

び精巣上体の絶対及び相対重量の減少が7500 ppm群のF₁、F₂、F₃雄で、10000 ppm群のF₀、F₁雄でそれぞれ認められた。組織学的には精細管の萎縮（生殖細胞の減少、セルトリ細胞のみ存在の精細管等）が10000 ppm群のF₁雄、7500 ppm群のF₁及びF₂雄で認められた。精巣上体では剥がれ落ちた上皮と遺残体が10000 ppm群のF₀雄で、7500と10000 ppm群のF₁雄で、7500 ppm群のF₂雄でそれぞれ認められた。肝細胞肥大が10000 ppm群のF₀とF₁動物で、7500 ppm群のF₀、F₁、F₂動物で、1000 ppm群のF₁、F₂動物でそれぞれ認められた。しばしば、慢性腎盂腎炎を伴う尿細管の拡張と鉍質沈着が1000 ppm群のF₁動物で、7500 ppm群のF₁、F₂動物で、10000 ppm群のF₁動物でそれぞれ認められた。副腎皮質の空胞化が7500 ppm群のF₁動物で、10000 ppm群のF₀、F₁動物でそれぞれ認められた。生殖毒性は7500 ppmと10000 ppm群で認められた。7500 ppm群以上のF₁で母体当たりの児の減少が認められた。10000 ppm群ではさらに児の体重減少が認められた。雄の肛門生殖突起間距離（AGD）は7500 ppm群以上のF₁で減少した。10000 ppmのF₁群の交配では児は生まれなかった。7500 ppm群のF₂では児の体重、AGDがF₁と同様に減少した。7500 ppm群のF₂では妊娠率の減少が認められ、F₃のAGDが減少した。剖検で7500 ppm以上の群で精子の減少が認められた。7500 ppm以上の群で精巣及び精巣上体重量が減少したが、300及び1000 ppm群でも少数例の精巣と精巣上体の小型化が認められ、実験施設の背景データを超えていた。これらの結果、NTPのexpert panelは本試験の生殖発生毒性のNOAELは100 ppm（3-5 mg/kg）とした（NTP 2006）。

雌雄のCD-1マウスに0.01、0.1または0.3%のDEHPを含む飼料を与えながら交配実験を行ったところ、0.1%投与群で出産回数、母体当たりの出産生児数及び生児出生率の低下を認めたことから、LOAELは144 mg/kg（0.1%）、NOAELは14 mg/kg（0.01%）とされている（Lamb et al. 1987）。

DEHPは新生児期のラットセルトリ細胞に対して影響を及ぼす。生後6日のSDラットにDEHPを500 mg/kg以上で5日間経口投与し、精巣重量の低下を伴ったセルトリ細胞数の減少を認めたが、200 mg/kgでは影響は見られなかった（Dostal et al. 1988）。セルトリ細胞は生後10-14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び原生殖細胞の共培養系を用いてMEHPの作用が検討された（Li et al. 1998）。MEHPは用量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成減少を生じ

ることが推定される。

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こともまた適切であると考えられる（Koizumi et al. 2001）。

なお、環境省はDEHP（10,50,250ug/kg,1.25,40,50,100,200,1000mg/kg）を42日間強制経口投与した一代試験の結果、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>）。

なお、DEHPを含む複数のフタル酸エステルを投与してその影響を検討したいくつかの研究が報告されている。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日でのテストステロン生成、ins13およびcyp11aの遺伝子発現に、DBP・DEHPの相加的作用が認められた（Howdeshell et al. 2007）。

BBP、DBP、DEHP、フタル酸ジエチル（DEP）、フタル酸ジイソブチル（DiBP）、フタル酸ジペンジル（DPP）のテストステロン生成に対する複合作用を調べるために、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エステルは最高投与量として300 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）。

BBP、DBP、DEHP、vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuronのテストステロン生成に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 mg/kg）、vinclozolin（15 mg/kg）、procymidone（15 mg/kg）、prochloraz（35 mg/kg）、linuron（20 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、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は相加的であった(Rider et al. 2008)。

Wistar ラットの妊娠13-21日にDEHP単独(150mg/kg)、DBP単独(100、500mg/kg)、または、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。DEHP+DBPの混合投与は、精細管の径の減少や、原生殖細胞の多核細胞化などを引き起こしたが、単独投与では認められなかった(Martino-Andrade et al. 2008)。

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(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損傷の増加(Hauser et al. 2007)に関与していることが示唆されている。Colonらは、プエルトリコの女兒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. 2000)。また、DEHP(MEHP)暴露が子宮内膜症(Cobellis et al. 2003; Reddy et al. 2006)や在胎期間の短縮(Latini et al. 2003)と関連しているという報告もある。

(4) 発生毒性

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 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、奇形児の増加が認められ、NOAELは70mg/kgとされた(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura 1982)。CD-1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% (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%)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 mg/kg)を42日間強制経口投与した一世代試験の結果、50ug/kgにおいてF₁雌の血清中FSH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(<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

ヒトの児についての調査から、妊婦のDEHPを含むフタル酸エステル類の代謝物の量と男児の生殖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)。

(5) その他

DEHPを周産期のNc/Ngaマウスに100µg/匹の用量で腹腔内投与し、生後

8週の雄の児の耳にアレルゲンを注射したところ、アレルギ-反応が増加したとの報告が有る(Yanagisawa 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-との関係にも注意しておく必要があると思われる。

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(10µM=3.9mg/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ない」とされている。

2. Benzyl Butyl Phthalate (BBP)

(1) トキシコキネティクス

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 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(Eigenberg et al. 1986)。BBPは腓り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。代謝物のフタル酸モノブチル(MBuP)とフタル酸モノベンジル(MBeP)の比率は5:3とされ(IPCS (WHO) 1999)、グルクロン酸抱合の後、尿中に排出される(Erickson 1965; Eigenberg et al. 1986; Mikuriya et al. 1988)。ラットの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。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も応用できるものと考えられる。

(2) 一般毒性

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

毒性は強くないと考えられる(IPCS (WHO) 1999)。

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の投与では脾臓に影響がみられ、脾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。

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)、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. 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った(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投与で雄に脾臓がんの兆候が認められ、1,200 mg/kgで雌の脾臓及び膀胱の発がん性に対し疑わしい結果が得られた(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官であると示唆された。

BBPを含むフタル酸エステル混合物の職業暴露は、呼吸器系・神経系の疾病及び発がんに関連があるとされている(IPCS (WHO) 1999)。また、PVC (通常BBPが含まれている) 製フロアカバーからの屋内暴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. 1999)

(3) 生殖毒性

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 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、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) - 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. 2004)。

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やその代謝物のMBuPの胎内暴露や新生児暴露が、後の生殖に関連するとされる報告(Wine et al. 1997; 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(NTP 1997; Nagao et al. 2000)。

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は100mg/kgと判断された。

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投与で流産、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、400mg/kgで受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延がみられ、NOAELは100mg/kg未満とされた。

(<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>) また、環境省は、BBP (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

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

なお、BBPを含む複数のフタル酸エステルを投与して際の複合影響につい