

Butyl Benzyl 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(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の投与では膵臓に影響がみられ、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投与で雄に膵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. 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、 $F_0 \cdot F_1$ の全身毒性及び F_1 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(F_0 雄: 交配前12週から投与; F_0 雌: 交配前2週から出産後21日まで投与・ F_1 雌雄: 離乳後から投与)において、精巣・精巣上体・精嚢への影響が500 mg/kgの投与で F_1 ラットの思春期以降に確認された(Nagao et al. 2000)。また、 F_0 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; 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、400 mg/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>)。

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)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 の暴露が子宮内膜症と関連しているという報告もある(Reddy et al. 2006)。

4. 発生毒性

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、Wistarラットの発生毒性に対するNOAELは185 mg/kgであった。

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によるプロゲステロンの減少と推定される(Ema et al. 1994)。

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)。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. 2004)。

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 (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 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ため、この試験結果の有用性には限界がある。

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 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)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: 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 1998)。

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れるAGDの減少がみられたことから、50 mg/kgと判断された。

なお、経済産業省の報告(<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>)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、児動物は100mgで雄動物の体重の低値及びAGDの低値がみられ、NOAELは100mg未満と判断された。また、環境省は、BBP(2,12,60,300ug/kg, 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。なお、F₂:F₁雌と無処置雄との2次交配結果の体重増加量の低値(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している(<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

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、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)。

その他

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)。

Di-*n*-Butyl Phthalate (DBP)

1. トキシコキネティクス

DBP は、げっ歯類に経口投与すると、小腸に分泌される膵リパーゼにより、モノエステル体である 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 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。

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 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)。

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代謝物は MBuP であった。

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、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 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、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。

2. 一般毒性

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 であることが報告されている (IPCS (WHO) 1997)。

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 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 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い。

3. 生殖毒性

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 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

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モットでは、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な巣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、精巣上体の欠損・発育不全、精巣の精子細胞数の低下や間細胞過形成、さらには交尾率/受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 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 et al. 1999)。妊娠期及び受乳期のみにも母体を介して暴露された F₁ 動物においても、尿生殖器の奇形、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 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 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、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 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。

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 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 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、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。

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、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

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

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 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 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告もある(Reddy et al. 2006)。

4. 発生毒性

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. 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 以上の投与群の雄児で停留睾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 (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)。

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、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. 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 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。

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 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 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 の発生毒性に関する NOAEL は得られていない(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura 1982)。しかし、マ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

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。

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、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 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)。

5. その他

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、DBP は遺伝毒性を示さないと結論されている(IPCS (WHO) 1997)。

Diisononyl Phthalate (DINP)

1. トキシコキネティクス

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、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 (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 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 1983a)。

2. 一般毒性

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。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 al. 2000)。

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 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、DINP では高用量でも精巣影響は認められなかった。

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 (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 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、36、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曝露も含まれていた(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)。本文献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 LOAEL は胎児期で 143 mg/kg、乳児期では 285 mg/kg であり、NOAEL 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)。本文献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 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)。

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。

Didodecyl 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(Hazelton 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、精巢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(Hazelton 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 NOAEL 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張および

空砲化が認められ、NOAEL は、15mg/kg(雄)であった。精巣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 m g/kg)であった。

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。