

109、442、885 mg/kg) (Moore 1998b)、B6C3F1 マウスに DINP-1 を投与した試験 (雄: 0、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 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 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 NOAEL は雄で 276 mg/kg、雌で 112 mg/kg であった。

(3) 生殖毒性

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され、試験には妊娠全期間の子宮内暴露も含まれていた (Waterman et al. 2000)。一世代用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、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。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 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 1,694 mg/kg であった。しかし、この試験では他のフタル酸エステル類で高感受性を示す生殖発生指標が評価されていないことを考慮する必要がある。

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 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 の発現レベルが減少した (Takagi et al. 2005)。本文には摂餌量の記載がなく、用量の mg/kg 換算は不明である。

(4) 発生毒性

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 20~21 日に胎児を検査した 2 試験がある。

Wistar ラット (10 匹/群) に 0、40、200、1,000 mg/kg の DINP-1、DINP-2 (CAS 28553-12-0)、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、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 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 (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 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 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 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性成熟の評価はできない。

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、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 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ことから、発生毒性のLOELは胎児期で143 mg/kg、乳児期では285 mg/kgであり、NOELは設定できない。

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）しか認められなかった（Masutomi et al. 2003; Masutomi et al. 2004）。本文には摂餌量の記載がなく、用量のmg/kg換算は不明である。

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 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、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。これらより、DINPのNOEL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や発生毒性は発現しないと考えられる。

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、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）。

(5) その他

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であることが確認されている。

5. Diidodecyl Phthalate (DIDP)

(1) トキシコキネティクス

雄ラットへ経口投与(0.1-1,000mg/kg)されたDIDPは、その一部(0.1 mg/kgの投与で約56%)が小腸エステラーゼによりモノエステル体(MIDP)に代謝された後、急速に吸収されて尿中、便中に排泄される。DIDPの吸収量には投与量による限界が認められ、小腸における代謝の飽和が示唆された。

尿中に検出される主な代謝物はフタル酸エステルとモノエステル体の側鎖

酸化物であり、DIDP、MIDPは検出されない。未代謝の親化合物およびMIDPは便中に排泄される。

臓器への分布量は、吸収量に比例し蓄積性は認められない。また、1,000 mg/kgの投与3日後に、臓器中に検出されるDIDPは1%以下である（General Motors Corporation 1983）。

経皮吸収はほとんど認められず、ラットでは7日間で2%以下である（Elsisi et al. 1989）。DEHPを用いたin vitroヒト、ラット皮膚吸収試験の結果から、ヒト皮膚を通じた吸収はラットよりさらに少ないと想定される（Scott et al. 1987）。

SDラットへの吸入暴露(91 mg/m³, 6hr)では、投与後72時間後までに肺に取り込まれたDIDPの約73%が体内に取り込まれ、臓器への分布後、尿と糞便を通して排出される。全排出経路からの排出による半減期は、26時間であった（General Motors Research Laboratories 1981）。

(2) 一般毒性

F344ラットを用いた21日間(BIBRA 1985)および28日間(Lake et al. 1991)、Sprague-Dawleyラットを用いた28日間(BASF 1969a)および90日間(BASF 1969b)、Charles River CDラットを用いた90日間(Hazleton Laboratories 1968b)の混餌投与試験が実施されている。

BASFによる28日間試験(BASF 1969a)以外では、精巣の病理検査が実施されているが、影響は認められなかった。全ての試験において肝重量の増加が認められ、BIBRAの試験(BIBRA 1985)では、ペルオキシゾーム増殖、血清トリグリセリド、コレステロールの増加、肝細胞の好塩基性および好酸性変化が認められた。Lakeらの試験では、ペルオキシゾーム増殖が認められた(Lake et al. 1991)。Charles River CDラットを用いた、90日間試験では、586(雄)、686(雌) mg/kg投与群で、腎重量増加および甲状腺の小胞サイズおよびコロイド、上皮の組織学的変化が認められた(Hazleton Laboratories 1968b)。F344雄ラット28日間試験(Lake et al. 1991)では、116 mg/kg以上において肝比重量増加が、Sprague-Dawleyラット90日間試験(BASF 1969b)では、120 mg/kg以上の雌において肝および腎の比重量増加が認められたことから、ラット混餌投与によるNOELは、それぞれ57(雄)、60(雌) mg/kgであった。

ラットを用いた2週間吸入暴露試験(505 mg/m³)では、肺で限局的な炎症性変化が認められた以外には変化は認められなかった（General Motors Research Laboratories 1981）。

イヌを用いた90日間混餌試験において、77 mg/kg以上の投与群で肝細胞性の腫脹および空胞化が認められ、NOELは、15mg/kg(雄)であった。精

巢に障害は認められなかった(Hazelton Laboratories 1968a)。

(3) 生殖毒性

CrI:CDBR, VAF Plus ラットへの混餌投与による 1 世代(0, 0.25, 0.5, 0.75, 1%を交配 10 週前から離乳まで投与)および 2 世代試験(0, 0.2, 0.4, 0.8% および 0, 0.02, 0.06, 0.2, 0.4%を F₀ 動物交配 10 週前から F₂ 離乳まで投与)試験が実施されている(Hushka et al. 2001)。2 世代試験では、正常精子のわずかな減少および発情周期の短縮が最高用量群(0.8%)の F₀ 動物で認められたが、F₁ 動物ではこれらの変化は認められなかった。いずれの試験においても繁殖成績や生殖系臓器における病理検査に影響は認められず、生殖毒性の NOAEL は、0.8%(雄: 427-929 mg/kg、雌: 508-927 mg/kg)であった。

ラット子宮サイトゾルを用いた *in vitro* 試験でエストロゲン受容体への結合は認められなかった。また、エストロゲンにより発現する遺伝子の発現活性は認められなかった(Harris et al. 1997; Zacharewski et al. 1998)。

DIDP のモノエステル体について *in vitro* 試験は実施されていない。

DIDP は、幼若ラットもしくは成体子宮摘出ラットを用いた試験で子宮重量や膈の上皮細胞角質化の増加を引き起こさない(Zacharewski et al. 1998)。

上記 2 世代試験において DIDP 0.4% (295 mg/kg) までを投与された親ラットから生まれた雄児動物では、乳頭遺残は認められず、肛門生殖突起間距離は正常であったことから、本用量では抗アンドロゲン作用は示されない(Hushka et al. 2001)。

(4) 発生毒性

1 群 10 匹の Wistar ラットを用い、妊娠 6-15 日に DIDP 0,40,200,1000 mg/kg 強制経口投与し、妊娠 20-21 日に胎児を剖検検査した結果、1000 mg/kg 群では、母動物において肝重量増加および膈出血が認められた。200 mg/kg 以上の投与群の胎児で、痕跡状過剰頸肋や過剰腰肋などの骨格変異の増加が認められた(Hellwig et al. 1997)。報告者は、この試験の NOAEL を 200 mg/kg と報告しているが、NTP では、200 mg/kg 群における胎児の骨格変異が統計学的に有意であることから、発生毒性の NOAEL を 40 mg/kg と判断している。

1 群 25 匹の Sprague-Dawley ラットを用いて、妊娠 6-15 日に DIDP 0,100,500,1000 mg/kg を強制経口投与し、妊娠 20-21 日に胎児を剖検検査した結果、1000 mg/kg 群の母動物では、摂餌量および体重の低下が認められた。痕跡様頸肋や腰肋を有する胎児の割合が 500 mg/kg 以上で用量依存的かつ有意に増加し、変異を有する胎児を出産した母動物の割合も 1000 mg/kg で有意に増加した(Waterman et al. 1999)。報告者らは、母動物および発生毒性の

LOAEL を 1,000、NOAEL を 500 mg/kg と報告しているが、NTP では、頸肋や腰肋の有意な増加より発生毒性の NOAEL を 100 mg/kg と判断している。

各群 10 匹の CrI:CDBR, VAF Plus ラットを用い DIDP 0, 0.2, 0.4, or 0.8% を交配 10 週前から妊娠期、授乳期を通じて混餌投与した結果、0.4%以上の投与群で F₁ および F₂ の雌雄で肝肥大および好酸性変化が、認められた。0.8% 群の F₁ および F₂ 雌雄で、生後の体重増加抑制が認められ、生後 0 および 4 日の生存率は、0.8%群の F₁ で低下した。さらに、F₂ では、生後 1 および 4 日の生存率低下が全ての投与群で、生後 7 および 21 日の生存率低下が 0.8% 群で認められた。これに先立って行われた 1 世代試験では、0.5%以上の投与群で新生児体重の低下が認められた。さらに低用量の DIDP 0, 0.02, 0.06, 0.2, 0.4% を交配 10 週前から妊娠期、授乳期を通じて混餌投与した結果、母動物への影響は肝臓重量の増加と軽度の組織学的効果のみであった。F₁ 児の発達への影響は認められなかったが、0.2%以上の F₂ 児では、生後 1 および 4 日生存率の低下および新生児体重の低下が認められた。雄の肛門生殖突起間距離の変化や乳頭遺残は認められなかった。サテライトで実施された餌交換による交差養育試験により新生児体重の抑制は、授乳期暴露によるものであることが示されている(Hushka et al. 2001)。これらの結果から、DIDP は混餌投与により発生毒性を発現し、NOAEL は 0.06% (妊娠期: 38-44、授乳期: 52-114 mg/kg)であった。

(5) その他

最近 OECD(1999)では、DIDP は *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性試験において陰性であることが確認されている。

6. Di-n-octyl phthalate (DNOP)

(1) トキシコキネティクス

DNOP はラットでは小腸壁のエステラーゼにより加水分解されてモノエステル体とアルコールに代謝されて腸管吸収され、主に尿中排出される(Rowland et al. 1977)。ラットに 2,000 mg/kg を強制経口投与後 3 時間で最高血中濃度に達し、血中半減期は 3.3 時間、AUC は 1,066 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ である(Oishi 1990)。ラットに 2,000 mg/kg を強制経口投与後 3-6 時間には、血中、精巣においてフタル酸モノオクチルが検出される(Oishi and Hiraga 1980)。ラットに 0.2 mL DNOP を強制経口投与した後、48 時間で 31%が尿中に回収され、尿中代謝物は、主にモノエステル体由来する(Albro and Moore 1974)。

DNOPの代謝物として生成するn-オクタノールは酸化され脂肪酸となり、脂肪酸酸化経路で代謝される。

(2) 一般毒性

経口LD₅₀値は、13g/kg(マウス)、53.7g/kg(ラット)、経皮LD₅₀値は、75mL/kg(モルモット)であった(CMA 1999)。

生後4週のWistarラットに、DNOP 20,000 ppm(換算値: 1,821 mg/kg)を混餌投与期間中3, 10および21日に検査した結果、10日以降で肝重量増加が認められ、病理検査では3日には小葉中心性壊死、グリコーゲンの消失、10日以降では小葉中心性の脂肪蓄積が認められた(Mann et al. 1985; Hinton et al. 1986)。さらに、電子顕微鏡検査では、滑面小胞体の増殖、拡張および胆細管における微絨毛短縮、肝細胞脂肪滴、ライソゾーム・ペルオキシゾームの増殖が認められた。甲状腺への影響として、血清T4レベルの減少および微細構造の変化が認められた。精巣への影響は認められなかった(Hinton et al. 1986)。

雄Sprague-DawleyラットへのDNOP 1,000 mg/kgの14日間投与により、肝重量増加が認められたが、ペルオキシゾーム酵素活性に変化は認められなかった(Lake et al. 1986)。

生後4~6週のSprague-Dawleyラットへの13週間(90日間)0, 5, 50, 500および5,000 ppm(換算値: 雄0, 0.4, 3.5, 36.8, 350 mg/kg; 雌0, 0.4, 4.1, 40.8, 403 mg/kg)混餌投与により、最高用量群において、肝臓の肝細胞核の大小不同、核の淡色化、小胞形成、空胞化、内皮の隆起、成帯亢進などが認められたが、ペルオキシゾーム増殖は認められなかった。甲状腺で濾胞サイズ、コロイド密度の減少が認められた。精巣への影響は、認められなかった。本試験におけるNOAELは、雄36.8、雌40.8 mg/kgであった(Poon et al. 1997)。

(3) 生殖毒性

CD-1マウスへの7,500 mg/kgまでの混餌投与による2世代試験(Heindel et al. 1989)、Sprague-Dawleyラットへの350(雄)、403(雌) mg/kgまでの13週間混餌投与(Poon et al. 1997)、雄Sprague-Dawleyラットへの、2,800 mg/kgの4日間強制経口投与(Foster et al. 1980)のいずれの試験においても生殖系臓器への影響は認められていない。これらの試験のみでは、繁殖に対する十分な検討がなされていないため、生殖毒性がないとは判断できないものの、生殖毒性のNOAELは、マウスでは7,500 mg/kg、ラットでは350(403) mg/kgである。

思春期ラットから単離したセルトリ細胞と生殖細胞のin vitro共培養系における生殖細胞の脱離が認められた。作用は、2-ethylhexyl monoesterの100

倍弱いものの、他のフタル酸エステル類と同様の作用があることを示唆している。しかし、in vivoではDNOP投与による生殖細胞やセルトリ細胞への影響は報告されていない(Gray and Beaman 1984)。

DNOPは、受容体結合試験、MCF-7細胞を用いたレポーター試験、などの様々なin vitro試験でエストロゲン様作用は認められていない。卵巣摘出ラットにおいても子宮肥大作用は認められていない(Zacharewski et al. 1998)。

(4) 発生毒性

妊娠Sprague DawleyラットにDNOP 0, 5, 10 mL/kg(換算値: 0, 4,890, 9,780 mg/kg、DNOPの比重を0.978 g/mLとした場合)を妊娠5, 10および15日に腹腔内投与して、妊娠20日に母体および胎児の検査を行った結果、母体に毒性は認められなかった。胎児体重はいずれの投与群でも減少し、奇形発生率の投与量依存的な増加が認められた(Singh et al. 1972)。

CD-1マウスを用いたChernoff-Kavlock試験において、1群40匹のCD-1マウスに、妊娠6-13日に9,780 mg/kg強制経口投与して、生後3日まで検査を行った。全ての母動物は正常に出産したが、同腹児数の減少および生後1-3日の体重増加の減少が認められた(Hardin et al. 1987)。

CD-1マウスにDNOP 0, 1.25, 2.5, 5% (0, 1,800, 3,600, or 7,500 mg/kg)混餌投与による2世代試験では、交配7日前から98日間投与により出産成績に影響は認められなかった(Gulati et al. 1985; Heindel et al. 1989)。

妊娠Wistarラットの妊娠6-15日に代謝物であるn-オクタノール1, 5, 7.5, and 10 mmol/kg (130, 650, 945, and 1,300 mg/kg DNOPに相当)を強制経口投与した結果、650 mg/kg以上の投与群で母動物に摂餌量低下、体重低下、死亡が認められたが、出産成績および出生児への影響は認められなかった(Hellwig and Jackh 1997)。

(5) その他

DNOPを含む混合物でin vitro試験とtransformation試験が行われており、MLA試験では用量相関性のない曖昧な結果であった、transformation試験は陰性の結果であった(Barber et al. 2000)。ACCのレビューでは、di(n-octyl, n-decyl) phthalateの混合物はAmes試験とCHO細胞によるHPRT locus試験では陰性の結果であった。

7. まとめ

各フタル酸エステルの急性毒性は弱く、ラットにおける経口LD₅₀値は、25