重の低下に関与していたという報告もある(Swan et al. 2005)。

16
17 その他

18 IPCSの評価では、BBPの遺伝毒性は明らかに陰性であるが、2次的な影響であると考えら
19 れる染色体異常誘発性に関する曖昧な結果が示されている (IPCS (WHO) 1999)。

1 Di-*n*-Butyl Phthalate (DBP)

3 1. トキシコキネティクス

4 DBP は、げっ歯類に経口投与すると、小腸に分泌される腓リパーゼにより、モノエステル体
5 である monobutyl phthalate (MBuP) に急速に加水分解される (Rowland et al. 1977)。このモノ
6 エステル体は消化管から素早く吸収され、肝臓、腎臓や脂肪組織に分布するが、その後、主
7 にグルクロン酸抱合体として急速に尿中に排泄されると考えられる (Williams and Blanchfield
8 1975; Foster et al. 1982)。他のフタル酸エステル類の様に、霊長類の消化管内における加水
9 分解能や吸収能が、ラットと比較して低いというデータは得られていない。

10 ラットに 30-40 mg/kg の DBP を経皮投与した結果、24 時間以内に 10-12% が尿中に排泄さ
11 れた (Elsisi et al. 1989)。ヒト及びラットの表皮膜を用いた *in vitro* 試験では、ヒトの皮膚では
12 DBP の透過性がラットと比較して顕著に低いことが明らかとなっている (Scott et al. 1987)。

13 妊娠 14 日に ¹⁴C-DBP を投与したラットの胎盤や胎児中の放射活性は、母動物の血清中放
14 射活性の約 65% であった (Saillenfait et al. 1998)。母動物の血清、胎盤及び胎児中の主要な
15 代謝物は MBuP であった。

16 ラットにおける DBP の組織分布については、組織への MBuP の取り込みメカニズムとして、
17 拡散限界や pH トラッピングを組み込んだ PBPK モデルが Keys らにより開発されている (Keys
18 et al. 2000)。このモデルは、げっ歯類のデータからヒトでの推定値を得るために作られたが、
19 胎児や小児における推定値を算出するためのパラメータは含まれていない。

21 2. 一般毒性

22 DBP の急性毒性は弱く、ラットにおける経口 LD₅₀ は 8,000~20,000 mg/kg であることが報告
23 されている (IPCS (WHO) 1997)。

24 生後 5~6 週のラット及びマウスを用いた反復混餌投与試験では、350 mg/kg 以上の用量で
25 毒性影響が認められた (BASF 1992; Marsman 1995)。主な標的臓器は肝臓であり、ラットで
26 は、シアン化物非感受性パルミチル CoA 酸化活性の増加に加え、病理組織学的にもペルオ
27 キシソームの増殖が確認されている。ラットでは、赤血球数やヘモグロビンの低下などもみら
28 れており、さらに、720 mg/kg 以上の投与により精細管萎縮や精子減少も認められた。DBP
29 の反復投与毒性に関する最も低い NOAEL は、Wistar ラットを用いた 3ヶ月間試験の結果から
30 142 mg/kg と算出されている (BASF 1992)。DBP の慢性毒性や発がん性に関する報告はな
31 い。

33 3. 生殖毒性

34 実験動物においては、上述の通り、ラットを用いた 13 週間混餌投与試験において、720
35 mg/kg 以上の投与群で雄生殖器系への影響が認められている (Marsman 1995)。一方、マウ
36 スを用いた 13 週間混餌投与試験では、3,689 mg/kg の投与でもこのような影響は引き起こさ

1 れていない (Marsman 1995)。2,000 mg/kg の DBP を 7-9 日間強制経口投与したラットやモル
2 ムットでは、顕著な精細管萎縮が観察されたのに対し、同様な投与を行ったマウスでは軽度
3 な巢状萎縮のみが観察され、さらに、ハムスターではこのような精巣病変は引き起こされなか
4 った(Gray et al. 1982)。雄の生殖機能や生殖器発達への影響に関しては、ラットを用いた多く
5 の研究結果が報告されている。Sprague-Dawley ラットへの混餌投与による連続交配試験で
6 は、F₁ 雄動物において精細管変性が用量依存的に増加し、509~794 mg/kg 投与群では、精
7 巢上体の欠損・発育不全、精巢の精子細胞数の低下や間細胞過形成、さらには交尾率/受
8 胎率の低下が認められた (Wine et al. 1997)。この試験では、すべての投与群で生存同腹児
9 数や生存児重量の低下がみられたことから、LOAEL は 52~80 mg/kg と結論された。Long
10 Evans ラットを用い、離乳時より DBP を反復強制経口投与した試験では、250 mg/kg 以上のす
11 べての投与群で亀頭包皮分離の遅れがみられ、さらに、500 mg/kg 以上の投与群では、精細
12 管萎縮、精子産生能の低下及び繁殖能の低下 (未投与雌動物と交配)が認められた (Gray
13 et al. 1999)。妊娠期及び受乳期のみ母体を介して暴露された F₁ 動物においても、尿生殖器
14 の奇形、精子数の低下や繁殖能の低下が観察されている。CD ラットの妊娠 12~21 日に DBP
15 を強制経口投与した試験では、雄児の生殖器奇形や乳頭/乳輪保持などがみられ、NOAEL
16 は 50 mg/kg と結論された(Mylchreest et al. 1999; Mylchreest et al. 2000)。この試験では、生
17 後 3 ヶ月時に剖検を行ったところ、低頻度であるものの、ライディツヒ細胞の増殖性変化 (過
18 形成及び腺腫)が観察されたことが報告されている。また、より低い用量でも生殖器発達への
19 影響が引き起こされたことが研究報告されている(Lee et al. 2004)。この試験では、
20 CD(SD)IGS ラットに妊娠 15 日から出産後 21 日まで DBP を混餌投与した結果、雄児では精
21 母細胞の発達低下がみられ、さらに雌雄児において乳腺の変化が観察された。児を生後
22 8~11 週時に剖検した結果、精巣の病変は軽度であったものの、雄動物の乳腺にはより顕著
23 な変化 (腺房変性や萎縮)が観察された。これらの変化は最低用量群である 1.5~3.0 mg/kg 投
24 与群でも認められたため、NOAEL を設定することが出来なかった。

25 雌の生殖機能への影響については、CD-1 マウスを用いた連続交配試験において、1,750
26 mg/kg 投与群の雌動物を未投与雄動物と交配させた結果、受胎率や生存同腹児数の低下な
27 どが認められたことが報告されている (Lamb et al. 1987)。さらに、Long Evans ラットに、離乳
28 後より、250, 500, 1000 mg/kg の DBP を強制経口投与し、未投与雄動物と交配させた試験で
29 は、500 mg/kg 以上の投与群で出産率及び同腹児数の顕著な低下がみられ、DBP は妊娠中
30 期に流産を引き起こすことが明らかとなった (Gray et al. 2006)。これらのことから、上述の
31 Sprague Dawley ラットを用いた連続交配試験 (Wine et al. 1997)や Long Evans ラットを用いた
32 多世代試験 (Gray et al. 1999)で観察された、繁殖能の低下や生存同腹児数の低下等には、
33 雌の生殖機能への影響が関与している可能性も考えられる。

34 なお、環境省は DBP (31,63,125,250,500ug/kg, 40,50,200,250,1000mg/kg)を 42 日間強制経
35 口投与した結果、影響が既に報告されている用量付近(250mg/kg)で F1 雄の AGD 短縮や、
36 生殖器及び副生殖器の欠損・低形成・萎縮などの有意な所見が認められたと報告している

1 (<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

2 なお、DBP を含む複数のフタル酸を投与して際の複合影響について検討した以下の研究
3 が報告されている。

4 Howdeshell らは、SD ラットの妊娠 14-18 日に DBP または DEHP を単独または複合投与し
5 た研究において、性成熟した雄の尿道下裂や精巣上体不全、生殖器重量の低下、生殖細胞
6 の変異などを相加的に増加させることや、生後 13 日での AGD の減少、妊娠 18 日でのテスト
7 ステロン生成、insl3 および cyp11a の遺伝子発現に相加的作用が認められること報告してい
8 る((Howdeshell et al. 2007); DEHP の項参照)。

9 DBP(500mg/kg)と BBP(500mg/kg)を単独または混合で性分化期に投与した研究で、生殖
10 器の外表・内部奇形が増加した [(Hotchkiss ら)出版予定]; 要旨は、(Gray et al. 2006b;
11 Howdeshell et al. 2008a)より入手可]

12 妊娠 8-18 日の SD ラットに単独または混合で BBP、DBP、DEHP、DEP、DiBP、DPP を
13 (DPP: 100 mg/kg、それ以外は 300 mg/kg)投与し、テストステロン生成に対する相加的な作
14 用を調べるた研究で、胎児のテストステロン生成は相加的に減少した((Howdeshell et al.
15 2008b); DEHP の項参照)。また、妊娠 14-18 日の SD ラットに単独または混合投与で BBP、
16 DBP、DEHP、vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuron 投与した研究で、AGD の減少や
17 乳頭保持などの抗アンドロゲン作用は相加的であった((Rider et al. 2008); DEHP の項参照)。

18 Wistar ラットの妊娠 13-21 日に DEHP(150mg/kg)と DBP(100、500mg/kg)を単独または混
19 合投与を行った結果、精細管の径の減少や、原生殖細胞の多角細胞化などが混合投与で認
20 められたが、単独投与では認められなかった((Martino-Andrade et al. 2008); DEHP の項参
21 照)。

22
23 ヒトでのデータとしては、任意に抽出された大学生を対象とした研究で、精液の細胞分画中
24 の DBP 濃度と精子密度との間に負の相関関係が見られたことが報告されている(Murature et
25 al. 1987)。しかし、精子の質と DBP 濃度との因果関係については十分なデータは得られてい
26 ない。また、近年 DBP、MBuP または MBzP の暴露が、精液量の低下(Zhang et al. 2006)、精
27 子濃度の低下、精子の運動性の低下(Duty et al. 2003; Hauser et al. 2006)、血中フリーテスト
28 ステロン量の減少(Pan et al. 2006)に関与していると報告されている。しかし、インヒビンBや
29 卵胞刺激ホルモンの血中濃度は MBuP または MBzP の影響を否定するものであった(Duty et
30 al. 2005)。Colon らは、プエルトリコの女兒にみられる乳房の早熟と DBP 暴露とに相関関係が
31 あると報告している(Colon et al. 2000)。また、DBP 暴露が子宮内膜症と関連しているという報
32 告もある(Reddy et al. 2006)。

33 34 35 4. 発生毒性

36 Wistar ラットの妊娠 7~15 日に DBP を強制経口投与した結果、生存同腹胎児数及び生存胎

1 児重量の低下や口蓋裂が引き起こされ、NOAEL は 500 mg/kg と結論された (Ema et al.
2 1993)。その後、Wistar ラットの妊娠 11~21 日に混餌投与を行ったところ、555 mg/kg 以上の投
3 与群の雄児で停留辜丸や肛門生殖突起間距離の低下が引き起こされることが明らかとなっ
4 た (Ema et al. 1998)。DBP による生殖器発達への影響に関しては、上述の通り、多くの研究
5 が報告されている (“3. 生殖毒性” 参照)。特に、Lee らによる研究では、最低用量群
6 (1.5~3.0 mg/kg)でも、雄児の精母細胞の発達低下や乳腺の変化が観察されており、DBP の
7 生殖器発達への影響に関する NOAEL は得られていない(Lee et al. 2004)。

8 妊娠ラットに MBuP を投与した試験で観察された発生毒性プロファイルやその用量依存性、
9 時期特異性は、DBP と類似していることが明らかになっている (Ema et al. 1995; Ema et al.
10 1996b; Imajima et al. 1997)。実際に、妊娠 14 日に放射標識した DBP を強制経口投与した
11 Sprague-Dawley ラットの胎児から検出された放射活性は、主に MBuP やそのグルクロン酸抱
12 合体に由来するものであることが報告されていることから(Saillenfait et al. 1998)、DBP の発生
13 毒性には MBuP が原因物質として関与していると考えられる。

14 マウスの妊娠期や授乳期に DBP を投与した試験では、454 mg/kg 以上の投与により同腹
15 胎児/児数や胎児/児重量の低下が報告されている(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura
16 1982; Marsman 1995)。さらに、ICR マウスの妊娠 0~18 日に混餌投与した試験では、80 mg/kg
17 以上のすべての投与群で骨化遅延が見られたことから、マウスにおける DBP の発生毒性に
18 関する NOAEL は得られていない(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura 1982)。しかし、マ
19 ウスを用いたこれらの試験では、各群の動物数が少ない、影響の見られる可能性がある投
20 与群で剖検が行われていない、適切な発達/成熟指標の評価が行われていない、など、試験
21 デザインが適切ではないため、DBP の発生毒性が十分に評価されているとは言えない。

22
23 ヒトへの影響としては、母乳中の MBuP 及び MBzP 濃度と児の精巣停留には相関関係がな
24 いものの、児の性ホルモン結合グロブリン量、卵胞刺激ホルモン/フリーテストステロン比率、
25 フリーテストステロン量との相関関係がみられた(Main et al. 2006)。また、母親の血中 MBuP
26 及び MBzP 濃度が AGD/体重の低下に関与していたという報告もある(Swan et al. 2005)。

27 28 29 5. その他

30 変異原性や関連する多くのエンドポイントについてレビューが行われており、その結果、
31 DBP は遺伝毒性を示さないと結論されている(IPCS (WHO) 1997)。

1 Diisononyl Phthalate (DINP)

2
3 1. トキシコキネティクス

4 ラットに 500 mg/kg までを経口投与した場合、消化管で腓リパーゼによって代謝された後、
5 モノイソノニルフタレート (MINP) として速やかに吸収され、蓄積せず糞尿に排出された
6 (Midwest Research Institute 1983b)。ラットでの皮膚吸収は 7 日間で 4%未満と少ない (Midwest
7 Research Institute 1983a) が、DEHP の *in vitro* 試験から、ヒトでの吸収量はさらに少ないと考
8 えられる (Scott et al. 1987)。また、胆汁経路の排出も認められた (Midwest Research Institute
9 1983a)。

10
11 2. 一般毒性

12 13 週間、成熟マーモセットに 0、100、500、2,500 mg/kg を強制経口投与したところ、高用量
13 で体重や体重増加量の減少がみられ (Hall et al. 1999)、NOAEL は 500 mg/kg であった。
14 2 週間、思春期前 (生後 2 年) のカニクイザルに 0、500 mg/kg の DINP を強制経口投与したと
15 ころ、500 mg/kg で白血球数に変化がみられ、本試験の NOAEL は設定できなかった (Pugh et
16 al. 2000)。

17 成熟 F344 ラットに雄で 0、639、1,192、2,195 mg/kg、雌で 0、607、1,193、2,289 mg/kg の
18 DINP-1 (CAS: 68515-48-0) を 21 日間混餌投与した場合、全用量の雌雄に肝重量の増加が
19 みられ、ペルオキシゾーム酵素活性の用量依存的増加、高用量で肝細胞質の好塩基性や好
20 酸球増加も認められた (BIBRA 1985)。低用量から影響がみられたため、本試験の NOAEL は
21 設定できない。DEHP 陽性対照の 1 例に 1,084 mg/kg で中等度の精巣萎縮がみられたが、
22 DINP では高用量でも精巣影響は認められなかった。

23 同じ試験計画の 2 年間混餌投与試験が 3 通り行われた。F344 ラットに、より低用量で DINP
24 (異性体混合物) を投与した試験 (雄: 0、15、152、307、雌: 0、18、184、375 mg/kg) (Lington et
25 al. 1997)、F344 ラットに、より高用量で DINP-1 を投与した試験 (雄: 0、29、88、359、733、雌: 0、
26 36、109、442、885 mg/kg) (Moore 1998b)、B6C3F1 マウスに DINP-1 を投与した試験 (雄: 0、
27 90、276、742、1,560、雌: 0、112、336、910、1,888 mg/kg) (Moore 1998a) である。これらの 3 試
28 験で最高用量でも精巣や雌の生殖器に病変は認められなかった。肝海綿状変性 (ラット)・肝
29 細胞肥大 (マウス) や肝酵素活性の変化が、ラットでは 152 mg/kg 以上、マウスでは最高用量
30 で認められた。ペルオキシゾーム増殖については、ラットでは最高用量でペルオキシゾーム
31 増殖に関する生化学的変化が雌雄の全期間で認められ、投与終了時には雌の 442 mg/kg で
32 も認められた。マウスでは最高用量で認められたが、それより低い用量ではペルオキシゾーム
33 増殖について検査されていない。電子顕微鏡による評価ではラットにペルオキシゾーム増
34 殖の影響は認められなかった (Lington et al. 1997)。非腫瘍性の腎臓障害や尿量の変化がラ
35 ットでは 307 mg/kg 以上、マウスでは最高用量で認められた。貧血傾向が 307 mg/kg 以上の
36 ラットで認められた。肝腫瘍がラットでは雄のみに最高用量の 733 mg/kg で、マウスでは雄で

1 742 mg/kg 以上、雌で 336 mg/kg 以上で認められた。腎腫瘍はラットの雄のみに最高用量の
2 733 mg/kg で認められた。これらより、ラットでは 152 mg/kg 以上で肝臓障害や肝酵素活性変
3 化がみられたことから、一般毒性の NOAEL は雄で 15 mg/kg、雌で 18 mg/kg であった。マウ
4 スでは雄の 742 mg/kg 以上、雌の 336 mg/kg 以上で肝腫瘍がみられたことから、一般毒性の
5 NOAEL は雄で 276 mg/kg、雌で 112 mg/kg であった。

6

7 3. 生殖毒性

8 生殖毒性については、SD ラットによる一世代用量設定試験・二世代混餌投与試験で評価
9 され、試験には妊娠全期間の子宮内曝露も含まれていた(Waterman et al. 2000)。一世代用
10 量設定試験ではラットに 0、0.5、1.0、1.5%の DINP-1 が F₀ 雄では交配前 10 週から交配後まで、
11 F₀ 雌では交配前 10 週から妊娠・授乳期を通して産後 21 日まで投与され、二世代試験ではラ
12 ットに 0、0.2、0.4、0.8%の DINP-1 が F₀ 雄では交配前 10 週から最終児出産まで、F₀ 雌では交
13 配前 10 週から妊娠授乳期を通して産後 21 日まで、F₁ 雄では生後 21 日から交配を通して
14 最終児出産まで、F₁ 雌では生後 21 日から交配・妊娠・授乳期を通して産後 21 日まで投与さ
15 れた。二世代試験において、交配・受胎能・精巣組織を含む生殖パラメータについて両世代
16 の高用量(0.8%、雄:665-779<F₀-F₁。以下同じ>、雌:696-802 mg/kg)でも影響が認められ
17 ず、また、一世代用量設定試験でも高用量(1.5%、雄:966-1,676、雌:1,114-1,694 mg/kg)で
18 雌雄ラットの受胎能への影響はなかった。一般毒性としては、全用量で両世代の雌雄親ラッ
19 トの肝臓に軽度の好酸球増加が認められ、中高用量の雄の F₁ 親では腎盂拡張がみられた。
20 雌雄ラットの受胎能と生殖器について高用量まで影響が認められなかったことから、NOAEL
21 は妊娠ラットで 560 mg/kg、授乳期ラットで 1,129 mg/kg、成熟ラットの雄で 1,676 mg/kg、雌で
22 1,694 mg/kg であった。しかし、この試験では他のフタル酸類で高感受性を示す生殖発生指標
23 が評価されていないことを考慮する必要がある。

24 その他、妊娠ラットに性分化の臨界期を含む(Rhees et al. 1990a; Rhees et al. 1990b)妊娠 15
25 日から産後 10 日まで 0、4,000、20,000 ppm の DINP-2 を混餌投与し、児のプロゲステロン受
26 容体(PR)への影響について調査した試験では、雌において 20,000 ppm で PR の発現レベル
27 が減少した(Takagi et al. 2005)。本文献には摂餌量の記載がなく、用量の mg/kg 換算は不明
28 である。

29

30 4. 発生毒性

31 ラットによる出生前発生毒性については、妊娠 6~15 日に DINP を強制経口投与し、妊娠
32 20~21 日に胎児を検査した 2 試験がある。

33 Wistar ラット(10 匹/群)に 0、40、200、1,000 mg/kg の DINP-1、DINP-2(CAS 28553-12-0)、
34 DINP-3(CAS 番号は DINP-2 と同じ。製造法が異なる)を投与し、高用量でのみ影響が認めら
35 れた(Hellwig et al. 1997)。一般毒性として雌の腎臓と肝臓の重量が増加し、発生については、
36 骨格変異(腰肋と頸肋)が数的に増加し、骨格異常もみられた。また、腎盂拡張や腎臓・尿管

1 の形成不全もみられた。胎児の生存率と体重には影響がなかった。これらから、母体毒性と
2 発生毒性の NOAEL は 200 mg/kg であった。SD ラット(25 匹/群)に 0、100、500、1,000 mg/kg
3 の DINP-1 を投与したところ、1,000 mg/kg で妊娠ラットに摂餌量と体重増加量の減少みられ
4 (Waterman et al. 1999)、500 mg/kg で骨格変異(腰肋と頸肋)の増加が認められた(McKee
5 2000)。これらの結果から、母体毒性の NOAEL は 500 mg/kg、発生毒性の NOAEL は 100
6 mg/kg であった。また、腰肋の 5%BMD は 193 mg/kg(95% LCL=162 mg/kg)であった(McKee
7 2000)。2 試験における発生毒性の NOAEL は 200 mg/kg と 100 mg/kg であり、その差はラット
8 の系統と用量選択の違いによると思われる。これらの 2 試験では、フタル酸エステル類の発
9 生毒性の臨界期である妊娠後期に投与が行われておらず、さらに、試験計画的に出生後の
10 性成熟の評価はできない。

11 妊娠後期投与については、生殖毒性の項で上述した二世代生殖試験により評価したところ、
12 胎児期～離乳前に児の体重増加量の減少がみられたが(Waterman et al. 2000)、他のフタル
13 酸エステルでは影響を受けやすいと考えられている生殖器官の発生影響については検査さ
14 れていない。F₁ 児体重は生後 0 日の雄で 0.8%、生後 7、14 日の雌雄で 0.4%以上、生後 21
15 日の雌雄で全用量において減少した。F₂ 児体重は生後 4、14、21 日の雌で 0.4%以上、生後 7
16 日の雌で 0.2%(胎児期 143 mg/kg、乳児期 285 mg/kg)以上において減少し、生後 7、14、21
17 日の雄で 0.4%以上において減少した。したがって、低用量(0.2%)で児体重の減少がみられた
18 ことから、発生毒性の LOAEL は胎児期で 143 mg/kg、乳児期では 285 mg/kg であり、NOAEL
19 は設定できない。

20 その他、妊娠ラットに妊娠 15 日から産後 10 日まで 0、400、4,000、20,000 ppm の DINP-2
21 を混餌投与した試験では、成熟後の出生児において 20,000 ppm でわずかな組織病理学的変
22 化(精巣での減数分裂期の精母細胞およびセルトリ細胞の変性、卵巣での黄体の減少)しか
23 認められなかった(Masutomi et al. 2003; Masutomi et al. 2004)。本文献には摂餌量の記載が
24 なく、用量の mg/kg 換算は不明である。

25 DINP の代謝物を含むイソノニルアルコール類の発生毒性について試験が行われ、妊娠ラ
26 ットへの 720 mg/kg 以上の投与により臨床的兆候や症状が認められた(Hellwig and Jackh
27 1997)。妊娠期死亡が高用量(1,440 mg/kg)でみられ、イソノニル基の分岐度がより高い場合
28 には 1,080 mg/kg でも認められた。また、胎児の奇形や変異が 1,080 mg/kg 以上でみられが、
29 720 mg/kg では些細な影響の可能性しか認められず、144 mg/kg では影響はみられなかった。
30 これらより、DINP の NOAEL より低用量では、代謝物のイソノニルアルコールによる母体毒性
31 や発生毒性は発現しないと考えられる。

32 ヒトへの影響としては、母乳中の MINP 濃度と児の精巣停留には相関関係がないものの、
33 児の卵巣刺激ホルモン量との間に相関関係がみられた(Main et al. 2006)。

34

35 その他

36 OECD(1998)のリスク評価では、DINP は *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性試験において陰性

- 1 であることが確認されている。